

Artykuły

Papers

Ewa ADAMEK¹, Wojciech BARAN¹, Izabela SZOŁTYSEK-BOŁDYS¹
i Andrzej SOBCZAK²

EFEKTYWNOŚĆ PROCESÓW BIODEGRADACJI ZASTOSOWANYCH DO USUWANIA LEKÓW PRZECIWBAKTERYJNYCH ZE ŚCIEKÓW I WODY RZECZNEJ

EFFICIENCY OF BIODEGRADATION PROCESSES TO REMOVE OF ANTIBACTERIAL DRUGS FROM WASTEWATER AND RIVER WATER

Abstrakt: Celem pracy była ocena skuteczności procesów biodegradacji aerobowej i anaerobowej zastosowanych do usuwania leków przeciwbakteryjnych, tj. ampicyliny, doksycykliny, tylozyny i sulfatiazolu, za pomocą osadów czynnych pochodzących z oczyszczalni ścieków Radocha II w Sosnowcu oraz wody z rzeki Brynicy. Stężenia leków wykorzystywane w eksperymentach były zbliżone do wartości microbial toxic concentration (MTC). Stwierdzono, że z wyjątkiem sulfatiazolu pozostałe antybiotyki bardzo szybko ulegają biologicznemu rozkładowi (zazwyczaj w czasie krótszym niż 24 godziny). Jednak rozkład tych leków w każdym przypadku prowadził do powstania niezidentyfikowanych, bardziej polarnych i trwałych biologicznie związków organicznych. W przypadku sulfatiazolu całkowitemu rozkładowi uległ on jedynie przy zastosowaniu osadu czynnego po 23 dniach w procesie aerobowym. W pozostałych badanych przypadkach lek ten okazał się odporny na biodegradację.

Słowa kluczowe: antybiotyki, środowisko, oczyszczanie ścieków, biodegradacja, osad czynny

Wstęp

Antybiotyki są obecnie używane na szeroką skalę zarówno w lecznictwie ludzi, jak i w weterynarii, a także w hodowli zwierząt jako dodatki do pasz. Leki te wraz ze ściekami komunalnymi i szpitalnymi oraz wraz z gnojowicą przedostają się do hydrosfery, powodując m.in. zmiany w biocenozie. Dodatkowo, konsekwencją nadużywania oraz nieprawidłowego stosowania antybiotyków jest rozpowszechnienie opornych na nie bakterii i pasożytów [1, 2]. W rezultacie coraz więcej szczepów chorobotwórczych bakterii jest niewrażliwych na działanie antybiotyków, co utrudnia dobór skutecznej farmakoterapii [3].

Współczesne technologie oczyszczania ścieków oparte są najczęściej na kompilacji aerobowych i anaerobowych procesów biodegradacyjnych. Zaletą takich rozwiązań jest niska cena, prostota i zazwyczaj wysoka efektywność rozkładu substancji organicznych. Jednak wysoka aktywność antymikrobiologiczna antybiotyków może spowodować, że ścieki zawierające te substancje w znacznych ilościach mogą spowodować zakłócenia w pracy biologicznych oczyszczalni ścieków [4]. Na antymikrobiologiczne działanie antybiotyków są głównie narażone mikroorganizmy osadu czynnego, które nie są adaptowane do ścieków zawierających te leki, a więc w oczyszczalniach, do których sporadycznie odprowadza się ścieki z antybiotykami. Konsekwencją może być znaczne

¹ Zakład Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec, tel. 32 364 15 64, email: eadamek@sum.edu.pl

² Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, ul. Kościelna 13, 41-200 Sosnowiec

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

obniżenie sprawności oczyszczania ścieków. Prace badawcze, w których opisuje się skuteczność usuwania antybiotyków ze ścieków w pracujących biologicznych oczyszczalniach ścieków, podają rozbieżne informacje [4-8]. Opisywane rozbieżności mogą być spowodowane m.in. zróżnicowaniem rodzajów antybiotyków stanowiących zanieczyszczenie oraz ich różnym stężeniem w influencie [4]. W praktyce może to oznaczać, że w każdym indywidualnym przypadku ścieków zawierających antybiotyki należy określić ich oddziaływanie na osad czynny oraz uzyskiwaną efektywność oczyszczania.

Celem pracy była ocena skuteczności procesów biodegradacji aerobowej i anaerobowej zastosowanych do usuwania leków przeciwbakteryjnych, tj. ampicyliny, doksycykliny, tylozyny i sulfatiazolu, za pomocą osadów czynnych pochodzących z oczyszczalni ścieków Radocha II w Sosnowcu oraz wody z rzeki Brynicy. Stężenia leków wykorzystywane w eksperymentach były zbliżone do wartości stężenia toksycznego dla mikroorganizmów (MTC).

Materialy i metody

Wybrane do badań antybiotyki zostały scharakteryzowane w tabeli 1. Osady czynne wykorzystywane w eksperymentach pochodziły z komory tlenowej i komory denitryfikacyjnej oczyszczalni ścieków Radocha II w Sosnowcu. Środowiskiem odniesienia była woda pobrana z nurtu rzeki Brynicy oraz woda destylowana.

Tabela 1

Charakterystyka badanych antybiotyków

Table 1

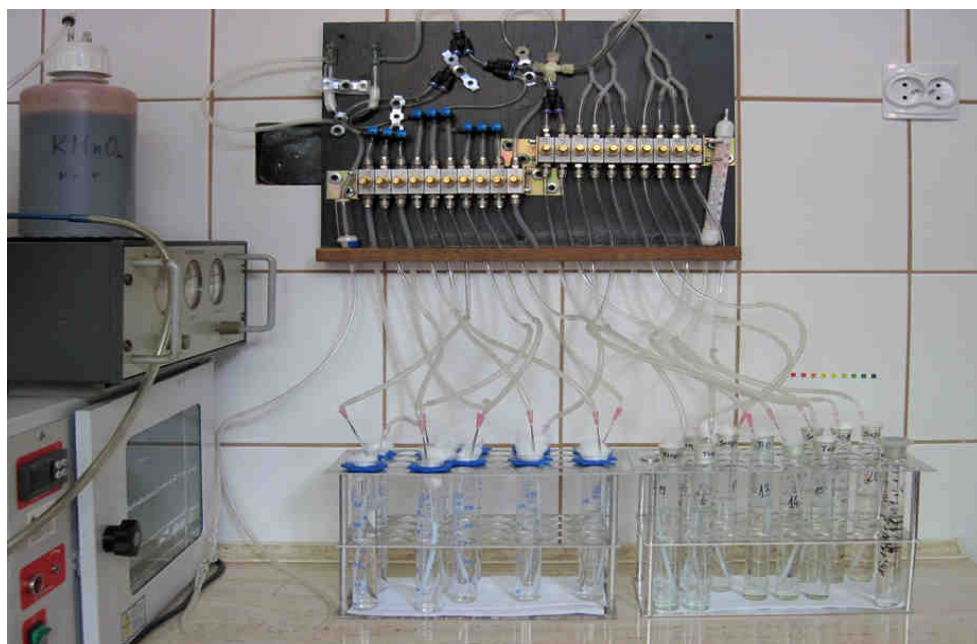
Characteristics of the studied antibiotics

Nazwa (numer CAS)	Producent (czystość)	Stężenie w próbkach/wartość MTC [mg/dm ³]		Warunki analizy HPLC (chromatograf YL9100 Young Lin; Korea Pd.)		
		osad czynny	woda z rzeki	eluent	kolumna	dł. fali detektora [nm]
Ampicylina - sól sodowa (69-53-4)	Sigma-Aldrich (91,0-100,5)	80/82	48/50	AcCN - 5%; 0,1% roztwór HCOOH - 95%	Supelcosil LC-18; 5 µm; 250×4,6 mm	210
Tylozyny winian (1401-69-0)	Sigma-Aldrich (moc leku ≥ 800 jednostki/mg)	80/89	30/33	AcCN - 70%; roztwór H ₃ PO ₄ o pH 2,7 - 30%	Hypersil C-18; 5 µm; 150×2,1 mm	290
Doksycykliny hykalan (24390-14-5)	Sigma-Aldrich (≥ 98%)	30/34	1/1,5	AcCN - 70%; roztwór H ₃ PO ₄ o pH 2,7 - 30%	Hypersil C-18; ziarno 5 µm; 150×2,1 mm	360
Sulfatiazol - sól sodowa (144-74-1)	Sigma-Aldrich (> 99%)	250/261	40/42	AcCN - 5%; 0,1% roztwór HCOOH - 95%	Supelcosil LC-18; 5 µm; 250×4,6 mm	272

W celu oznaczanie wartości MTC badanych antybiotyków niezwłocznie po pobraniu próbek z oczyszczalni ścieków i rzeki zostały wykorzystane do szczepienia pożywek w teście płytkowym. Jako pożywkę, podobnie jak w teście MARA[®], stosowano wodny

roztwór zawierający 2% (m/m) peptonu sojowego (Fluka) i 0,02% (m/m) chlorku 2,3,5-trifenyлотetrazoliowego (POCh). Procedura przygotowania płytek 96 dołowych z gradientem stężeń badanych antybiotyków została szczegółowo opisana przez Wadhia i in. [9]. Pożywki szczepiono bezpośrednio porcjami wody lub osadu czynnego o objętości 15 mm³. Płytki skanowano po 24-godzinnej inkubacji w temp. 30°C i analizowano z użyciem oprogramowania do wyznaczania wartości MTC firmy NCIMB Ltd, Szkocja.

Roztwory do badań, zawierające stężenia antybiotyków, odpowiadające wcześniej wyznaczonym wartościom MTC (tab. 1), przygotowywano, rozpuszczając naważki antybiotyków w osadzie czynnym, wodzie rzecznej i wodzie destylowanej, a następnie umieszczano je w zestawie reaktorów aerobowych o objętości 50 cm³ (rys. 1) lub anaerobowych o objętości 100 cm³.



Rys. 1. Zestaw do prowadzenia biodegradacji w warunkach tlenowych

Fig. 1. Experimental set-up for aerobic biodegradation

Powietrze do reaktorów aerobowych, które było tłoczone za pomocą kompresora bezolejowego Aristo B110 (Włochy), poddawano filtracji, dezynfekcji roztworem KMnO₄, separacji i ponownej filtracji na złożu węglowym. Reaktory z próbkami anaerobowe zawierały kulkę szklaną i były mieszane przez 15 min co 1 godzinę za pomocą wytrząsarki. Proces biodegradacji prowadzono każdorazowo przez 28 dni w temperaturze 22 ± 1°C. Elementy zestawów mające kontakt z próbkami były przed każdym eksperymentem sterylizowane. Efekty biodegradacji oceniano na podstawie obniżenia stężenia badanych antybiotyków w próbkach, oznaczanego metodą HPLC. Tak zdefiniowana biodegradacja

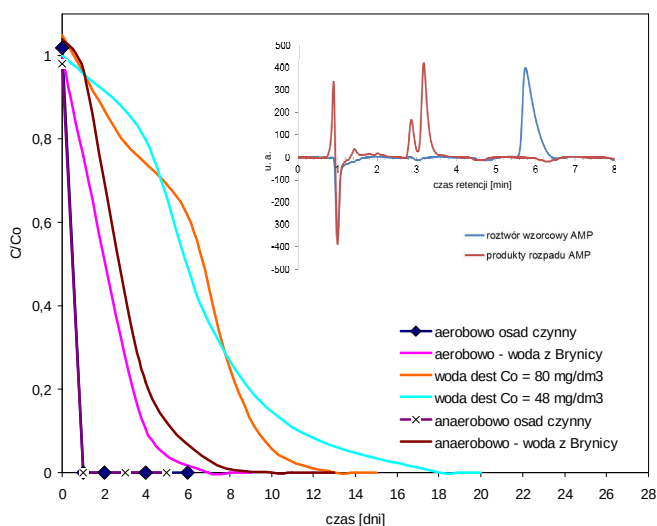
nie oznacza mineralizacji badanych leków. Szczegółowe warunki analizy zamieszczono w tabeli 1.

Rezultaty i dyskusja

Wartości MTC badanych antybiotyków wyznaczone dla osadu czynnego i wody z rzeki zamieszczono w tabeli 1. Wielkości te odzwierciedlają odporność najmniej wrażliwych mikroorganizmów bytujących w badanym ekosystemie, a zatem powinny stanowić graniczne stężenie dla procesów biodegradacji.

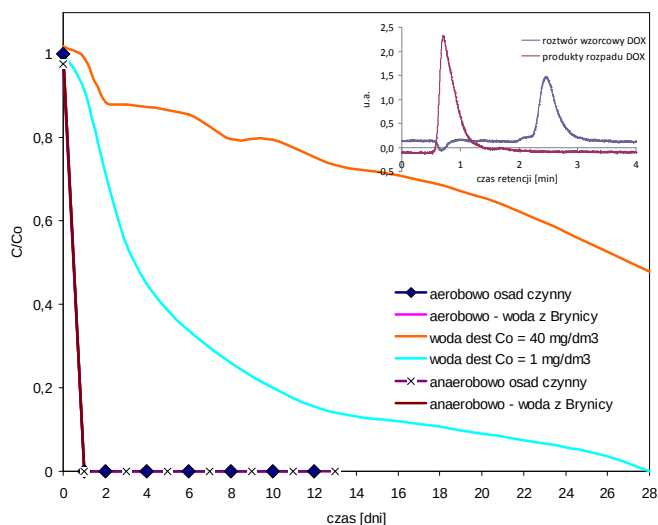
Na rysunkach 2-5 pokazano zmiany stężeń badanych antybiotyków obserwowane w ciągu 28 dni w osadzie czynnym, wodzie rzecznej i w wodzie destylowanej. Zmiany te ilustrują rozkład lub transformację tych antybiotyków do innych związków chemicznych.

W trakcie eksperymentów procesy chemiczne zachodzące bez udziału mikroorganizmów w wodzie destylowanej powodowały całkowity rozkład ampicyliny (rys. 2, niezależnie od stężenia w czasie krótszym niż 18 dni) oraz doksy cycliny o stężeniu początkowym wynoszącym 1 mg/dm³ (rys. 3). W przypadku roztworów doksy cycliny o $C_0 = 40$ mg/dm³ oraz tylozyny (rys. 4) również obserwowano obniżenie stężeń tych antybiotyków, odpowiednio o ok. 50 i 20%. W warunkach eksperymentu całkowicie trwały okazały się wodne roztwory sulfatiazolu (rys. 5).



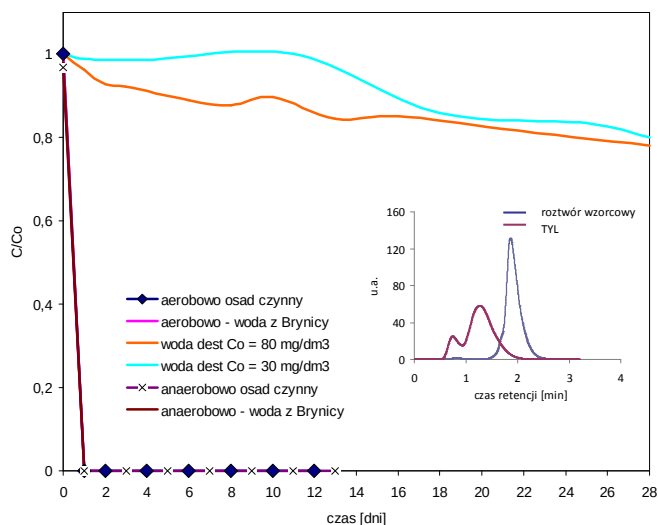
Rys. 2. Dynamika zmian stężenia ampicyliny w osadzie czynnym, wodzie rzecznej i wodzie destylowanej oraz porównanie przykładowych chromatogramów uzyskanych dla roztworu ampicyliny ($C_0 = 80$ mg/dm³) przed i po 1 dobie biodegradacji aerobowej z osadem czynnym

Fig. 2. The dynamics of changes of ampicillin concentration in activated sludge, river's water and distilled water and the comparison of the chromatograms obtained for ampicillin solution ($C_0 = 80$ mg/dm³) before and after 24 hours of aerobic biodegradation with activated sludge



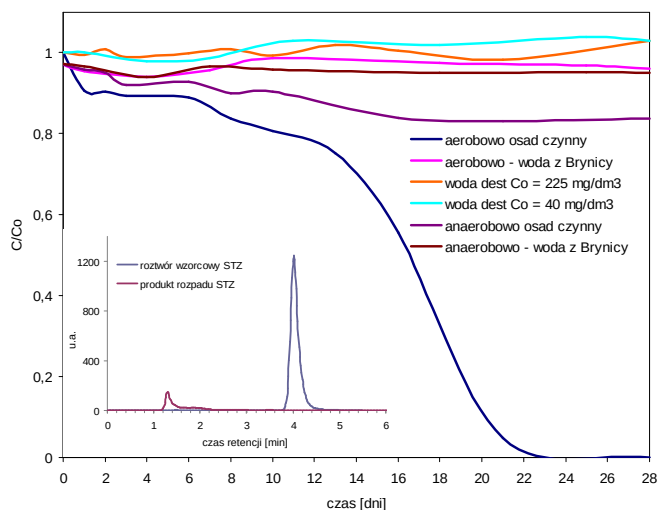
Rys. 3. Dynamika zmian stężenia doksycykliny w osadzie czynnym, wodzie rzecznej i wodzie destylowanej oraz porównanie przykładowych chromatogramów uzyskanych dla roztworu doksycykliny ($C_0 = 1 \text{ mg/dm}^3$) przed i po 1 dobie biodegradacji aerobowej z osadem czynnym

Fig. 3. The dynamics of changes of doxycycline concentration in activated sludge, river's water and distilled water and the comparison of the chromatograms obtained for doxycycline solution ($C_0 = 1 \text{ mg/dm}^3$) before and after 24 hours of aerobic biodegradation with activated sludge



Rys. 4. Dynamika zmian stężenia tylozyny w osadzie czynnym, wodzie rzecznej i wodzie destylowanej oraz porównanie przykładowych chromatogramów uzyskanych dla roztworu tylozyny ($C_0 = 80 \text{ mg/dm}^3$) przed i po 1 dobie biodegradacji aerobowej z osadem czynnym

Rys. 4. The dynamics of changes of tylosin concentration in activated sludge, river's water and distilled water and the comparison of the chromatograms obtained for tylosin solution ($C_0 = 80 \text{ mg/dm}^3$) before and after 24 hours of aerobic biodegradation with activated sludge



Rys. 5. Dynamika zmian stężenia sulfatiazolu w osadzie czynnym, wodzie rzecznej i wodzie destylowanej oraz porównanie przykładowych chromatogramów uzyskanych dla roztworu sulfatiazolu ($C_0 = 250 \text{ mg/dm}^3$) przed i po 21 dobach biodegradacji aerobowej z osadem czynnym

Fig. 5. The dynamics of changes of sulfathiazole concentration in activated sludge, river's water and distilled water and the comparison of the chromatograms obtained for sulfathiazole solution ($C_0 = 250 \text{ mg/dm}^3$) before and after 24 hours of aerobic biodegradation with activated sludge

W przeprowadzonych eksperymentach rozkład (transformacja) badanych antybiotyków z udziałem mikroorganizmów okazał się znacznie szybszy. Zgodnie z oczekiwaniami, najkorzystniejsze okazało się zastosowanie osadu czynnego. Stwierdzono, że w warunkach aerobowych i anaerobowych ampicylina, doksycyklina i tylozyna ulegały całkowitej biodegradacji w czasie krótszym niż 1 dzień. Sulfatiazol w warunkach aerobowych rozkładał się ciągu 23 dni, natomiast w warunkach anaerobowych w ciągu 28 dni stężenie sulfatiazolu obniżyło się o mniej niż 20%. W ekosystemie rzeki Brynicy, niezależnie od warunków tlenowych, całkowita biodegradacja doksycykliny i tylozyny również trwała krócej niż 1 dzień, a ampicyliny 7-8 dni. Sulfotiazol w tym przypadku okazał się niebiodegradowalny.

Opisane wyżej rezultaty wskazują, że sulfatiazol jest znacznie bardziej odporny chemicznie i biologicznie od pozostałych antybiotyków. Może to oznaczać, że wprowadzony do środowiska będzie oddziaływał na obecną w nim biocenozę przez znacznie dłuższy czas. Duża szybkość biodegradacji pozostałych antybiotyków nie oznacza jednoznacznie wysokiej efektywności tego procesu z punktu widzenia obniżenia ryzyka środowiskowego. We wszystkich przypadkach procesom biodegradacji towarzyszyło powstawanie produktów transformacji antybiotyków (chromatogramy na rys. 2-5). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że substancje te posiadały te same grupy chromoforowe co wyjściowe antybiotyki i, z wyjątkiem produktów biodegradacji ampicyliny, w ciągu 28 dni nie ulegały dalszemu rozkładowi. Istnieje wysokie ryzyko, że powstające w trakcie procesów biologicznych substancje całkowicie lub częściowo zachowują aktywność antymikrobiologiczną. Dane literaturowe wskazują, że produktem

rozkładu sulfonamidów jest najczęściej bardziej aktywny biologicznie sulfanilamid [10], tylozyna może ulegać transformacji do innej formy leku, np. tylozyny D [4, 11], natomiast doksycyklina do mniej aktywnych 6-epidoksycykliny oraz metacykliny [12]. Oznacza to, że pełna ocena efektywności procesu biodegradacji wymaga analizy aktywności antymikrobiologicznej produktów tego procesu i ewentualną ich identyfikację. Niemniej, już na podstawie uzyskanych rezultatów można stwierdzić, że zasadność zastosowania technologii wykorzystujących zjawisko biodegradacji do usuwania leków przeciwbakteryjnych ze ścieków zależy od rodzaju leku, jaki ma zostać usunięty.

Wnioski

Badane antybiotyki hamują rozwój mikroorganizmów pochodzących z wody rzecznej i osadu czynnego. Mimo to przy stężeniach bliskich MTC bardzo szybko (z wyjątkiem sulfatiazolu) ulegają biologicznemu rozkładowi. Jednak rozkład tych leków w każdym przypadku prowadził do powstania niezidentyfikowanych, bardziej trwałych biologicznie związków organicznych. W przypadku sulfatiazolu całkowitemu rozkładowi uległ on jedynie przy zastosowaniu osadu czynnego po 23 dniach w procesie aerobowym. W pozostałych badanych przypadkach lek ten okazał się odporny na biodegradację.

Zasadność zastosowania technologii wykorzystujących zjawisko biodegradacji do usuwania leków przeciwbakteryjnych ze ścieków zależy od rodzaju leku, jaki ma zostać usunięty, jednak pełna ocena efektywności procesu biodegradacji wymaga analizy aktywności antymikrobiologicznej produktów tego procesu.

Podziękowania

Badania były finansowane z grantu NCN nr UMO-2011/03/D/NZ7/01684.

Literatura

- [1] DANMAP 2012 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. http://www.danmap.org/Downloads/~media/Projekt%20sites/Danmap/DANMAP%20reports/DANMAP%202012/Danmap_2012.ashx.
- [2] Eintrag von Arzneimitteln und deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt, Literaturstudie Fachbericht 2, Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen, Recklinghausen, 2007. <http://www.lanuv.nrw.de/veroeffentlichungen/fachberichte/fabe2/lanuvfabe2.pdf>.
- [3] Baran W, Adamek E, Makowski A, Sobczak A. Ecol Chem Eng A. 2012;9:1153-1171. DOI: 10.2428/ecea.2012.19(10)110.
- [4] Michael I, Rizzo L, McArdell C, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, et al. Water Res. 2013;47:957-995. DOI: 10.1016/j.watres.2012.11.02.
- [5] Guerra P, Kim M, Shah A, Alaei M, Smyth A. Sci Total Environ. 2014;473-474:235-243. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.008.
- [6] Gracia-Lor E, Sancho J, Serrano R, Hernández F. Chemosphere. 2012;87:453-462. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.12.025.
- [7] Gao L, Shi Y, Li W, Niu H, Liu J, Cai Y. Chemosphere. 2012;86:665-671. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.040.
- [8] Verlicchi P, Al Aukidy M, Jelic A, Petrović M, Barceló D. Sci Total Environ. 2014;470-471:844-854. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.10.026.
- [9] Wadhia K, Dando T, Thompson KC. J Environ Monit. 2007;9:953-958. DOI: 10.1039/b704059h.
- [10] Sukul P, Spiteller M. Rev Environ Contam Toxicol. 2006;187:67-101. DOI: 10.1007/0-387-32885-8_2.
- [11] Ali M, Wang J, DeLaune R, Seo D, Dodla S, Hernandez A. Chemosphere. 2013;91:1583-1589. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.12.050.

- [12] Skúlason S, Ingólfsson E, Kristmundsdóttir T. J Pharm Biomed Anal. 2003;33:667-672. DOI: 10.1016/S0731-7085(03)00316-9.

EFFICIENCY OF BIODEGRADATION PROCESSES TO REMOVE OF ANTIBACTERIAL DRUGS FROM WASTEWATER AND RIVER WATER

¹ Department of General and Analytical Chemistry, School of Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine
Medical University of Silesia in Katowice, Sosnowiec

² Institute of Occupational Medicine and Environmental Health, Sosnowiec

Abstract: Nowadays, antibiotics are used on a large scale, both in veterinary and human medicine as well as in animal husbandry as feed additives. These drugs with municipal and hospital wastewater and with liquid manure can get into the hydrosphere resulting in, among others, changes in the biocenosis. In addition, the consequence of excessive and improper use of antibiotics can be the spread of bacteria and parasites that are resistant to them. In result, an increasing number of pathogenic bacteria strains is insensitive to antibiotics and a choice of effective pharmacotherapy may become more difficult. The aim of this study was to assess the efficiency of aerobic and anaerobic biodegradation processes for the removal of antimicrobial drugs, *ie* ampicillin, doxycycline, tylosin and sulfathiazole using the active sludge from the wastewater treatment plant "Radocha II" in Sosnowiec and water from the Brynica river. The antibiotics concentrations used in the experiments were similar to the Microbial Toxic Concentrations (MTC) values. It was found that ampicillin, doxycycline and tylosin were biodegradable rapidly within less than 24 hours. However, in each case, the degradation of these antibiotics led to the formation of unidentified, more polar and biologically persistent organic compounds. Contrary, sulfathiazole was completely degraded after 23 days in aerobic process using activated sludge and it was resistant to biodegradation in the other experiments.

Keywords: antibiotics, environment, wastewater treatment, biodegradation, activated sludge

Wojciech BARAN¹, Ewa ADAMEK¹, Izabela SZOŁTYSEK-BOŁDYS¹
i Andrzej SOBCZAK²

BADANIA WSTĘPNE NAD DEGRADACJĄ I MINERALIZACJĄ WYBRANYCH ANTYBIOTYKÓW METODĄ FENTONA

PRELIMINARY STUDIES ON DEGRADATION AND MINERALIZATION OF THE SELECTED ANTIBIOTICS BY FENTON METHOD

Abstrakt: Celem pracy było wyznaczenie efektywności metody Fentona (inicjowanej małymi dawkami FeSO_4 i H_2O_2) w procesach degradacji oraz mineralizacji dużych dawek ampicyliny, doksycykliny, tylozyny i sulfotiazolu w środowisku wodnym oraz w ściekach przygotowanych zgodnie z normą ISO 9887:1992. W trakcie badań określono również zależność pomiędzy efektywnością degradacji sulfotiazolu a stężeniami substratów reakcji Fentona. Stwierdzono, że badany proces degradacji jest pierwszorzędowy względem degradowanego substratu. Możliwe było osiągnięcie praktycznie 100% degradacji badanych leków przy niskich stężeniach FeSO_4 i H_2O_2 . W roztworach wodnych zawierających 0,2 mmol/dm³ antybiotyku wynosiły one odpowiednio < 0,2 i < 2 mmol/dm³, a dla ścieków < 1,5 i < 20 mmol/dm³ FeSO_4 i H_2O_2 . Jednak w zastosowanych warunkach praktycznie nie obserwowano mineralizacji roztworów badanych antybiotyków pomimo znacznego wydłużania czasu reakcji. Oznacza to, że roztwory te zawierają trwałe, organiczne produkty transformacji tych leków o nieustalonej aktywności przeciwbakteryjnej.

Słowa kluczowe: antybiotyki, środowisko, ekotoksyczność, testy toksyczności

Wstęp

We współczesnym świecie powszechne staje się wykorzystanie antybiotyków do poprawy efektywności hodowli zwierząt. Według Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków (FDA), tylko w 2009 roku w USA zużyto 16 400 ton antybiotyków, z czego prawie 80% zostało użyte w produkcji żywności. Leki te były stosowane w większości w lecznictwie i profilaktyce chorób zwierząt, a około 1300 ton zostało zastosowane jako stymulujące wzrost dodatki do pasz [1, 2]. W konsekwencji rolnictwo staje się głównym źródłem zanieczyszczenia środowiska antybiotykami. Poza samymi lekami i produktami ich metabolizmu, ścieki pohodowlane są najprawdopodobniej największym źródłem lekoopornych mikroorganizmów [3]. Dlatego intensywnie poszukuje się tanich i skutecznych metod usuwania tych leków ze ścieków. Szczególnie wysoką skutecznością w usuwaniu zarówno antybiotyków, jak i dezynfekcji ścieków charakteryzują się metody pogłębionego utleniania (Advanced Oxidation Processes, AOP). Jedną z takich metod jest znany od niemal 150 lat proces Fentona, czyli reakcja inicjowana związkami żelaza i nadtlenkiem wodoru [4, 5]:



¹ Zakład Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec, tel. 32 364 15 64, email: bw-xxl@wp.pl

² Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, ul. Kościelna 13, 41-200 Sosnowiec

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

Powstające w wyniku tej reakcji rodniki hydroksylowe są wysoce aktywnym, ale nieselektywnym czynnikiem utleniającym. Przy pełnej mineralizacji rozkładają one związki organiczne do dwutlenku węgla, wody i jonów nieorganicznych.

Niewątpliwe zalety procesu Fentona to prostota, duża szybkość i wysoka efektywność. Jednak proces ten posiada również istotne ograniczenia. Pierwsze to fakt, iż wymaga kwaśnego środowiska reakcji. Drugim, związanym z nieselektywnością procesu, jest duża konsumpcja substratów [5]. Według Elmolla i Chaudhuri [6], obniżenie ChZT 1 m³ ścieków z wartości 1000 mg O₂/dm³ o połowę wymaga użycia niemal 10 kg perhydrolu (30% H₂O₂). Z kolei Ben i in. [7] uzyskali niemal 100% efektywność usuwania leków przeciwbakteryjnych ze ścieków, jednak na 1 mg O₂ (w teście ChZT) użyli 2,12 mg H₂O₂ i 6,99 mg jonów Fe²⁺. Tymczasem ChZT ścieków z tuczu trzody chlewnej może wynosić nawet ponad 60 000 mg O₂/dm³ [8].

Celem pracy było wyznaczenie efektywności metody Fentona (inicjowanej małymi dawkami FeSO₄ i H₂O₂) w procesach degradacji oraz mineralizacji dużych dawek ampicyliny, doksycykliny, tylozyny i sulfatiazolu w środowisku wodnym oraz w ściekach przygotowanych zgodnie z normą ISO 9887:1992.

Materiały i metody

Wybrane do badań antybiotyki oraz metodyka ich oznaczania zostały scharakteryzowane w tabeli 1.

Tabela 1

Charakterystyka badanych antybiotyków

Table 1

Characteristics of the investigated antibiotics

Nazwa (numer CAS)	Producent (czystość)	Warunki analizy HPLC (chromatograf YL9100 Young Lin; Korea Pd.)		
		eluent	kolumna	dł. fali detektora [nm]
Ampicylina - sól sodowa (69-53-4)	Sigma-Aldrich (91,0 - 100,5)	AcCN - 5%; 0,1% roztwór HCOOH - 95%	Supelcosil LC-18; 5 µm; 250×4,6 mm	210
Tylozyny winian (1401-69-0)	Sigma-Aldrich (moc leku ≥ 800 jednostki/mg)	AcCN - 70%; roztwór H ₃ PO ₄ o pH 2,7 - 30%	Hypersil C-18; 5 µm; 150×2,1 mm	290
Doksycykliny hyklat (24390-14-5)	Sigma-Aldrich (≥ 98%)	AcCN - 70%; roztwór H ₃ PO ₄ o pH 2,7 - 30%	Hypersil C-18; ziarno 5 µm; 150×2,1 mm	360
Sulfatiazol - sól sodowa (144-74-1)	Sigma-Aldrich (> 99%)	AcCN - 5%; 0,1% roztwór HCOOH - 95%	Supelcosil LC-18; 5 µm; 250×4,6 mm	272

Wszystkie pozostałe odczynniki używane w eksperymencie były w klasie czystości do analizy.

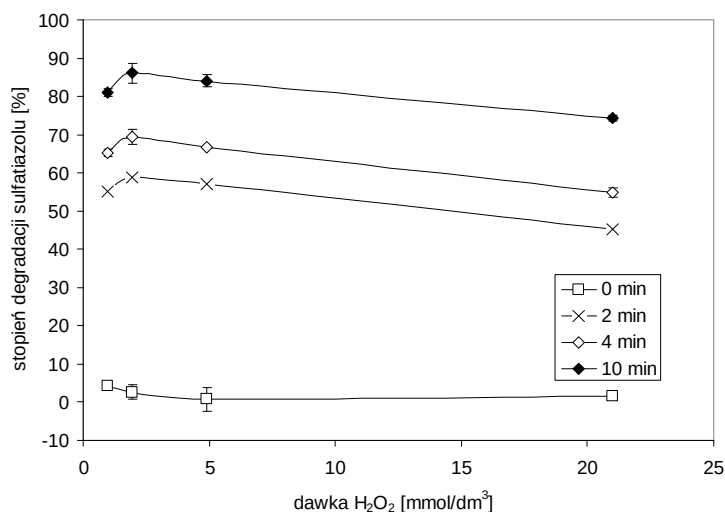
Naważki badanych leków rozpuszczano w wodzie destylowanej lub w ściekach syntetycznych przygotowanych zgodnie z normą ISO 9887:1992. Następnie do intensywnie mieszanych roztworów tych leków dodawano odmierzony ilości świeżo przygotowanego roztworu FeSO₄ (20 g/dm³ 0,4% H₂SO₄) i roztworu H₂SO₄. We wszystkich

eksperymentach korygowano pH środowiska reakcji do wartości $\sim 3,5$. Na podstawie danych literaturowych przyjęto, że jest to najwyższa wartość pH, gwarantująca stabilny i wysoce efektywny przebieg reakcji Fentona [5-7].

Po 5 minutach mieszania do badanych roztworów dodawano określonej w eksperymencie objętości roztworu H_2O_2 (30%). Próbkę do analizy o objętości 2 cm^3 pobierano przed i po dodaniu H_2O_2 , po założonym w eksperymencie czasie, przenosząc je do przygotowanych wcześniej probówek zawierających po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu NaOH. Następnie próbki intensywnie mieszano i odwirowywano (5 min, 4000 rpm). W trakcie wszystkich czynności badane roztwory były chronione przed światłem. Przed analizą próbki przechowywano w obniżonej temperaturze w całkowitej ciemności. Oznaczano w nich, każdorazowo w odniesieniu do roztworów wyjściowych, stężenie badanych antybiotyków (metodą opisaną w tabeli 1) oraz, w wybranych eksperymentach, stężenie ogólnego węgla organicznego (OWO). OWO wyznaczano metodą Langego, wykorzystując testy kuwetowe LCK385 ($3\text{--}30\text{ mg/dm}^3\text{ C}$) i spektrofotometr VIS DR 3900; HACH-LANGE. Usunięcie OWO roztworów jest miarą ich mineralizacji. W wyjściowych ściekach oznaczano również wartości ChZT, wykorzystując testy kuwetowe LCK514 ($100\text{--}2000\text{ mg O}_2/\text{dm}^3$).

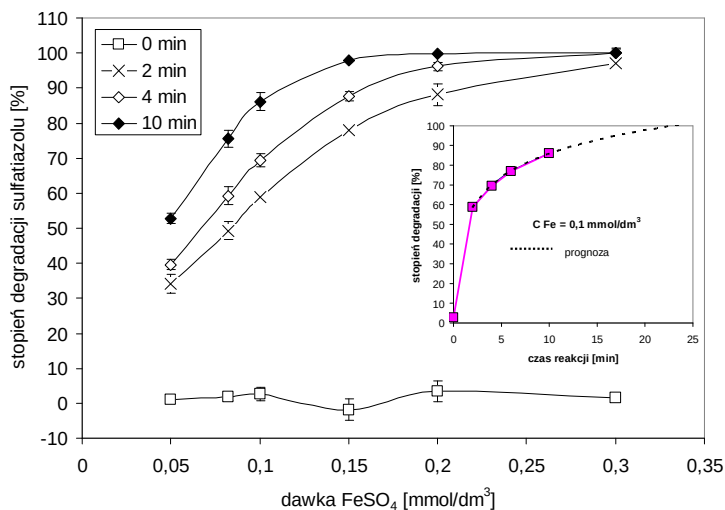
Rezultaty i dyskusja

Pierwszy etap badań obejmował ustalenie minimalnych dawek reagentów procesu Fentona (H_2O_2 i FeSO_4) koniecznych do całkowitej degradacji obecnego w roztworze substratu. Etap ten realizowano, badając kinetykę degradacji wodnego roztworu sulfatiazolu ($0,1\text{ mmol/dm}^3$). Uzyskane rezultaty przedstawiono na rysunkach 1 i 2.



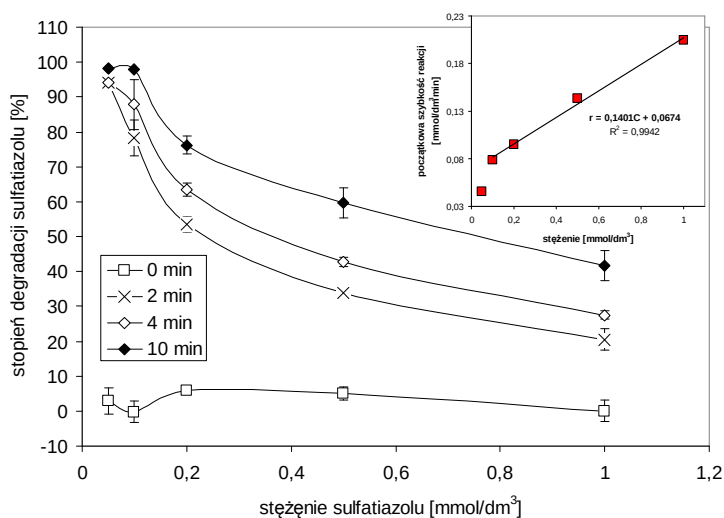
Rys. 1. Wpływ dawki H_2O_2 na dynamikę degradacji sulfatiazolu ($0,1\text{ mmol/dm}^3$) podczas reakcji Fentona prowadzonej w obecności FeSO_4 ($0,1\text{ mmol/dm}^3$) przy pH 3,46-3,49

Fig. 1. The effect of H_2O_2 dose on the dynamics of sulfathiazole ($0,1\text{ mmol/dm}^3$) degradation during the Fenton's reaction carried out in the presence of FeSO_4 ($0,1\text{ mmol/dm}^3$) at pH 3.46-3.49



Rys. 2. Wpływ dawki FeSO₄ na dynamikę degradacji sulfatiazolu (0,1 mmol/dm³) podczas reakcji Fentona prowadzonej w obecności H₂O₂ (1,96 mmol/dm³) przy pH 3,46-3,55

Fig. 2. The effect of FeSO₄ dose on the dynamics of sulfathiazole (0.1 mmol/dm³) degradation during the Fenton's reaction carried out in the presence of H₂O₂ (1.96 mmol/dm³) at pH 3.46-3.55

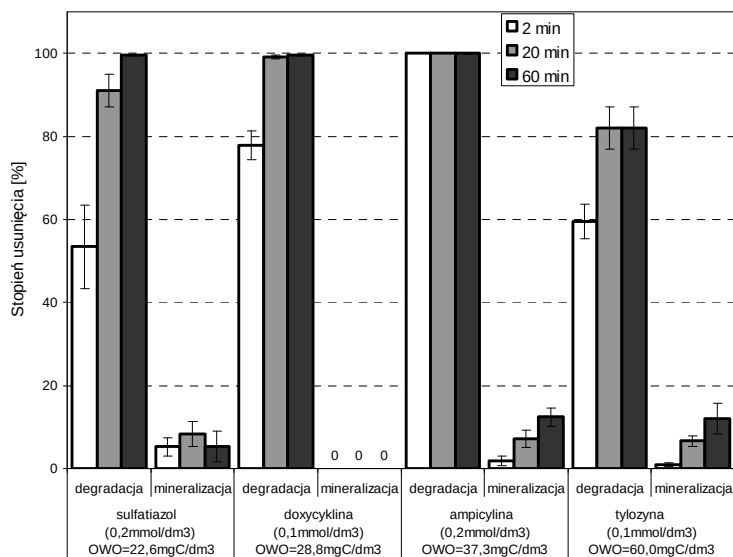


Rys. 3. Wpływ stężenia początkowego sulfatiazolu na dynamikę i kinetykę jego degradacji podczas reakcji Fentona prowadzonej w obecności H₂O₂ (1,96 mmol/dm³) i FeSO₄ (0,15 mmol/dm³) przy pH 3,49-3,51

Fig. 3. The effect of the initial sulfathiazole concentration on the dynamics and the degradation kinetics of the sulfonamide. The Fenton's process was carried out in the presence of H₂O₂ (1.96 mmol/dm³) and FeSO₄ (0.15 mmol/dm³) at pH 3.49-3.51

Zastosowane w trakcie eksperymentów warunki pozwoliły na niemal całkowity rozkład sulfatiazolu. Stwierdzono, że w stosunku do zastosowanych stężeń FeSO_4 istnieje optymalna dawka H_2O_2 . W badanym przypadku wynosiła ona $\sim 2 \text{ mmol/dm}^3$. Jednak zmiana tej dawki nie powodowała istotnych zmian w kinetyce reakcji Fentona (rys. 1). Podobne konkluzje zostały podane również przez innych badaczy [5, 6]. Dla odmiany wielkość dawki FeSO_4 okazała się bardzo istotna (rys. 2). Im wyższe stężenie soli Fe, tym szybciej osiągnano całkowitą degradację sulfatiazolu. W zastosowanych warunkach wielkością graniczną była dawka FeSO_4 wynosząca $0,15 \text{ mmol/dm}^3$. Prawdopodobnie jej obniżenie poniżej tej wartości również umożliwiłoby całkowity rozkład substratu, niemniej czas reakcji ulegałby nieproporcjonalnemu wydłużeniu (rys. 2, prognoza). Jest to spowodowane efektem nieodwracalnego zużycia reagentów [5].

Na rysunku 3 przedstawiono wpływ stężenia początkowego substratu (sulfatiazolu) na dynamikę jego degradacji w warunkach uznanych wcześniej za optymalne. Zgodnie z oczekiwaniami stwierdzono, że wzrost stężenia sulfatiazolu powoduje obniżenie uzyskanego stopnia jego degradacji. Zjawiska tego nie kompensuje liniowa zależność pomiędzy stężeniem substratu a początkową szybkością reakcji Fentona (rys. 3, górny róg), ponieważ szybkość ta po wyczerpaniu reagentów ulega radykalnemu obniżeniu (rys. 2).

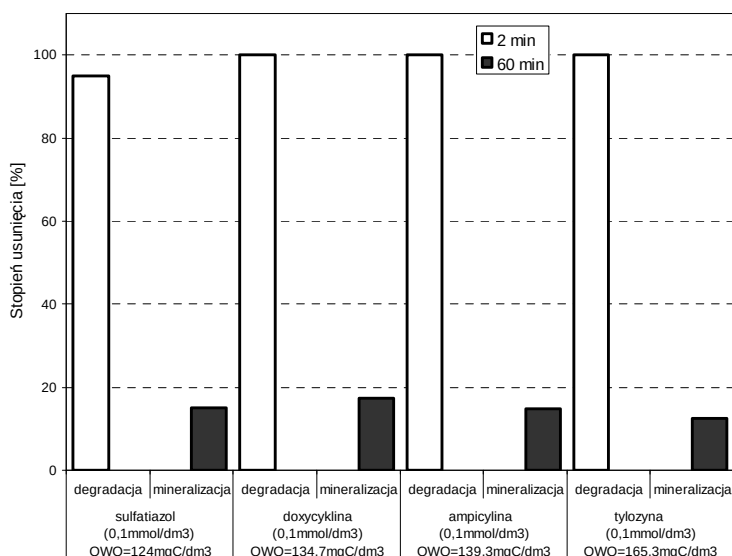


Rys. 4. Przebieg degradacji i mineralizacji roztworów badanych antybiotyków w wodzie destylowanej podczas reakcji Fentona prowadzonej w obecności FeSO_4 ($0,15 \text{ mmol/dm}^3$) i H_2O_2 ($1,96 \text{ mmol/dm}^3$). pH roztworów wynosiło 3,20-3,50

Fig. 4. The course of degradation and mineralization of the studied antibiotics solutions (in distilled water) during Fenton's process carried out in the presence of FeSO_4 ($0,15 \text{ mmol/dm}^3$) and H_2O_2 ($1,96 \text{ mmol/dm}^3$). The final pH of solutions was 3.20-3.50

Drugi etap badań obejmował ocenę efektywności degradacji i mineralizacji 4 wybranych leków (tab. 1) za pomocą procesu Fentona inicjowanego poprzez

zastosowanie granicznie niskich dawek H_2O_2 i FeSO_4 . Aby wyjściowe wartości OWO badanych roztworów były zbliżone (z wyjątkiem roztworu tylozyny), stężenia sulfatiazolu i ampicyliny były dwukrotnie większe niż doksycykliny. Rezultaty uzyskane w roztworach wodnych przedstawiono na rysunku 4. Na rysunku tym zamieszczono również informacje o wartościach OWO wyznaczonych dla wyjściowych roztworów badanych antybiotyków.



Rys. 5. Przebieg degradacji i mineralizacji roztworów badanych antybiotyków w ściekach syntetycznych podczas reakcji Fentona prowadzonej w obecności FeSO_4 ($1,0 \text{ mmol/dm}^3$) i H_2O_2 ($19,6 \text{ mmol/dm}^3$). pH roztworów wynosiło 3,51-3,55

Fig. 5. The course of degradation and mineralization of the studied antibiotics solutions (in synthetic wastewater) during Fenton's process carried out in the presence of FeSO_4 (1.0 mmol/dm^3) and H_2O_2 (19.6 mmol/dm^3). The final pH of solutions was 3.51-3.55

Wszystkie badane leki podczas procesu Fentona ulegały degradacji. Najbardziej podatna okazała się ampicylina. Jednak w przypadku tego antybiotyku po dodaniu FeSO_4 , ale jeszcze przed dodaniem H_2O_2 obserwowano obniżenie jego stężenia o niemal 70%. Oznacza to, że antybiotyk ten został związany przez sól żelaza i nie stanowi to dowodu jego degradacji. W zastosowanych warunkach najwolniej usuwane z roztworów były tylozyna i sulfatiazol. W przypadku tylozyny mogło to być spowodowane wysoką wartością OWO jej roztworu. Natomiast mniejsza dynamika degradacji sulfatiazolu może być dowodem większej odporności chemicznej tej substancji w porównaniu do pozostałych badanych antybiotyków. Niestety, degradacji wszystkich badanych leków towarzyszyło jedynie niewielkie (lub żadne, w przypadku doksycykliny) obniżenie wartości OWO (rys. 4, mineralizacja). Świadczy to, że proces Fentona spowodował jedynie transformację tych badanych leków. Produktami tego procesu mogą być inne, potencjalnie również wysoce aktywne biologicznie substancje. Przykładowo, w wyniku reakcji sulfonamidów z rodnikami $\text{HO}^\bullet$ powstaje m.in. równie aktywny i bardziej toksyczny sulfanilamid [9, 10].

Wyniki uzyskane po reakcji Fentona prowadzonej w ściekach syntetycznych aplikowanych badanymi lekami przedstawiono na rysunku 5. W związku z wyższymi wartościami OWO ścieków niż wody destylowanej w eksperymencie zastosowano wyższe dawki reagentów.

Już po 2 minutach reakcji uzyskano praktycznie 100% usunięcie badanych antybiotyków (w przypadku sulfatiazolu 95%). Ponieważ ChZT badanych ścieków wynosiło średnio około 400 mg O₂/dm³, po przeliczeniu zastosowanych dawek oznacza to, że na 1 mg O₂ zużyto ~0,14 mg Fe²⁺ i ~0,17 mg H₂O₂, a więc wielokrotnie mniej, niż sugerują np. Ben i in. [7]. Jednak w tym samym czasie stopień usunięcia OWO ścieków wyniósł < 5%, a po 60 min reakcji osiągnęło jedynie od 12,5 (z tylozyną) do 17,4% (z doksycyliną). Oznacza to, że ścieki po procesie Fentona prowadzonym w takich warunkach nadal zawierają dużo związków organicznych. Zatem ocena rzeczywistej efektywności badanego procesu wymaga określenia aktywności biologicznej pozostałych po tym procesie produktów.

Wnioski

Zastosowanie procesu Fentona do oczyszczania ścieków zawierających wysokie stężenia antybiotyków gwarantuje ich całkowite usunięcie. Możliwe było osiągnięcie praktycznie 100% degradacji badanych leków przy niskich stężeniach FeSO₄ i H₂O₂ wynoszących odpowiednio 0,14 mg Fe²⁺ i ~0,17 mg H₂O₂ na 1 mg O₂/dm³ ścieków. Jednak w opisanych warunkach praktycznie nie obserwowano mineralizacji roztworów badanych antybiotyków pomimo znacznego wydłużania czasu reakcji. Oznacza to, że roztwory te zawierają trwałe, organiczne produkty transformacji tych leków o nieustalonej aktywności przeciwbakteryjnej.

Podziękowania

Badania były finansowane z grantu NCN nr UMO-2011/03/D/NZ7/01684.

Literatura

- [1] Hollis A, Ahmed Z. N Engl J Med. 2013;369:2474-2476. DOI: 10.1056/NEJMp1311479.
- [2] Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-producing Animals, Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services 2009. 2010:1. <http://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM231851.pdf>.
- [3] DANMAP 2012 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. http://www.danmap.org/Downloads/~media/Projekt%20sites/Danmap/DANMAP%20reports/DANMAP%202012/Danmap_2012.ashx.
- [4] Fenton HJH. Chem News. 1876;33:190-190.
- [5] Babuponnusami A, Muthukumar K. J Environ Chem Eng. 2014;2:557-572. DOI: 10.1016/j.jece.2013.10.011.
- [6] Elmolla ES, Chaudhuri M. Desalination. 2012;285:14-21. DOI: 10.1016/j.desal.2011.09.022.
- [7] Ben W, Qiang Z, Pan X, Chen M. Water Res. 2009;43:4392-4402. DOI: 10.1016/j.watres.2009.06.057.
- [8] Kwiecińska A, Konieczny K. The treatment of manure with application of membrane technologies. III Ogólnopolski Kongres Inżynierii Środowiska, 13-17 września 2009 r., Lublin. <http://wis.pol.lublin.pl/kongres3/tom1/15.pdf>.
- [9] Baran W, Adamek E, Sobczak A, Makowski A. Appl Catal B Environ. 2009;90:516-525. DOI: 10.1016/j.apcatb.2009.04.014.
- [10] Sukul P, Spiteller M. Rev Environ Contam Toxicol. 2006;187:67-101. DOI: 10.1007/0-387-32885-8_2.

PRELIMINARY STUDIES ON DEGRADATION AND MINERALIZATION OF THE SELECTED ANTIBIOTICS BY FENTON METHOD

¹ Department of General and Analytical Chemistry, School of Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine
Medical University of Silesia in Katowice, Sosnowiec

² Institute of Occupational Medicine and Environmental Health, Sosnowiec

Abstract: The aim of study was to determine the efficiency of the Fenton method (initiated by small amounts of FeSO_4 and H_2O_2) during the degradation and the mineralization of high doses of ampicillin, doxycycline, tylosin and sulfathiazole. The experiments were carried out in the aquatic environment and in synthetic wastewater prepared in accordance with ISO 9887; 1992 standard. In the experiments, the relationship between efficiency of sulfathiazole degradation and reactants concentrations used in the Fenton method was also determined. It was found that the degradation process was a first order with respect to degraded substrate. It was possible to achieve almost 100% degradation of the selected drugs at low concentrations of FeSO_4 and H_2O_2 . To degrade antibiotics in the aqueous solutions ($0.2 \text{ mmol antibiotic/dm}^3$) the concentrations of FeSO_4 and H_2O_2 were < 0.2 and $< 2 \text{ mmol/dm}^3$, respectively. To degrade antibiotics in synthetic wastewater ($0.2 \text{ mmol antibiotic/dm}^3$) their concentrations were < 1.5 and $< 20 \text{ mmol/dm}^3$, respectively. However, under the experimental conditions, the mineralization of antibiotics solutions was practically not observed despite a significant prolongation of the reaction time. This indicates that these solutions contain stable organic products of drugs transformation having an unknown antibacterial activity.

Keywords: antibiotics, environment, ecotoxicity, toxicity tests

Jolanta BOHDZIEWICZ¹, Gabriela KAMIŃSKA¹ i Klaudiusz GRÜBEL²

USUWANIE MIKROZANIECZYSZCZEŃ O ESTROGENICZNEJ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ W PROCESIE NANOFILTRACJI

REMOVAL OF ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS BY MEANS OF NANOFILTRATION

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było zastosowanie procesu nanofiltracji do usuwania mikrozanieczyszczeń z rzeczywistych ścieków komunalnych oczyszczonych metodą osadu czynnego. Zastosowane membrany różniły się graniczną masą molową i polimerem, z którego je wytworzono. Filtrację membranową realizowano w ciśnieniowym urządzeniu przystosowanym do prowadzenia procesu w układzie filtracji jednokierunkowej (dead-end), na membranie o powierzchni czynnej 144 cm². W zależności od parametrów operacyjnych procesu (ciśnienie transmembranowe) i rodzaju polimeru membranotwórczego współczynniki retencji badanych związków kształtowały się w zakresie wartości 10-90%. W badaniach analizowano również wpływ zjawiska foulingu membran na zmianę ich właściwości powierzchniowych i charakteru kwasowo-zasadowego.

Słowa kluczowe: EDCs, nanofiltracja, fouling

Do grupy niebezpiecznych substancji aktywnych biologicznie należą substancje wykorzystywane w przemyśle: bisfenol A (BPA), oktylofenol (OP), nonylofenol (NP). Związki te zaliczane są do grupy substancji zakłócających prawidłowe działanie układu hormonalnego (ang. Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs). Nonylofenol i oktylofenol są uznane przez Parlament Europejski w Ramowej Dyrektywie Wodnej za substancje szczególnie niebezpieczne i priorytetowe dla środowiska wodnego. Specyfika toksycznego działania EDCs polega na zaburzeniu funkcjonowania układu hormonalnego, który w warunkach naturalnych reguluje pracę całego organizmu z pomocą bardzo niskich stężeń wydzielanych hormonów. Dlatego też już niewielkie ilości EDCs są w stanie naśladować działanie naturalnych hormonów i wywoływać niekorzystne zmiany w organizmie człowieka [1].

Badania monitorujące prowadzone na całym świecie potwierdziły ich obecność w środowisku w bardzo zróżnicowanych zakresach stężeń. Przykładowo, stężenie bisfenolu A w wodach powierzchniowych w Stanach Zjednoczonych było w zakresie 0,147-12 µg/dm³ [2, 3]. Dane przedstawione w pracy [4] wskazują na obecność OP (100 ng/dm³) i BPA (40 ng/dm³) w wodach powierzchniowych stanowiących źródło wody pitnej na Tajwanie. Ponadto uzdatnianie tej wody w konwencjonalnym systemie nie pozwoliło na ich całkowite usunięcie. Trwałemu zanieczyszczeniu ulegają również gleby i osady dennie. Z ostatnio opublikowanych danych wynika, że gleba pochodząca z terenów, na których gromadzono ścieki, zawierała znaczne ilości bisfenolu A (10-6970 ng/g) i oktylofenolu (10-1260 ng/g) [5].

¹ Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice, tel. 32 237 16 98, fax 32 237 10 47, email: gabriela.kaminska@polsl.pl

² Instytut Ochrony i Inżynierii Środowiska, Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej, ul. Willowa 2, 43-309 Bielsko-Biała, tel. 33 827 91 57, fax 33 827 91 01, email: kgrubel@ath.bielsko.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

Toksyczne oddziaływanie związków aktywnych biologicznie na mikroorganizmy osadu czynnego uniemożliwia ich całkowitą biodegradację lub prowadzi do powstania innych niebezpiecznych metabolitów [1]. Dlatego też aktualnym tematem jest wykorzystywanie technik pozwalających na skuteczną eliminację EDCs z oczyszczonych biologicznie ścieków.

Odpowiednim procesem do usuwania mikrozanieczyszczeń o charakterze organicznym jest nanofiltracja [6]. Dzięki zastosowaniu membran o zwartej strukturze możliwe jest zatrzymanie substancji o masie molowej w granicach 150-500 g/mol. Mechanizm separacji w procesie nanofiltracji jest często kombinacją efektu sitowego, mechanizmu rozpuszczania i dyfuzji czy też oddziaływań elektrostatycznych, dlatego też o skuteczności usuwania poszczególnych zanieczyszczeń decyduje szereg czynników związanych z warunkami prowadzenia procesu, właściwościami fizykochemicznymi separowanego związku i charakterystyką transportowo-separacyjną membrany [7]. Nie bez znaczenia jest również zjawisko foulingu, występujące w trakcie realizacji ciśnieniowych technik membranowych. Wpływa ono nie tylko na wydajność procesu, ale również na właściwości powierzchniowe membrany, przez co zmianie ulega jej charakterystyka transportowo-separacyjna [8].

Materiały i metodyka badań

Oczyszczaniu zostały poddane rzeczywiste ścieki komunalne po oczyszczaniu biologicznym, do których dodano wzorce bisfenolu A i nonylofenolu tak, by ich stężenie w ściekach kształtowało się na poziomie 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Ścieki komunalne pochodziły z Gliwickiej Centralnej Oczyszczalni Ścieków. Pobrano je bezpośrednio ze zbiornika, w którym gromadzi się oczyszczone ścieki odprowadzane do środowiska wodnego.

Tabela 1

Charakterystyka membran nanofiltracyjnych

Table 1

Characteristic of nanofiltration membranes

Producent	GE OSMONICS	TriSep	GE OSMONICS	Nadir
Symbol	DK	TS40	CA	NP010
Materiał ¹⁾	Poliamidowa warstwa naskórkowa	Amidek polipiperazyny	Octan celulozy	PES (polieterosulfon)
Graniczna masa cząsteczkowa (MWCO) [Da] ¹⁾	150-300	200	150-300	1000
Stopień retencji NaCl [%] ²⁾	40	40-60	74	35
Stopień retencji MgSO ₄ [%] ²⁾	98	99	96	64
Kąt zwilżania [°] ³⁾	37	40	54	68

¹⁾ według danych producenta; ²⁾ badania własne: stężenie NaCl i MgSO₄ 1 g/dm³, $\Delta P = 2 \text{ MPa}$; ³⁾ badania własne: pomiar kąta zwilżalności za pomocą goniometru

Proces ciśnieniowej filtracji membranowej realizowano w układzie aparaturowym wyposażonym w płytowo-ramowy moduł membranowy amerykańskiej firmy Osmonics typu SEPA CH-NP, zbiornik nadawy z układem chłodzącym, rotametr, pompę

wysokociśnieniową, manometry i zawory. Instalacja pracowała w układzie zamkniętym i umożliwiała prowadzenie procesu w systemie cross-flow, w którym retentat zawracano do zbiornika nadawy. W ciśnieniowej filtracji stosowano cztery komercyjne membrany nanofiltracyjne o powierzchni 144 cm². Szczegółową ich charakterystykę przedstawiono w tabeli 1. Przed każdą filtracją ścieków oraz po niej przez membranę była filtrowana woda dejonizowana w celu określenia względnego strumienia permeatu (α_v) i wody dejonizowanej (α_w). Skuteczność (R) usuwania BPA i NP określono na podstawie zmiany ich stężenia w strumieniach procesowych. Badane anality wydzielono ze ścieków metodą ekstrakcji do fazy stałej i oznaczono na chromatografii cieczowym. Obliczenia wykonano na podstawie zależności matematycznych przedstawionych w tabeli 2.

Tabela 2

Zależności matematyczne pozwalające na wyznaczenie właściwości transportowych i separacyjnych membran nanofiltracyjnych

Table 2

Equations to evaluate transport and separation properties of membranes

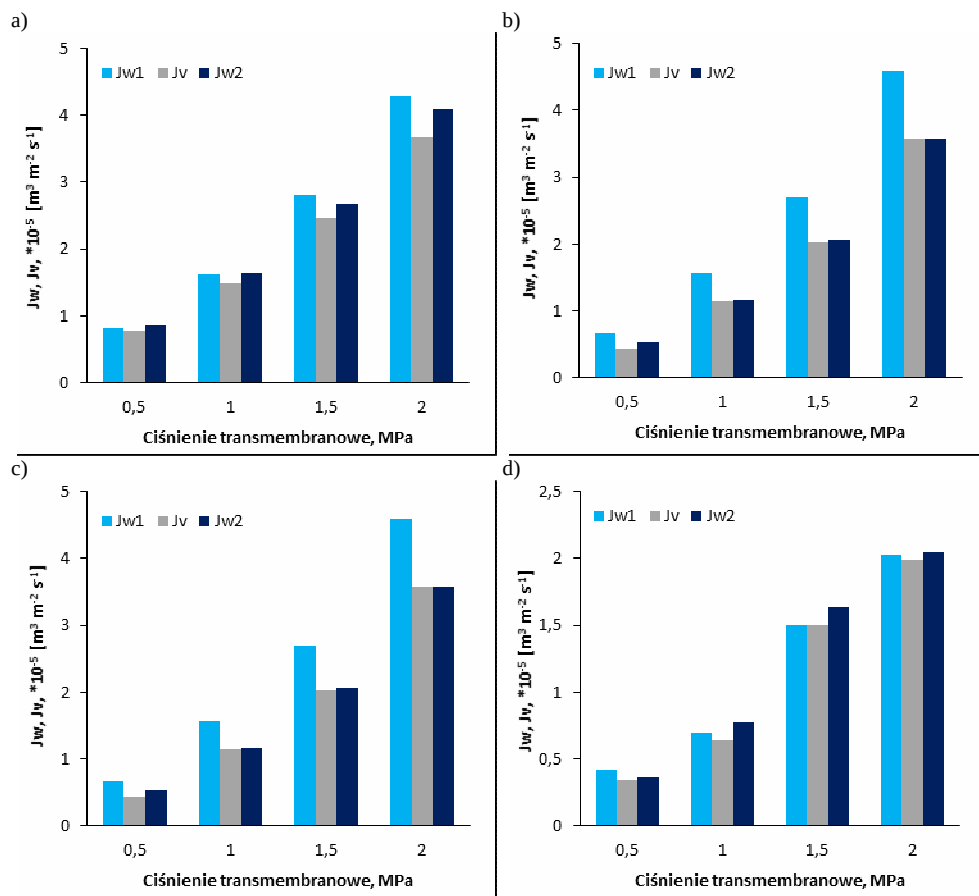
Właściwości	Parametr	Jednostka	Równanie
Transportowe	Objętościowy strumień permeatu	[m ³ /m ² ·s]	$J_v(J_w) = \frac{V}{F \cdot t}$
	Względny strumień permeatu α_v	[-]	$\alpha_v = \frac{J_v}{J_{w1}}$
	Względny strumień wody dejonizowanej α_w	[-]	$\alpha_w = \frac{J_{w2}}{J_{w1}}$
Separacyjne	Współczynnik retencji R	[%]	$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_n}\right) \cdot 100$

V - objętość [m³]; *F* - powierzchnia filtracyjna membrany [m²]; *t* - czas [s]; *C* - stężenie [μg/dm³] indeksy:
p - permeat, *n* - nadawa;
J_v - objętościowy strumień permeatu [m³/m²·s]; *J_{w1}* - objętościowy strumień wody dejonizowanej [m³/m²·s];
J_{w2} - objętościowy strumień wody dejonizowanej po filtracji ścieków [m³/m²·s]

Wyniki badań

Wydajność procesu nanofiltracji

Na rysunku 1 przedstawiono objętościowy strumień wody dejonizowanej (*J_{w1}*), ścieków (*J_v*) oraz wody dejonizowanej po procesie oczyszczania ścieków (*J_{w2}*) w funkcji ciśnienia transmembranowego. Największą wydajnością charakteryzowały się membrany TS40 i NP010, najmniejszą membrana CA. Różnice w wydajności komercyjnych membran nanofiltracyjnych wynikały z rozbieżności w ich budowie strukturalnej i właściwościach powierzchniowych. Istotnymi czynnikami w tym przypadku są: struktura membrany, jej charakter hydrofobowo-hydrofilowy oraz grubość. Wysoka wydajność membrany NP010 wynikała z jej najbardziej otwartej struktury, o czym świadczy wartość granicznej masy molowej na poziomie 1000 Da. Oznacza to także, że membrana będzie zatrzymywać substancje o masie molowej nieprzekraczającej 1000 g/mol. Z kolei powodem wysokiego strumienia wody dejonizowanej membrany TS40 była jej grubość, najmniejsza spośród wszystkich badanych membran, oraz hydrofilowy charakter powierzchni.



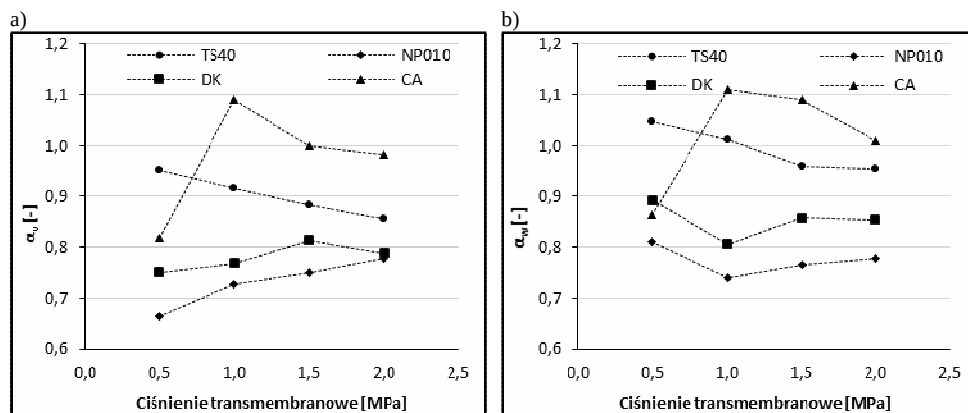
Rys. 1. Wydajność membran nanofiltracyjnych: a) TS40, b) NP010, c) DK, d) CA w trakcie filtracji wody dejonizowanej (J_{w1}), ścieków (J_v) i wody dejonizowanej po procesie (J_{w2}) w zależności od ciśnienia transmembranowego

Fig. 1. Deionized water, wastewater and deionized water after treatment fluxes versus transmembrane pressure for nanofiltration membranes: a) TS40, b) NP010, c) DK, d) CA

Jak wykazano na rysunku 1, strumień J_v i J_{w2} były mniejsze niż strumień wody dejonizowanej - J_{w1} w przypadku wszystkich membran. Największe różnice w analizowanych strumieniach zaobserwowano dla membrany NP010, a najmniejsze dla CA i TS40. Oznacza to, że powierzchnia membrany NP010 uległa największemu foulingowi. Świadczą o tym również wartości względnych strumieni wody dejonizowanej (α_w) i ścieków (α_v), które były najmniejsze dla membrany NP010. Niższe ich wartości wskazują na intensywniejsze pokrywanie powierzchni membrany warstwą zanieczyszczeń zawartych w nadawie i związaną z tym mniejszą jej wydajność hydrauliczną na wodę dejonizowaną w stosunku do wartości początkowej. Można więc stwierdzić, że mimo iż membrana NP010 charakteryzowała się wysoką początkową wydajnością hydrauliczną na

wodę dejonizowaną, to posiadała najgorszą odporność na zjawisko foulingu. Mogło to wynikać z najbardziej hydrofobowego charakteru powierzchni tej membrany, sprzyjającego adsorpcji zanieczyszczeń na jej powierzchni. Drugi powód największego foulingu membrany NP010 mógł być związany ze względnie wysoką porowatością tej membrany, pozwalającą na przechodzenie niektórych składników do struktury membrany. W efekcie zanieczyszczenia te osadzały się w porach membrany, powodując ich nieodwracalne blokowanie. Jednocześnie stwierdzono, że zjawisko foulingu tej membrany nasilało się wraz ze wzrostem ΔP .

Współczynniki względnego strumienia permeatu α_v dla membran TS40 i CA kształtowały się na poziomie 0,85-0,95 - TS40 i 0,81-1,1 - CA. W ich przypadku zjawisko foulingu nie było tak intensywne. Na podstawie wartości α_w można stwierdzić, że po procesie oczyszczania ścieków wydajność hydrauliczna tych membran na wodę zdejonizowaną wzrosła względem wartości początkowej. Zjawisko to mogło wynikać ze wzrostu hydrofilowości powierzchni membrany wskutek adsorpcji mineralnych składników zawartych w ściekach.



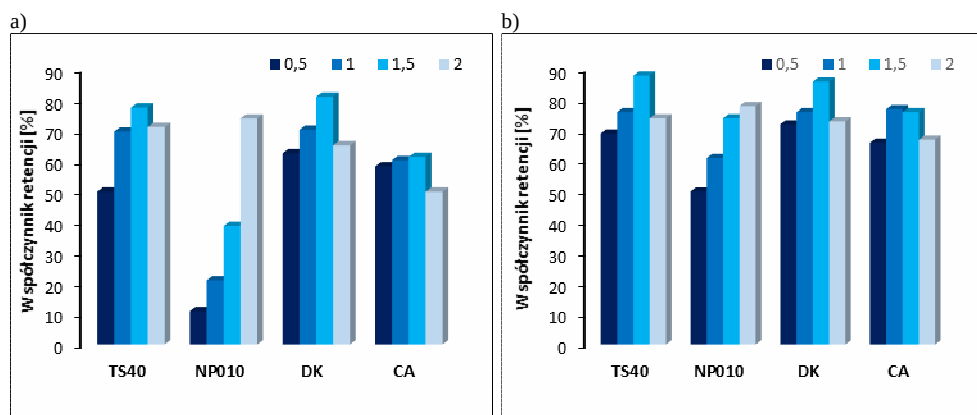
Rys. 2. Wpływ ciśnienia transmembranowego na względny strumień permeatu (a) i względny strumień wody dejonizowanej (b)

Fig. 2. Impact of transmembrane pressure on relative permeate flux (a) and relative deionized water flux (b)

Efektywność usuwania mikrozanieczyszczeń w procesie nanofiltracji

Stopień retencji bisfenolu A i nonylofenolu analizowano dla wszystkich badanych membran w zależności od ciśnienia transmembranowego (rys. 3). Zaobserwowano, że dla membran TS40, DK, CA efektywność usuwania BPA i NP rosła wraz ze wzrostem ciśnienia transmembranowego w granicach 0,5-1,5 MPa. Wyjątkiem była membrana NP010, w przypadku której stopień retencji rósł równomiernie wraz ze wzrostem ΔP w całym badanym zakresie ciśnień transmembranowych (0,5-2 MPa). Przy $\Delta P = 0,5$ MPa dla membrany NP010 współczynniki retencji badanych mikrozanieczyszczeń kształtowały się na poziomie 11% dla BPA i 50% dla NP. Natomiast przy $\Delta P = 2$ MPa współczynniki retencji BPA i NP były wysokie, a mianowicie 74% dla BPA i 78% dla NP. Niższa efektywność usuwania mikrozanieczyszczeń przy niskich wartościach ΔP była związana

z otwartą strukturą tej membrany i małym rozmiarem cząsteczek BPA i NP. Z kolei wzrastający stopień retencji mikrozanieczyszczeń wraz ze wzrostem ΔP można tłumaczyć coraz to większym foulingiem membrany NP010 (rys. 2). Częściowo zablokowana struktura membrany, a także placek filtracyjny stanowiły dodatkową barierę dla mikrozanieczyszczeń. Z przedstawionych danych wynika również, że efektywność usuwania mikrozanieczyszczeń była wyższa dla związku o bardziej hydrofobowym charakterze (nonylofenolu). Prawdopodobnie było to związane z intensywniejszym zjawiskiem adsorpcji związków o bardziej hydrofobowym charakterze.



Rys. 3. Wpływ ciśnienia transmembranowego i rodzaju membrany na współczynniki retencji: a) bisfenolu A i b) nonylofenolu

Fig. 3. Impact of transmembrane pressure and membrane on retention coefficient of: a) bisphenol A and b) nonylphenol

Podsumowanie

1. Największą początkową wydajnością hydrauliczną na wodę dejonizowaną charakteryzowała się membrana NP010, najmniejszą CA.
2. Zjawisko foulingu było najintensywniejsze na membranie NP010 i zwiększało się wraz ze wzrostem ΔP .
3. Największą odporność na zjawisko foulingu wykazywały membrany TS40 i CA z uwagi na bardziej hydrofilowy charakter ich powierzchni.
4. Efektywność usuwania mikrozanieczyszczeń była zależna od rodzaju membrany i ciśnienia transmembranowego. Najwyższe współczynniki retencji odnotowano dla membran TS40 i DK. W zakresie ΔP od 0,5 do 1,5 MPa zaobserwowano tendencję do wzrostu współczynników retencji badanych związków.
5. Efektywność usuwania mikrozanieczyszczeń była wyższa dla związku o bardziej hydrofobowym charakterze - nonylofenolu.

Podziękowania

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/n/st8/02413.

Współautorka Gabriela Kamińska jest stypendystką w projekcie DoktoRIS - program stypendialny na rzecz innowacyjnego Śląska, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, oraz w projekcie Etiuda, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu UMO-2014/12/T/ST8/00668.

Badania wykonano w czasie trwania stażu naukowego na Wydziale Nauk o Materiałach i Środowisku Akademii Techniczno-Humanistycznej w Bielsku-Białej realizowanego w ramach projektu „Budownictwo - mostem między tradycją regionu a nowoczesnością” (Projekt EU POKL.04.01.02-00-196/09-00).

Literatura

- [1] Zhong W, Wang D, Xu X. J Hazard Mater. 2012;217-218:286-292. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.03.026.
- [2] Zhang S, Zhang Q, Darisaw S, Ehie O, Wang G. Chemosphere. 2007;66:1057-1069. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.06.067.
- [3] Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, et al. Environ Sci Technol. 2002;36:1202-1211. DOI: 10.1021/es011055.
- [4] Chen H, Liang C, Wu Z, Chang E, Lin T, Chiang P, et al. Sci Total Environ. 2013;449:20-28. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.01.038.
- [5] Mortazavi S, Bakhtiari A, Sari A, Bahramifar N, Rahbarizade F. Mar Pollut Bull. 2013;64:1067-1073. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2012.02.010.
- [6] Bodzek M, Dudziak M. Desalination. 2006;198:24-32. DOI: 10.1016/j.desal.2006.09.005.
- [7] Schäfer A, Akanyeti I, Semião A. Adv Colloid Interfac. 2011;164:100-117. DOI: 10.1016/j.cis.2010.09.006
- [8] Mänttari M, Pihlajamäki A, Nyström M. J Membrane Sci. 2006;280:311-320. DOI: 10.1016/j.memsci.2006.01.034.

REMOVAL OF ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS BY MEANS OF NANOFILTRATION

¹ Institute of Water and Wastewater Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice

² Institute of Environmental Protection and Engineering, University of Bielsko-Biala

Abstract: The aim of this study was to the remove micropollutants with biological estrogenic activity from real effluent. Four types of nanofiltration membranes were used, differ in molecular weight cut-off and polymer material. The nanofiltration process was carried out in pressure installation enabling conduction of the process in the dead-end mode on membrane area of 144 cm². In dependence of operational parameters of the process (the transmembrane pressure), and type of membrane, retention coefficients of the tested compounds were in the range 10-90%. The study also determined the impact of the fouling phenomenon of membranes on change their surface characteristics.

Keywords: EDCs, nanofiltration, wastewater treatment

Michał CUPIAŁ¹, Anna SZELAĞ-SIKORA¹ i Marcin NIEMIEC²

DOBÓR DAWKI NAWOZÓW MINERALNYCH W GOSPODARSTWIE PRZY WYKORZYSTANIU PROGRAMU NAWOZY-2

DOSE SELECTION OF MINERAL FERTILIZERS ON THE FARM USING THE NAWOZY-2

Abstrakt: We współczesnym rolnictwie bardzo ważne jest właściwe nawożenie mineralne. Stosowanie niewłaściwych dawek powoduje zmniejszenie plonów roślin, zwiększenie kosztów uprawy oraz wpływa niekorzystnie na środowisko. Ten ostatni aspekt staje się coraz ważniejszy, gdyż niewykorzystane przez rośliny składniki mineralne stanowią dla środowiska duże zagrożenie. W celu prawidłowego doboru nawożenia mineralnego rolnik może skorzystać ze specjalistycznego oprogramowania, które pomoże mu osiągnąć pożądane efekty. Alternatywą komercyjnych programów jest autorski program Nawozy-2, opracowany w celu umożliwienia doboru prawidłowej dawki nawozów. Wykorzystane w nim algorytmy są uproszczone, a interfejs przyjazny dla użytkownika. Program cieszy się zainteresowaniem rolników, umożliwiając wyliczenie prawidłowego nawożenia oraz dobranie dawki nawozów mineralnych. W pracy przedstawiono opis programu oraz zastosowane w nim algorytmy i techniki obliczeniowe.

Słowa kluczowe: nawożenie mineralne, program komputerowy, algorytm obliczeniowy

Współczesne rolnictwo wymaga od producentów rolnych właściwego nawożenia mineralnego oraz stosowania odpowiedniej chemicznej ochrony roślin [1]. Brak właściwego zbilansowania składników względem potrzeb pokarmowych rośliny jest przyczyną zaburzeń jej funkcjonowania, a także niskiego wykorzystania przez nią poszczególnych składników [2]. Niewłaściwe dawki nawozów powodują zmniejszenie plonów roślin, zwiększenie kosztów uprawy oraz wpływają niekorzystnie na środowisko. Ten ostatni aspekt staje się coraz ważniejszy, gdyż niewykorzystane przez rośliny składniki mineralne stanowią dla środowiska duże zagrożenie. Do zaplanowania prawidłowego nawożenia mineralnego rolnik może wykorzystać specjalistyczne oprogramowanie, które pomoże mu w osiągnięciu pożądanych efektów.

Rolnictwo precyzyjne zakłada dokładne dozowanie nawozów mineralnych w ilości dostosowanej do potrzeb pokarmowych roślin. W połączeniu z nawigacją GPS nowoczesne rozsiewacze mogą dozować nawozy, zmieniając dawkę w różnych częściach pola, jednak są to urządzenia drogie, możliwe do zastosowania na dużych polach w gospodarstwach wielkoobszarowych. Gospodarstwa kilkuhektarowe lub kilkunastohektarowe, jakich zdecydowana większość jest w naszym kraju, nie mogą pozwolić sobie na zakup i stosowanie tak drogiego sprzętu [3]. Rolnicy zmuszeni są więc do stosowania dawek nawozowych wyliczonych w sposób uproszczony. Obliczenia dawki nawozu oparte mogą być o analizy składników mineralnych NPK w glebie, ale często dobierane są bez tych

¹ Instytut Inżynierii Rolniczej i Informatyki, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, tel. 12 662 46 18, email: Michal.Cupial@ur.krakow.pl

² Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. A. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, tel./fax 12 662 43 41

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'13, Jarnołtówek, 23-26.10.2013

badania, a jedynie na podstawie informacji o rodzaju uprawianej rośliny i spodziewanym plonie.

Prawidłowy dobór dawki nawozów mogą umożliwić dostępne programy komputerowe, do których należą NawSald, Naw-3, InfoPlant oferowane przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa [4]. Programy te, posiadające bazy danych z informacjami o nawozach oraz roślinach i ich potrzebach pokarmowych, są często dość skomplikowane, za ich użytkowanie trzeba zapłacić. Rolnicy, którzy z reguły są przyzwyczajeni do doboru nawożenia w sposób tradycyjny, bez udziału komputera, bardzo rzadko decydują się na zakup takiego programu [5].

Alternatywą komercyjnych programów jest autorski program Nawozy-2, opracowany w celu umożliwienia doboru prawidłowej dawki nawozów [6]. Wykorzystane w nim algorytmy są uproszczone, a interfejs przyjazny dla użytkownika. Program cieszy się zainteresowaniem rolników, umożliwiając wyliczenie prawidłowego nawożenia oraz dobranie dawki nawozów mineralnych. W pracy przedstawiono opis programu oraz zastosowane w nim algorytmy i techniki obliczeniowe.

Założenia wejściowe, metody obliczeniowe

W czasie tworzenia oprogramowania podstawowym założeniem było uproszczenie w możliwie największym zakresie obsługi programu. W odróżnieniu od komercyjnych programów użytkownik aplikacji Nawozy-2 może wprowadzać jedynie minimalny zakres danych koniecznych do wykonywania obliczeń. Konsekwencją tego było uproszczenie algorytmów obliczeniowych wykorzystywanych do wyliczania niezbędnych dawek nawozów, co skutkuje jednakże mniejszą dokładnością obliczeń.

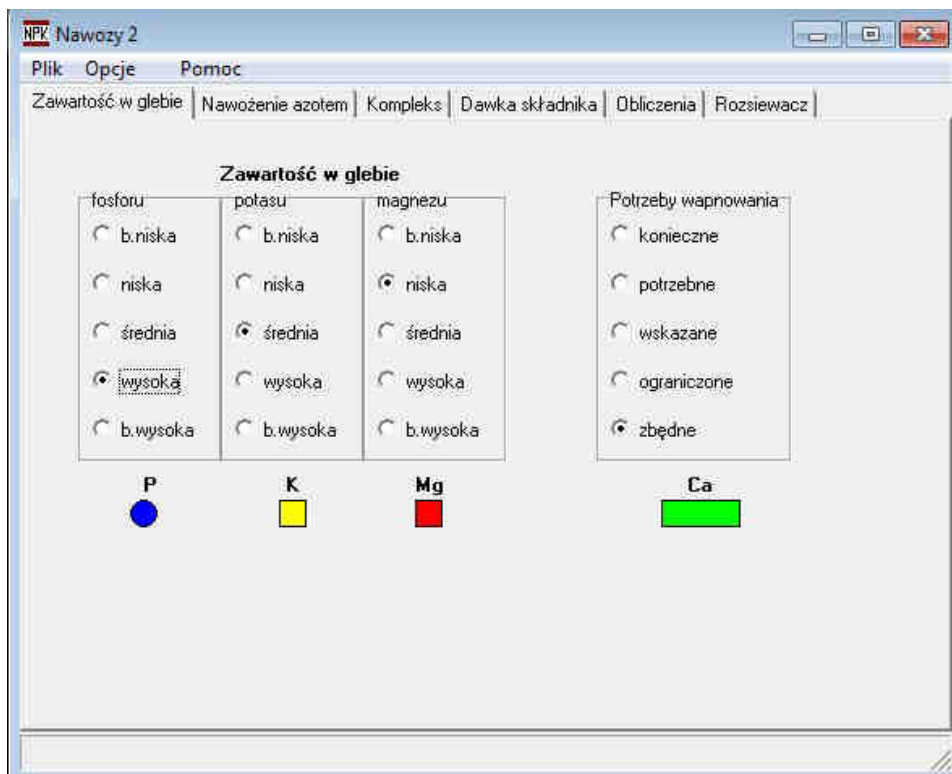
Założono, że aby zaplanować dawkę nawozów, użytkownik poda wymagane dane znajdujące się w kolejnych zakładkach. W przypadku braku tych informacji do obliczeń przyjęte zostaną wartości średnie. W konsekwencji tego dokładność wyliczonej dawki nawozowej będzie zależała od ilości wprowadzonych danych, a pośrednio od poziomu wiedzy użytkownika. W szczególności użytkownik znający dokładne potrzeby pokarmowe roślin może wyliczać i dobierać dawki konkretnych nawozów (optymalizować koszty). W innym przypadku, nawet posiadając minimalną wiedzę, uzyskać może informacje, ile i jakie nawozy powinien zastosować na konkretnym polu. Poza funkcjonalnością, pozwalającą dobierać prawidłową dawkę nawozów mineralnych, w programie udostępniony został moduł umożliwiający prawidłowe skalibrowanie rozsiewacza nawozów przy wykorzystaniu różnych metod pomiaru (droga, czas przejazdu, ilość wysiewu, szybkość jazdy itp.).

Opis systemu

Wyliczenie potrzeb pokarmowych NPK odbywa się na podstawie określenia zasobności gleby (zawartość składnika w glebie od bardzo niskiej do bardzo wysokiej). W przypadku azotu zastosowano ocenę punktową na podstawie wprowadzonych przez użytkownika informacji. Potrzeby pokarmowe w zakresie azotu, fosforu i potasu pobierane są z tabeli znajdującej się w pliku dołączonym do programu [7]. Format tabeli jest określony i opisany w pliku, co daje możliwość edycji w celu np. wprowadzenia do bazy nowej rośliny. Baza danych obejmuje najbardziej popularne nawozy mineralne, a program

umożliwia modyfikowanie tego zestawu (z poziomu programu). Pobieranie danych z tabeli jest pewnym uproszczeniem, ale daje możliwość modyfikacji bazy danych programu bez ingerencji w sam program. W konsekwencji takiej zmiany nie musi dokonywać informatyk. Po wyliczeniu potrzeb pokarmowych roślin i podaniu powierzchni upraw program proponuje minimalne dawki nawozów, jakie należy zastosować. Wygodny interfejs pozwala na modyfikowanie tych dawek, a użytkownik otrzymuje natychmiastową informację, czy da się przy zmienionych ustaleniach zbilansować nawozy oraz jakie koszty należy ponieść na ich zakup.

Przykładowe zrzuty ekranu wybranych zakładek programu Nawozy-2 przedstawiono na rysunkach 1-3. W pełnym zakresie obliczeń użytkownik programu zaczyna od podania zawartości składników w glebie (na podstawie np. badań zasobności) (rys. 1). Kolejnym krokiem jest podanie danych w drugiej zakładce, umożliwiających wyliczenie potrzeb nawożenia azotem. Program wylicza punkty i sygnalizuje użytkownikowi, jak duże są potrzeby nawożenia tym składnikiem.



Rys. 1. Przykładowy zrzut programu Nawozy-2 (zakładka: zawartość składników w glebie)

Fig. 1. Screenshot dump of the program Nawozy-2 (table of content of components the soil)

Kolejnym krokiem jest określenie kompleksu przydatności rolniczej oraz kategorii agronomicznej gleby wpływających zarówno na potrzeby nawozowe, jak i wielkość

plonów. W szczególnych przypadkach na wybranych kompleksach nie powinny być uprawiane pewne rośliny - program nie wylicza w takim przypadku dawki nawozów. W kolejnej zakładce, po wybraniu rośliny z listy, program podaje dawkę czystego składnika przy sugerowanym plonie (rys. 2). Rolnik, znając dokładną dawkę czystego składnika, może podać ją w tym momencie (pomijając wcześniejsze etapy), aby użyć programu wyłącznie do wyliczenia ilości nawozów mineralnych.

NPK Nawozy 2

Plik Opcje Pomoc

Zawartość w glebie Nawożenie azotem Kompleks **Dawka składnika** Obliczenia Rozsiewacz

Roślina: **pszenica ozima** Plon [t/ha]: 5.0

Powierzchnia: 1.00 ha

Dawki czystego składnika [kg/ha]

	Potrzeby/Zawartość	Dawka [kg/ha]
Azot N	duże	115
Fosfor P	średnia	45
Potas K	średnia	75
Wapno Ca	zbędne	0
Magnez Mg	średnia	

Jak liczyć

☐ Poddaj dawkę

UWAGA!
 Jeśli zaznaczysz to pole:
 - musisz wpisać ręcznie dawkę
 - nie będą przeliczane zawartości w glebie, potrzeby itp.
 - ilość nawozów wyliczona będzie na podstawie wpisanej dawki

Rys. 2. Przykładowy zrzut programu Nawozy-2 (zakładka: dawka czystego składnika)

Fig. 2. Screenshot dump of the program Nawozy-2 (a dose of pure substance)

Zakładka obliczenia (rys. 3) pozwala na wyliczenie ilości (w [kg]) poszczególnych (wybranych z listy) nawozów. Program wylicza w tym miejscu także orientacyjny koszt ich zakupu. W opcjach programu istnieje możliwość przełączenia tego okna na formę arkusza podającego szczegółowe wyliczenia. Dane te mogą być modyfikowane i przeliczane na bieżąco. W opcjach programu modyfikować można także wbudowaną w program bazę nawozów (np. przy zmianie cen).

Ostatnia zakładka programu to kalibracja rozsiewacza nawozu na podstawie wyliczonych wcześniej wartości oraz uzyskanych w wysiewie próbnym.

Program Nawozy-2 współpracuje z programem OTR-7 (Organizator Techniki Rolniczej), służącym do projektowania parku maszynowego w gospodarstwach. Projektując technologię produkcji roślinnej, można wyliczyć dawkę nawozów i przenieść te dane pomiędzy programami.

Nawóz	Procent	Ilość [kg]	Kwota [zł]
1. polifoska 8-24-24	100	188	413,60
2. sól potasowa	100	50	89,50
3. mocznik	100	217	390,60
4.	100		
5.	100		
RAZEM	N-P-K = 0-0-0	455	893,70 zł

Rys. 3. Przykładowy zrzut programu Nawozy-2 (zakładka: obliczenia dawki poszczególnych nawozów)

Fig. 3. Screenshot dump of the program Nawozy-2 (calculation of doses of fertilizers)

Podsumowanie i wnioski

Autorski program Nawozy-2 przeznaczony jest do wykonywania uproszczonych obliczeń, a jego podstawowym atutem jest prosta obsługa. Zaawansowane techniki obliczeniowe wykorzystywane w komercyjnych programach sprawiają, że rolnicy często rezygnują z takich obliczeń, nie mogąc poradzić sobie z ilością dostępnych funkcji. Pewną barierą w zastosowaniu tych aplikacji jest ich cena, opisywany program jest bezpłatny i dostępny na stronie autora www.mcphk.net. Z informacji docierających do autora aplikacji wynika, że program jest używany przez rolników. Z jego pomocą realizowane są także przez różne firmy i instytucje szkolenia dla rolników.

Trzeba nadmienić, że nawet uproszczony sposób obliczeń, który zastępuje nawożenie realizowane w sposób tradycyjny, wpływa na ochronę środowiska naturalnego oraz lepsze wykorzystanie składników pokarmowych przez rośliny uprawne.

Prezentowany program jest ciągle rozwijany i uzupełniany o nowe funkcje (przy zachowaniu jego prostej obsługi). Część z nich wprowadzonych zostało na skutek sugestii użytkowników aplikacji. Docelowo planowane jest wprowadzenie w miejsce danych tabelarycznych szczegółowych algorytmów obliczeniowych, dedykowanych poszczególnym roślinom, oraz uzupełnienie programu o funkcje wyliczania nawożenia organicznego. W planach jest także dostosowanie aplikacji do obliczeń umożliwiających wykorzystanie jej w gospodarstwach realizujących zasadę rolnictwa zrównoważonego.

Literatura

- [1] Matyjaszczyk E. Prevention methods of pest control and their use in Poland. *Pest Manage Sci.* 2014;71(4):485-491. DOI: 10.1002/ps.3795.
- [2] Gaj R. The effect of different phosphorus and potassium fertilization on plant nutrition in critical stage and yield of winter triticale. *J Central European Agricul.* 2012;13(4):704-716. DOI: 10.5513/JCEA01/13.4.1116.
- [3] Cupiał M, Klimas A, Szeląg-Sikora A, Niemiec M, Sikora J. Problem of management of nutrients in organic farms. *Proc ECOpole.* 2013;7(2):553-560. DOI: 10.2429/proc.2013.7(2)073.
- [4] Zaliwski A, Pietruch C. Narzędzia informatyczne w produkcji roślinnej. *Inż Roln.* 2007;2(90):333-339.
- [5] Kocira S, Lorencowicz E. Wykorzystanie technik komputerowych w gospodarstwach rodzinnych. *Inż Roln.* 2011;6(131):77-83.
- [6] Cupiał M. Program wspomagający nawożenie mineralne "NAWOZY 2". *Inż Roln.* 2005;14(74):65-68.
- [7] Jadczyzyn T, Kowalczyk J, Lipiński W. Zalecenia nawozowe dla roślin uprawy polowej i trwałych użytków zielonych. Puławy: Wyd IUNG-PIB; 2010.

DOSE SELECTION OF MINERAL FERTILIZERS ON THE FARM USING THE NAWOZY-2

¹Institute of Agricultural Engineering and Informatics, Faculty of Production and Power Engineering
University of Agriculture in Krakow

²Faculty of Agriculture and Economics, University of Agriculture in Krakow

Abstract: In the modern agriculture is very important to the proper application of mineral fertilizers. The use of incorrect dosages will reduce crop yields, increasing the cost of cultivation and adversely affect the environment. This last aspect is becoming increasingly important, because not used by plants minerals are the major threat to the environment. For proper selection of mineral fertilizers a farmer can use specialized software that will help him to achieve the desired results. An alternative to commercial software is author's program Nawozy-2, designed to allow the selection of the correct dosage of fertilizers. Used in this program the algorithms are simplified and interface is user-friendly. Program to attract the interest of farmers, enabling the calculation of the correct dosage adjustment of fertilization and quantity mineral fertilizers. The paper presents a description of the program and the algorithms and computational techniques used in it.

Keywords: mineral fertilizers, computer program, computational algorithm

Iwona DESKA¹ i Katarzyna ŁACISZ¹

MOŻLIWOŚCI ROZPRZESTRZENIANIA SIĘ LEKKICH CIECZY ORGANICZNYCH W OŚRODKU POROWATYM O BUDOWIE WARSTWOWEJ

THE POSSIBILITY OF THE LIGHT NON-AQUEOUS PHASE LIQUIDS MIGRATION IN THE LAYERED POROUS MEDIUM

Abstrakt: Lekkie ciecze organiczne niemieszające się z wodą (LNAPL), dostające się do środowiska wodno-gruntowego, stanowią dla niego bardzo poważne zagrożenie. W przypadku występowania warstwy LNAPL na zwierciadle wody podziemnej pierwszy etap remediacji powinno stanowić jej szczypanie. W celu prawidłowego zaprojektowania i monitorowania operacji szczypania niezbędna jest znajomość rzeczywistej miąższości LNAPL lub jednostkowej objętości LNAPL, które ustala się na podstawie miąższości zmierzonej w studni obserwacyjnej (tzw. miąższości pozornej). Miąższość pozorna może być nawet kilka razy wyższa od miąższości rzeczywistej, a różnica między nimi zależy od właściwości gruntu oraz właściwości i ilości LNAPL na zwierciadle wody podziemnej. Celem badań prowadzonych w ramach niniejszej pracy było ustalenie, czy na skutek obecności LNAPL w otworze obserwacyjnym może dojść do wtórnego zanieczyszczenia warstw dobrze przepuszczalnych położonych poniżej plamy LNAPL na zwierciadle wody w ośrodku porowatym o budowie warstwowej. Otrzymane wyniki wskazują, że znaczna część LNAPL może przedostawać się ze studni do warstwy o wysokiej przepuszczalności, jeżeli znajdują się one w hydraulicznym kontakcie. Dodatkowo, infiltracja LNAPL do warstwy dobrze przepuszczalnej wpływa na zmianę wartości miąższości pozornej, co może komplikować prawidłowe ustalenie miąższości rzeczywistej lub jednostkowej objętości LNAPL na zwierciadle wody podziemnej.

Słowa kluczowe: LNAPL, miąższość rzeczywista, miąższość pozorna, otwór obserwacyjny, ośrodek porowaty o budowie warstwowej

Substancje ropopochodne (SR) dostają się do środowiska gruntowo-wodnego m.in. na skutek awarii rurociągów i cystern transportujących paliwa, w wyniku wycieków ze zbiorników magazynujących paliwa [1]. Niewielka ich ilość może przesączać się do gruntów i wód podziemnych wraz z odciekami z nieprawidłowo zabezpieczonych składowisk odpadów [2] oraz na skutek eksploatacji złóż paliw kopalnych [3].

Szczególne zagrożenie dla gruntów i wód podziemnych stanowią lekkie ciecze organiczne niemieszające się z wodą (LNAPL), które, z uwagi na swoje właściwości, mogą unosić się na powierzchni zwierciadła wody podziemnej i przemieszczać się w ośrodku porowatym zgodnie z kierunkiem filtracji wód podziemnych [1]. Grunt, przez który przemieściła się plama LNAPL, zostaje zanieczyszczony rezydualną (resztkową) frakcją cieczy organicznej, która ma postać pojedynczych kropli uwieczonych pomiędzy ziarnami gruntu, współwystępujących w porach wraz z wodą oraz powietrzem porowym [4].

Zarówno mobilna LNAPL, jak i znajdująca się w fazie rezydualnej (niemobilnej, nieciągłej) stanowią źródło wtórnego zanieczyszczenia warstwy wodonośnej rozpuszczalnymi frakcjami produktów ropopochodnych [5]. Szczególne zagrożenie

¹ Instytut Inżynierii Środowiska, Politechnika Częstochowska, ul. Brzeźnicka 60A, 42-200 Częstochowa, tel. 34 325 09 17, email: ideska@is.pcz.czyst.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

stanowią substancje o wysokiej rozpuszczalności, ale również substancje słabo rozpuszczalne w wodzie, np. wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), w określonych warunkach mogą być wymywane z zanieczyszczonego gruntu i dostawać się do wód podziemnych [6]. Bezpośrednie skażenie zasobów wodnych nie jest jedynym skutkiem obecności SR w środowisku wodno-gruntowym. Substancje te mogą bowiem niekorzystnie zmieniać pierwotne właściwości izolacyjne gruntów spoistych, tworzących naturalne bariery ochronne dla zbiorników wód podziemnych, co może w konsekwencji prowadzić do wtórnego zanieczyszczenia zasobów wodnych [7]. Obecność SR w ośrodku porowatym prowadzi nie tylko do zmian morfologii gruntu, ale również do zakłócenia przebiegu procesów biologicznych na skutek skażenia związkami toksycznymi [8].

W przypadku zanieczyszczenia warstwy wodonośnej substancjami ropopochodnymi należy niezwłocznie przystąpić do akcji mającej na celu zaprojektowanie i przeprowadzenie remediacji gruntu i wód podziemnych [9]. W przypadku obecności LNAPL na zwierciadle wody podziemnej wstępny etap remediacji powinien polegać na jej szczypaniu. Dopiero po usunięciu wolnej, mobilnej fazy LNAPL można przystąpić do właściwej remediacji, prowadzonej za pomocą metod wykorzystujących procesy fizyczne, fizykochemiczne lub biologiczne [10]. Prawidłowe zaprojektowanie procesu szczypania wymaga znajomości zasięgu plamy zanieczyszczenia, zarówno miąższości, jak i poziomego rozprzestrzenienia. Prowadzone badania mają też na celu ustalenie, czy plama zanieczyszczenia jest mobilna, czy rozprzestrzeniła się na zwierciadle wody podziemnej i jaki jest kierunek jej migracji [9].

Badania zasięgu i migracji plamy LNAPL bardzo często są prowadzone z zastosowaniem otworów obserwacyjnych odwierconych w zanieczyszczonej warstwie wodonośnej [9]. Na podstawie pomiaru miąższości warstwy LNAPL w otworach obserwacyjnych (tzw. miąższości pozornej LNAPL) oraz odpowiednich właściwości gruntu i LNAPL można ustalać miąższość wolnego produktu na zwierciadle wody podziemnej w ośrodku porowatym (tzw. miąższość rzeczywistą) [11, 12] lub jednostkową objętość LNAPL [13-15].

Określenie miąższość rzeczywistą, zgodnie z modelem rozwiniętym w latach 80. XX wieku (tzw. modelem „Pancake”), oznacza miąższość tej strefy gruntu, w której w przestrzeni porowej występuje LNAPL [16]. Model ten wprowadza uproszczenie, że LNAPL na zwierciadle wody tworzy ciągłą warstwę, w której prawie 100% porów wypełnionych jest cieczą organiczną. Tymczasem, oprócz LNAPL, w porach strefy zanieczyszczonej występuje także pewna ilość wody oraz powietrza. W związku z tym objętość cieczy organicznej ustalona w oparciu o ten model jest zazwyczaj zawyżona [15, 16]. Poza tym, z uwagi na niejednorodność ośrodka porowatego i zachodzące w nim zjawiska kapilarne, dolna granica strefy gruntu zanieczyszczonego LNAPL zazwyczaj nigdy nie przebiega idealnie poziomo i często jest dość nieregularna. Niemniej jednak, określanie miąższości pozornej może być przydatne do wstępnego, przybliżonego oszacowania miąższości i głębokości zalegania zanieczyszczonego gruntu oraz wstępnego ustalenia wysokości profilu nasycenia gruntu substancją ropopochodną [17].

Bardziej dokładnie zachowanie LNAPL w ośrodku wodno-gruntowym opisuje model opracowany w latach 90. ubiegłego stulecia - tzw. model wielofazowy (ang. *multiphase model*) [14-16]. W modelu tym brany jest pod uwagę fakt, że w strefie gruntu zanieczyszczonej produktem ropopochodnym, obok LNAPL, w przestrzeni porowej

występują także woda i powietrze. Stopień nasycenia ośrodka gruntowego LNAPL w zasadzie nigdy nie osiąga 100% i przeważnie zawiera się w przedziale od 5 do ok. 70% [14, 16]. Nasycenie to w profilu glebowym strefy zanieczyszczonej przyjmuje zróżnicowane wartości w zależności od wysokości położenia danego punktu względem rzędnej zwierciadła wody oraz usytuowania warstwy LNAPL w otworze obserwacyjnym. Najwyższy stopień nasycenia LNAPL obserwuje się w bezpośrednim sąsiedztwie zwierciadła wody [13, 16]. Zgodnie z modelem wielofazowym, to nie miąższość rzeczywista, ale tzw. jednostkowa objętość LNAPL (ang. *LNAPL specific volume*) pozwala na bardziej precyzyjne oszacowanie objętości substancji ropopochodnej, jaka może zostać szcerpana z ośrodka wodno-gruntowego w ramach remediacji wstępnej [14]. Objętość jednostkowa jest to objętość LNAPL przypadająca na jednostkę powierzchni zwierciadła wody. Ma ona wymiar liniowy i jest jednoznaczna z wysokością słupa LNAPL w profilu gruntowym, jaka pozostałaby w przypadku usunięcia gruntu, wody i powietrza [14, 15]. Objętość jednostkowa jest określana przy zastosowaniu zróżnicowanych metod, w których podstawowym parametrem są: miąższość pozorna LNAPL, właściwości LNAPL oraz krzywe zależności między ciśnieniem kapilarnym a nasyceniem gruntu płynami - LNAPL, wodą oraz powietrzem [13-16]. Wartość objętości jednostkowej jest zawsze mniejsza niż miąższości rzeczywistej [14].

Zarówno obliczenie miąższości rzeczywistej, jak i jednostkowej objętości LNAPL wymaga określenia miąższości pozornej LNAPL [16]. Miąższość pozorna może być nawet kilka razy większa od rzeczywistej, a dolna granica warstwy LNAPL w studni pojawia się zazwyczaj znacznie niżej niż dolna granica występowania zanieczyszczenia ropopochodnego w warstwie wodonośnej [12, 14, 18, 19]. W związku z tym otwory obserwacyjne, w których ma być widoczna cała miąższość pozorna LNAPL (od granicy rozdziału faz powietrze-LNAPL do granicy rozdziału faz LNAPL-woda w studni), muszą mieć odpowiednio dużą głębokość.

Należy jednak podkreślić, że pojawienie się warstwy LNAPL w studni obserwacyjnej może być efektem nie tylko obecności cieczy organicznej na zwierciadle wody podziemnej, ale również jej obecności w makroporach (szczelinach, pęknięciach), zlokalizowanych pod zwierciadłem wody podziemnej, pozostających w kontakcie hydraulicznym z soczewką LNAPL na zwierciadle wody [20]. Może dojść do sytuacji, w której, mimo zlokalizowania warstwy LNAPL w otworze obserwacyjnym, jedynie niewielka ilość cieczy organicznej będzie obecna na powierzchni swobodnego zwierciadła wody, a większość znajdzie się w warstwie utworów dobrze przepuszczalnych, zlokalizowanej pod zwierciadłem wody, mającej kontakt z soczewką LNAPL (tzw. napięta LNAPL) [20, 21].

Eksperyment scharakteryzowany w niniejszym artykule ma na celu zbadanie, jak zachowuje się LNAPL obecna w otworze obserwacyjnym, gdy otwór ten odwiercony jest w niejednorodnym ośrodku wodno-gruntowym o budowie warstwowej, w którym pomiędzy warstwami o niższej przepuszczalności występują warstwy o bardzo wysokiej przepuszczalności. Celem badań jest także ustalenie, czy w takiej sytuacji może dojść do wtórnego zanieczyszczenia warstw słabiej przepuszczalnych położonych powyżej warstw dobrze przepuszczalnych zanieczyszczonych LNAPL. Innym celem przeprowadzonych badań jest określenie, czy kontakt warstw dobrze przepuszczalnych z LNAPL, obecną w otworze obserwacyjnym, może wpłynąć na miąższość pozorną, a tym samym na oszacowanie objętości LNAPL możliwej do szcerpania.

Metodyka badań

Badania możliwości rozprzestrzeniania LNAPL były prowadzone z zastosowaniem 3 rodzajów gruntów, w tym 2 typów gruntów piaszczystych, których właściwości podano w tabeli 1, i jednego rodzaju żwiru, stanowiącego warstwę o wysokiej przepuszczalności. W skład żwiru wchodziły ziarna o średnicach od 5 do 20 mm. Jako LNAPL zastosowano olej rzepakowy o gęstości $\rho = 918 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ i lepkości dynamicznej $\mu = 0,07 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (w temperaturze 20°C).

Właściwości gruntów zastosowanych w badaniach

Tabela 1

Properties of soils used in the experiments

Table 1

Grunt	Rodzaj gruntu	Średnica miarodajna d_{10} [mm]	Współczynnik nierównomierności uziarnienia wg Hazena U [-]	Współczynnik filtracji w temperaturze 10°C k_{10} [m/d]
1	piasek	0,20	1,25	12,8
2	piasek	0,19	1,58	13,1

Badania prowadzono w wyskalowanej kolumnie z plexiglasu o średnicy wewnętrznej 10 cm i długości ok. 70 cm. W kolumnie, przy ścianie, została wbudowana studnia obserwacyjna o przekroju półkolistym i średnicy 3,5 cm, zafiltrowana na całej długości, o rozmiarze oczek filtra 0,5 cm. Ścianka studni została zabezpieczona włókniną filtracyjną, aby ziarna gruntu nie przesywały się do wnętrza otworu. W kolumnie badawczej została wbudowana kolumna wyrównawcza zafiltrowana od dołu, o średnicy 3 cm, której zadaniem było wyrównywanie poziomów płynów w układzie badawczym. Kolumna została wypełniona naprzemiennie układanymi warstwami gruntów 1, 2 oraz żwiru. Warstwy zostały umieszczone w przybliżeniu na następujących głębokościach, licząc od poziomu powierzchni gruntu: 0-32,4 cm - grunt 1; 32,4-37,5 cm - grunt 2; 37,5-43,5 cm - żwir; 43,5-54,0 cm - grunt 1; 54,0-58,0 - grunt 2; 58,0-64 cm - żwir. Ponieważ granice między poszczególnymi warstwami nie przebiegały idealnie poziomo, powyższe wartości odzwierciedlają średnią głębokość położenia danej granicy. Odchylenia od tych wartości mogą wynosić do ok. ± 1 cm. Warstwy dobrze przepuszczalne, zbudowane ze żwiru, zostały oddzielone od warstw słabiej przepuszczalnych (piasków) za pomocą włókniny filtracyjnej w celu uniemożliwienia przemieszczania się ziaren piasku do przestrzeni porowej, zawartej między ziarnami żwiru. W górnej warstwie gruntu umieszczono rurkę perforowaną do zatłaczania LNAPL, której dolna krawędź była położona powyżej strefy wzniosu kapilarnego wody, tuż pod powierzchnią gruntu. Tak przygotowana kolumna badawcza została wypełniona wodą w taki sposób, aby zwierciadło wody znalazło się na wstępnie ustalonym poziomie (kilkanaście centymetrów poniżej dolnej krawędzi rurki do zatłaczania LNAPL).

Po 4 dobach do kolumny, bezpośrednio powyżej strefy wzniosu kapilarnego, zatłoczono 100 cm^3 LNAPL, zabarwionej za pomocą barwnika Sudan III, w celu umożliwienia obserwacji warstwy cieczy organicznej poprzez przezroczyste ścianki kolumny. Po następnych 4-5 dobach odczytano wartość miąższości pozornej w studni

obserwacyjnej. Procedury zatłaczania LNAPL i odczytywania miąższości pozornej były powtarzane 5 razy (przy piątym zatłoczeniu do układu dodano jedynie 45 cm³ LNAPL z powodu zbliżenia się dolnej granicy cieczy organicznej w studni do dna kolumny). Poziom zwierciadła wody w trakcie trwania eksperymentu był utrzymywany na stałym poziomie. Górna część kolumny badawczej została zabezpieczona przed parowaniem w trakcie trwania eksperymentu. Eksperyment był prowadzony w temperaturze $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Wyniki badań i dyskusja

W tabeli 2 przedstawiono zmiany wartości miąższości pozornej LNAPL w zależności od objętości LNAPL w układzie badawczym. Położenie swobodnego zwierciadła wody było utrzymywane w trakcie trwania eksperymentu na stałym poziomie, który wynosił $17,2 \pm 0,1$ cm pod powierzchnią gruntu.

Tabela 2

Objętości LNAPL w kolumnie i położenie górnej i dolnej granicy warstwy LNAPL w studni

Table 2

LNAPL volumes in the column and vertical distributions of LNAPL layer in the well

Nr próby	Objętość zatłoczonej LNAPL [cm ³]	Objętość LNAPL w kolumnie [cm ³]	Głębokość do górnej granicy warstwy LNAPL w studni [cm]	Głębokość do dolnej granicy warstwy LNAPL w studni [cm]	Miąższość pozorna LNAPL [cm]	Przyrost miąższości pozornej [cm]
1	100	100	$17,0 \pm 0,1$	$24,5 \pm 0,1$	$7,5 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,2$
2	100	200	$15,5 \pm 0,1$	$33,7 \pm 0,1$	$18,2 \pm 0,2$	$10,7 \pm 0,4$
3	100	300	$15,0 \pm 0,1$	$37,8 \pm 0,1$	$22,8 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,4$
4	100	400	$14,9 \pm 0,1$	$41,8 \pm 0,1$	$26,9 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,4$
5	45	445	$14,5 \pm 0,1$	$42,1 \pm 0,1$	$27,6 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,4$

Otrzymane wyniki wskazują, że najwyższe wzrosty wartości miąższości pozornej obserwowano na początku eksperymentu (pomiar 1 i 2). Wzrost miąższości po drugim zatłoczeniu był najwyższy i wyniósł $10,7 \pm 0,4$ cm (przy miąższości pozornej równej $18,2 \pm 0,2$ cm). Wzrosty miąższości pozornej po trzecim i czwartym zatłoczeniu LNAPL były już zdecydowanie niższe i wyniosły odpowiednio: $4,6 \pm 0,4$ cm oraz $4,1 \pm 0,4$ cm. Najmniejszy przyrost miąższości pozornej, wynoszący jedynie $0,7 \pm 0,4$ cm, zaobserwowano po ostatnim, piątym, zatłoczeniu LNAPL.

Spadek przyrostu miąższości LNAPL po trzecim i czwartym zatłoczeniu cieczy organicznej do układu był spowodowany dotarciem dolnej granicy warstwy LNAPL w studni do pierwszej warstwy dobrze przepuszczalnej i przedostawaniem się części LNAPL w głąb tej warstwy (rys. 1). Wyniki zamieszczone w tabeli 2 odzwierciedlają usytuowanie LNAPL w studni po kilku dniach od każdego zatłoczenia. Tymczasem, począwszy od trzeciego zatłoczenia, dolna granica warstwy LNAPL w studni, obserwowana tuż po dodaniu cieczy organicznej, była położona niżej niż ta ustabilizowana po kilku dniach, co było związane z powolną infiltracją LNAPL do wnętrza warstwy dobrze przepuszczalnej. Na rysunku 1 widać, że około 2/3 przestrzeni porowej w warstwie dobrze przepuszczalnej (jej górna część) jest zajęte przez LNAPL, a około 1/3 tej warstwy (dolna część) zajmuje woda. Początkowo, po czwartym zatłoczeniu cieczy organicznej, LNAPL była obecna jedynie w studni, dając w efekcie miąższość pozorną o kilka

centymetrów wyższą niż ostateczna wartość podana w tabeli 2, o czym świadczy jasny osad na ścianie studni, bezpośrednio poniżej warstwy LNAPL. Jednak nadmiar LNAPL stopniowo infiltrował do warstwy dobrze przepuszczalnej, prowadząc do zmniejszania się miąższości pozornej.



Rys. 1. LNAPL widoczna w wyżej położonej warstwie dobrze przepuszczalnej po jej czwartym zatłoczeniu

Fig. 1. LNAPL visible in the upper part of upper high permeable layer after its fourth addition

Z kolei bardzo wyraźny spadek przyrostu miąższości po piątym zatłoczeniu LNAPL był spowodowany nie tylko dodaniem zmniejszonej porcji oleju (jedynie 45 cm^3), ale przede wszystkim ciągłą infiltracją LNAPL do pierwszej warstwy dobrze przepuszczalnej i dotarciem dolnej granicy LNAPL w studni do drugiej warstwy dobrze przepuszczalnej. W wyniku tej infiltracji, po kilku dniach od piątego zatłoczenia, dolna granica LNAPL, która początkowo pojawiła się w pobliżu dna studni, przesunęła się wyżej i ustabilizowała się na głębokości $41,8 \pm 0,1 \text{ cm}$ pod powierzchnią gruntu, podobnie jak po czwartym zatłoczeniu.

Dalsze obserwacje, prowadzone po ok. 2 miesiącach od ostatniego zatłoczenia LNAPL, wskazują, że w tym okresie następowało powolne pionowe przesączanie się cieczy organicznej z pierwszej warstwy o wysokiej przepuszczalności lub ewentualnie bezpośrednio ze studni do wyżej leżących warstw słabiej przepuszczalnych, zbudowanych z gruntów 1 i 2. Ostatecznie, duża ilość LNAPL zatrzymała się w okolicach poziomu swobodnego zwierciadła wody oraz strefy wzniosu kapilarnego wody, stanowiąc wtórne zanieczyszczenie ośrodka porowatego. Górna krawędź plamy tego zanieczyszczenia znalazła się na głębokości ok. 9 cm, a dolna ok. 19 cm pod powierzchnią gruntu, podczas gdy na etapie zatłaczania LNAPL skażeniu uległa tylko wierzchnia warstwa gruntu (ok. 4 cm). Grunt, przez który przemieszczała się LNAPL, zawarty pomiędzy pierwszą warstwą dobrze przepuszczalną a plamą wtórnego zanieczyszczenia, wyraźnie został zanieczyszczony rezydualną fazą zanieczyszczenia.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że istnieje możliwość zanieczyszczenia górnych partii strefy saturacji lekką cieczą organiczną w sytuacji, gdy LNAPL obecna w otworze obserwacyjnym dotrze do warstwy dobrze przepuszczalnej (szczelin, spękań), odsłoniętej przez studnię. Dodatkowo, w takiej sytuacji może dojść do zanieczyszczenia strefy saturacji położonej powyżej warstw o wysokiej przepuszczalności rezydualną SR.

Badania potwierdzają, że istnienie warstw dobrze przepuszczalnych, mających kontakt z zafiltrowaną studnią, może mieć wpływ na zmniejszenie się miąższości pozornej, a tym samym na prawidłowe oszacowanie na jej podstawie miąższości rzeczywistej lub jednostkowej objętości LNAPL, co w konsekwencji wpływa na dokładność ustalenia objętości LNAPL możliwej do szczypania.

Wnioski

1. Jeżeli warstwa dobrze przepuszczalna znajduje się w kontakcie hydraulicznym z zafiltrowaną studnią, w której na zwierciadle wody zalega LNAPL, ciecz organiczna może przesączać się do tej warstwy.
2. Znaczna ilość LNAPL może przesączać się pionowo, ku górze, z warstw dobrze przepuszczalnych, mających kontakt ze studnią obserwacyjną, do wyżej położonych warstw słabiej przepuszczalnych.
3. Odwiercanie otworów w warstwie wodonośnej, w której na zwierciadle wody podziemnej obecna jest plama LNAPL, może prowadzić do niekontrolowanego rozszerzenia zasięgu strefy zanieczyszczonej. Dlatego po odwierceniu otworu należy możliwie szybko przystąpić do szczypania wolnego produktu.
4. Istnienie warstwy dobrze przepuszczalnej, pozostającej w kontakcie hydraulicznym z zafiltrowaną częścią studni, może wpływać na zmniejszenie się miąższości pozornej, a tym samym na dokładność oszacowania miąższości rzeczywistej lub jednostkowej objętości LNAPL.
5. Nasycenie LNAPL zależy od uziarnienia gruntu. Grunty grubiej uziarnione mogą akumulować większe ilości LNAPL niż grunty drobno uziarnione.

Podziękowania

Praca została sfinansowana w ramach badań statutowych BS-PB/401/306/11.

Literatura

- [1] Malina G. Wielofazowa migracja zanieczyszczeń ropopochodnych w strefie aeracji i saturacji. Inż Ochr Środ. 1998;1(1):85-105.
- [2] Rosik-Dulewska C, Karwaczyńska U, Ciesielczuk T. Migracja WWA z nieuszczelnionego składowiska odpadów do wód podziemnych. Roczn Ochr Środ. 2007;9:335-343.
- [3] Jabłońska B. Sorption of phenol on rock components occurring in mine drainage water sediments. Int J Miner Process. 2012;104-105:71-79. DOI: 10.1016/j.minpro.2011.12.008.
- [4] Lenhard R.J., Oostrom M., Dane J.H. A constitutive model for air-NAPL-water flow in the vadose zone accounting for immobile, non-occluded (residual) NAPL in strongly water-wet porous media. J Contam Hydrol. 2004;71:261-282. DOI: 10.1016/j.jconhyd.2003.10.014.
- [5] Newell CJ, Acree SD, Ross RR, Huling SG. Light Nonaqueous Phase Liquids, Ground Water Issue. EPA/540/S-95/500. 1995.
- [6] Włodarczyk-Makula M, Janosz-Rajczyk M. Wymywanie WWA, AOX i metali ciężkich z mieszaniny gleby i osadów ściekowych. Inż Ochr Środ. 2006;9(4):409-420.
- [7] Korzeniowska-Rejmer E, Izdebska-Mucha D. Ocena wpływu zanieczyszczeń ropopochodnych na uziarnienie i plastyczność gruntów spoistych. Inż Ochr Środ. 2006;9(1):89-103.
- [8] Nowak M, Kacprzak M, Grobelak A. Osady ściekowe jako substytut glebowy w procesach remediacji i rekultywacji terenów skażonych metalami ciężkimi. Inż Ochr Środ. 2010;13(2):121-131.
- [9] Light Non-Aqueous Phase Liquid Management Strategy, Guidance Document 2-02. Minnesota Pollution Control Agency; July 2010.

- [10] Hernández-Espriú A, Martínez-Santos P, Sánchez-León E, Marín LE. Free-product plume distribution and recovery modeling prediction in a diesel-contaminated volcanic aquifer. *Phys Chem Earth*. 2012;37-39:43-51. DOI: 10.1016/j.pce.2010.12.007.
- [11] Dippenaar MA, Sole MD, Van Rooy JL, du Toit GJ, Reynecke JL. Determining actual LNAPL plume thickness: review and case study in a fractured aquifer. *Bull Eng Geol Environ*. 2005;64:347-360. DOI: 10.1007/s10064-005-0278-5.
- [12] USEPA. How to effectively recover free product at leaking underground storage tank sites: A guide for state regulators. EPA 510-R-96-001. 1996.
- [13] Charbeneau RJ. LNAPL Distribution and Recovery Model. Distribution and Recovery of Petroleum Hydrocarbon Liquids in Porous Media. Vol. 1. API Publication 4760. Washington, DC.: API Publications; 2007.
- [14] Lenhard RJ, Parker JC. Estimation of free hydrocarbon volume from fluid levels in monitoring wells. *Ground Water*. 1990;28(1):57-67. DOI: 10.1111/j.1745-6584.1990.tb02229.x.
- [15] Farr AM, Houghtalen RJ, McWhorter DB. Volume estimation of light nonaqueous phase liquids in porous media. *Ground Water*. 1990;28(1):48-56. DOI: 10.1111/j.1745-6584.1990.tb02228.x.
- [16] Golder Associates Ltd. Report on guidance on assessment of light non-aqueous phase liquid mobility for site classification purposes in British Columbia. Report Submitted to BC Ministry of Environment. October 9. 2008. 46 pp. (no. 08-1436-0016).
- [17] H₂A Environmental, Ltd. LNAPL Thickness Revitalized. *Appl NAPL Sci Rev*. 2011;1(1). <http://www.h2altd.com/wp-content/uploads/2011/02/ANSR-v1i1.pdf>.
- [18] Deska I, Tkaczyńska A. Empirical model for estimating the actual LNAPL thickness based on the hydraulic conductivity. *Ecol Chem Eng A*. 2012;19(7):787-794. DOI: 10.2428/ecea.2012.19(07)078.
- [19] Deska I, Ociepa E. Wpływ parametrów gruntów na zależność między miąższością rzeczywistą i pozorną LNAPL na zwierciadle wody podziemnej. *Inż Ochr Środ*. 2012;15(2):191-202.
- [20] Adamski M, Kremesec V, Kolhatkar R, Pearson C, Rowan B. 2005. LNAPL in fine-grained soils: conceptualization of saturation, distribution, recovery and their modeling. *Ground Water Monit Rev*. 2005;25:100-112. DOI: 10.1111/j.1745-6592.2005.0005.x.
- [21] Hawthorne JM, Adamski M, Garg S, Kirkman A. Confined LNAPL Definition, Conditions and Terminology. *Appl NAPL Sci Rev*. 2011;1(5). <http://www.h2altd.com/wp-content/uploads/2011/05/ANSR-v1i5.pdf>.

THE POSSIBILITY OF THE LIGHT NON-AQUEOUS PHASE LIQUIDS MIGRATION IN THE LAYERED POROUS MEDIUM

Institute of Environmental Engineering, Czestochowa University of Technology

Abstract: The light non-aqueous phase liquids (LNAPLs) percolating into the subsurface environment present a threat to soil and groundwater. When the LNAPL plume floats on the groundwater table the initial remediation step should be its recovery. In order to a proper design and monitoring of LNAPL recovery an estimation of the actual LNAPL thickness or specific LNAPL volume is required. These parameters are always computed on the base of the LNAPL thickness measured in the monitoring well (the apparent thickness). The apparent LNAPL thickness can be even several times greater than the actual thickness. The difference between these thicknesses depends on the properties of soil and the properties and amount of LNAPL on the groundwater table. The major objectives of this study became to investigate if LNAPL present in the monitoring well can contaminate the high permeable soil layers lying below the LNAPL body. Obtained results show that the considerable part of LNAPL penetrated the high permeable soil layer hydraulically connected to the soil boring. Additionally, the existence of the high permeable layer has influenced the value of apparent thicknesses. It can complicate the estimation of the actual thickness or specific volume of LNAPL on the groundwater table.

Keywords: LNAPL, actual thickness, apparent thickness, monitoring well, layered porous medium

Agnieszka DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA¹, Małgorzata NABRDALIK¹, Natalia MAŚLAK¹
Natalia WĄSIEWICZ¹ i Zbigniew ZIEMBIK¹

WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE JOGURTÓW NATURALNYCH

THE RHEOLOGICAL PROPERTIES OF NATURAL YOGHURT

Abstrakt: Jogurt, podobnie jak inne produkty mleczne zawierające kultury bakterii, ma strukturę żelu, która rozwija się podczas fermentacji. Dzięki takiej strukturze żel wykazuje zależność lepkości od czasu i szybkości ścinania. Badaniom poddano handlowe jogurty naturalne o zawartości tłuszczu 2,0 i 2,5%. W badanych jogurtach oznaczono parametry reologiczne za pomocą wiskozymetru rotacyjnego BROOKFIELD DV2T, z wykorzystaniem wrzeciona CPA-422. Parametry reologiczne określono w różnych dniach terminu przydatności jogurtu do spożycia przy stałych prędkościach ścinania. Na podstawie wyników przeprowadzonych pomiarów obliczono parametry modelu potęgowego, opisujące właściwości reologiczne badanych jogurtów. Stwierdzono, że model Ostwalda de Waele'a dobrze opisuje krzywe płynięcia jogurtów. Zauważono również wzrost lepkości jogurtu w kolejnych dniach od momentu otwarcia opakowania.

Słowa kluczowe: właściwości reologiczne, jogurt, model Ostwalda de Waele'a

Emulsje spożywcze są substancjami złożonymi pod względem składu i struktury. Charakteryzują się różnymi właściwościami reologicznymi. Takie produkty, jak mleko czy napoje mleczne, są przykładami emulsji o niskiej lepkości, a masło czy też margaryna to emulsje będące ciałami stałymi [1]. Jogurt jest emulsją typu olej w wodzie (o/w). Fazą olejową są kropelki tłuszczu, a fazą wodną tworzą roztwory białek, cukrów i soli mineralnych. Produkty mleczne, w tym także jogurty, charakteryzują się strukturą żelu, rozwijającą się podczas procesu fermentacji [1].

Fermentowane napoje mleczne to produkty o znacznej wartości odżywczej i zdrowotnej [2, 3]. Obecność żywych kultur bakterii starterowych w jogurtach jest jednym z czynników wpływających na właściwości terapeutyczne, profilaktyczne i dietetyczne jogurtów. W skład najczęściej stosowanych obecnie w produkcji jogurtów szczepionek czystych kultur wchodzi *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, które muszą pozostać żywe, aktywne i liczne (min. 10^7 jtk/g) do ostatniego dnia przydatności do spożycia [4, 5]. W skład jogurtów mogą wchodzić również szczepy probiotyczne. Do drobnoustrojów o działaniu probiotycznym należą przede wszystkim bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Udokumentowano, że dodawanie ich do produktów żywnościowych korzystnie wpływa na pracę organizmu [6].

Mleczne napoje fermentowane charakteryzują się lekko kwaśnym smakiem oraz przyjemnym zapachem. Aby poprawić walory smakowe tych produktów, producenci bardzo często wzbogacają je poprzez dosładzanie, dodawanie owoców, bakalii, aromatów oraz zwiększenie suchej masy mleka. Produkty fermentowane z udziałem probiotyków wzbogaca się również poprzez dodatek prebiotyków, do których zalicza się niektóre białka, tłuszcze oraz oligo- i polisacharydy. Stosowanie takiego zabiegu ma na celu wspomaganie rozwoju bifidobakterii oraz poprawę tekstury produktu [5, 6].

¹ Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 46, email: agna@uni.opole.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

Mleczne produkty żywnościowe są układami złożonymi, których właściwości reologiczne ulegają zmianom w czasie, najczęściej w niekorzystnym kierunku [7]. Proces fermentacji wywołany przez bakterie fermentacji mlekowej przyczynia się do zmniejszenia pH oraz koagulacji mleka wskutek zmiany laktozy na kwas mlekowy. Micele kazeiny przy pH = 5,0 zaczynają się częściowo destabilizować i łączyć ze sobą w agregaty i łańcuchy. Prowadzi to do ich wytrącenia w punkcie izoelektrycznym i utworzenia skrzepu. W ten sposób powstają trójwymiarowe macierze białkowe z unieruchomioną fazą ciekłą mleka [8]. Należy zwrócić uwagę, że schłodzenie końcowego produktu ogranicza aktywność metaboliczną bakterii, jednak nie hamuje całkowicie przemian enzymatycznych w mleku, np. proteolizy. Powolna proteoliza białek prowadzi do zmian w trójwymiarowej sieci skrzepu, decydując o właściwościach reologicznych produktu końcowego. Również działanie czynników mechanicznych oraz niekorzystne warunki środowiskowe, a w szczególności brak ciągłości łańcucha chłodniczego, może wpływać na obniżenie stabilności skrzepu. Procesy te decydują o właściwościach sensorycznych i swoistej strukturze jogurtu, która sprawia, że występują zależności pomiędzy lepkością a czasem i szybkością ścinania [8].

Na właściwości reologiczne jogurtów wpływ ma technologia produkcji i dodatki, ale także rodzaj kultur starterowych i ich aktywność. Do produkcji jogurtów używa się bakterii *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* i *S. thermophilus*. Oba szczepy zdolne są do syntezy egzopolisacharydów (ang. EPS - *exopolysaccharides*) [9-11]. Przykładami EPS wytwarzanymi przez bakterie kwasu mlekowego są między innymi: dekstran, alternan, mutan, reuteran, ksantan, gellan, pullulan, alginia. Są one wydzielane na zewnątrz komórki w postaci śluzu lub związane z powierzchnią komórek [10, 12]. Dlatego też, jak pokazują badania, jogurty wyprodukowane na bazie szczepów zdolnych do syntezy EPS wykazują lepszą reologię, lepkość czy konsystencję niż te wyprodukowane przy udziale szczepów niezdolnych do syntezy tych polimerów [13]. Przyjmuje się, że w mieszaninie starterowej *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* jest odpowiedzialny za zakwaszenie sprzyjające koagulacji kazeiny, z kolei *S. thermophilus* odpowiedzialny jest za uwolnienie aromatu. Hassan i in. [14] stwierdzili, iż jogurt zawierający kultury *S. thermophilus* produkujące EPS wykazywał wzrost współczynników spójności w porównaniu do jogurtu przygotowanego z kultur niebędących w stanie produkować EPS. Z kolei Sady i in. [15] wykazali, że poziom *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz *S. thermophilus* w jogurtach naturalnych wzrastał do trzeciego dnia ich przechowywania.

Ramchandran i Sha [16] wykazali, iż zastosowanie szczepów *S. thermophilus* wytwarzających EPS nie ma wpływu na pH, zawartość kwasu mlekowego oraz konsystencję jogurtów o niskiej zawartości tłuszczu. Natomiast obecność EPS ma wpływ na jędrność, spontaniczne oddzielenie serwatki oraz plastyczność produktu. Jak wynika z przeprowadzonych badań, na strukturę i konsystencję jogurtów wpływa między innymi zawartość tłuszczu.

Reasumując, poprawę stabilności fizycznej jogurtów naturalnych można uzyskać poprzez zastosowanie bakterii mających zdolność produkowania EPS.

Celem przeprowadzonych pomiarów było zbadanie zmian właściwości reologicznych jogurtów naturalnych w zależności od czasu pozostałego do terminu przydatności do spożycia.

Materialy i metody

Zbadano jogurty naturalne o zawartościach tłuszczu 2,0 i 2,5%, wyprodukowane przez jednego producenta i dostępne w sieciach handlowych. Jogurty badane były w dniu zakupu oraz przez kolejne 2 dni, a także w ostatnim dniu ich przydatności do spożycia. W tabeli 1 przedstawiono skład badanych jogurtów naturalnych, natomiast w tabeli 2 ich wartości odżywcze.

Tabela 1

Skład badanych jogurtów naturalnych

Table 1

Composition of the natural yoghurt

Nazwa jogurtu	Mleko	Mleko w proszku	Białka mleka	Wapń	Kultury bakterii jogurtowych	Dodatkowe kultury bakterii
Jogurt naturalny 2%	✓	✓	✓	✓	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> sp.
Jogurt naturalny 2,5%	✓	✓	✓	-	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	

Tabela 2

Wartość odżywcza badanych jogurtów naturalnych

Table 2

The nutritional value of the natural yoghurt investigated

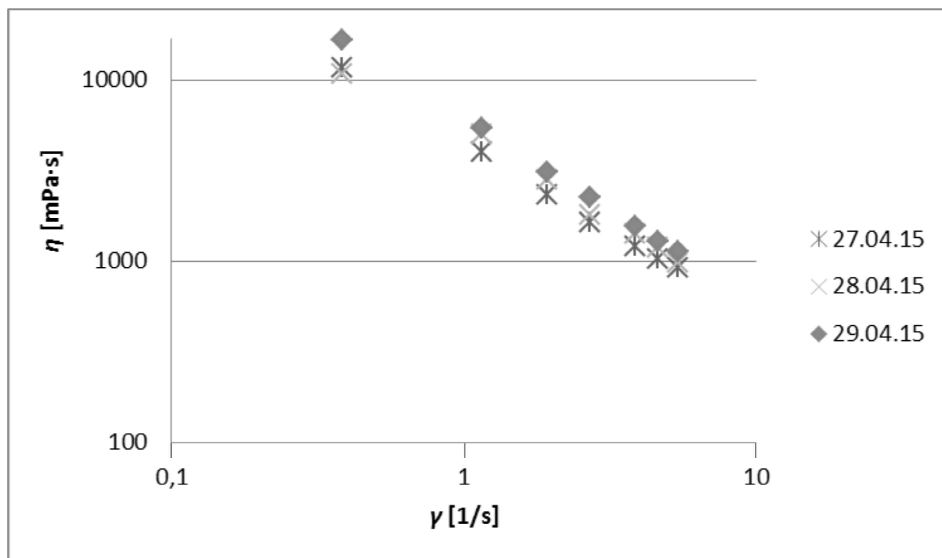
Nazwa jogurtu	Wartość odżywcza w 100 g					
	Energia [kcal]	Tłuszcz [g]	Węglowodany [g]	Białko [g]	Sól [g]	Wapń [mg]
Jogurt naturalny 2%	58	2	5,7	4,3	0,05	240
Jogurt naturalny 2,5%	61	2,5	5,2	4,3		

Parametry reologiczne określono za pomocą wiskozymetru rotacyjnego BROOKFIELD DV2T z wykorzystaniem wrzeciona CPA-422. Parametry te określono w różnych dniach terminu przydatności jogurtu do spożycia przy stałych prędkościach ścinania. Każdą z próbek jogurtu przechowywano w chłodziarce w temp. 4°C. Przed każdym pomiarem sprawdzano pH jogurtów, których wartość oscylowała w granicach 4,10-4,46. Wszystkie pomiary prowadzono w temperaturze 10°C.

Wyniki badań

Na rysunku 1 przedstawiono przykładowe krzywe płynięcia 2,0% jogurtu w kolejnych dniach od momentu jego otwarcia. Obserwowana w podwójnej skali logarytmicznej

liniowość zależności sugeruje potęgowy związek pomiędzy lepkością η i prędkością ścinania $\dot{\gamma}$. Zależność tę można opisać równaniem $\log(\eta) = a \log(\dot{\gamma}) + b$.



Rys. 1. Przykładowe krzywe płynięcia 2,0% jogurtu

Fig. 1. The flow curves examples of 2.0% yoghurt

Analizując wykres, można zauważyć znaczne zmniejszenie lepkości wraz ze wzrostem prędkości ścinania, zwłaszcza przy małych wartościach tej prędkości. Zauważono również wzrost lepkości w kolejnych dniach od momentu otwarcia jogurtu, największą lepkość odnotowano dwa dni od jego otwarcia. Może to być skutkiem wzrostu liczebności bakterii wytwarzających EPS, które istotnie wpływają na lepkość jogurtu.

W tabeli 3 przedstawiono parametry równań liniowych opisujących zależności przedstawione na rysunku 1. $SE\ a$ i $SE\ b$ są błędami standardowymi współczynnika kierunkowego i wyrazu wolnego, a R^2 jest współczynnikiem determinacji zależności liniowej.

Parametry równań liniowych opisujących zależności przedstawione na rysunku 1

Tabela 3

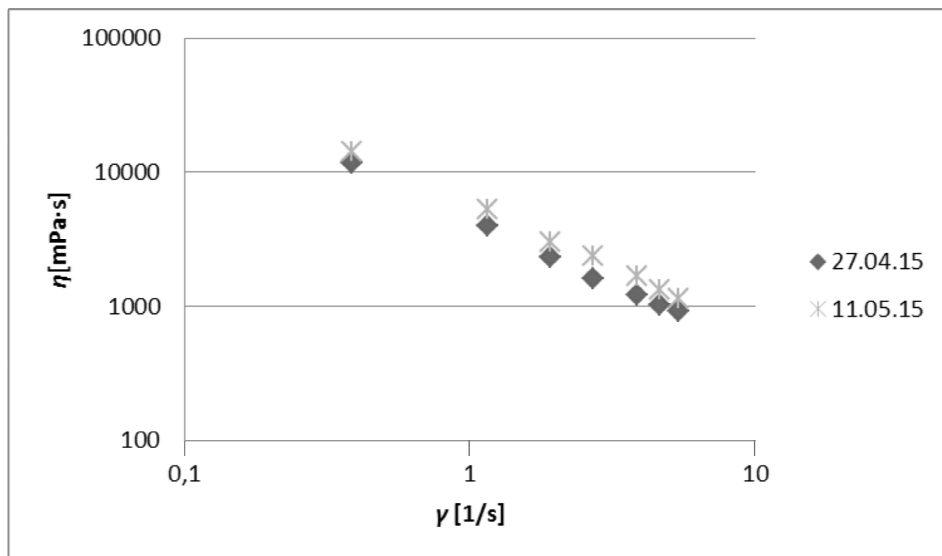
Parameters of linear equations plotted in Figure 1

Table 3

Dzień pomiaru	a	$SE\ a$	b	$SE\ b$	R^2
27.04.2015 r.	-0,974	0,016	3,6533	0,0082	0,999
28.04.2015 r.	-0,929	0,043	3,689	0,021	0,990
29.04.2015 r.	-1,0220	0,0072	3,7909	0,0036	1,000

Dane przedstawione w tabeli 3 wskazują, że największą wartość współczynnika kierunkowego odnotowano dwa dni po otwarciu jogurtu. Również wartość wyrazu wolnego osiągnęła największą wartość po tym czasie.

Na rysunku 2 porównano krzywe płynięcia 2,0% jogurtu naturalnego 15 dni przed upływem terminu przydatności do spożycia i w dniu upływu tego terminu.



Rys. 2. Przykładowe krzywe płynięcia 2,0% jogurtu naturalnego w różnych okresach terminu przydatności do spożycia

Fig. 2. Examples of 2.0% yogurt flow curves in different periods of shelf life

W tabeli 4 podano parametry równań liniowych opisujących zależności przedstawione na rysunku 2.

Parametry równań liniowych opisujących zależności przedstawione na rysunku 2

Tabela 4

Parameters of linear equations plotted in Figure 2

Table 4

Dzień pomiaru	<i>a</i>	<i>SE a</i>	<i>b</i>	<i>SE b</i>	<i>R</i> ²
27.04.2015 r.	-0,974	0,016	3,6533	0,0082	0,999
11.05.2015 r.	-0,954	0,017	3,7684	0,0087	0,998

Współczynnik kierunkowy krzywych płynięcia 2,0% jogurtu naturalnego w różnych okresach terminu przydatności do spożycia nie zmienia się istotnie. Natomiast odnotowano zwiększenie wartości wyrazu wolnego równania liniowego, co wskazuje na zmianę parametrów fizykochemicznych badanych jogurtów.

Do opisu otrzymanych wyników pomiarów reologicznych wykorzystano model Ostwalda de Waele’a. Jest to dwuparametrowy model reologiczny, opisujący krzywe płynięcia badanych produktów [1]:

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \tag{1}$$

gdzie: τ - naprężenie styczne [Pa], k - współczynnik konsystencji [$\text{Pa} \cdot \text{s}^n$], $\dot{\gamma}$ - szybkość ścinania [$1/\text{s}$], n - wskaźnik płynięcia [-].

W tabeli 5 przedstawiono parametry reologiczne jogurtów, obliczone za pomocą modelu potęgowego.

Tabela 5

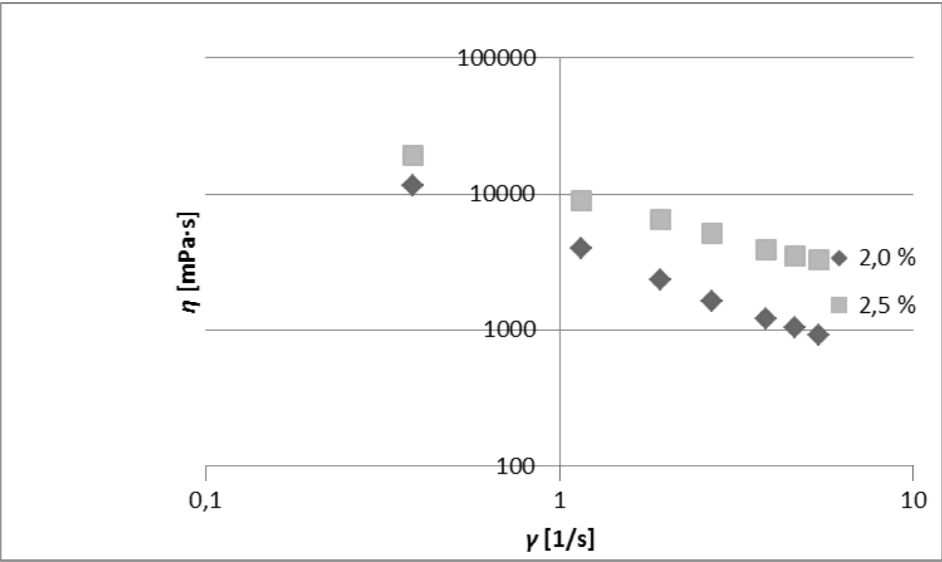
Parametry reologiczne jogurtów i ich błędy standardowe SE

Table 5

Rheological parameters yoghurts and their standard errors SE

Jogurt	Model potęgowy			
	$\ln(k/[\text{Pa} \cdot \text{s}^n])$	$SE/(\ln(k/[\text{Pa} \cdot \text{s}^n]))$	n [-]	SEn [-]
2,0%	1,59	0,20	0,27	0,17
2,5%	2,300	0,009	0,310	0,008

Porównując wyniki zamieszczone w tabeli 5, można zauważyć, że przy zbliżonych wartościach wskaźnika płynięcia badane jogurty charakteryzują się różnymi wartościami współczynnika konsystencji, co jest związane z ich strukturą. Badane jogurty miały różną strukturę i konsystencję, co prawdopodobnie wynika z różnych zawartości tłuszczu. Na rysunku 3 porównano krzywe płynięcia dla jogurtów 2,0 i 2,5% w momencie ich otwarcia.



Rys. 3. Porównanie krzywych płynięcia dla jogurtów 2,0 i 2,5% w momencie ich otwarcia

Fig. 3. Comparison of 2.0 and 2.5% yoghurt flow curves for at the time of opening

W tabeli 6 przedstawiono parametry równań liniowych opisujących zależności pokazane na rysunku 3.

Tabela 6

Parametry równań liniowych opisujących zależności przedstawione na rysunku 3

Table 6

Parameters of linear equations plotted in Figure 3

Jogurt	<i>a</i>	<i>SE a</i>	<i>b</i>	<i>SE b</i>	<i>R</i> ²
2,0%	-0,9738	0,016	3,6534	0,0082	0,999
2,5%	-0,6827	0,0080	4,0002	0,0040	0,999

Wnioski

1. Z pomiarów przeprowadzonych na produktach świeżo otwartych wynika, że wraz ze wzrostem prędkości ścinania maleje lepkość jogurtu. Jest on płynem nienewtonowskim, rozrzedzanym ścinaniem.
2. Badane jogurty miały różną strukturę i konsystencję, co było prawdopodobnie związane z różnymi zawartościami tłuszczu.
3. Pomiędzy lepkością jogurtów η i prędkością ścinania γ istnieje zależność, którą w zlinearyzowanej formie przedstawia równanie $\log(\eta) = a \log(\gamma) + b$.
4. Zauważono wzrost lepkości jogurtów w kolejnych dniach od momentu otwarcia opakowań.
5. Największe wartości współczynnika kierunkowego i wyrazu wolnego odnotowano dwa dni po otwarciu jogurtu. Można przypuszczać, że jest to związane ze wzrostem liczności bakterii *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz *S. thermophilus* i wzrostem zawartości wytwarzanych przez nie egzopolisacharydów (EPS).
6. Współczynnik kierunkowy krzywych płynięcia 2,0% jogurtu naturalnego w różnych okresach do końca terminu przydatności do spożycia nie zmienia się istotnie. Natomiast odnotowano zwiększenie wartości wyrazu wolnego równania liniowego, co wskazuje na zmianę parametrów fizykochemicznych jogurtów.
7. Model Ostwalda de Waele'a dobrze opisuje krzywe płynięcia badanych jogurtów.

Litertura

- [1] Plaskota D. Właściwości reologiczne jogurtów w zależności od czasu ich dojrzewania. *Żywność Nauka Technol Jakość*. 2004;4(41)S:88-99. http://www.pttz.org/zyw/wyd/czas/2004,%204%2841%29%20Supl/08_Plaskota.pdf.
- [2] Przysławski J, Główna A, Bolesławska I, Kaźmierczak A, Dziecioł M. Preferencje i czynniki wyboru w zakresie spożycia mleka i produktów mlecznych wśród studentek poznańskich uczelni wyższych. *Bromat Chemia Toksykol*. 2012;3:1024-1029. <http://www.ptfarm.pl/pub/File/Bromatologia/2012/3/1024-1029.pdf>.
- [3] Mojka K. Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki - charakterystyka i funkcje. *Probl Hig Epidemiol*. 2014;95(3):541-549. <http://www.phie.pl/pdf/phe-2014/phe-2014-3-541.pdf>.
- [4] Kycia K, Krysiński C. Jakość mikrobiologiczna i higieniczna rynkowych jogurtów z mleka koziego w kontekście ich właściwości terapeutycznych. *Probl Hig Epidemiol*. 2014;95(1):186-191. <http://phie.pl/pdf/phe-2014/phe-2014-1-186.pdf>.
- [5] Kudełka W. Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych w Unii Europejskiej oraz w Polsce. *Zesz Nauk Akademii Ekonomicznej w Krakowie*. 2005;678:149-160.
- [6] Kudełka W, Marzec M. Preferencje studentów dotyczące spożycia mlecznych napojów fermentowanych. *Żywność Nauka Technol Jakość*. 2004;3(40):63-76.

- [7] Adamczyk G, Sikora M, Krystyjan M. Metody pomiaru właściwości tiksotropowych produktów żywnościowych. *Żywność Nauka Technol Jakość*. 2012;3(82):19-34. http://www.pttz.org/zyw/wyd/czas/2012,%203%2882%29/02_Adamczyk.pdf.
- [8] Plaskota D. Wyznaczenie obszaru optymalnych szybkości ścinania jogurtów o różnym czasie dojrzewania. *Żywność Nauka Technol Jakość*. 2004;4(41):95-106. http://www.pttz.org/zyw/wyd/czas/2004,%204%2841%29/08_Plaskota.pdf.
- [9] Welman AD, Maddox IS. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends Biotechnol*. 2003;21(6):269-274. DOI: 10.1016/S0167-7799(03)00107-0.
- [10] Feldman J, Semjonovs P, Iprovica I. Potential of exopolysaccharides in yoghurt production. *Internat J Biol Food Veter Agricult Eng*. 2013;7(8):424-427.
- [11] Patel S, Majumder A, Goyal A. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Indian J Microbiol*. 2003;52(1):3-12. DOI: 10.1007/s12088-011-0148-8.
- [12] Górska S, Grycko P, Rybka J, Gamian A. Egzopolisacharydy bakterii kwasu mlekowego - biosynteza i struktura. *Postępy Hig Med Dośw*. 2007;61:805-818.
- [13] Doleyres Y, Schaub L, Lacroix C. Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced in situ or added as bioingredients on yogurt properties. *J Dairy Sci*. 2005;88(12):4146-415. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)73100-3.
- [14] Hassan AN, Ipsen R, Janzen T, Qvis KB. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides. *J Dairy Sci*. 2003;86(5):1632-1638. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73748-5.
- [15] Sady M, Domagała J, Grega T, Kalicka D. Wpływ czasu przechowywania na mikroflorę jogurtów z dodatkiem nasion amarantusa i ziaren owsa. *Żywność Nauka Technol Jakość*. 2007;6(55):242-250. http://www.pttz.org/zyw/wyd/czas/2007,%206%2855%29/23_Sady.pdf.
- [16] Ramchandran L, Sha NP. Effect of exopolysaccharides on the proteolytic and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. *J Dairy Sci*. 2009;92(3):895-906. DOI: 10.3168/jds.2008-1796.

THE RHEOLOGICAL PROPERTIES OF NATURAL YOGHURT

Independent Department of Biotechnology and Molecular Biology, Opole University

Abstract: Yogurt, like other dairy products containing bacterial cultures, has a gel structure which develops during fermentation. With this structure, the gel shows the time dependence of the viscosity and shear rate. Two commercial natural yoghurt with a fat content of 2.0 and 2.5% were tested. In the studied yoghurts rheological parameters were determined, using BROOKFIELD DV2T rotational viscometer with CPA-422 spindle. Rheological parameters were determined in different days of yoghurt shelf-life, at constant shear rates. Parameters of power-law model, describing rheological properties of the investigated yoghurt, were calculated. It was found that Ostwald de Waele model describes well the flow curves of yoghurts. An increase in viscosity of yoghurt in consecutive days from the package opening was also observed.

Keywords: rheology, yoghurt, model of Ostwald de Waele

Mariusz DUDZIAK¹

WPŁYW ZŁOŻONEGO PROCESU UTLENIAJĄCEGO NA TOKSYCZNOŚĆ WODY ZAWIERAJĄCEJ BISFENOL A

THE IMPACT OF COMPLEX OXIDIZING PROCESS ON TOXICITY OF WATER CONTAINING BISPENOL A

Abstrakt: Wodę zawierającą bisfenol A poddano napromieniowaniu UV (zanurzeniowa lampa średniociśnieniowa o mocy elektrycznej 150 W) bez i z dodatkiem H_2O_2 (dawka 6-12 mg/dm³). Do kontroli jakości wody zastosowano biotest Microtox[®], wykorzystujący bakterie bioluminescencyjne *Aliivibrio fischeri*. Określono, że rozkład bisfenolu A zależał zarówno od czasu napromieniowania UV, jak i dawki H_2O_2 . Zaskakujące z kolei były obserwacje związane z wartością inhibicji bioluminescencji w badanych roztworach. Rozkład związku nie powodował obniżenia wartości inhibicji bioluminescencji charakteryzującej roztwory, co wskazuje na powstawanie toksycznych produktów pośrednich. Z kolei łączne zastosowanie nadtlenu wodoru z promieniowaniem UV poprawia stopień rozkładu bisfenolu A, ale jednocześnie powoduje wzrost wartości inhibicji bioluminescencji roztworów. Z tego względu w doborze najkorzystniejszych warunków prowadzenia procesu utleniającego nie można opierać się wyłącznie na skuteczności rozkładu związków, lecz należy również rozważyć toksyczność roztworu poprocesowego.

Słowa kluczowe: bisfenol A, uzdatnianie wody, toksyczność, biotest Microtox[®]

Wprowadzenie

Współczesne technologie oczyszczania wody i ścieków coraz częściej wykorzystują różne procesy chemicznego utleniania. Utlenianie w uzdatnianiu wody może być stosowane w różnym celu, w tym najczęściej do utleniania Fe(II), Mn(II) i innych zredukowanych substancji nieorganicznych, utleniania substancji organicznych pochodzenia naturalnego i antropogenicznego oraz dezynfekcji [1]. W związku z tym utleniacze chemiczne mogą być dodawane do oczyszczanej wody w różnych miejscach układu technologicznego, stąd wyróżnia się utlenianie wstępne, pośrednie i końcowe (dezynfekcja). Podczas oczyszczania ścieków utlenianie stosowane jest jako zasadniczy etap technologii, np. w przypadku ścieków przemysłowych [2], lub jako metoda doczyszczania ścieków komunalnych zawierających biologicznie aktywne związki organiczne [3-6]. Oprócz tlenu do utleniaczy stosowanych w oczyszczaniu wody i ścieków należą: chlor, ditlenek chloru, ozon, nadmanganian potasu i nadtlenek wodoru [1, 2]. Z kolei procesy utleniania, w których wykorzystuje się generowany rodnik hydroksylowy (lub inny rodnik nadtlenkowy), należą do grupy zaawansowanych procesów utleniania (ang. *Advanced Oxidation Processes* - AOP). W procesach zaawansowanego utleniania wykorzystuje się synergizm działania utleniaczy (ozon, nadtlenek wodoru) oraz promieniowania UV, zwiększający efekty i szybkość rozkładu związków organicznych [2].

Jak wykazują wieloletnie badania, żaden z dostępnych i możliwych do zastosowania w praktyce utleniaczy chemicznych nie jest obojętny dla jakości oczyszczonej wody czy też ścieków [1, 2]. Wszystkie silne utleniacze w większym lub mniejszym stopniu powodują

¹ Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice, tel. 32 237 16 98, fax 32 237 10 47, email: mariusz.dudziak@polsl.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

tworzenie ubocznych produktów utleniania często o nieznannej aktywności biologicznej. Problem ten dotyczy również zaawansowanych procesów utleniania, chociaż w tym przypadku informacje literaturowe na ten temat są ograniczone.

Biorąc powyższe pod uwagę, w niniejszej pracy podjęto wstępne badania dotyczące oceny zmiany toksyczności wody zawierającej wybrany ksenobiotyk, tj. bisfenol A, w trakcie jej uzdatniania przy zastosowaniu złożonego procesu utleniającego UV-H₂O₂.

Materialy i metodyka badań

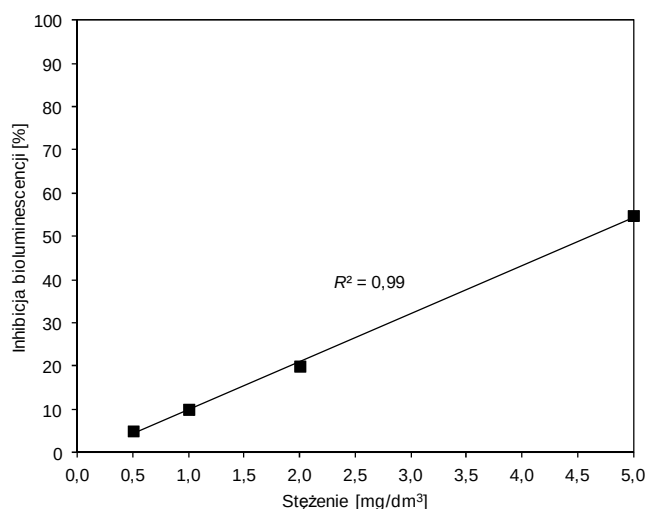
Do badań wybrano bisfenol A (organiczny związek z grupy fenoli stosowany do produkcji tworzyw sztucznych). Przedmiotem badań były roztwory modelowe sporządzone na bazie wody zdejonizowanej oraz wzorca badanego ksenobiotyku o stężeniu od 0,5 do 5,0 mg/dm³. Wzorzec bisfenolu A pochodził z firmy Sigma-Aldrich (Poznań, Polska). Odczyn roztworów korygowano do pH 7 za pomocą 0,1 mol/dm³ HCl lub 0,2 mol/dm³ NaOH. Związek oznaczano metodą ekstrakcji do fazy stałej (SPE) oraz analizy chromatografii cieczowej (HPLC). Do ekstrakcji wykorzystano kolumnienki SupelcleanTM ENVI-18 (objętość 6 cm³, faza stała 1,0 g) firmy Supelco (Poznań, Polska). Złożę kolumnienki przed ekstrakcją kondycjonowano metanolem (5 cm³) i acetonitrylem (5 cm³), a następnie przepłukano wodą zdejonizowaną (5 cm³). Wydzielony związek odmyto za pomocą mieszaniny acetonitrylu i metanolu (60:40, v/v) o objętości 1 cm³. Analizę jakościowo-ilościową ksenobiotyku w ekstraktach, po wcześniejszym ich zatężeniu w lekkim strumieniu azotu, przeprowadzono przy użyciu HPLC z detektorem UV ($\lambda = 218$ nm) firmy Varian (Warszawa, Polska). Zastosowano kolumnę Microsorb 100 C18 o długości 25 cm, średnicy 4,6 mm oraz uziarnieniu 5 μ m. Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę acetonitrylu i wody (85:15, v/v). W badaniach wykorzystywano rozpuszczalniki organiczne o czystości analitycznej firmy Avantor Performance Materials Poland S.A. (Gliwice, Polska).

W zakresie badań wstępnych w sporządzonych roztworach modelowych oceniono inhibicję bioluminescencji w zależności od stężenia bisfenolu A (rys. 1). Analizy przeprowadzono z użyciem biotestu Microtox[®] zgodnie z procedurą *Screening Test* systemu MicrotoxOmni w analizatorze Microtox Model 500 firmy Tigret Sp. z o.o. (Warszawa, Polska), pełniącym funkcje zarówno inkubatora, jak i fotometru. Procent inhibicji bioluminescencji względem próby kontrolnej (bakterie niepoddane działaniu potencjalnego toksykantu) zmierzono po 5-minutowym czasie ekspozycji.

Stwierdzono, że wraz ze zwiększeniem stężenia ksenobiotyku w wodzie następował równocześnie wzrost wartości inhibicji bioluminescencji. Przedstawiona graficzna zależność między stężeniem ksenobiotyku i wartością inhibicji bioluminescencji wskazuje na liniową korelację obu parametrów ($R^2 = 0,99$), co potwierdza, że toksyczność wody zależy od stężenia ksenobiotyku. Na tej podstawie można przyjąć hipotezę badawczą, że podczas skutecznej eliminacji ksenobiotyku z wody za pomocą różnych procesów fizykochemicznych powinno następować obniżenie efektu toksycznego. Odstępstwo od tej reguły może świadczyć o występowaniu innych niebezpiecznych zjawisk towarzyszących realizacji tych procesów.

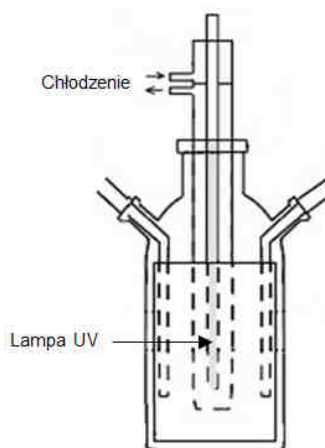
Proces napromieniowania roztworów modelowych UV prowadzono w temperaturze 20°C w reaktorze firmy Heraeus (Warszawa, Polska) ze średniociśnieniową lampą

zanurzeniową o mocy elektrycznej 150 W (rys. 2) w czasie 45 min. Napromienianie prowadzono porównawczo bez i z dodatkiem nadtlenu wodoru (H_2O_2). Analizowane dawki H_2O_2 były w zakresie od 6 do 12 mg/dm^3 . W badaniach stosowano 30% nadtlenek wodoru o czystości analitycznej firmy Przedsiębiorstwo Przemysłowo-Handlowe Stanlab Sp. J. (Gliwice, Polska) po wcześniejszym 10-krotnym rozcieńczeniu. Próbki do analiz pobierano w różnych czasach prowadzenia procesu, tj. 5, 10, 15, 20, 30 i 45 min. Za pomocą analizy chromatograficznej oceniono stopień rozkładu badanego ksenobiotyku, a przy pomocy biotestu Microtox[®] inhibicję bioluminescencji.



Rys. 1. Wpływ stężenia bisfenolu A na wartość inhibicji bioluminescencji

Fig. 1. Impact of bisphenol A concentration on the bioluminescence inhibition value

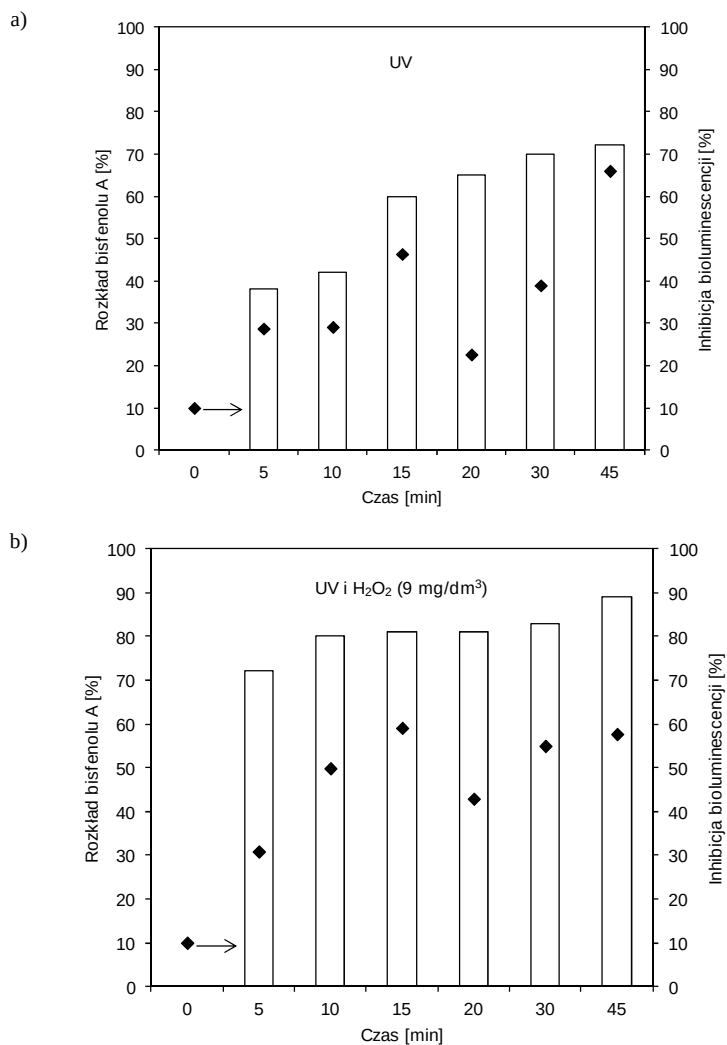


Rys. 2. Schemat laboratoryjnego reaktora UV firmy Heraeus

Fig. 2. The scheme of laboratory UV reactor Heraeus

Wyniki i dyskusja

Stopień rozkładu badanego ksenobiotyku oraz zmianę inhibicji bioluminescencji w roztworach, zachodzącą podczas napromieniowania UV bez i z dodatkiem nadtlenku wodoru H_2O_2 (dawka 9 mg/dm^3) w zależności od czasu procesu, przedstawiono na rysunku 3.

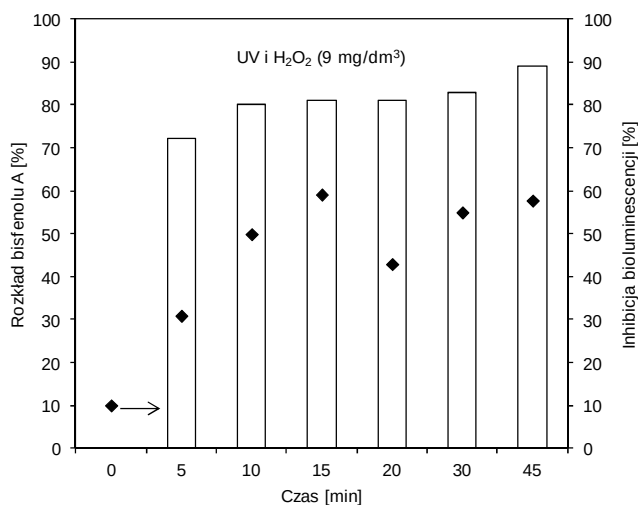


Rys. 3. Rozkład bisfenolu A oraz zmiana inhibicji bioluminescencji w roztworach poddawanych napromieniowaniu a) bez i b) z dodatkiem H_2O_2

Fig. 3. Decomposition of bisphenol A and change of the inhibition of bioluminescence in solutions irradiated a) without and b) with the addition of H_2O_2

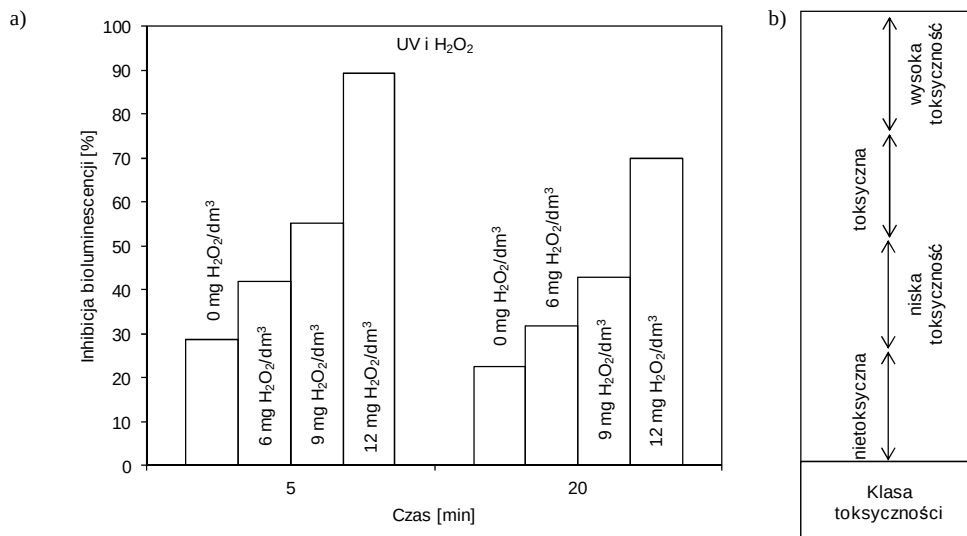
W czasie napromieniowania wody UV następował rozkład badanego ksenobiotyku. Skuteczność rozkładu bisfenolu A zwiększała się wraz z czasem naświetlania wody promieniami UV. Zaskakujące z kolei były obserwacje związane z wartością inhibicji bioluminescencji w badanych roztworach. Rozkład bisfenolu A nie powodował zmniejszenia wartości inhibicji bioluminescencji roztworu. Bez względu na czas napromieniowania UV wartość inhibicji bioluminescencji w badanych roztworach była większa niż określona w roztworze przed procesem. Wartość inhibicji bioluminescencji wyraźnie zależała od czasu prowadzenia procesu. Najwyższą wartość tego parametru odnotowano w próbce roztworu pobranej po 45-minutowym czasie trwania procesu, w którym paradoksalnie rozkład bisfenolu A był największy. Różnica w wartościach inhibicji bioluminescencji pomiędzy roztworami zawierającymi badany związek była już obserwowana w przeprowadzonych badaniach wstępnych (rys. 1). Natomiast zastosowanie nadtlenu wodoru łącznie z promieniowaniem UV wyraźnie poprawiło stopień rozkładu badanego ksenobiotyku, ale jednocześnie spowodowało znaczny wzrost wartości inhibicji bioluminescencji roztworów. Zwiększona intensywność rozkładu ksenobiotyku była zapewne wynikiem powstawania większej ilości rodników hydroksylowych ($\cdot\text{OH}$) w obecności utleniacza. Obserwowany wzrost wartości inhibicji bioluminescencji podczas napromieniowania UV bez, jak też z dodatkiem nadtlenu wodoru H_2O_2 wskazuje na powstawanie toksycznych produktów pośrednich rozkładu związku, przy czym intensywność tego zjawiska była większa podczas realizacji złożonego procesu utleniającego UV- H_2O_2 .

Dla wybranych czasów prowadzenia procesu napromieniowania UV, tj. 5 i 20 min, oceniono wpływ dawki nadtlenu wodoru na rozkład bisfenolu A (rys. 4) i wartość inhibicji bioluminescencji roztworu (rys. 5a).



Rys. 4. Zależność rozkładu bisfenolu A w procesie napromieniowania roztworu UV od dawki H_2O_2 (czas procesu 5 i 20 min)

Fig. 4. The dependence of decomposition of bisphenol A in the UV irradiation process of the solution in the function of a dose of H_2O_2 (process time of 5 and 20 min)



Rys. 5. a) Zmiana inhibicji bioluminescencji roztworów zawierających bisfenol A w procesie napromieniowania wody UV od dawki H_2O_2 ; b) ich klasa toksyczności: czas procesu 5 i 20 min

Fig. 5. a) Changing of the bioluminescence inhibition of the solutions containing bisphenol A in the UV irradiated water in the function of the H_2O_2 dose; b) their toxicity class: time of the process equal to 5 and 20 min

Wraz ze wzrostem dawki H_2O_2 zwiększał się zarówno stopień rozkładu bisfenolu A, jak i wartość inhibicji bioluminescencji określona dla roztworu (rys. 4). Porównując wartości badanych parametrów dla dwóch wybranych czasów trwania procesu, tj. 5 i 20 min, można stwierdzić, że dłuższy czas powoduje zmniejszenie toksyczności roztworów (rys. 5a). Jednak bez względu na dawkę nadtlenu wodoru roztwory poddawane napromieniowaniu nawet w dłuższym czasie trwania procesu wykazywały inhibicję funkcji życiowych bakterii *Allivibrio fischeri* na poziomie $> 25\%$, co sytuuje je poza klasą roztworów nietoksycznych (rys. 5b). Nietoksyczny był wyłącznie roztwór poddany napromieniowaniu UV bez H_2O_2 w czasie 20 min. Biorąc powyższe pod uwagę, można stwierdzić, że w doborze warunków prowadzenia procesu należy rozważyć nie tylko jego skuteczność, ale również możliwość występowania zjawisk niekorzystnych.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych w ramach pracy badań sformułowano następujące wnioski szczegółowe dotyczące oceny jakości wody zawierającej bisfenol A w trakcie jej napromieniowania UV bez i z dodatkiem H_2O_2 :

- stopień rozkładu ksenobiotyku zależał od czasu napromieniowania UV,
- rozkład związku nie powodował obniżenia wartości inhibicji bioluminescencji charakteryzującej roztwór, co wskazuje na powstawanie toksycznych produktów pośrednich,

- łączne zastosowanie nadtlenu wodoru z promieniowaniem UV poprawia stopień rozkładu ksenobiotyku, ale jednocześnie powoduje wzrost wartości inhibicji bioluminescencji roztworów,
- w doborze najkorzystniejszych warunków prowadzenia procesu utleniającego nie można opierać się wyłącznie na skuteczności rozkładu związku, lecz należy również rozważyć toksyczność roztworu poprocesowego.

Literatura

- [1] Kowal AL, Świdarska-Bróz M. Oczyszczanie wody. Podstawy teoretyczne i technologiczne, procesy i urządzenia. Warszawa: Wyd Nauk PWN; 2009.
- [2] Barbusiński K. Zaawansowane utlenianie w procesach oczyszczania wybranych ścieków przemysłowych. Gliwice: Wyd Politechniki Śląskiej; 2013.
- [3] Rosal R, Rodríguez A, Perdigón-Melón JA, Mezcuá M, Hernando MD, Letón P, et al. Water Res. 2008;42:3719-3728. DOI: 10.1016/j.watres.2008.06.008.
- [4] Prieto-Rodríguez L, Oller I, Klamerth N, Rodríguez EM, Malato S. Water Res. 2013;47:1521-1528. DOI: 10.1016/j.watres.2012.11.002.
- [5] Carbonaro S, Sugihara MN, Strathmann TJ. Appl Catal B: Environ. 2013;129:1-12. DOI: 10.1016/j.apcatb.2012.09.014.
- [6] Choi J, Lee H, Choi Y, Soonhyun K, Seokheon L, Lee S, et al. Appl Catal B: Environ. 2014;147:8-16. DOI: 10.1016/j.apcatb.2013.08.032.

THE IMPACT OF COMPLEX OXIDIZING PROCESS ON TOXICITY OF WATER CONTAINING BISPHENOL A

Institute of Water and Wastewater Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice

Abstract: Water containing bisphenol A was UV irradiated (medium pressure immersion lamp with the electric power of 150 W) with and without the addition of H₂O₂ (6-12 mg/dm³ dose). To control of the water quality Microtox[®] biotest was used. Bioluminescent bacteria *Allivibrio fischeri* was involved. Decomposition of bisphenol A was depended on the UV irradiation time and dose of the H₂O₂. The observations connected with the bioluminescence value in the examined solutions were surprised. Decomposition of the compound did not cause of decrement the bioluminescence inhibition value characterizing solution indicating the formation of toxic intermediates products. However, the combined use of H₂O₂ with UV radiation improves the rate of decomposition of bisphenol A, but also causes an increase in bioluminescence inhibition of the solutions. For this reason selection of the most favorable conditions for the oxidative process have to be proceed based on both agents: effectiveness of the compounds decomposition and the toxicity of the solution after process.

Keywords: bisphenol A, water treatment, toxicity, Microtox[®] biotest

Małgorzata DŻUGAN¹, Marcin LIS², Joanna HEĆLIK¹, Hanna LUTNICKA²
Maria DROBA¹ i Jerzy W. NIEDZIÓŁKA²

BADANIA *IN OVO* NAD EMBRIOTOKSYCZNOŚCIĄ KADMU I POSZUKIWANIE SUBSTANCJI OCHRONNYCH

THE *IN OVO* STUDY OF CADMIUM EMBRYOTOXICITY AND THE SEARCH FOR PROTECTORS

Abstrakt: Kadm, toksyna środowiskowa o wysokiej zdolności do bioakumulacji i szerokim spektrum działania, stanowi realne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Zastosowanie modelu *in ovo* w badaniach nad toksycznością kadmu pozwala na ocenę skutków narażenia rozwijających się zarodków kurzych na kadm, a ponadto stwarza idealny scenariusz do poszukiwania jego skutecznych protektorów. Zaletą modelu jest wyeliminowanie wpływów środowiskowych i żywienia, a przede wszystkim dostępność i niskie koszty eksperymentu. Przeprowadzone badania pozwoliły ocenić skutki rosnącej ekspozycji na kadm, wprowadzony do białka jaja w 4. dobie inkubacji (w dawce 0-24 µg Cd/jajo), dla rozwoju zarodków kurzych. Oceniano śmiertelność, wady rozwojowe, a także zmiany biochemiczne w narządach piskląt. Analiza aktywności lizosomalnej N-acetyloglukozaminidazy wykazała, że ekspozycja na kadm prowadzi do uszkodzenia nerek i wątroby piskląt. Stwierdzono, że równoczesne podanie kadmu z antagonistycznym cynkiem lub chelatującym tiolem (w wielokrotnie wyższym stosunku molowym) ogranicza jego embriotoksyczność dla ptaków.

Słowa kluczowe: kadm, embriotoksyczność, model *in ovo*, substancje ochronne

Rozwój cywilizacyjny, a przede wszystkim powszechna chemizacja wszystkich dziedzin życia są przyczyną gwałtownego wzrostu problemów środowiskowych związanych z zakłóceniem równowagi ekologicznej. Toksyczne substancje chemiczne wprowadzane do powietrza, wody i gleby przedostają się ze środowiska do łańcucha pokarmowego człowieka. Ich włączenie w system biologiczny, w wyniku naruszenia procesów biochemicznych, prowadzi do groźnych zaburzeń zdrowotnych. Wśród pierwiastków śladowych, obok tych pełniących wiele funkcji fizjologicznych, ze skażonego środowiska przenikają też metale ciężkie (kadm, rtęć, ołów), wykazujące działanie toksyczne dla żywych organizmów.

Kadm (Cd) występuje jako zanieczyszczenie środowiska pochodzące ze źródeł przemysłowych i rolniczych. Ze względu na rosnące zastosowanie przemysłowe, m.in. w produkcji baterii kadmowo-niklowych, barwników (siarczek kadmu) i stabilizatorów do tworzyw sztucznych (stearynian kadmu), stwarza realne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt [1].

Dla ogólnej populacji niepalących żywność jest głównym źródłem narażenia na kadm. Wdychanie kadmu z dymem tytoniowym lub wchłanianie drogą pokarmową z różnych źródeł prowadzi do jego kumulacji w organizmie człowieka, ponieważ metal ten wykazuje długi biologiczny okres półtrwania (10-30 lat) [2]. Toksyczność kadmu zależy od dawki, drogi i czasu trwania ekspozycji i jest ostatnio szczegółowo badana [3-6]. Ekspozycja,

¹ Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Uniwersytet Rzeszowski, ul. M. Œwiklińskiej 2, 35-601 Rzeszów, tel. 17 872 16 19, email: mdzugan@ur.edu.pl

² Zakład Weterynarii, Rozrodu i Dobrostanu Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. A. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, tel. 12 662 41 12, email: rzlis@cyf-kr.edu.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

także przewlekła, na związki kadmu jest przyczyną występowania nowotworów płuc, nerek, prostaty, piersi. Najnowsze dane, dotyczące chronicznego narażenia populacji ogólnej na kadm, wskazują na zwiększone ryzyko zachorowania na nowotwory, zwłaszcza hormonozależne [7].

Mechanizmy toksyczności kadmu

Zaproponowano i udowodniono wiele mechanizmów toksycznego działania kadmu na organizmy żywe. Najszerzej rozważane były:

- indukcja stresu oksydacyjnego,
- uszkodzenie mitochondriów i zahamowanie produkcji ATP,
- wpływ na system informacyjny komórki (hamowanie procesów naprawy DNA),
- indukcja karcynogenezy (modyfikacja E-kadheryn),
- indukcja apoptozy komórki,
- destabilizacja błon lizosomalnych,
- hamowanie aktywności wielu enzymów, m.in. cyklu Krebsa,
- zakłócenie przemian wapnia i fosforu w tkance kostnej,
- zmniejszenie elastyczności ścian tętnic,
- zakłócenia czynności hormonalnej nerek, nadnerczy, gonad („endocrine disruptor”),
- zaburzenie metabolizmu: Fe, Cu, Zn,
- zaburzenia w metabolizmie białek oraz witamin B1 i D [2, 3].

Mimo że kadm należy do metali oksydoredukcyjnie nieaktywnych, narusza równowagę redox komórki, indukując stres oksydacyjny w sposób pośredni poprzez:

- wypieranie metali aktywnych oksydoredukcyjnie, tj. Fe, Cu, Cr, które mogą bezpośrednio katalizować wytwarzanie rodnika hydroksylowego z nadtlenu wodoru w reakcji Fentona,
- spadek poziomu wewnątrzcząsteczkowych neutralizatorów wolnych rodników (glutation-GSH, witaminy C, E),
- inhibicję enzymów antyoksydacyjnych, które biorą udział w metabolizmie i neutralizacji reaktywnych form tlenu, tj. peroksydaza-GSH, reduktaza-GSH, katalaza i dysmutaza ponadtlenkowa,
- zahamowanie transportu elektronów w łańcuchu oddechowym - uszkodzenie mitochondriów [3].

Ze względu na długi okres półtrwania kadm jest uważany za ksenobiotyk kumulujący się w organizmie i częściej wywołujący zatrucia przewlekłe niż ostre. Narząd docelowy toksycznego działania kadmu zależy od rodzaju ekspozycji. W przypadku zatrucia ostrego w wyniku inhalacji związków kadmu głównym celem toksycznego działania są płuca, wdychanie kadmu może prowadzić do przewlekłej obturacyjnej choroby dróg oddechowych [2, 3]. W przypadku zatrucia chronicznego, zarówno drogą inhalacyjną, jak i doustną, najbardziej narażone na uszkodzenia są nerki [8]. Oprócz zaburzeń ich funkcjonowania, dochodzi także do licznych uszkodzeń strukturalnych cewek proksymalnych, gdzie organellami najbardziej wrażliwymi na toksyczne efekty są mitochondria. Metal gwałtownie gromadzi się w tych strukturach, prawdopodobnie dostaje się tam przez kanał wapniowy błony wewnętrznej mitochondrium, a następnie wiąże się

z białkami transportującymi elektrony i hamuje fosforylację oksydacyjną, proces fundamentalny dla oddychania komórkowego [3].

Najwcześniejszymi objawami uszkodzenia kanalików są: zwiększone wydalenie białek o niskiej masie cząsteczkowej, tj. β 2-mikroglobuliny (β 2-M) i α 1-mikroglobuliny (α 1-M), białka wiążącego retinol (RBP) oraz markerów lizosomalnych, w tym N-acetyloglukozaminidazy (NAG) [2]. U ludzi enzym ten stosowany jest do oceny narażenia chronicznego na kadm [9, 10]. W komórce NAG jest usytuowana głównie w lizosomach. Wzrost przepuszczalności błon lizosomalnych, indukowany przez kadm, może powodować wyciek enzymów lizosomalnych do cytoplazmy, a następnie do krwi.

Strategie obronne

Kadm wykazuje toksyczność wyłącznie w zjonizowanej formie. Dlatego podstawowy mechanizm detoksykacji kadmu na poziomie komórkowym odbywa się przy udziale niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy i metalotioneiny - białka, którego syntezę indukuje kadm. Glutation (GSH) jest uważany za pierwszą linię obrony przeciwko toksyczności Cd, a mechanizm jego ochronnego działania jest dobrze zbadany [11]. Ponadto wykazano, że N-acetylocysteina (NAC), prekursor glutationu, może chronić wątrobę i nerkę przed uszkodzeniami w warunkach ekspozycji na kadm [12].

Odrębny mechanizm działania ochronnego oparty jest na interakcjach międzypierwiastkowych. Wydajność absorpcji kadmu w dużym stopniu zależy od stanu zaopatrzenia organizmu w inne pierwiastki, takie jak żelazo czy cynk. Deficyt tych pierwiastków może powodować zwiększenie wchłaniania i akumulacji kadmu [1]. Kadm, na zasadzie podobieństwa chemicznego, tzw. „mimikry jonowej”, wchłaniany jest przez przenośniki specyficzne dla niezbędnych fizjologicznie jonów metali dwuwartościowych, takich jak: Fe(II), Zn(II) i Ca(II) [13]. Badania prowadzone na zwierzętach sugerują, że zwiększona podaż niektórych biopierwiastków może łagodzić efekty toksycznego działania kadmu, a nawet im całkowicie zapobiegać. Wiadomo, że absorpcja kadmu ze środowiska może być ograniczana przez ochronny wpływ nadmiaru takich pierwiastków, jak: Zn, Mn, Ca, Mg, Se [14, 15]. Szczególną rolę ochronną w przypadku narażenia na kadm pełni cynk (Zn), który jest uznanym przeciwutleniaczem, zmniejszającym produkcję reaktywnych form tlenu.

Zastosowanie modelu *in ovo* w badaniach toksyczności kadmu

Zarodek kurzy jest dobrze znanym modelem biologicznym, stosowanym w badaniach toksykologicznych i farmaceutycznych, głównie ze względu na dostępność i niskie koszty eksperymentu [16]. Podstawową zaletą tego modelu jest: krótki okres inkubacji i niezależność od wpływów środowiskowych. Jajo zapewnia wszystkie składniki odżywcze niezbędne dla wzrostu i rozwoju zarodka, co stwarza doskonały scenariusz do testowania wpływu dodatkowych czynników, wprowadzanych metodą iniekcji do jaja (technika *in ovo*) na przebieg embriogenezy.

Badania *in ovo* pozwalają na szybką i skuteczną ocenę toksyczności ostrej wielu ksenobiotyków środowiskowych, a także dzięki wykorzystaniu specyficznych biomarkerów na ocenę skutków ekspozycji przewlekłej. W zależności od rodzaju ksenobiotyku można go podawać w różnych ilościach, w różnych stadiach rozwoju i do różnych przedziałów jaja.

W związku z tym mogą być prowadzone badania porównawcze w takich samych warunkach z ograniczeniem wpływów środowiskowych, genetycznych, diety i sezonu, a przede wszystkim czaso- i kosztochłonności eksperymentu. Efekt czynnika toksycznego może być oceniany na różnych etapach rozwoju zarodka z równoczesnym zastosowaniem analiz makroskopowych (do wykrywania wad rozwojowych lub śmiertelności), analiz histologicznych, molekularnych i immunohistochemicznych oraz specyficznych markerów enzymatycznych [17].

Badania *in ovo* nad skutecznością protektorów

W badaniach własnych wykorzystano model *in ovo* w celu określenia wpływu kadmu na embriogenezę zarodków kurzych oraz zbadania możliwości ochronnego działania cynku i N-acetylocysteiny podanych równocześnie z kadmem.

Eksperyment I: Iniekcję 50 mm³ roztworu jonów Cd(II) w rosnącej dawce 0-24 µg/jajo, do białka zapłodnionych jaj kurzych linii Ross 308, przeprowadzono w 4. dniu inkubacji, stosując min. 50 jaj/grupę. Oceniano śmiertelność i wady rozwojowe zamarych zarodków. W osoczu krwi oznaczano aktywność NAG metodą spektrofotometryczną z użyciem 4-nitrophenylo-N-acetylo-β-D-glukozaminidu (Sigma Aldrich, USA) jako substratu [18].

Eksperyment II: Jaja wylęgowe podzielono na 6 grup eksperymentalnych (40 jaj/grupę), w 4. dobie inkubacji do białka jaj wprowadzono metodą iniekcji toksyczną dawkę jonów kadmu i/lub ochronną dawkę jonów cynku w objętości 50 mm³ soli fizjologicznej:

Cd: 50 nmol Cd²⁺ (czyli 6 µg Cd/jajo)

Cd+2 Zn: 50 nmol Cd²⁺ + 100 nmol Zn²⁺

Cd+10 Zn: 50 nmol Cd²⁺ + 500 nmol Zn²⁺

2 Zn: 100 nmol Zn²⁺

10 Zn: 500 nmol Zn²⁺

Kontrolna: sól fizjologiczna

Oceniano wyniki łęgu i poziom aktywności NAG we krwi jednodniowych piskląt [19].

Eksperyment III: Jaja wylęgowe podzielono na 6 grup eksperymentalnych (40 jaj/grupę), w 4. dobie inkubacji do białka jaj wprowadzono metodą iniekcji toksyczną dawkę jonów kadmu i/lub ochronną dawkę N-acetyloglukozaminy (NAC) w objętości 50 mm³ soli fizjologicznej:

Cd: 50 nmol Cd²⁺

Cd+50 NAC: 50 nmol Cd + 2,5 µmol NAC

Cd+200 NAC: 50 nmol Cd + 10 µmol NAC

50 NAC: 2,5 µmol NAC

200 NAC: 10 µmol NAC

Kontrolna: sól fizjologiczna

Oceniano wyniki łęgu i poziom aktywności NAG we krwi jednodniowych piskląt.

Eksperymenty przeprowadzono zgodnie z zezwoleniem I Lokalnej Komisji Etycznej w Lublinie (nr 9/2011).

Wyniki uzyskane w ramach Eksperymentu 1 (tab. 1), polegającego na wprowadzeniu kadmu do białka jaja metodą iniekcji od strony komory powietrznej, wskazują, że wraz ze

zwiększającą się dawką kadmu stopniowo spada wylęgowość (od 45% w grupie kontrolnej do 0% dla dawki 24 µg/jajo), przy czym najintensywniejszy wzrost zamieralności zarodków obserwowano bezpośrednio po iniekcji. Wyznaczona metodą Kräbera dawka letalna LD₅₀ wynosiła 3,9 µg/jajo. Analiza embriopatologiczna zarodków z jaj wybrakowanych i niewyklutych w grupie narażonej na 6 µg Cd wykazała występowanie wad rozwojowych, w tym karłowatość, deformację kończyn, deformacje w obszarze głowy [18].

Tabela 1

Toksyczność kadmu dla zarodków kurzych i ochronne działanie cynku oraz N-acetylocysteiny

Table 1

Cadmium toxicity for chick embryos and protective action of zinc and N-acetylcysteine

Eksperyment <i>in ovo</i>	Wylęgowość [%]	Masa wątroby/ Masa ciała [%]	Aktywność N-acetyloglukozaminidazy w krwi 1-dniowych kurcząt [mU/cm³]
Eksperyment 1			
Kontrola	45,0% ^a	1,62 ^a	34 ±7 ^a
1 µg Cd	51,3% ^a	1,78 ^b	25 ±1 ^a
3 µg Cd	20,0% ^b	1,82 ^b	52 ±8 ^{b,c}
6 µg Cd	19,5% ^b	1,98 ^c	68 ±10 ^{b,d}
12 µg Cd	7,5% ^c	1,69 ^a	45 ±7 ^{a,c,d}
24 µg Cd	0,0% ^d	-	-
Eksperyment 2			
Kontrola	61,9% ^a	1,76 ^a	87 ±22 ^a
Cd	30,2% ^b	1,91 ^{b,c}	92 ±20 ^a
Cd+2 Zn	43,2% ^{b,c}	1,93 ^{b,c}	106 ±41 ^a
Cd+10 Zn	48,9% ^{a,c}	2,00 ^c	80 ±31 ^a
2Zn	47,6% ^{a,c}	1,84 ^{a,b}	85 ±49 ^a
10Zn	60,9% ^a	1,84 ^{a,b}	94 ±36 ^a
Eksperyment 3			
Kontrola	60,5% ^a	1,86 ^a	69 ±10 ^a
grupa Cd	2,5% ^b	1,96 ^b	100 ±19 ^b
Cd+50 NAC	0,0% ^b	1,92 ^{a,b}	110 ±14 ^{a,b}
Cd+200 NAC	42,5% ^c	1,85 ^a	79 ±3 ^a
50 NAC	60,0% ^{a,d}	1,88 ^a	62 ±15 ^{a,c}
200 NAC	48,7% ^d	1,90 ^a	58 ±22 ^c

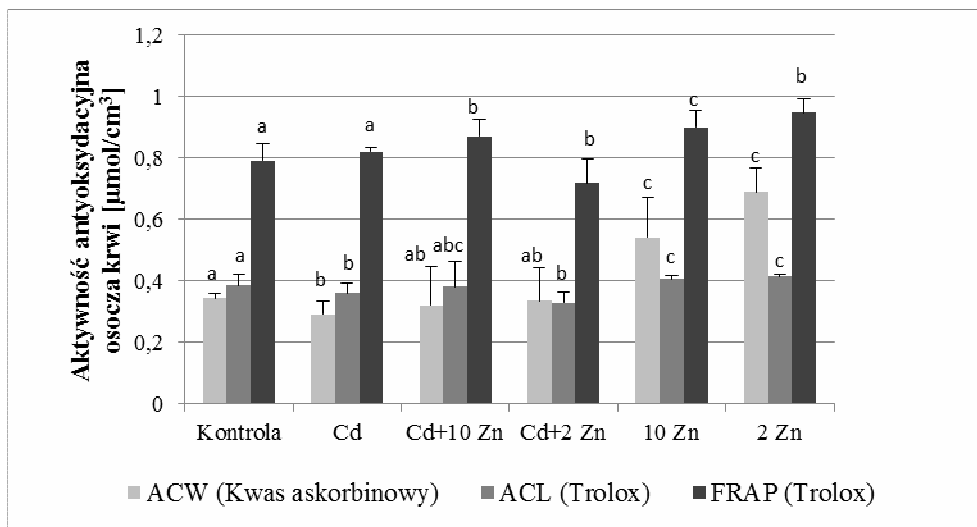
^{a,b} Średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie dla danego eksperymentu są statystycznie różne ($P < 0,05$)

We krwi wylężonych piskląt stwierdzono istotny ($P < 0,05$) wzrost aktywności NAG skorelowany z dawką kadmu (tab. 1). Obserwowane zmiany mogą być wynikiem uszkodzenia narządów wewnętrznych, a wyciek tego enzymu lizosomalnego do krwi wskazuje na destabilizację lizosomów wewnątrz komórki. Eliminacja białka enzymatycznego z krwi odbywa się w wątrobie, której praca także ulega zakłóceniu przez kadm. Potwierdza to obserwowany podczas rosnącej ekspozycji wzrost masy wątroby standaryzowanej względem masy ciała (tab. 1).

Eksperyment 2, polegający na równoczesnym podaniu do jaj kurzych kadmu (w dawce 6 µg/jajo) i cynku (w stosunku molowym 2- i 10-krotnie wyższym niż kadm), przeprowadzono w celu wykazania ochronnego działania cynku (tab. 1). Analiza wyników lęgu wykazała wzrost wylęgowości przy równoczesnym podaniu kadmu z rosnącą dawką

ochronną cynku o 17,5 i 30,7% w stosunku do grupy kadmowej. Cynk podany oddzielnie w najwyższej zastosowanej dawce nie wpłynął na wyniki lęgu w porównaniu z grupą kontrolną, odpowiednio 60,9 i 61,9% wylęgu. Analiza aktywności enzymu markerowego (NAG) w osoczu krwi jednodniowych piskląt nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupami.

W ramach wyjaśnienia mechanizmu ochronnego działania cynku w warunkach narażenia na kadm badano status antyoksydacyjny osocza krwi wylęzonych piskląt (rys. 1).



Rys. 1. Aktywność antyoksydacyjna osocza krwi 1-dniowych piskląt narażonych na działanie kadmu i/lub cynku podczas embriogenezy

Fig. 1. Antioxidant capacity of blood plasma of 1-day old chicks expose to cadmium and/or zinc during embryogenesis

Po raz pierwszy zastosowano metodę fotochemiluminescencji (PCL) z wykorzystaniem zestawów do oceny hydrofilowej (ACW) i lipofilowej (ACL) frakcji antyoksydantów, stosując jako referencyjną metodę FRAP. Wykazano, że narażenie na kadm powoduje spadek aktywności antyoksydacyjnej (głównie frakcji antyoksydantów hydrofilowych) osocza piskląt, który był niwelowany przez podaną równocześnie ochronną dawkę cynku. Ponadto iniekcja samego cynku zwiększała istotnie aktywność antyoksydacyjną osocza krwi. Badania potwierdziły większą czułość metody PCL w stosunku do metody FRAP oraz jej przydatność do analizy równowagi antyoksydacyjnej organizmu.

W Eksperymentcie 3, polegającym na równoczesnym podaniu do jaj kurzych kadmu (w dawce 6 μg/jajo) i N-acetylocysteiny (w stosunku molowym 50- i 200-krotnie wyższym niż kadm), ochronne działanie NAC obserwowano wyłącznie dla najwyższej dawki (Cd: NAC w stosunku molowym 1: 200), gdzie śmiertelność zarodków zmniejszyła się o 40% ($P > 0,05$) w porównaniu do grupy kadmowej i była o 18% niższa niż w grupie kontrolnej (62,5%). Ta sama dawka NAC podana oddzielnie wykazywała działanie

toksyczne dla zarodków, wylęgowość zmniejszyła się o 11,8% w stosunku do grupy kontrolnej. Obserwowana wysoka śmiertelność zarodków w grupie kadmowej wydaje się wskazywać na zróżnicowaną wrażliwość zarodków kurzych na kadm. Może to być związane, przy zachowaniu niezmienności pozostałych parametrów eksperymentu *in ovo*, z niejednorodnością materiału badawczego wywołaną przez czynniki środowiskowe (żywienie, pora roku) lub genetyczne [20].

Wnioski

1. Model *in ovo* pozwala na szybką ocenę toksycznego działania kadmu i umożliwia równoczesne testowanie substancji działających ochronnie.
2. Kadm zakłóca przebieg embriogenezy u ptaków, obserwowano istotne, skorelowane z poziomem narażenia, obniżenie wyników lęgu i pogorszenie stanu fizjologicznego pozyskanych piskląt. Skażenie jaj na terenach przemysłowych, przekraczające wyznaczoną dawkę LD₅₀ 3,9 µg/jajo, może stanowić zagrożenie dla rozrodu ptaków dziko żyjących.
3. Aktywność N-acetyloglukozaminidazy może być wskaźnikiem narażenia ptaków na kadm i znajduje wykorzystanie do oceny efektywności stosowanych protektorów.
4. Obecność cynku lub N-acetylocysteiny w stosunku molowym przekraczającym wielokrotnie dawkę kadmu ogranicza jego toksyczność, przy czym cynk jest bardziej efektywnym protektorem kadmu.

Podziękowania

Praca naukowa finansowana ze środków projektu NN 304 291 140.

Literatura

- [1] Nordberg GF, Nogawa K, Nordberg M, Friedmann JM. Cadmium. In: Handbook on the Toxicology of Metals. Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg L, editors. Amsterdam: Elsevier; 2007; 445-486.
- [2] Krzywy I, Krzywy E, Peregud-Pogorzelski J, Łuksza K, Brodkiewicz A. Cadmium - Is there something to fear? Ann Acad Med Stetin. 2011;57(3):49-63. http://www.pum.edu.pl/_data/assets/file/0005/55625/57-03_049-063.pdf.
- [3] Nair AR, DeGheselle O, Smeets K, Van Kerkhove E, Cuypers A. Cadmium-induced pathologies: Where is the oxidative balance lost (or not)? Int J Mol Sci. 2013;14(6):6116-6143. DOI: 10.3390/ijms14036116.
- [4] Satarug S. Long-term exposure to cadmium in food and cigarette smoke, liver effects and hepatocellular carcinoma. Curr Drug Metab. 2012;13:257-271. DOI: 10.2174/138920012799320446.
- [5] Bernhoft RA. Cadmium toxicity and treatment. Sci World J. 2013; Article ID 394652, DOI: 10.1155/2013/394652.
- [6] Tellez-Plaza M, Guallar E, Howard BV, Umans JG, Francesconi KA, Goessler W, et al. Cadmium exposure and incident cardiovascular disease. Epidemiology. 2013;24(3):421-429. DOI: 10.1097/EDE.0b013e31828b0631.
- [7] Dailiah PR, Padma CL. Cadmium exposure-induced oxidative stress; delay in sexual maturation and impaired hormones in developing rat ovary. Oxid Antioxid Med Sci. 2013;2(3):181-187. DOI: 10.5455/oams.1007613.or.048.
- [8] Johri N, Jacquillet G, Unwin R. Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney. Biomaterials. 2010;23(5):783-92. DOI: 10.1007/s10534-010-9328-y.
- [9] Nordberg GF. Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China. Toxicol Lett. 2010;192(1):45-49. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.06.859.

- [10] Moriguchi J, Inoue Y, Kamiyama S, Horiguchi M, Murata K, Sakuragi S, et al. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) as the most sensitive marker of tubular dysfunction for monitoring residents in non-polluted areas. *Toxicol Lett.* 2009;190(1):1-8. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.05.009.
- [11] Rania A, Kumarb A, Lala A, Panta M. Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *Int J Environ Health Res.* 2014;24(4):378-399. DOI: 10.1080/09603123.2013.835032.
- [12] Luczak MW, Zhitkovich A. Role of direct reactivity with metals in chemoprotection by N-acetylcysteine against chromium(VI), cadmium(II), and cobalt(II). *Free Radic Biol Med.* 2013;65:262-269. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.06.028.
- [13] Bridges CC, Zalups RK. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;204:274-308. DOI: 10.1016/j.taap.2004.09.007
- [14] Messaoudi I, El Heni J, Hammouda F, Saïd K, Kerkeni A. Protective effects of selenium, zinc, or their combination on cadmium-induced oxidative stress in rat kidney. *Biol Trace Elem Res.* 2009;130(2):152-161. DOI: 10.1007/s12011-009-8324-y.
- [15] Cullinane J, Bannigan J, Thompson J. Cadmium teratogenesis in the chick: period of vulnerability using the early chick culture method, and prevention by divalent cations. *Reprod Toxicol.* 2009;28(3):335-341. DOI: 10.1016/j.reprotox.2009.05.069.
- [16] Rashidi H, Sottile V. The chick embryo: hatching a model for contemporary biomedical research. *Bioessays.* 2009;31(4):459-465. DOI: 10.1002/bies.200800168.
- [17] De Oliveira JE. In ovo screening of feed additives show promise. *Feed Mix.* 2009;17(1):9. <http://www.allaboutfeed.net/Home/General/2010/11/In-ovo-screening-of-feed-additives-shows-promise-AAF011537W>.
- [18] Dżugan M, Lis M, Droba M, Niedziółka J.W. Effect of cadmium injected *in ovo* on hatching results and plasma hydrolytic enzymes activity in newly hatched chicks. *Acta Vet Hung.* 2011;59(3):337-347. DOI: 10.1556/A Vet.2011.020.
- [19] Dżugan M, Lis MW, Droba M, Niedziółka JW. Protective effect of zinc on cadmium embryotoxicity and antioxidant status of blood plasma in newly hatched chicks. *J Environ Sci Health, Part A.* 2012;47:1288-1293. DOI: 10.1080/10934529.2012.672133.
- [20] Ulmer-Franco AM, Fasenko GM, O'Dea Christopher EE. Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poultry Sci.* 2010;89(12):2735-2742. DOI: 10.3382/ps.2009-00403.

THE *IN OVO* STUDY OF CADMIUM EMBRYOTOXICITY AND THE SEARCH FOR PROTECTORS

¹ Department of Chemistry and Food Toxicology, University of Rzeszow

² Department of Veterinary and Animal Reproduction and Welfare, University of Agriculture in Krakow

Abstract: Cadmium (Cd), an environmental toxin with a high bioaccumulation potential and broad spectrum of activity, poses a real threat to human and animal health. The application of *in ovo* model to cadmium toxicity studies allows to assess the effects of cadmium exposure for developing embryos and creates an ideal scenario for searching effective protectors. The advantage of the model is elimination of environmental influences, nutrition but most of all the availability and low costs of experiment. The study allowed to assess the effects of increasing exposure to cadmium (at a dose of 0-24 µg Cd/egg, injected to egg albumen on 4th day of incubation) for the development of chicken embryos. The mortality and malformations induced by treatment as well as biochemical changes in chicks blood plasma were determined. Based on lysosomal N-acetylglucosaminidase activity it was found that *in ovo* exposure to cadmium lead to damage of chicks liver and kidney. Moreover, it has been shown that co-administration of antagonistic metals or chelating thiols (in a multiplied molar ratio) effectively reduced the embryotoxicity of cadmium in birds.

Keywords: cadmium, embryotoxicity, *in ovo* model, protectors

Krzysztof FRĄCZEK¹, Anna LENART-BORON¹ i Dariusz ROPEK²

ZANIECZYSZCZENIA CHEMICZNE I MIKROBIOLOGICZNE ZIAREN PSZENICY W POBLIŻU SKŁADOWISKA KOMUNALNEGO

CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CONTAMINATIONS OF WHEAT SEEDS IN THE VICINITY OF MUNICIPAL LANDFILL SITE

Abstrakt: Celem przeprowadzonych badań była ocena mikrobiologicznego zanieczyszczenia ziarna oraz składu chemicznego zanieczyszczeń znajdujących się na powierzchni ziaren pszenicy jarej uprawianej w pobliżu składowiska odpadów komunalnych. Skład chemiczny zanieczyszczeń znajdujących się na powierzchni ziaren pszenicy wykonano za pomocą mikroskopu elektronowego NOVA NANO SEM s 300 techniką EDS. Przeprowadzone badania wykazały, że ziarno pszenicy uprawianej w pobliżu składowiska odpadów komunalnych może być zanieczyszczone metalami ciężkimi, a stopień zanieczyszczenia zależy od lokalizacji uprawy względem składowiska odpadów.

Słowa kluczowe: metale ciężkie, składowisko komunalne, rośliny rolnicze, pszenica

Składowiska odpadów komunalnych oraz związane z nimi niedogodności stają się w ostatnich latach coraz bardziej zauważalnym problemem w ochronie środowiska [1]. Uwarunkowane jest to przede wszystkim możliwością emitowania do atmosfery znacznych ilości szkodliwych związków, tj.: pyłów wzbogaconych w metale ciężkie, związków organicznych, związków nieorganicznych azotu, siarki, węgla i innych oraz bioaerozoli [2-4]. Należy podkreślić, że na obszarach przyległych do składowisk szczególnie zagrożenie dla zdrowia ludzi stanowią metale ciężkie. Zagrożenie wynika bezpośrednio z ich przemieszczania się w łańcuchu troficznym gleba-roślina-zwierzę-człowiek oraz z możliwości ich kumulacji w ostatnim ogniwie, czyli organizmie człowieka [5]. Ponadto w pobliżu składowisk odpadów komunalnych obserwuje się wzrost zawartości w powietrzu bioaerozoli, które mogą być niebezpieczne dla zdrowia człowieka [6-8]. Dlatego też, doceniając wagę powyższego zagadnienia, celem przeprowadzonych badań była ocena mikrobiologicznego zanieczyszczenia ziarna oraz składu chemicznego zanieczyszczeń znajdujących się na powierzchni ziaren pszenicy jarej uprawianej w pobliżu składowiska komunalnego.

Material i metody

Doświadczenie poletkowe założono w sąsiedztwie czynnego składowiska komunalnego w Tarnowie. Poletka były zlokalizowane we wszystkich kierunkach geograficznych od badanego obiektu, w dwóch strefach 50-200 i 250-500 metrów od jego granic oraz na terenie już zrekultywowanego sektora składowania odpadów. Doświadczenie założono w czterech powtórzeniach.

¹ Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. A. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, email: rrfrazce@cyf-kr.edu.pl

² Katedra Ochrony Środowiska Rolniczego, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. A. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, email: rropek@cyf-kr.edu.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

Próbki ziaren pszenicy jarej do badań laboratoryjnych pobierano w okresie zbioru plonów w dwóch sezonach wegetacyjnych. Analizę EDS składu chemicznego zanieczyszczeń występujących na powierzchni ziaren wykonano za pomocą mikroskopu elektronowego NOVA NANO SEM s 300 [9].

Tabela 1

Poletka doświadczalne zlokalizowane w otoczeniu składowiska odpadów komunalnych w Tarnowie

Table 1

Experimental plots in the vicinity of municipal landfill site in Tarnow

Poletka Plots	Lokalizacja poletek - strefa [m] Localization of plots - zone [m]	Kierunek względem składowiska Direction to the landfill site
W I	50-250	Zachód/West
W II	250-500	Zachód/West
N I	50-250	Północ/North
N II	250-500	Północ/North
E I	50-250	Wschód/East
E II	250-500	Wschód/East
S I	50-250	Południe/South
S II	250-500	Południe/South
Z	Sektor zrekultywowany Reclaimed sector	

Oprócz analizy składu chemicznego zanieczyszczeń występujących na ziarnie pszenicy wykonano analizę mikrobiologiczną. Liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) występujących drobnoustrojów na ziarnach pszenicy jarej oznaczano metodą posiewu rozcieńczeń, przeliczając wynik oznaczenia na jeden gram suchej masy ziaren ($\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1} \text{ s.m.}$).

Wyniki i dyskusja

Stały wzrost liczby ludności i postęp cywilizacyjny wymuszają produkcję coraz większej ilości żywności o wysokiej wartości odżywczej, a zarazem bezpiecznej dla konsumenta. Wszystkie produkty roślinne stanowiące pokarm dla ludzi lub pasze dla zwierząt mogą jednak zawierać zanieczyszczenia pochodzenia chemicznego (pozostałości nawozów, środków ochrony roślin, metali ciężkich) oraz mikrobiologicznego [10, 11].

W niniejszej pracy przedstawiono skład chemiczny zanieczyszczeń znajdujących się na powierzchni nasion oraz mikrobiologiczne zanieczyszczenia ziaren pszenicy jarej uprawianej na poletkach doświadczalnych, zlokalizowanych wokół składowiska odpadów komunalnych w Tarnowie. Otrzymane wyniki zestawiono w tabelach 2-4. Należy podkreślić, że spośród zanieczyszczeń chemicznych zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi jest jednym z ważniejszych zagrożeń dla zdrowia człowieka, gdyż są one wdychane, wchłaniane przez skórę, spożywane z produktami roślinnymi i zwierzęcymi. Zmieniają one również w znacznym stopniu właściwości gleby i z tego względu są także poważnym problemem dla całego ekosystemu [5, 12].

Przeprowadzona analiza pozwoliła stwierdzić, że w składzie chemicznym zanieczyszczeń znajdujących się na badanych ziarnach pszenicy obok pierwiastków powszechnie występujących w środowisku, tj. C, N, O, Na, Mg, Al., Si, P, S, K, Ca, Cl, były także obecne metale ciężkie: Pb, Cd, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn. Warto tu również podkreślić, że istotny wzrost zawartości metali ciężkich zaliczanych do grupy o bardzo wysokim

stopniu potencjalnego zagrożenia, tj. ołowiu (Pb) (1,04% masowy) i kadmu (Cd) (0,64% masowy), odnotowano odpowiednio na poletku po południowej i północnej stronie składowiska (tab. 2).

Tabela 2

Skład chemiczny zanieczyszczeń na powierzchni nasion pszenicy jarej uprawianej na obszarach wokół składowiska odpadów komunalnych

Table 2

Chemical composition of contaminants present on the surface of spring wheat seeds cultivated in the vicinity of municipal landfill site

Poletka Plots	Zawartość pierwiastków [% masowy]/Content of elements [mass percent composition]																
	C	N	O	Na	Mg	Al	Si	P	S	Pb	Cd	K	Ca	Mn	Fe	Ni	Cu
W I	57,80	2,20	37,36	0,11	0,12	0,08	0,12	0,09	0,11	0,00	0,20	0,60	0,17	0,13	0,14	0,20	0,19
W II	59,84	1,88	34,99	0,11	0,13	0,06	0,23	0,15	0,00	0,33	0,39	0,83	0,42	0,24	0,19	0,34	0,41
N I	57,91	2,61	36,20	0,12	0,10	0,06	0,24	0,12	0,00	0,35	0,64	0,78	0,26	0,13	0,17	0,18	0,29
N II	58,37	2,07	35,96	0,09	0,17	0,08	0,18	0,09	0,13	0,31	0,36	0,68	0,37	0,21	0,32	0,25	0,18
E I	59,82	2,17	34,90	0,11	0,12	0,06	0,10	0,11	0,13	0,16	0,27	0,93	0,16	0,15	0,13	0,17	0,19
E II	59,90	1,88	35,36	0,06	0,05	0,06	0,09	0,05	0,11	0,23	0,19	1,01	0,17	0,13	0,15	0,18	0,20
S I	58,08	2,23	35,86	0,08	0,06	0,06	0,14	0,14	0,09	1,04	0,23	1,06	0,13	0,17	0,20	0,22	0,25
S II	63,51	2,34	30,64	0,16	0,23	0,14	0,28	0,14	0,13	0,17	0,30	0,87	0,31	0,18	0,38	0,33	0,20
Z	64,28	1,44	30,56	0,13	0,16	0,06	0,15	0,14	0,15	0,00	0,21	1,34	0,22	0,22	0,28	0,29	0,24

Tabela 3

Średnia zawartości metali ciężkich w zanieczyszczeniach na powierzchni nasion pszenicy jarej uprawianej w wyznaczonych strefach wokół składowiska odpadów komunalnych

Table 3

Mean content of heavy metals in contaminants present on the surface of spring wheat seeds cultivated in the vicinity of municipal landfill site

Poletka Plots		Zawartości metali ciężkich [% masowy] Content of heavy metals [mass percent composition]					
		Pb	Cd	Mn	Fe	Ni	Cu
Strefy wokół składowiska Zones around landfill site	50-250 m	0,38	0,33	0,14	0,16	0,19	0,23
	250-500 m	0,26	0,31	0,19	0,26	0,27	0,24
Sektor zrehabilitowany/Reclaimed sector		0,00	0,21	0,22	0,28	0,29	0,24

Tabela 4

Liczebność mikroorganizmów na powierzchni nasion pszenicy jarej

Table 4

Number of microorganism occurring on wheat seeds surface

Poletka Plots		Bakterie/Bacteria		Grzyby/Fungi	
		Zakres/Range	Średnia/Mean	Zakres/Range	Średnia/Mean
Strefy wokół składowiska Zones around landfill site	W I	8480-81 000	54 726	300-30 000	14 500
	W II	2100-48 000	21 503	900-90 000	46 500
	N I	1960-44 000	32 320	230-11 000	55 650
	N II	3540-94 000	34 313	250-20 000	11 125
	E I	2930-131 000	49 076	110-16 000	16 055
	E II	1360-48 000	26 853	60-83 000	52 030
	S I	2660-174 000	60 486	110-98 000	48 055
	S II	1600-93 000	45 667	700-80 000	41 350
Sektor zrehabilitowany Reclaimed sector		Z	4420-198 000	99 560	10-2000

Chłopecka [13] wskazuje na istotną korelację pomiędzy zawartością kadmu w glebie i ziarnie pszenicy, natomiast z kolei zwiększenie koncentracji Pb w glebie nie przekłada się na istotny przyrost tego pierwiastka w ziarnie pszenicy. Należy podkreślić, że są to pierwiastki, które nawet w małej ilości działają toksycznie na organizmy roślin, zwierząt i ludzi [5]. Zawartość tych pierwiastków w zanieczyszczeniach z powierzchni analizowanych próbek ziaren była wyraźnie wyższa na roślinach uprawianych na poletkach położonych w odległości do 250 m od składowiska (tab. 3). Warto podkreślić, że nie stwierdzono zawartości ołowiu (Pb) w pobranych próbkach ziarna pszenicy z poletka doświadczalnego umiejscowionego na terenie składowiska, tj. zrekultywowanego sektora. Uzyskane wyniki wskazują, że w przypadku kadmu (Cd) najniższą jego zawartość (0,19% masowy) odnotowano w zanieczyszczeniach na powierzchni nasion roślin uprawianych na poletku położonym na wschód od składowiska (poletko E II) w strefie oddalonej od 250 do 500 m od jego granic. Z uzyskanych danych wynika, że pozostałe metale ciężkie stwierdzone w zanieczyszczeniach znajdujących się na powierzchni badanych ziaren pszenicy, tj. Mn, Fe, Ni, Cu oraz Zn i Cl, mieściły się w zakresie odpowiednio: 0,13-0,23, 0,13-0,38, 0,17-0,34, 0,18-0,29, 0,16-0,34, 0,10-0,18% masowy. Przeprowadzona analiza wykazała, że najwyższy poziom zawartości Mn (0,24% masowy), Ni (0,34% masowy), Cu (0,41% masowy) i Zn (0,34 % masowy) w badanych próbkach ziaren pszenicy był odnotowywany na poletku zlokalizowanym na zachód od terenu składowiska w strefie oddalonej w odległości 250 do 500 m od jego granic (poletko W II). Natomiast Ziętecka i Dynysiuk [14] stwierdzili w doświadczeniu polowym z trzema odmianami pszenicy ozimej istotne różnice odmianowe zawartości w ziarnie Cu, Mn i Zn. Analiza uzyskanych wyników zwraca również uwagę na wyraźny wzrost udziału metali ciężkich w składzie zanieczyszczeń na powierzchni ziaren pszenicy jarej uprawianej na poletkach położonych na zachód (Mn, Ni, Cu, Zn) i południe (Pb i Fe) od badanego składowiska. Jest więc bardzo możliwe, że zaobserwowane różnice zależały od odległości i kierunku umiejscowienia poletka doświadczalnego względem składowiska [15].

Jak wiadomo, do obrotu nie mogą być także wprowadzane środki spożywcze, zawierające substancje pochodzące z mikroorganizmów lub drobnoustroje chorobotwórcze w ilościach szkodliwych dla zdrowia, albo środki spożywcze, zawierające nadmierne liczby drobnoustrojów saprofitycznych [16].

Na podstawie analizy uzyskanych wyników stwierdzono, że liczebność bakterii w 1 g ziaren pszenicy jarej uprawianej w okolicy składowiska komunalnego wahała się od 1360 do 174 000 jtk·g⁻¹ s.m. i od 10 do 98 000 jtk·g⁻¹ s.m. dla grzybów (tab. 4). Dzięki przeprowadzonym badaniom wykazano, że maksymalną wartość bakterii odnotowano w próbkach ziaren pszenicy jarej uprawianej na poletku doświadczalnym położonym w obszarze zrekultywowanego sektora (nawet 198 000 jtk·g⁻¹ s.m. ziaren), natomiast najwyższą liczbę grzybów stwierdzono w próbkach ziaren pobranych z poletka umiejscowionego na południe od granic składowiska (S I), w strefie do 250 m (98 000 jtk·g⁻¹ s.m. ziaren).

Porównując średnie wartości bakterii w 1 g ziaren pszenicy jarej na badanych poletkach doświadczalnych, zaobserwowano, że na poletku położonym w zrekultywowanym sektorze składowania odpadów ich liczba wynosiła 99 560 jtk·g⁻¹ s.m. i była nawet ponad 4-krotnie wyższa niż zaobserwowana na poletkach zlokalizowanych w strefie oddalonej od 250 do 500 m od granic składowiska (W II i E II) (odpowiednio:

21 503 i 26 853 jtk·g⁻¹ s.m. ziaren) - tabela 4. Natomiast, porównując średnie liczebności grzybów pomiędzy badanymi poletkami doświadczalnymi, zaobserwowano, że największe różnice występowały między ziarnem pszenicy uprawianej na poletku N I (55 650 jtk·g⁻¹ s.m.) a ziarnami pszenicy na poletku uprawowym sektora zrekultywowanego Z (1680 jtk·g⁻¹ s.m.). Jak podaje Trojanowska [17], bytowanie grzybów pleśniowych na ziarnie jest przyczyną jego strat sięgających w zależności od regionu świata 10-30% całości zebranego materiału zbożowego.

Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania potwierdziły, że dzięki mikroskopii elektronowej można analizować zanieczyszczenia chemiczne występujące na powierzchni ziaren roślin rolniczych. Analiza wyników wykazała, że w zanieczyszczeniach znajdujących się na ziarnach pszenicy jarej uprawianej w okolicy składowiska komunalnego stwierdza się obecność obok pierwiastków zaliczanych do makro- i mikroelementów również pierwiastki z grupy metali ciężkich, takie jak Pb, Cd i Zn. W próbkach badanego ziarna stwierdzono również występowanie bakterii i grzybów. Wyniki przeprowadzonych analiz pozwoliły stwierdzić, że położenie poletka uprawowego miało znaczący wpływ na obserwowane zanieczyszczenia chemiczne i mikrobiologiczne występujące na powierzchni nasion pszenicy jarej uprawianej w pobliżu składowiska odpadów komunalnych. Zaobserwowano wyraźną dominację mikroflory bakteryjnej na nasionach pszenicy jarej uprawianej na terenie zrekultywowanego sektora składowiska. Na pozostałych obiektach liczebność obu grup mikroorganizmów była mniej zróżnicowana. Przy czym mikroflora bakteryjna była zwykle liczniejsza na ziarnach pochodzących z poletek założonych w I strefie wokół składowiska.

Literatura

- [1] Frączek K, Grzyb J, Ropek D. Microbiological hazard to the environment posed by the groundwater in the vicinity of municipal waste landfill site. *Ecol Chem Eng S.* 2011;18(2):211-221. [http://tch.ue.uni.opole.pl/freeECE/S_18_2/FraczekGrzyb_18\(S2\).pdf](http://tch.ue.uni.opole.pl/freeECE/S_18_2/FraczekGrzyb_18(S2).pdf).
- [2] Ali SA, Pervaiz A, Afzal B, Hamid N, Yasmin A. Open dumping of municipal solid waste and its hazardous impacts on soil and vegetation diversity at waste dumping sites of Islamabad city. *J King Saud Univ - Sci.* 2014;26:59-65. DOI: 10.1016/j.jksus.2013.08.003.
- [3] Porta D, Milani S, Lazzarino A, Perucci CA, Forastiere F. Systematic review of epidemiological studies on health effects associated with management of solid waste. *Environ Health.* 2009;8:60. DOI: 10.1186/1476-069X-8-60.
- [4] Palmiotto M, Fattore E, Paiano V, Celeste G, Colombo A, Davoli E. *Environ Internat.* 2014;68:16-24. DOI: 10.1016/j.envint.2014.03.004.
- [5] Ociepa-Kubicka A, Ociepa E. Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi. *Inż Ochr Środ.* 2012;2:169-180.
- [6] Huang ChY, Lee ChCh, Li FCh, Ma YP, Su HJ. The seasonal distribution of bioaerosols in municipal landfill sites: a 3-yr study. *Atmos Environ.* 2002;36:4385-4395.
- [7] Giusti L. A review of waste management practices and their impact on human health. *Waste Manage.* 2009;29:2227-2239. DOI: 10.1016/j.wasman.2009.03.028.
- [8] Frączek K, Różycki H, Ropek D. Statistical analyses of bioaerosol concentration at municipal landfill site. *Ecol Chem Eng S.* 2014;21(2):229-243. DOI: 10.2478/eces-2014-0018.
- [9] Goldstein J, Newbury D, Joy D, Lyman Ch, Echlin P, Lifshin E, et al. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Micro-analysis.* New York: Kluwer; 1981.
- [10] McKay Ch, Scharman EJ. Intentional and inadvertent chemical contamination of food, water, and medication. Review article. *Emerg Med Clin N Am.* 2015;33:153-177. DOI: 10.1016/j.emc.2014.09.011.

- [11] de Souza Araújo DF, Ribeiro Bastos da Silva AM, de Andrade Lima LL, da Silva Vasconcelos MA, Cardoso Andrade SA, Sarubbo LA. The concentration of minerals and physicochemical contaminants in conventional and organic vegetables. *Food Control*. 2014;44:242-248. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.04.005.
- [12] Bielińska EJ, Antonkiewicz J, Kołodziej B, Wiśniewski J. Wpływ zróżnicowanych dawek osadu ściekowego na zawartość metali ciężkich w glebie pod uprawą wybranych roślin energetycznych. Monografia. Gospodarka Odpadami Komunalnymi, Komitet Chemii Analitycznej PAN. Koszalin: Wyd Feniks; 2011;VII:71-80.
- [13] Chłopecka A. Wpływ różnych związków kadmu, miedzi, ołowiu i cynku na formy tych metali w glebie oraz na ich zawartość w roślinach. Puławy: Wyd IUNG; 1994;1-65.
- [14] Ziętecka M, Dynysiuk B. Zawartość Cu, Mn i Zn w niektórych fazach rozwojowych trzech odmian pszenicy ozimej. *Zesz Probl Post Nauk Roln*. 1989;325:79-86.
- [15] Porębska G, Ostrowska A. Chemizm roślin z terenów składowania odpadów. *Ochr Środ Zasobów Natural*. 1999;16:81-98.
- [16] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 grudnia 2000 r. w sprawie wykazu dopuszczalnych ilości substancji dodatkowych i innych substancji obcych dodawanych do środków spożywczych lub używek, a także zanieczyszczeń, które mogą znajdować się w środkach spożywczych lub używkach. *DzU z dnia 5 lutego 2001 r. Nr 9, poz. 72*.
- [17] Trojanowska K. Zagrożenia ze strony mikroflory występującej na ziarnie zbożowym i w jego przetworach. *Przeg Zboż Młynar*. 2002;2:9-12.

CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CONTAMINATIONS OF SPRING WHEAT SEEDS IN THE VICINITY OF MUNICIPAL LANDFILL SITE

¹Department of Microbiology, ²Department of Agricultural Environmental Protection
University of Agriculture in Krakow

Abstract: The aim of this research was to evaluate the microbiological contamination and the chemical composition of contaminants present on grain surface of wheat cultivated in the vicinity of municipal landfill site. Chemical composition of contaminants present on grains surface was done with the electron microscopy NOVA NANO SEM s 300 with EDS technique. Conducted analyses revealed that grains of wheat cultivated in the vicinity of municipal landfill site are contaminated with heavy metals and the extent of contamination is related to the localization of plots to the landfill site.

Keywords: heavy metals, municipal landfill site, crops, wheat

Dawid GRZESIAK¹, Dariusz POPLAWSKI¹, Renata KĘDZIOR¹, Adam HAŁAT¹
i Piotr FALEWICZ¹

OCENA MOŻLIWOŚCI I ZAGROŻEŃ STOSOWANIA AMONIAKU JAKO POTENCJALNEGO PALIWA

EVALUATION OF OPPORTUNITIES AND HAZARDS OF APPLICATION OF AMMONIA AS A POTENTIAL FUEL

Abstrakt: W dobie malejących zasobów surowców energetycznych oraz negatywnego wpływu produktów ich spalania na środowisko naturalne poszukuje się nowych, niekonwencjonalnych paliw. W ostatnich latach rozważa się amoniak jako potencjalne paliwo wolne od emisji CO₂, umożliwiające pracę silników pneumatycznych z zapłonem iskrowym oraz ogniw paliwowych. Wzrost zainteresowania niekonwencjonalnymi paliwami w energetyce i transporcie stwarza potrzebę lepszego zrozumienia ich procesu spalania, a także zagrożeń związanych z obrotem oraz wykorzystaniem. W literaturze niezwykle trudno znaleźć eksperymentalne dane dla amoniaku, dotyczące jego palności oraz skłonności do wybuchu w warunkach zwiększonego ciśnienia i temperatury. Przykładem takich szczególnych danych są wyniki prac przeprowadzonych w ramach europejskiego projektu SAFEKINEX No. EVG1-CT-2002-00072. W projekcie przedstawiono wartości stężeniowych granic palności, maksymalnej szybkości narostu ciśnienia podczas wybuchu, maksymalnego ciśnienia wybuchu oraz indeksu deflagracji dla różnego rodzaju mieszanin gazowych. Wyniki pozwalają również na oszacowanie jednej z najważniejszych wielkości dla procesu spalania, jaką jest prędkość spalania. W pracy dokonano oceny amoniaku jako potencjalnego paliwa w odniesieniu do paliw konwencjonalnych. Wykorzystując dane z projektu SAFEKINEX, oszacowano także wartości prędkości spalania laminarnego amoniaku dla warunków podwyższonej temperatury 20, 100, 200, 250°C przy ciśnieniu 1 i 5 bar.

Słowa kluczowe: palność amoniaku, spalanie mieszanek amoniak-powietrze, prędkość spalania laminarnego

W miarę zwiększania się światowej populacji oraz malejących zasobów energetycznych istnieje potrzeba poszukiwania alternatywnych źródeł i nośników energii. Muszą one być w stanie zaspokoić rosnące zapotrzebowanie gospodarki światowej na energię, emitując przy tym możliwie najmniejsze ilości gazów cieplarnianych i zanieczyszczeń do środowiska naturalnego. Ponadto magazynowanie energii w formie energii elektrycznej jest wciąż aktualnym wyzwaniem stawianym badaczom z całego świata. Dlatego synteza prostych związków chemicznych, takich jak amoniak, i wykorzystanie ich jako nośnika energii daje możliwość redukcji emisji ditlenku węgla do atmosfery [1-4].

Amoniak jest produktem syntezy wielkotonażowej, stosowanym szeroko w wielu gałęziach przemysłu [5]. Jego światowa produkcja na rok 2013 została oszacowana na ok. 140 milionów Mg [6]. Wykorzystywany jest głównie do celów agrotechnicznych, a także do produkcji materiałów wybuchowych, włókien syntetycznych, środków czystości oraz farmaceutyków. Proces jego otrzymywania, prowadzony metodą Habera i Boscha, wymaga wysokiej temperatury (~500°C) oraz wysokiego ciśnienia (150-300 bar). Surowcem dla procesu jest najczęściej gaz ziemny [7]. Szacowana emisja ditlenku węgla przypadająca na produkcję jednej tony amoniaku wynosi 1,87 Mg CO₂.

¹ Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych, Politechnika Wrocławska, ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 34 42, email: dawid.grzesiak@pwr.edu.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

Tak duża ilość emitowanego ditlenku węgla oraz złożoność i trudności techniczne związane z prowadzeniem procesu metodą Habera i Boscha zmuszają do poszukiwania alternatywnych źródeł wodoru, a także nowych procesów syntezy amoniaku [6-8].

Amoniak jako nośnik energii

Największe zainteresowanie amoniakiem jako paliwem wynika z faktu, że zarówno jego synteza, jak i spalanie nie muszą być obciążone emisją ditlenku węgla [1, 4]. Proces spalania jest niezwykle złożonym procesem o dużej liczbie reakcji elementarnych i produktów pośrednich [9, 10]. Głównymi produktami spalania amoniaku w powietrzu są azot, para wodna, a także tlenki azotu, których ilość jest zależna od rodzaju mieszanki i warunków spalania [11]. W przypadku ich nadmiernej emisji w gazach spalinowych proponuje się selektywną redukcję katalityczną jako metodę ich usuwania. Surowcem dla tego procesu jest amoniak [12].

Przez ostatnie lata za najbardziej obiecujące paliwo przyszłości uważany jest wodór, jednak z powodu jego niskiej temperatury krytycznej wciąż trwają prace nad nowymi metodami jego efektywnego magazynowania [13]. Dla zastosowań danego paliwa w transporcie bardzo ważne są: masa, objętość zbiornika paliwowego, zasięg oraz szybkość i łatwość jego uzupełnienia/regeneracji. Niska objętościowa gęstość energii wodoru powoduje, że amoniak zyskuje przewagę jako paliwo transportowe. Sprężony do 10 bar amoniak wykazuje objętościową gęstość energii ($13,6 \text{ GJ m}^{-3}$) większą niż w przypadku wodoru przechowywanego w postaci wodorków metali pod ciśnieniem 14 bar ($3,6 \text{ GJ m}^{-3}$), a nawet aktualnie wykorzystywanych paliw, np. metan sprężony do 250 bar ($10,4 \text{ GJ m}^{-3}$). Amoniak może być również bezpośrednim źródłem atomów wodoru w ogniwach paliwowych oraz silnikach z zapłonem iskrowym [2].

Synteza amoniaku metodą Habera i Boscha wiąże się z procesem otrzymywania wodoru. Obecnie najpopularniejszymi metodami otrzymywania wodoru są konwersja metanu parą wodną oraz zgazowanie paliw stałych. Oznacza to, że prawie cały produkowany aktualnie wodór pochodzi z procesów, w których wykorzystywane są paliwa kopalne. Wolne od emisji CO_2 paliwo nie może być obciążone nadmierną emisją na żadnym etapie jego produkcji. Wymusza to konieczność pozyskiwania wodoru i amoniaku, wykorzystując jedynie jądrowe lub odnawialne źródła energii [7, 14].

W porównaniu z wodorkami metali (zaw. wodoru ok. 25 kg/m^3) zawartość wodoru w ciekłym amoniaku (20°C i 8,6 bar) jest ponad 4-krotnie wyższa i wynosi 108 kg/m^3 . Rozważanie amoniaku jako paliwa powinno uwzględniać nie tylko jego bezpośrednie spalanie w powietrzu, ale możliwość wytwarzania z niego wodoru [2, 15].

Amoniak nie może być bezpośrednio użyty w silnikach spalinowych o zapłonie iskrowym. Mimo wysokiej liczby oktanowej (110-130) wartości prędkości spalania mieszanki amoniak-powietrze są zbyt małe. Rozwiązaniem może być dodatek paliwa zwiększającego prędkość spalania, np. wodoru, który można otrzymać w termicznej lub katalitycznej reakcji rozkładu amoniaku, kosztem części energii z jego spalania. Efekt chłodzenia podczas parowania amoniaku przy odpowiedniej koncepcji technologicznej może znacząco podnieść wydajność silnika cieplnego [2, 3, 11].

Przewagą amoniaku jako nośnika energetycznego jest także istniejąca już infrastruktura dystrybucji i produkcji oraz ponad 100-letnie doświadczenie w jego syntezie,

magazynowaniu i obrocie. Amoniak można przechowywać w podobny sposób jak propan, tj. przy ciśnieniu ok. 8 bar w temperaturze otoczenia. W przypadku nieszczelności ulega on rozproszeniu ze względu na niższą od powietrza gęstość [2, 16].

Zagrożenia związane z komercyjnym wykorzystaniem amoniaku jako paliwa

Amoniak jest trującym, palnym, bezbarwnym gazem o duszącym, charakterystycznym zapachu, jest łatwo wyczuwalny w powietrzu przy stężeniu powyżej 20 ppm. Znanych jest kilka poważnych awarii i katastrof związanych z produkcją i magazynowaniem amoniaku [17]. Szczególnym zagrożeniem przy produkcji i dystrybucji amoniaku jest jego toksyczność oraz palność w mieszaninie z powietrzem [16].

W porównaniu z innymi paliwami granice palności amoniaku w warunkach normalnych są relatywnie wąskie (16-25% obj.), a temperatura samozapłonu wysoka (651°C). Dla porównania, stężeniowe granice palności innych paliw wynoszą odpowiednio: wodór 4-75% obj., metan 5-15% obj., benzyna 1,4-7,6% obj. oraz olej napędowy 0,6-5,5% obj. [2]. Najbardziej znaczącymi wskaźnikami wybuchowości gazów są: maksymalne ciśnienie wybuchu P_{ex} , maksymalna szybkość narostu ciśnienia $(dP/dt)_{ex}$, indeks deflagracji K_G , stężeniowe granice wybuchu i detonacji, minimalna energia zapłonu E_{min} , a także temperatura samozapłonu T_s . Maksymalną szybkość narostu ciśnienia podczas wybuchu oraz indeks deflagracji można uznać za wskaźniki najlepiej oddające dynamikę (gwałtowność) wybuchu gazu [18-20].

Z matematycznego punktu widzenia szybkość narostu ciśnienia $(dP/dt)_{ex}$ jest zdefiniowana jako największa wartość pierwszej pochodnej ciśnienia względem czasu podczas wybuchu mieszaniny o ściśle określonym składzie. Szybkość narostu ciśnienia $(dP/dt)_{ex}$ jest zależna od objętości zbiornika. Do opisu zjawiska wybuchu stosowany jest indeks deflagracji K_G , który przedstawia wyrażenie (1), gdzie V to objętość zbiornika [21]:

$$K_G = \left(\frac{dP}{dt} \right)_{ex} V^{\frac{1}{3}} \quad (1)$$

Prędkość spalania laminarnego S_L oddaje gwałtowność, gazodynamikę procesu spalania oraz jest stosowana do oceny substancji jako potencjalnego paliwa. Podczas wyznaczania maksymalnej szybkości narostu ciśnienia prędkość spalania laminarnego może zostać przybliżona wyrażeniem (2). Poniższa zależność została wyprowadzona dla reaktora kulistego [22]:

$$S_L \approx \frac{R}{3(P_{ex} - P_i)} \left(\frac{P_i}{P} \right)^{\frac{1}{\gamma}} \left[1 - \left(\frac{P_i}{P} \right)^{\frac{1}{\gamma}} \frac{P_{ex} - P}{P_{ex} - P_i} \right]^{-2/3} \frac{dP}{dt} \quad (2)$$

gdzie: R - średnica zbiornika, P_{ex} - maksymalne ciśnienie podczas wybuchu, P_i - ciśnienie początkowe, P - ciśnienie aktualne, γ - stosunek pojemności cieplnych (C_P/C_V), dP/dt - aktualna szybkość narostu ciśnienia.

W tabelach 1 i 2 zamieszczone zostały szybkości narostu ciśnienia $(dP/dt)_{ex}$ dla amoniaku wyznaczone przez Federalny Instytut Badań i Testowania Materiałów (BAM) w ramach europejskiego projektu SAFEKINEX [18] przy użyciu cylindrycznego reaktora

(objętość 6 dm³) dla początkowych wartości ciśnienia 1 i 5 bar oraz początkowej temperatury 20, 100, 200 i 250°C.

Tabela 1

Wartości $(dP/dt)_{ex}$ przy ciśnieniu początkowym $P_i = 1$ bar [18]

Table 1

The values $(dP/dt)_{ex}$ at initial pressure $P_i = 1$ bar [18]

T_i [°C]	$(dP/dt)_{ex}$ [bar/s]								
	(w nawiasach podano stężenie amoniaku w procentach objętościowych)								
20	1,87 (15%)	1,82 (18%)	3,83 (19%)	12,29 (21%)	22,74 (23%)	30,28 (25%)	4,37 (30%)	1,60 (35%)	
100	3,01 (15%)	3,2 (17%)	9,52 (19%)	35,56 (21%)	41,26 (23%)	36,03 (25%)	8,50 (30%)	3,15 (35%)	
200	9,48 (15%)	16,23 (17%)	39,62 (19%)	71,73 (21%)	71,12 (23%)	72,45 (25%)	31,8 (30%)	11,37 (35%)	
250	11,71 (15%)	18,52 (17%)	41,83 (19%)	48,35 (21%)	45,92 (23%)	42,01 (25%)	30,67 (30%)	10,96 (35%)	3,09 (40%)

Tabela 2

Wartości $(dP/dt)_{ex}$ przy ciśnieniu początkowym $P_i = 5$ bar [18]

Table 2

The values $(dP/dt)_{ex}$ at initial pressure $P_i = 5$ bar [18]

T_i [°C]	$(dP/dt)_{ex}$ [bar/s]								
	(w nawiasach podano stężenie amoniaku w procentach objętościowych)								
20		63,33 (17%)	106,32 (19%)	142,75 (21%)	204,33 (23%)	134,02 (25%)	15,01 (30%)	5,27 (35%)	
100	21,6 (15%)	88,77 (17%)	118,59 (19%)	226,86 (21%)	287,77 (23%)	237,04 (25%)	83,91 (30%)	2,31 (35%)	
200	71,77 (15%)	117,79 (17%)	162,45 (19%)	186,42 (21%)	232,54 (23%)	191,03 (25%)	114,41 (30%)	22,09 (35%)	3,56 (37%)
250	28,54 (15%)	56,51 (17%)	126,62 (19%)	264,1 (21%)	301,94 (23%)	324,31 (25%)	151,89 (30%)	63,13 (35%)	

Tabela 3

Oszacowane wartości $S_{L,ex}$ przy ciśnieniu początkowym $P_i = 1$ bar

Table 3

The estimated values of $S_{L,ex}$ at initial pressure $P_i = 1$ bar

T_i [°C]	$S_{L,ex}$ [m/s]								
	(w nawiasach podano stężenie amoniaku w procentach objętościowych)								
20	- (15%)	0,116 (18%)	0,133 (19%)	0,086 (21%)	0,051 (23%)	0,064 (25%)	0,072 (30%)	- (35%)	
100	- (15%)	- (17%)	0,053 (19%)	0,149 (21%)	0,125 (23%)	0,127 (25%)	0,091 (30%)	- (35%)	
200	0,107 (15%)	0,130 (17%)	0,206 (19%)	0,301 (21%)	0,230 (23%)	0,267 (25%)	0,160 (30%)	0,077 (35%)	
250	0,138 (15%)	0,161 (17%)	0,270 (19%)	0,238 (21%)	0,202 (23%)	0,230 (25%)	0,174 (30%)	0,089 (35%)	- (40%)

Na podstawie danych z tabel 1 i 2, zakładając, że maksymalna szybkość narostu ciśnienia została osiągnięta przed dotarciem czoła płomienia do ściany reaktora, oszacowano orientacyjnie wartość prędkości spalania laminarnego w punkcie przegięcia

krzywej $P(t)$ dla reaktora cylindrycznego, posługując się zależnością (2). Otrzymane wartości prędkości spalania laminarnego zestawiono dla ciśnienia początkowego 1 bar w tabeli 3 oraz dla ciśnienia początkowego 5 bar w tabeli 4.

Tabela 4

Oszacowane wartości $S_{L\text{ ex}}$ przy ciśnieniu początkowym $P_i = 5$ bar

Table 4

The estimated values of $S_{L\text{ ex}}$ at initial pressure $P_i = 5$ bar

T_i [°C]	$S_{L\text{ ex}}$ [m/s] (w nawiasach podano stężenie amoniaku w procentach objętościowych)								
20		0,053 (17%)	0,052 (19%)	0,068 (21%)	0,072 (23%)	0,060 (25%)	0,045 (30%)	- (35%)	
100	0,066 (15%)	0,085 (17%)	0,066 (19%)	0,123 (21%)	0,123 (23%)	0,119 (25%)	0,064 (30%)	- (35%)	
200	- (15%)	0,113 (17%)	0,144 (19%)	0,163 (21%)	0,197 (23%)	0,162 (25%)	0,089 (30%)	0,048 (35%)	- (37%)
250	0,059 (15%)	0,116 (17%)	0,199 (19%)	0,224 (21%)	0,250 (23%)	0,291 (25%)	0,150 (30%)	0,089 (35%)	

Podsumowanie i wnioski

Amoniak może być traktowany jako potencjalne paliwo zarówno w krótkiej, jak i długiej perspektywie jego użytkowania. Wykazuje niskie wartości prędkości spalania laminarnego, co nie stanowi jednak przeszkody w dostosowaniu do pracy na nim silnika spalinowego o zapłonie iskrowym - rozwiązanie krótko perspektywiczne. Może być także traktowany jako prekursor wodoru np. dla ogniw paliwowych - rozwiązanie długo perspektywiczne. Należy podkreślić, że powyższe rozważania są uzasadnione tylko w przypadku użycia energii, która nie jest obciążona emisją gazów cieplarnianych.

Wyzwaniem niosącym największe zagrożenie w strefie publicznej w jego powszechnym wykorzystaniu jako nośnika energii jest jego silna toksyczność. Jednocześnie odnotowane są jedynie nieliczne przypadki śmiertelnego zatrucia amoniakiem spowodowanego jego uwolnieniem z układów chłodzenia [23].

Badania wybuchowości substancji obecnych w strefie publicznej są zawsze ważne ze względów bezpieczeństwa. Takie projekty jak SAFEKINEX dostarczają ważnych z punktu widzenia bezpieczeństwa danych dla wielu substancji w zróżnicowanych warunkach.

Należy zaznaczyć, że wyznaczone wartości prędkości spalania laminarnego obciążone są dużym błędem, szczególnie dla warunków ciśnienia początkowego 1 bar oraz temperatury początkowej 20°C. Mimo to oszacowane wartości są zgodne z dostępnymi wartościami literaturowymi dla warunków standardowych [24].

Podziękowania

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Nr zlec. S40647/I-26/W3 pt. „Rozwój wybranych procesów technologicznych w celu poprawy ich bezpieczeństwa technicznego oraz zmniejszenia uciążliwości środowiskowej”.

Literatura

- [1] Mercure J, Pollitt H, Chewpreecha U, Sala P, Foley A, Holden P, et al. *En Policy*. 2014;73:686-700. DOI: 10.1016/j.enpol.2014.06.029.
- [2] Zamfirescu C, Dincer I. *Fuel Process Technol*. 2009;90:729-737. DOI: 10.1016/j.fuproc.2009.02.004.
- [3] Hamje H, Hass H, Lonza L, Maas H, Reid A, Rose K, et al. *EU renewable energy targets in 2020: Revised analysis of scenarios for transport fuels*. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2014. DOI: 10.2790/1725.
- [4] Zamfirescu C, Dincer I. *J Power Sourc*. 2008;185:459-465. DOI: 10.1016/j.fuproc.2009.02.004.
- [5] Grzesiak D, Popławski D, Kędzior R, Falewicz P, Hałat A. *Przem Chem*. 2013;92(12):2241-2242.
- [6] U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, February 2014 <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/nitrogen/mcs-2014-nitro.pdf>. (dostęp 22.09.2014).
- [7] Kothari R, Buddhi D, Sawhney R. *Renew Sust Energ Rev*. 2008;12:553-563. DOI: 10.1016/j.rser.2006.07.012.
- [8] Lan R, Irvine J, Tao S, *Sci Rep*. 2013;3:1145. DOI: 10.1038/srep01145.
- [9] Kędzior R, Głowiński J. *Przem Chem*. 2013;92(7):1300-1303.
- [10] Kędzior R, Grzesiak D, Popławski D, Głowiński J. *Przem Chem*. 2014;93(4):520-523. DOI: 10.12916/przemchem.2014.520
- [11] Duynslaegher C, Jeanmart H, Vandooren J. *Fuel*. 2010;89:3540-3545. DOI: 10.1016/j.fuel.2010.06.008.
- [12] Liu F, Shan D, Pan W, Li T, He H. *Chinese J Catal*. 2014;35:1438. DOI: 10.1016/S1872-2067(14)60048-6.
- [13] Durbin D, Malardier-Jugroot C. *Int J Hydrogen En*. 2013;38(34):14595-14617. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2013.07.058.
- [14] Yildiz B, Kazimi M. *Int J Hydrogen Energ*. 2006;31:77-92. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2005.02.009.
- [15] Duman S, Ozkar S. *Int J Hydrogen Energ*. 2013;38:180-187. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2012.10.041.
- [16] Air Products. Ammonia MSDS. http://avogadro.chem.iastate.edu/MSDS/NH3_gas.pdf. (dostęp 22.09.2014).
- [17] Greenberg M. *Encyclopedia of Terrorist, Natural, and Man-made Disasters*. Jones & Bartlett Learning. 2006.
- [18] Federal Institute for Materials Research and Testing (BAM). Report on the experimentally determined explosion limits, explosion pressures and rates of explosion pressure rise - Part 2: ethane, ethylene, propane, n-butane, ammonia and carbon monoxide. SAFEKINEX No. EVG1-CT-2002-00072.
- [19] Kordylewski W, redaktor. *Spalanie i paliwa*. Wyd V poprawione i uzupełnione. Wrocław: Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej; 2005.
- [20] Baczyńska T, Głowiński J, Hałat A. *Przem Chem*. 2007;86(11):1070-1074.
- [21] Hałat A. *Oszacowanie indeksu deflagracji gazowej mieszaniny palnej [Praca doktorska]*. Wrocław: Politechnika Wrocławska; 2014.
- [22] Dahoe A, de Goey L. *J Loss Prevent Proc*. 2003;16:457-478, DOI: 10.1016/S0950-4230(03)00073-1.
- [23] Lindborg A. *Probability in Ammonia Refrigeration Risk. Assessment*. Industrial Refrigeration Conference & Exhibition. 2009.
- [24] Lee J, Park J, Kwon O. *Int J Hydrogen Energ*. 2010;35(3):1054-1064, DOI: 10.1016/j.ijhydene.2009.11.071.

EVALUATION OF OPPORTUNITIES AND HAZARDS OF APPLICATION OF AMMONIA AS A POTENTIAL FUEL

Institute of Inorganic Technology and Mineral Fertilizers, Chemistry Faculty, Wrocław University of Technology

Abstract: In an era of dwindling energy resources and the negative impact their combustion products on the environment are being looked for the new unconventional fuels. In the last years ammonia has been considered as the potential CO₂ emission-free fuel, which is able to working with spark-ignition engines and fuel cells. The increased interest in unconventional fuels in the energy sector and transport creates the need for a better understanding of the combustion process as well as the risks connected with the turnover and application. In the literature it is extremely difficult to find experimental data for ammonia concerning flammability and prone to explosion at the elevated pressure and temperature. An example of such specific data are the results of the work carried out within the European project SAFEKINEX No. EVG1-CT-2002-00072. The project presented flammability limits, maximum pressure rise during explosion, maximum pressure of explosion and deflagration index for different kind of mixtures of gases. The results also allow for the estimation one of the most important value for combustion process - flame speed. In this work were made the evaluation of ammonia as potential fuel in comparison with the conventional fuels. Using the data from SAFEKINEX project were estimated values of laminar burning velocity ammonia at elevated temperature 20, 100, 200, 250°C and pressure 1 and 5 bar.

Keywords: ammonia flammability, burning ammonia-air mixtures, laminar burning velocity

Marta HUCULAK-MĄCZKA¹, Ewelina KLEM¹, Ewa OGONOWSKA¹
i Józef HOFFMANN¹

OCENA STOPNIA ODZYSKU ŻELAZA Z ODPADOWEJ WEŁNY MINERALNEJ PRZY UŻYCIU KWASU ETYLENODIAMINOTETRAOCTOWEGO

THE ASSESSMENT OF THE DEGREE OF IRON RECOVERY FROM MINERAL WOOL WASTE USING ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID

Abstrakt: W pracy przedstawiono wyniki badań ekstrakcji żelaza z odpadowej wełny mineralnej stosowanej w uprawach hydroponicznych. W badaniach jako ekstrahent wykorzystano wodę i EDTA. Wełna mineralna jest podłożem inertnym wykorzystywanym w uprawach pod osłonami. Obecnie aspekty ekonomiczne, środowiskowe, a także wzrost zapotrzebowania na produkty żywnościowe sprawiają, że klasyczne metody upraw warzyw i kwiatów są niewystarczające. Większa produkcja warzyw i roślin ozdobnych możliwa jest w warunkach bezglebowych z zastosowaniem wełny mineralnej. Metoda uprawy na podłożu z wełny mineralnej stanowi jednak dodatkowy problem środowiskowy związany z utylizacją odpadu, którym jest poprodukcyjna wełna mineralna. Poprodukcyjna wełna mineralna zawiera pewne ilości cennych mikroelementów wykorzystywanych w uprawie roślin. Koszt komponentów wykorzystywanych w pożywkach jest wysoki. Sprawia to, że ekstrakcja wybranych składników pokarmowych odpowiednio dobranymi ekstrahentami i opracowanie nowego produktu nawozowego staje się interesującym rozwiązaniem. Zaproponowany sposób pozyskiwania mikroelementowego żelaza z odpadowej wełny mineralnej składa się z następujących etapów: suszenia w temperaturze 30°C w czasie 24 h - w celu usunięcia zawartości wody, rozdrabniania i wyodrębnienia frakcji cząstek o wymiarach 0,40 mm, ekstrakcji składników pokarmowych i rozdzielenia faz. Jako ekstrahent mikroelementów nawozowych w przedstawionych badaniach zastosowano wodę i roztwór EDTA. W badaniach uwzględniono wpływ czasu i temperatury na skuteczność prowadzonego procesu. W otrzymanej fazie ciekłej, oddzielonej po ekstrakcji metodą wirowania, analizowano zawartość żelaza. Zawartość żelaza w fazie ciekłej oznaczono metodą fotokolorymetryczną z wytworzeniem barwnego kompleksu jonów żelazowych z 2,2-pirydylem w roztworze o pH = 3,1.

Słowa kluczowe: wełna mineralna, odpad, uprawy hydroponiczne, wtórne wykorzystanie

Wzrost liczby ludności świata i poprawiające się warunki ich egzystencji wymagają zaspokojenia coraz większego zapotrzebowania na produkty żywnościowe. Co roku obserwuje się wzrost ilości produkowanych warzyw. W 2012 roku produkcja ta wyniosła 5,5 mln ton. Zaspokojenie zapotrzebowania na tak duże ilości żywności nie jest możliwe przy stosowaniu jedynie upraw klasycznych. Obecnie coraz częściej prowadzone są uprawy hydroponiczne. Do najczęściej uprawianych gatunków metodą bezglebową należą pomidory i ogórki [1].

Osiągnięcie większej efektywności w produkcji warzywniczej i roślin ozdobnych umożliwia stosowanie upraw bezglebowych. Pod osłonami, jakimi są szklarnie i tunele foliowe, najczęściej wykorzystywane są podłoża organiczne (torf, trociny, słoma, włókno kokosowe) i podłoża inertne (wełna mineralna, keramzyt, perlit, pumeks, gąbka poliuretanowa) oraz ich mieszanki. Najczęściej stosowanym podłożem, które daje możliwość uzyskania wysokich plonów przy małych kosztach, jest wełna mineralna [2-4].

¹ Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 39 30, email: jozef.hoffmann@pwr.wroc.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'13, Jarnołtówek, 23-26.10.2013

Wełna mineralna jest to przetworzony materiał skalny, powstały w wyniku topienia bazaltu lub gabbro w piecu rozgrzanym do temperatury około 1500°C. Materiał z postaci płynnej przekształcany jest do formy włóknistej. Proces zachodzi w komorze rozwłókniania. Tam przy użyciu strumienia powietrza i obracających się dysków dochodzi do uformowania włókien. Skład wełny mineralnej zależy w głównej mierze od rodzaju surowca, z jakiego pochodzi [5]. Wełna mineralna charakteryzuje się małą średnicą włókien (1-10 μm), a także małą gęstością, która wynika z wysokiego stopnia porowatości [6]. Takie właściwości warunkują jej wykorzystanie w celach ogrodnich, pozwalając na otrzymywanie roślin o odpowiedniej jakości, a także monitoring umożliwiający oszczędności w wykorzystaniu nawozu i wody. Większa produkcja warzyw pod osłonami wiąże się z rozwojem firm zajmujących się produkcją podłóży. Przykładem może być firma Rockwool, która w 2009 roku otworzyła kolejny zakład produkcyjny [7].

Zgodnie z nowoczesnymi trendami, stosowane nawozy muszą spełniać odpowiednie wymagania ekonomiczne, środowiskowe i społeczne. Producenci tego rodzaju specjalistycznych produktów kierują się nie tylko koniecznością zaspokojenia potrzeb obecnego pokolenia, ale także zapewnienia bezpieczeństwa rozwoju przyszłych pokoleń. Idea ta wynika z założeń zrównoważonego rozwoju. Ocena wpływu danego produktu na środowisko możliwa jest dzięki zastosowaniu metody Life Cycle Assessment (LCA) i opiera się ona na analizie oddziaływania na środowisko zarówno substratów, jak i produktów już od procesu wytwarzania do momentu ich ostatecznego zagospodarowania. Dostarczanie roślinom składników odżywczych w postaci nawozów płynnych na podstawie analizy LCA charakteryzuje się korzystnymi parametrami. Stosowanie tego typu środków jest bezpieczniejsze, ponieważ wiąże się z mniejszym ryzykiem przenawożenia uprawy, a zatem większym zachowaniem czystości gleb i wód. Nawozy płynne są lepiej przyswajalne, ponieważ składniki w nich zawarte są rozpuszczone bądź występują w formie chelatów lub zawiesin [8, 9].

Po kilku sezonach uprawy w warunkach bezglebowych przy zastosowaniu preparatów hydroponicznych powstaje problem zagospodarowania zużytej wełny mineralnej. Wysunięto wiele propozycji metod pozbycia się tego odpadu [10-12]. Prowadzone są próby poprawy wartości użytkowej gruntów rolnych drogą agromelioracji z wykorzystaniem odpadowej wełny mineralnej [13, 14]. Jedną z możliwości jest przetworzenie odpadowej wełny mineralnej na drodze odzysku składników nawozowych. Odpowiednio dobrane czynniki ekstrahujące pozwalają odzyskać makro- i mikroelementy w niej zawarte w celu otrzymania nawozowego preparatu specjalistycznego [15].

Rosnące ceny surowców do produkcji nawozów sprawiają, że staje się to interesującą alternatywą, która umożliwia ograniczenie ilości i pojemności wysypisk, na których składowane są odpady poprodukcyjnej ogrodniczej wełny mineralnej.

Materiały i metody

Celem przedstawionych badań jest określenie możliwości uzyskania nawozów ciekłych z roztworu powstałego po ekstrakcji odpadowej ogrodniczej wełny mineralnej za pomocą wody i roztworu EDTA. Analizie poddano wpływ czasu i temperatury na proces ekstrakcji. W badaniach korzystano z odpadowej wełny mineralnej po uprawie bezglebowej

ogórka oraz pomidora, pochodzącej z gospodarstw położonych na terenie powiatu kaliskiego w Wielkopolsce.

Przed ekstrakcją próbki wełny mineralnej zostały wysuszone w temp. 30°C w czasie 24 h. Wysuszony materiał charakteryzujący się kruchością został łatwo rozdrobniony na sicie o rozmiarze oczek wynoszącym 0,40 mm. Rozdrobnione próbki odpadowej wełny mineralnej o masie 5 g po uprawie ogórków i pomidorów poddano procesowi ekstrakcji w kolbach o objętości 250 cm³ przy zastosowaniu stosunku masowego fazy stałej do cieklej wynoszącym 1:10, założonej temperatury i czasu ekstrakcji. Ekstrakcja prowadzona była na wytrząsarce firmy ELPAN z termostatem typu 357 Water Bath Shaker przy amplitudzie 3 i 150 cyklach na minutę.

Zawartość żelaza w próbkach wełny mineralnej i fazy cieklej po ekstrakcji została oznaczona metodą spektrofotometryczną z wytworzeniem barwnego kompleksu jonów żelazowych z 2,2-pirydylem w roztworze o pH = 3,1. Próbki surowej odpadowej wełny mineralnej oraz fazy cieklej po procesie ekstrakcji, o masie 5 g, poddawano mineralizacji w mieszaninie kwasu azotowego (20 cm³) oraz kwasu siarkowego (30 cm³). Następnie próbki ogrzewano przez 30 min od rozpoczęcia wrzenia.

Po ochłodzeniu próbek dolewano 100 cm³ wody destylowanej i kontynuowano ogrzewanie przez kolejne 15 min.

Po mineralizacji roztwór rozcieńczano do 250 cm³, przesączano i pobierano próbkę 5 cm³ do analizy spektrofotometrycznej. Przed wykonaniem pomiarów została sporządzona krzywa wzorcowa dla zawartości żelaza od 0,05 do 0,3 mg. Badania przeprowadzono dla długości fali wynoszącej 520 nm aparatem Jasco V-630 [16].

Wyniki

W tabelach 1 i 2 przedstawiono wyniki zawartości żelaza w fazie cieklej, otrzymanej na drodze ekstrakcji wodą i roztworem EDTA, z odpadowej ogrodniczej wełny mineralnej. Analizie poddano wpływ parametrów procesowych, takich jak temperatura i czas trwania ekstrakcji.

Tabela 1

Zestawienie wyników analiz żelaza w fazie cieklej uzyskanej w wyniku ekstrakcji substancji odżywczych z wykorzystaniem wody jako ekstrahenta

Table 1

Summary of results of the analysis of iron in the liquid phase obtained from extraction of nutrients using water as an extractant

Temperatura	Czas	Ekstrakt po uprawie pomidora	Ekstrakt po uprawie ogórka
[°C]	[h]	[% mas. Fe]	
25	1	0,0028	0,0018
	3	0,0019	0,0006
	6	0,0029	0,0008
	15	0,0395	0,0379
30	1	0,0002	0,0003
	3	0,0039	0,0008
	6	0,0031	0,0005
	15	0,0406	0,0525

Temperatura	Czas	Ekstrakt po uprawie pomidora	Ekstrakt po uprawie ogórka
[°C]	[h]	[% mas. Fe]	
50	1	0,0080	0,0021
	3	0,0033	0,0051
	6	0,0013	0,0027
	15	0,1206	0,0377
70	1	0,0035	0,0076
	3	0,0060	0,0022
	6	0,0047	0,0010
	15	0,0558	0,0358

Tabela 2

Zestawienie wyników analiz żelaza w fazie ciekłej uzyskanej w wyniku ekstrakcji substancji odżywczych z wykorzystaniem roztworu 0,1 M EDTA jako ekstrahenta

Table 2

Summary of results of the analysis of iron in the liquid phase obtained from extraction of nutrients using 0.1 M EDTA as an extractant

Temperatura	Czas	Ekstrakt po uprawie pomidora	Ekstrakt po uprawie ogórka
[°C]	[h]	[% mas. Fe]	
25	1	0,1634	0,0609
	3	0,1238	0,0614
	6	0,1415	0,0767
	15	0,1292	0,0888
30	1	0,1418	0,0882
	3	0,1529	0,0793
	6	0,1394	0,0988
	15	0,0870	0,1080
50	1	0,1591	0,0651
	3	0,1436	0,0946
	6	0,1274	0,0992
	15	0,1118	0,0950
70	1	0,1341	0,0842
	3	0,1416	0,1075
	6	0,1333	0,1121
	15	0,1071	0,1086

Interpretując przedstawione w tabelach wyniki, można stwierdzić, że największe zawartości żelaza w fazie ciekłej otrzymuje się przy wykorzystaniu jako ekstrahenta 0,1 M EDTA. Wyższe zawartości żelaza występowały w ekstrakcie, przy zastosowaniu roztworu EDTA, z odpadowej ogrodniczej wełny mineralnej po cyklu uprawy pomidorów niż po uprawie ogórków. Zależności tej nie obserwuje się dla ekstrakcji przeprowadzonej z wykorzystaniem wody. Niekorzystny wpływ na zawartość żelaza dla ekstrakcji z wykorzystaniem roztworu EDTA odnotowuje się podczas wydłużonego czasu ekstrakcji dla danej temperatury, natomiast dla ekstrakcji wodą najlepsze wyniki uzyskuje się dla procesu mieszania trwającego 15 h w temperaturze 50°C.

Wnioski

Otrzymane wyniki badań wskazują, że zawartość mikroelementowego składnika odżywczego, jakim jest żelazo, zależy od rodzaju uprawy prowadzonej na wełnie

mineralnej oraz od rodzaju zastosowanego ekstrahenta. Większe ilości wyekstrahowanego żelaza z odpadowej wełny mineralnej obserwuje się dla ekstrakcji przeprowadzonej z użyciem roztworu EDTA po cyklu uprawy pomidorów. Prawdopodobnie spowodowane to jest długością stosowania wełny mineralnej: 1 rok dla pomidorów, 2 lata dla ogórków, oraz zapotrzebowaniem i przyswajalnością żelaza przez te warzywa.

Analizując otrzymane wartości wyników, można stwierdzić, że zastosowanie roztworu EDTA do odzysku żelaza z odpadowej wełny mineralnej może świadczyć o możliwości powtórnego wykorzystania odpadowej ogrodniczej wełny mineralnej w produkcji ciekłych preparatów nawozowych.

Pomiary zawartości żelaza można traktować jako reprezentatywne w stosunku do pozostałych mikroelementów. W kontynuacji przeprowadzone zostaną analogiczne badania dla pozostałych mikroelementów i składników nawozowych dla szerszego zakresu parametrów technologicznych. Pozwoli to na optymalizację procesu technologicznego.

Podziękowania

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w latach 2013-2016 w ramach Projektu Badań Stosowanych o nr PBS1/A9/19/2013.

Literatura

- [1] Główny Urząd Statystyczny: Rocznik statystyczny rolnictwa 2011. Zakład Wydawnictw Statystycznych 2012.
- [2] Argo WR, Biernbaum JA. Hort Sci. 1995;30(3):535-538. <http://hortsci.ashspublications.org/content/30/3/535.full.pdf>.
- [3] Bussel WT, McKennie S. New Zeal J Crop Hort. 2004;32:29-37. DOI: 10.1080/01140671.2004.9514277.
- [4] Raviv M, Lieth JH. Soilless Culture: Theory and Practice. Amsterdam: Elsevier; 2008.
- [5] Saint-Gobain I, Courbevoie FR. Wełna mineralna, jej zastosowanie i sposób jej wytwarzania. PL 194126 B1 30.04.2007 WUP 04/07.
- [6] Rocwool International A/S, Hedeheusene, DK: Podłoże z wełny mineralnej pod rośliny. PL 190909 B1 28.02.2006 WUP 02/06. <http://www.grodan.pl> (dostęp 23.09.2013).
- [7] Hoffmann J, Skut J, Skiba T, Hoffmann K, Huculak-Mączka M. Proc ECOpole. 2011;5(2):537-542. http://tchie.uni.opole.pl/PECO11_2/PECO_2011_2.pdf.
- [8] Hoffmann J, Hoffmann K. Przem Chem. 2006;85(8/9):827-830.
- [9] Novitskii AG, Efremov MV. Refract Ind Ceramic. 2006;47(2):121-124. DOI: 10.1007/s11148-006-0069-y.
- [10] Jeong BR, Hwang SJ. Acta Hort. 2001;554:89-94. http://www.actahort.org/books/554/554_8.htm.
- [11] Diara C, Incrocci L, Pardossi A, Minuto A. Acta Hort. 2012;927:793-800. http://www.actahort.org/books/927/927_98.htm.
- [12] Nowak D, Jasiewicz C, Szczerbińska-Byrska M. Inż Ekol. 2013;3:198-205. <http://www.ineko.net.pl/-rodowiskowe-aspekty-uzytkowania-zagospodarowania-i-unieszkodliwiania-welny-mineralnej-w-kontekscie-retardacji-zanieczyszczania-zasobow-srodowiska-przez-odpady,334,0,1.html>.
- [13] Evangelou MWH, Ebel M, Koerner A, Schaeffer A. Chemosphere. 2008;72:525-531. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.03.063.
- [14] Huculak-Mączka M, Hoffmann K, Klem E, Hoffmann J. Przem Chem. 2014;93(6):1029-1032. DOI: 10.12916/przemchem.2014.1029.
- [15] PN-85/C- 84092 Surowce fosforowe. Metody badań. Oznaczanie składników podstawowych.

THE ASSESSMENT OF THE DEGREE OF IRON RECOVERY FROM MINERAL WOOL WASTE USING ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID

Institute of Inorganic Technology and Mineral Fertilizers, Chemistry Faculty
Wrocław University of Technology

Abstract: This paper presents the results of extraction of iron from waste mineral wool used in hydroponics. In this studies as extractant was used water and EDTA. Mineral wool is an inert substrate used in crops under cover. Currently, economic, environmental, and increasing demand for food products make that the classic methods of growing vegetables and flowers are insufficient. Increased production of vegetables and ornamentals is possible under soilless mineral wool. However, the method of cultivation on mineral wool substrate is, an additional environmental problem associated with the disposal of waste, which is a thorough wool. Post-production mineral wool contains some valuable micronutrients used in the cultivation of plants. The cost of components used in the media is high. This makes that the extraction of selected nutrients by using appropriately selected extraction reagents becomes an interesting solution to develop a new fertilizer product. The proposed way to obtain the iron from the mineral wool waste consists of the following steps: drying at 30°C for 24 hours - to remove water content, grinding and separation of the fraction of particles with dimensions of 0.40 mm, nutrient extraction and phase separation. As extractant of fertilizer micronutrient in the tests was used water and the solution of EDTA. The study tested the effect of time and temperature on the efficiency of the process. The iron content was analyzed in the liquid phase separated after the extraction by centrifugation. The iron content was analyzed by spectrophotometric method based on formation of a colored ferric ion complex of 2,2-pyridyl in solution at pH = 3.1.

Keywords: mineral wool waste, hydroponic cultivation, recycling

Dominika KOPAŃSKA¹ i Mariusz DUDZIAK²

WYSTĘPOWANIE METALI CIĘŻKICH W WYBRANYCH GRUNTACH NASYPOWYCH

OCCURRENCE OF HEAVY METALS IN SELECTED MADE GROUNDS

Abstrakt: W pracy dokonano analizy wybranych terenów zurbanizowanych oraz przemysłowych zawierających w stropowej strefie podłoża grunty nasypowe. W badanych gruntach występowały przekroczenia w zakresie standardów jakości jedynie pod względem obecności metali ciężkich. Określono specyfikę występowania przekroczeń oraz zauważalną prawidłowość obecności metali ciężkich w profilu geologicznym. Przedstawiono wstępne scenariusze dopuszczalnych działań w przypadku stwierdzenia przekroczeń standardów jakości gleby i ziemi, wykazując rodzaj i skalę problemu. Stan gruntów analizowano przy uwzględnieniu obowiązujących przepisów prawnych w zakresie standardów jakości gleby i ziemi. Rozpatrywane grunty pochodziły z obszaru województwa śląskiego.

Słowa kluczowe: metale ciężkie, nasyp niebudowlany, standardy jakości gleby i ziemi

Wprowadzenie

Stan geochemiczny gruntów w Polsce podlega regulacjom prawnym poprzez ustanowienie standardów jakości gleby i ziemi [1]. Analiza problemu zanieczyszczenia gruntów sprowadza się praktycznie do warstwy gleby od 0,0 do 0,3 m pod powierzchnią terenu (p.p.t.) ewentualnie podglebia (do głębokości 1,0 m), z kolei grunt zalegający poniżej nie stanowi istoty badań, a o przekroczeniach wartości dopuszczalnych właściciele powierzchni ziemi dowiadują się najczęściej dopiero podczas procesu inwestycyjnego.

W Polsce zwraca się głównie uwagę na ziemię zanieczyszczoną substancjami ropopochodnymi, która z oczywistych względów jest poddawana remediacji m.in. z uwagi na ryzyko migracji węglowodorów ze zidentyfikowanych źródeł zanieczyszczeń, takich jak: stare bazy wojskowe, stacje paliw, zbiorniki olejów itp. Takie zanieczyszczenia dają się ekonomicznie i skutecznie usunąć metodami in-situ, za pomocą technik biochemicznych [2]. Z kolei grunty zanieczyszczone jedynie metalami ciężkimi stanowią problem z powodu braku skutecznych i opłacalnych metod in-situ oraz skomplikowanych i nieekonomicznych metod ex-situ (jednocześnie dyskusyjnych z punktu widzenia celu ochrony środowiska). Najczęściej są to metody zestalania i immobilizacji, które nie prowadzą do usunięcia zanieczyszczeń, ale ich unieruchomienia, co pozostawia problem ich dalszego zagospodarowania. Dodatkowo, województwo śląskie, z uwagi na specyfikę przemysłu, rozwiniętego głównie w XIX i XX wieku, dysponowało nadmiarem żużli i zgarów pohutniczych/poodlewniczych, które, zalegając na hałdach, stanowiły łatwo dostępny materiał do niwelacji okolicznych terenów, tworząc nasypy niebudowlane, czyli takie, których rodzaj i stan nie odpowiadają wymaganiom budowy ziemnych lub podłoża pod budowle [3]. Wówczas przepisy w zakresie dopuszczalnych wartości zanieczyszczeń

¹ Przedsiębiorstwo Badań i Ekspertyz Środowiska „SEPO” sp. z o.o., ul. Dworcowa 47, 44-190 Knurów, tel. 32 236 03 16, fax 32 335 21 51, email: d.kopanska@interia.eu

² Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice, tel. 32 237 16 98, fax 32 237 10 47, email: mariusz.dudziak@polsl.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

nie istniały, a ochrona środowiska „przegrywała” z potrzebą rozwoju przemysłu. Tak wbudowane w profil geologiczny odpady poprodukcyjne w postaci żużli, zgarów i popiołów (najczęściej przemieszane z gruzem, kamieniami i ziemią) zalegają na znaczącej powierzchni terenu Śląska. Z uwagi na obowiązujące w Polsce przepisy w zakresie ochrony powierzchni ziemi, która zgodnie z definicją stanowi naturalne ukształtowanie terenu, glebę oraz znajdującą się pod nią ziemię do głębokości oddziaływania człowieka (...) [4], należy uznać nasyp niebudowlany za jej integralną część, co determinuje konieczność stosowania również w tym zakresie przepisów dotyczących utrzymania standardów jakości gleby i ziemi.

Najistotniejszymi czynnikami wpływającymi na rozpuszczalność i dostępność metali ciężkich w ziemi są [5, 6]: odczyn oraz zawartość materii organicznej. Generalnie mobilność metali wzrasta wraz z obniżeniem odczynu gleby [7-9]. Zatem już teoretycznie można zakładać, że nasypy budowane z odpadami pohutniczymi, w tym z sektora Zn-Pb (np. odpady flotacyjne, żużle itp.), zawierające minerały o właściwościach neutralizujących, nie będą zarówno zakwaszały środowiska, jak i uruchamiały metali ciężkich [8, 9], co wpływa na niewielką ich wymywalność oraz migrację.

Celem niniejszej pracy była analiza wybranych terenów o przekroczonym standardzie jedynie w zakresie metali ciężkich w warstwie nasypowej gruntu w świetle obowiązujących przepisów oraz w korelacji z możliwościami spełnienia wymagań prawnych w zakresie postępowania z takim gruntem w przypadku obszaru Śląska.

Metodyka badań i zakres analiz

W tabeli 1 przedstawiono obowiązujące w Polsce standardy jakości gleby i ziemi dla różnych grup gruntów, w tym: terenów zabudowanych/zurbanizowanych oraz przemysłowych i komunikacyjnych, które były podstawą oceny. Do analiz w ramach pracy wybrano przypadki występowania przekroczeń standardów jakości jedynie w zakresie metali ciężkich w wybranych gruntach pobranych z obszarów województwa śląskiego. Ocenie poddano grunty pochodzące z 12 terenów przemysłowych/zurbanizowanych. Przedstawione wyniki są wartościami maksymalnymi w zakresie stężeń metali ciężkich występujących w badanych gruntach nasypowych. Wszystkie z badanych przypadków dotyczyły terenów przeznaczonych zgodnie z miejscowymi planami zagospodarowania przestrzennego pod inwestycje budowlane (grunty należące do grup B i C). Grunty porównywano do wartości dopuszczalnych określonych odrębnie dla każdego metalu, w zależności od stopnia wodoprzepuszczalności gruntu oraz grupy rodzaju gruntu (przeznaczenia terenu). Oznaczenie metali zawartych w gruncie przeprowadzono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej po wcześniejszej mineralizacji próbek.

Standardy jakości ustalono w dwóch progach, tj. odrębne dla ziemi o wodoprzepuszczalności $< 10^{-7}$ m/s i osobne dla ziemi o wodoprzepuszczalności $> 10^{-7}$ m/s, w zależności od głębokości. Analizom poddano ziemię o przeznaczeniu grupy B w przedziale głębokości od 0,3 do 15,0 m oraz należące do grupy C zarówno w przedziale od 0,0 do 2,0 m, jak i od 2,0 do 15,0 m. Zatem nie analizowano przypadków grupy A ani też gleby (od 0,0 do 0,3 m) w grupie B.

Z puli przypadków o stwierdzonym przekroczeniu standardu oceniono rodzaj gruntu, w jakim wykryto przekroczenie. Następnie sprawdzono, czy przekroczenie występuje także

w warstwie bezpośrednio zalegającej pod warstwą o stwierdzonym przekroczeniu, biorąc pod uwagę budowę geologiczną tego gruntu. Porównano analizy ziemi pobranej z otworów badawczych tego samego rejonu badań, a te z kolei z wynikami analiz gruntów pochodzących z innych rejonów Śląska. Przeanalizowano aspekt prawny postępowania z gruntem o przekroczonym standardzie, próbując ocenić scenariusz działań dla terenów w woj. śląskim.

Tabela 1

Standardy gleby i ziemi w zakresie dopuszczalnych stężeń metali ciężkich [1]

Table 1

Soil and land standards in the range of the accepted concentrations of heavy metals [1]

Metal	Wartości dopuszczalne stężeń w glebie lub ziemi [mg/kg suchej masy]								
	Grupa A ¹⁾	Grupa B ²⁾					Grupa C ³⁾		
		Głębokość [m p.p.t.]							
		0,0-0,3	0,3-15,0		> 15,0		0,0-2,0	2,0-15,0	
			Wodoprzepuszczalność gruntów [m/s]						
			do	poniżej	do	poniżej		do	poniżej
			1 x 10 ⁻⁷		1 x 10 ⁻⁷			1 x 10 ⁻⁷	
Arsen	20	20	20	25	25	55	60	25	100
Bar	200	200	250	320	300	650	1000	300	3000
Chrom	50	150	150	190	150	380	500	150	800
Cyna	20	20	30	50	40	300	350	40	300
Cynk	100	300	350	300	300	720	1000	300	3000
Kadm	1	4	5	6	4	10	15	6	20
Kobalt	20	20	30	60	50	120	200	50	300
Miedź	30	150	100	100	100	200	600	200	1000
Molibden	10	10	10	40	30	210	250	30	200
Nikiel	35	100	50	100	70	210	300	70	500
Ołów	50	100	100	200	100	200	600	200	1000
Rtęć	0,5	2	3	5	4	10	30	4	50

¹⁾ grupa A - nieruchomości gruntowe wchodzące w skład obszaru poddanego ochronie na podstawie przepisów ustawy Prawo wodne oraz obszary poddane ochronie na podstawie przepisów o ochronie przyrody;

²⁾ grupa B - grunty zaliczone do użytków rolnych z wyłączeniem gruntów pod stawami i gruntów pod rowami, grunty leśne oraz zadrzewione i zakrzewione, nieużytki, a także grunty zabudowane i zurbanizowane z wyłączeniem terenów przemysłowych, użytków kopalnych oraz terenów komunikacyjnych;

³⁾ grupa C - tereny przemysłowe, użytki kopalne i tereny komunikacyjne

Wyniki i dyskusja

W tabeli 2 przedstawiono obserwowane maksymalne stężenia poszczególnych metali ciężkich w badanych gruntach nasypowych pobranych z terenów zurbanizowanych oraz przemysłowych województwa śląskiego. Z kolei na rysunku 1 zaprezentowano przykładowy profil geologiczny otworu badawczego.

Wszystkie grunty nasypowe kwalifikowano jako łatwo wodoprzepuszczalne (do 1×10^{-7} m/s). Nasypy, w każdym z analizowanych przypadków, stanowiły mieszaninę żuźla lub gruzu i ziemi, piasków czy gliny lub kamieni. W każdej badanej próbie nasypu przynajmniej jeden z rozpoznanych składników stanowił element antropogeniczny (gruz, żużel, pokruszone zgary, cegły, spieki itp.).

Analizy badań ziemi wykazały, że wszystkie przypadki, w których obserwowano przekroczenia standardów metali w warstwie nasypowej, są wolne od zanieczyszczeń

w warstwach bezpośrednio zalegających pod nasypami, niezależnie od rodzaju tych utworów, tj. łatwo- (np. piaski) czy trudnoprzepuszczalnych (gliny, iły). Dowodzi to braku zauważalnej migracji zanieczyszczeń z warstwy nasypów do gruntu rodzimego.

Tabela 2

Maksymalne stężenia metali ciężkich w wybranych gruntach woj. śląskiego zawierających nasypy

Table 2

Maximum concentrations of heavy metals in selected made grounds in the Silesian Region

Metal	Grupa A ¹⁾	Obserwowane maksymalne stężenia metali [mg/kg suchej masy]								
		Grupa B ²⁾				Grupa C ³⁾				
		Głębokość [m p.p.t.]								
		0,0-0,3	0,3-15,0		> 15,0		0,0-2,0	2,0-15,0		
			Wodoprzepuszczalność gruntów [m/s]							
			do (nasypy)	poniżej (grunt rodzimy)	do	poniżej	nasypy	do (nasypy)	poniżej (grunt rodzimy)	
			1 x 10 ⁻⁷		1 x 10 ⁻⁷			1 x 10 ⁻⁷		
Arsen	Nie badano	Nie badano	82	14,1	Nie badano	Nie badano	412	378	< 0,2	
Bar			1420	197			3280	2200	36,8	
Chrom			38,4	18,1			128	53,0	15,1	
Cyna			125	9,0			51,2	20,0	8,1	
Cynk			5540	89,0			50 500	86 000	36,7	
Kadm			11,8	0,64			398	239	< 0,3	
Kobalt			9,4	12,7			23,7	15,1	4,80	
Miedź			3000	18,3			7991	57,4	8,89	
Molibden			< 5,00	< 5,00			216	< 5,0	< 5,00	
Nikiel			52,6	32,7			53,1	45,5	13,7	
Ołów			1330	20,6			2810	9460	13,7	
Rtęć			0,345	2,11					< 0,1	< 0,1

¹⁾ grupa A - nieruchomości gruntowe wchodzące w skład obszaru poddanego ochronie na podstawie przepisów ustawy Prawo wodne oraz obszary poddane ochronie na podstawie przepisów o ochronie przyrody;

²⁾ grupa B - grunty zaliczone do użytków rolnych z wyłączeniem gruntów pod stawami i gruntów pod rowami, grunty leśne oraz zadrzewione i zakrzewione, nieużytki, a także grunty zabudowane i zurbanizowane z wyłączeniem terenów przemysłowych, użytków kopalnych oraz terenów komunikacyjnych;

³⁾ grupa C - tereny przemysłowe, użytki kopalne i tereny komunikacyjne

Zauważono, że każda próbka gruntu, w której wykryto przekroczenie cynku, wykazuje także przekroczenie ołowiu, większość dodatkowo także baru i nieco mniej arsenu. Ponadto niektóre próbki wykazywały przekroczenia stężeń cyny i miedzi, a nieliczne przypadki kadmu. Znaleziono jeden przypadek z niewielkim przekroczeniem niklu.

W żadnej z badanych próbek nasypów nie zaobserwowano nigdy przekroczeń: kobaltu, molibdenu i rtęci, a stężenia tych dwóch ostatnich metali w znaczącej większości występowały poniżej poziomu oznaczalności.

W ramach każdej puli próbek pobieranych z jednego terenu (np. w obrębie jednej lub kilku połączonych geodezyjnie działek) obserwowano ten sam zestaw przekroczeń metali w każdym z badanych otworów i o podobnym zakresie stężeń, co dowodzi jednolitej struktury nasypów o tym samym źródle pochodzenia na danym terenie. Porównując grupy próbek z różnych lokalizacji Śląska, zauważa się różnice w składzie nasypów, natomiast

z dużym prawdopodobieństwem można przypuszczać, że wszystkie analizowane tereny, w których obserwowano przekroczenia metali ciężkich, niegdyś zostały niwelowane materiałem zawierającym w różnym procencie odpady poprodukcyjne z hutnictwa lub odlewnictwa metali nieżelaznych.

Istotnym aspektem analiz okazała się kwalifikacja gruntów według grup przeznaczenia. Z badań wynika, że ten sam grunt zakwalifikowany do kategorii przeznaczenia B uznaje się za zanieczyszczony, a kwalifikując go do grupy C, byłby całkowicie wolny od zanieczyszczeń i w drugą stronę: stwierdzenie braku przekroczeń standardów z uwagi na grupę C obszaru badań może być nieprawdziwe w przypadku zmiany kategorii przeznaczenia na grupę B. Taka sytuacja rodzi problemy skutkujące przede wszystkim sposobem postępowania z zanieczyszczonym gruntem. Zgodnie z obowiązującymi przepisami, ziemię uznaje się za zanieczyszczoną, gdy stężenie co najmniej jednej substancji przekracza wartość dopuszczalną (standard) [1]. To z kolei stanowi problem w procesie inwestycyjnym, przy konieczności realizacji wykopów, głównie pod fundamenty. Przeanalizowano aspekt prawny, zgodnie z którym wybraną podczas robót budowlanych zanieczyszczoną ziemię uznaje się za odpad, kwalifikowany pod kodem 17 05 03*, zaliczany do grupy niebezpiecznych. Zgodnie z hierarchią sposobów postępowania z odpadami, wybrana w trakcie wykopów ziemia (odpad) w pierwszej kolejności powinna być przygotowywana do ponownego użycia, jeśli brak takich metod, to poddana recyklingowi, jeśli takie nie są możliwe, to dopiero innym metodom odzysku, a na samym końcu unieszkodliwieniu (w tym składowaniu) [10]. Przeanalizowano aktualny „Plan Gospodarki Odpadami dla woj. śląskiego 2014 r.” (dalej PGO) i stwierdzono funkcjonowanie tylko trzech instalacji w województwie śląskim przyjmujących do zagospodarowania odpad o kodzie 17 05 03*, a mianowicie: jedna spalarnia, druga stanowiąca zakład produkcji paliw stałych (odbierające ten odpad pod warunkiem zanieczyszczenia związkami ropopochodnymi), co z góry wyklucza zagospodarowanie ziemi zanieczyszczonej jedynie metalami ciężkimi, a trzecia stanowiąca zakład produkcji granulatów i kruszyw, gdzie zanieczyszczenia nie są usuwane, ale zestalane metodą Geodur. Zdolność produkcyjna tej instalacji wynosi 10 000 Mg (sumarycznie dla kilkunastu rodzajów odpadów). Poza wymienionymi instalacjami, PGO woj. śląskiego nie podaje żadnej innej instalacji mogącej zagospodarować odpad o kodzie 17 05 03* (w rodzaju ziemi zanieczyszczonej jedynie metalami). Zauważono, że żadne ze składowisk w województwie śląskim nie ma prawnej możliwości deponowania takiego odpadu. Biorąc pod uwagę obserwowany obszar zanieczyszczeń w ramach badanych terenów inwestycyjnych, staje się oczywiste, że chcąc respektować „zasadę bliskości” nałożoną na wytwarzających odpady (przekazywanie odpadów do najbliższej położonych miejsc, w których mogą zostać przetworzone [10]), jest to praktycznie niemożliwe. Tak więc przyjmując średnią miąższość utworów nasypowych (o głębokości 2,2 m) oraz przykładowy obszar o przekroczonym standardzie metalu 20 m x 20 m, to mamy do zagospodarowania min. 640 Mg odpadu z jednej tylko budowy. Z kolei obserwowane miąższości gruntów nasypowych o przekroczonym standardzie metalu wynoszą nawet 5,5 m głębokości, zatem masa gruntów konieczna do zagospodarowania z jednej budowy może okazać się dużo większa.

						KARTA OTWORU BADAWCZEGO		Zał.Nr:				
						Otwór nr A-1		Wiertnica:				
Rejon: przykład Miejscowość: przykład Województwo:						Obiekt: Wiercenie: Dzór geol.:		System wiercenia: Ręcznie Rzędna: 215,25 m n.p.m.				
						Skala 1 : 50		Data wiercenia:				
Wiercenie		Głębokość zamarzania wody	Profil litologiczny		Przelot	Opis litologiczny		Symbol gruntu	Włgistość	Głębokość pobr. próby	Ilość walczków	Status gruntu
1	2	[m,p,p,t]	Stratygrafia	[m]		[m]	7	8	9	10	11	12
			Nasypany	1.0			nasyp niebudowlany (żuzel + kamienie + piasek średni) ciemnoszary i czarny	nN(zi+k+Ps)		1.20		
			Czwartorzęd	2.0	2.20		piasek średni + żwir żółto - szary	Ps+Ż	w	3.00		szg
			Czwartorzęd	4.0	4.10		glina pylasta szara	Gr			1/1	tpl
			Trias	6.0	6.30		il brązowy	I			0/1	pzw
				7.0	7.00							

Rys. 1. Przykładowy profil geologiczny otworu badawczego

Fig. 1. An example of geological profile of the test hole

Wnioski

Obserwacje przypadków gruntu nasypowego o przekroczonym standardzie metali pozwalają stwierdzić, że:

- istotną rolę w przeprowadzaniu wszelkich ocen gruntu odgrywa właściwe rozpoznanie budowy geologicznej, w tym zwrócenie uwagi, czy pobierając próbę z wierzchniej warstwy zostaje pobrana gleba czy już nasyp budowany przez utwory antropogeniczne. To może mieć ogromne znaczenie w interpretacji wyników pod względem źródeł pochodzenia zanieczyszczenia metalami,
- w profilach geologicznych o przekroczonym standardzie metali w warstwie nasypowej nigdy nie zaobserwowano przekroczeń w warstwach bezpośrednio zalegających pod nasypem, niezależnie od stopnia ich wodoprzepuszczalności, co pozwala sugerować brak zauważalnej migracji metali z nasypu,
- występuje pewna prawidłowość, tj. w przypadku gruntów nasypowych o przekroczonym standardzie odnośnie do cynku zawsze podwyższony jest również ołów, a często także w kolejności: bar i arsen, niekiedy miedź i cyna, co pozwala określić pochodzenie materii budującej nasypy - z hutnictwa/odlewnictwa danego rodzaju metali nieżelaznych,
- woj. śląskie nie ma instalacji mogących zagospodarować odpady w postaci gruntu o przekroczonym standardzie metali ciężkich,
- przepisy prawne regulujące sposób postępowania z gruntem o przekroczonym standardzie powinny zostać poddane powtórnej analizie dla przypadków o podwyższonych stężeniach metali.

Literatura

- [1] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi. DzU 2002, Nr 165, poz. 1359.
- [2] In situ treatment technologies for contaminated soil. Engineering Forum Issue Paper. EPA 542/F-06/013. November 2006.
- [3] PN-86/B-02480 - Grunty budowlane. Określenia, symbole, podział i opis gruntów. Warszawa: PKN.
- [4] Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska, tekst jednolity. DzU 2013, Nr 0, poz. 1232 z późn. zm.
- [5] Taghipour M, Jalali M. J Hazard Mater. 2015;297:127-133. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.04.067.
- [6] Oo AN, Iwai CB, Saenjan P. Land Degrad Dev. 2015;26:300-310. DOI: 10.1002/ldr.2208.
- [7] Chaoui HI, Zibilske LM, Ohno T. Soil Biol Biochem. 2003;35:295-302. DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00279-1.
- [8] Marinari S, Masciandaro G, Ceccanti B, Grego S. Bioresour Technol. 2000;72:9-17. DOI: 10.1016/S0960-8524(99)00094-2.
- [9] Jonczy I, Huber M, Lata L. Mineral Resour Manage. 2014;30:161-174. DOI: 10.2478/gospo-2014-0008.
- [10] Ustawa o odpadach z dnia 14 grudnia 2012 r. DzU 2013, poz. 21.

OCCURRENCE OF HEAVY METALS IN SELECTED MADE GROUNDS

¹ Environmental Research and Expertise Company "SEPO" sp. z o.o. [Ltd.], Knurów

² Institute of Water and Wastewater Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice

Abstract: This paper presents the analysis of selected urban and industrial areas containing made grounds in the superstratum. The studied soils were characterized by exceeded quality standards only for the presence of heavy metals. The specificity of the occurrence and the visible regularity of the presence of heavy metals in the geological profile were determined. Preliminary scenarios of the action in the event of the exceeded standards for soil quality were presented, showing also the type and scale of the problem. The quality of the soil was analyzed taking into account the existing legislation regarding standards for soil and land quality. The analyzed soils originated from the Silesian Voivodeship.

Keywords: heavy metals, embankment for non-construction purposed, standards for soil and land quality

Małgorzata KOWALSKA¹

WYZNACZANIE PARAMETRÓW KINETYCZNYCH REAKCJI ULTRAFILTRACYJNEJ BIODEGRADACJI KWASU MONOCHLOROOCETOWEGO

THE STUDY OF KINETICS OF ULTRAFILTRATION BIODEGRADATION OF MONOCHLOROACETIC ACID

Abstrakt: W pracy podjęto próbę graficznego opisu kinetyki reakcji ultrafiltracyjnej biodegradacji kwasu monochlorooctowego oraz określenia wpływu temperatury na szybkość tej reakcji. Proces prowadzono z wykorzystaniem poliakrylonitrylowej membrany enzymatycznej, otrzymanej przez kowalencyjne związanie z jej powierzchnią enzymów rozkładających CH_2ClCOOH (MCAA). Uzyskane wyniki przedstawiono za pomocą trzech równań: Lineweavera-Burka, Hanesa-Woolfa i Woolfa-Augustinsson-Hofstee, z których wyznaczono parametry kinetyczne badanej reakcji.

Słowa kluczowe: kwasy halogenooctowe, enzymy, immobilizacja, ultrafiltracja, biodegradacja, kinetyka reakcji enzymatycznej

Gwałtowny rozwój technik współczesnej biotechnologii, wydzielanie indywidualnych enzymów komórkowych, identyfikacja nowych biokatalizatorów o nieznanych dotąd właściwościach spowodowały, że stały się one podstawą kształtowania procesów technologicznych. Coraz częściej tradycyjne procesy chemiczne zastępowane są technologiami wykorzystującymi trwale preparaty enzymatyczne o ściśle określonych właściwościach. Otrzymuje się je poprzez immobilizację enzymów na lub w stałych nośnikach, np. membranach. Decydujące o właściwościach użytkowych preparatów są cechy zarówno nośnika, jak i enzymu, które wzajemnie się kształtują w efekcie zastosowanego procesu immobilizacji. Bardzo ważną zaletą białek unieruchomionych (w stosunku do komórek wolnych) jest to, że nie ulegają one wypłukiwaniu oraz wykazują zwykle podwyższoną odporność na toksyczne działanie ksenobiotyków.

Kataliza enzymatyczna jest jeszcze dość kosztowna, ale ze względu na przedstawione korzyści obecne i potencjalne obszary nowatorskich zastosowań białek immobilizowanych obejmują: medycynę, analitykę, ochronę i inżynierię środowiska, przemysł spożywczy i farmaceutyczny oraz syntezę organiczną, stanowiąc ok. 10% udziału zastosowań katalizatorów na świecie. Opanowanie syntez i stosowanie katalizatorów enzymatycznych ma coraz większe znaczenie dla problemów ekologicznych, żywnościowych i energetycznych świata [1-3].

Kwasy halogenooctowe (HAA) powstają przede wszystkim podczas chlorowania wody zawierającej ich organiczne prekursorzy. Udział ilościowy HAA w TOX (suma halogenowanych związków organicznych) jest zwykle mniejszy niż trihalometanów, lecz większy niż pozostałych grup ubocznych produktów utleniania chlorem. Stężenia HAA są wprost proporcjonalne do dawki chloru i zawartości w wodzie prekursorów organicznych

¹ Zakład Chemii Środowiska i Procesów Membranowych, Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice, tel. 32 237 15 64, mail: malgorzata.kowalska@polsl.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'13, Jarnołtówek, 23-26.10.2013

[4-6]. Według przepisów Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (US EPA) z 2008 roku, suma stężeń pięciu kwasów halogenooctowych (kwasu monochlorooctowego, dichlorooctowego, trichlorooctowego, monobromooctowego i dibromooctowego) nie może być większa niż 60 mg/m^3 . W przyszłości przewiduje się jednak obniżenie tej wartości do 30 mg/m^3 ze względu na zagrożenie zdrowia ludzi i zwierząt substancjami rakotwórczymi, za które uznano HAA. Według wytycznych WHO, dotyczących jakości wody do picia, dopuszczalne stężenie kwasu monochlorooctowego wynosi 20 mg/m^3 , dichlorooctowego 50 mg/m^3 , a kwasu trichlorooctowego 200 mg/m^3 . W polskich wymaganiach stawianych wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi kwasy halogenooctowe nie są uwzględnione, choć jeszcze w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie warunków, jakim powinna odpowiadać woda do picia, ograniczano stężenie kwasu monochlorooctowego do 30 mg/m^3 [7, 8].

Cel i metodyka badań

Badania, których wyniki przedstawiono w niniejszej pracy, są kontynuacją wcześniejszych prac nad efektywnością usuwania kwasów halogenooctowych z wody w bioreaktorze z ultrafiltracyjną membraną enzymatyczną. Ich celem było wyznaczenie parametrów kinetycznych reakcji enzymatycznej zachodzącej podczas procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji kwasu monochlorooctowego. Proces ten, oparty na membranach z unieruchomionymi białkami aktywnymi, przebiega w temperaturze otoczenia, charakteryzuje się niską energochłonnością i niewielkimi kosztami eksploatacyjnymi. Równocześnie pozwala na obniżenie stężenia substancji toksycznych w miejscu ich powstawania do wartości dopuszczalnych oraz umożliwia doczyszczanie uzdatnianej wody w procesie ultrafiltracji [9-11].

Badania prowadzone były przy użyciu termostatowanego reaktora typu S-76-400 firmy Nuclepore, pojemności 400 cm^3 , zaopatrzonego w mieszadło magnetyczne, pozwalającego na pracę z membraną płaską o powierzchni $38,5 \text{ cm}^2$.

Enzymy były izolowane metodą Hagemana ze szczepów bakterii wyodrębnionych z mieszanej populacji osadu czynnego, adaptowanego do rozkładu HAA. Dominującymi w populacji rodzajami bakterii były: *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Pseudomonas* oraz *Bacillus*.

Membranę enzymatyczną otrzymano poprzez kowalencyjne, trwałe związanie enzymów z powierzchnią membrany poliakrylonitrylowej (PAN-17; 17% polimeru w roztworze błonotwórczym), wcześniej zmodyfikowanej wodzianem hydrazyny i aldehydem glutarowym. Wyboru membrany dokonano w oparciu o uzyskaną przez enzymy immobilizowane aktywność oraz stabilność. Badania prowadzono w temperaturze 25°C oraz przy $\text{pH} = 6,5$ (w warunkach tych aktywność membrany enzymatycznej była najwyższa, tab. 1) [12].

Aktywność membrany katalitycznej wyznaczano, przepuszczając przez nią wodę modelową zawierającą kwas monochlorooctowy o stężeniu $0,1 \text{ mg/dm}^3$ w czasie 10 minut przy ciśnieniu $0,1 \text{ MPa}$ i obrotach mieszadła 50 obr/min . Następnie oznaczono stężenie kwasu w nadawie, permeacie i retencie i na tej podstawie określono stopień biodegradacji ksenobiotyku (B_d), zgodnie z równaniem:

$$B_d = [1 - (C_p \cdot V_p + C_r \cdot V_r) / C_n \cdot V_n] \cdot 100\% \quad (1)$$

gdzie: B_d - stopień biodegradacji ksenobiotyku [%], C_p - stężenie ksenobiotyku w permeacie [mol/dm^3], C_n - stężenie ksenobiotyku w nadawie [mol/dm^3], C_r - stężenie ksenobiotyku w retentacie [mol/dm^3], V_p - objętość permeatu [dm^3], V_n - objętość nadawy [dm^3], V_r - objętość retentatu [dm^3].

Tabela 1

Ilość unieruchomionego białka oraz aktywność membrany enzymatycznej

Table 1

The amount of enzyme and membranes activity

Ilość unieruchomionego białka [mg]	Aktywność [mmol CH_2ClCOOH / 10 min / 1 cm^2 pow. membrany] $\cdot 10^4$
16,4	$T = 18^\circ\text{C}$
	2,304
	$T = 20^\circ\text{C}$
	2,310
	$T = 23^\circ\text{C}$
	2,316
	$T = 25^\circ\text{C}$
	2,322
	$T = 28^\circ\text{C}$
	2,317
	$T = 30^\circ\text{C}$
	2,312

Membrana enzymatyczna całkowicie zatrzymywała kwas monochlorooctowy - w permeacie nie stwierdzono obecności MCAA. W nadawie i permeacie nie stwierdzono również obecności enzymu, co świadczyło o trwałym związaniu białka z powierzchnią membrany. Stężenie białka (tab. 1) oznaczono kolorymetryczną metodą Bradforda, polegającą na barwnej reakcji białka z odczynnikiem Bio-Rad-Protein-Assay.

W celu wyznaczenia parametrów kinetycznych reakcji enzymatycznej mierzono stężenie ksenobiotyku w nadawie i retentacie (było ono takie samo), podczas filtracji przez membranę aktywną wody modelowej zawierającej 2 mg/dm^3 MCAA, przy ciśnieniu 0,01 MPa oraz przy intensywności mieszania wynoszącej 50 obr./min. Optymalne parametry procesu (ciśnienie transmembranowe, intensywność mieszania) wyznaczono podczas wcześniejszych badań [10-12]. Na podstawie danych wyliczono zależność szybkości reakcji od stężenia substratu, korzystając z przybliżenia liniowego:

$$r \left(\frac{c_{i+1} + c_i}{2} \right) = \frac{c_i - c_{i+1}}{t_{i+1} - t_i} \quad (2)$$

gdzie: r - szybkość reakcji enzymatycznej [$\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{dm}^3)$], c_i - stężenie substratu [mol/dm^3], t_i - czas reakcji enzymatycznej [min];

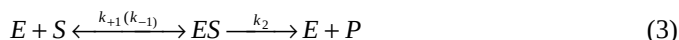
a następnie sporządzono wykresy Lineweavera-Burka, Hanesa-Woolfa i Woolfa-Augustinsson-Hofstee, przy pomocy których wyznaczono parametry kinetyki reakcji enzymatycznej.

Stężenie kwasu monochlorooctowego oznaczano za pomocą chromatografu GC-MS (model Saturn 2100 T produkcji firmy Varian). Chromatograf wyposażony był w kolumnę SLBTM - 5 ms firmy Supleco. Podczas analizy temperaturę pieca chromatograficznego programowano w zakresie od 40 do 210°C. Pozostałe parametry temperaturowe były następujące: dozownik typu Split/Splitless - 210°C, pułapka jonowa i źródło jonów - 200°C. Analizę ilościową prowadzono w oparciu o metodę FS (full scan) w zakresie mas od 50 do 250 a.m.u. Procedura przygotowania próbek wodnych była adaptacją metody US EPA 552.2. Metoda ta obejmowała dwa zasadnicze etapy: ekstrakcję kwasu z użyciem eteru tert-butyloetylowego (MTBE) oraz jego upochadnianie do estru metyloвого [13].

Wyniki oraz ich omówienie

W tabeli 1 przedstawiono ilość unieruchomionego na membranie białka aktywnego oraz aktywność enzymatyczną otrzymanej membrany katalitycznej (w zależności od temperatury).

Modelem kinetycznym opisującym reakcję enzymu z substratem jest model Michaelisa-Menten. Opiera się on na założeniu odwracalnego powstawania aktywnego kompleksu enzym-substrat (ES), będącego wynikiem odwracalnej reakcji cząstek enzymu (E) z cząsteczkami substratu (S) oraz na następczej, nieodwracalnej reakcji rozpadu kompleksu aktywnego na produkt (P) i uwolnieniu cząsteczek enzymu:



Równanie Michaelisa-Menten, opisujące ten proces, przyjmuje postać:

$$r_s = r_m [S] / (K_M + [S]) \quad (4)$$

gdzie: $r_m = k_2[E]$, $K_M = (k_{-1} + k_2)/k_{+1}$.

Stała K_M nosi nazwę stałej Michaelisa-Menten i ma wymiar stężenia. Po wstawieniu do równania (4) wartości K_M w miejsce $[S]$ otrzymuje się zależność:

$$[S] = K_M \Rightarrow r_s = \frac{1}{2} r_m \quad (5)$$

Wynika z niej, że stała Michaelisa-Menten jest stężeniem substratu, przy którym szybkość reakcji osiąga połowę wartości jej szybkości maksymalnej. Stałą K_M można wyznaczyć z wykreślonej zależności szybkości reakcji enzymatycznej w funkcji stężenia substratu, czyli z graficznego przedstawienia równania Michaelisa-Menten. Najprostszym sposobem dokładniejszego wyznaczenia wartości r_m i K_M jest przekształcenie równania hiperboli, jakim jest równanie Michaelisa-Menten, w równanie prostej. Umożliwiają to równania: Lineweavera-Burka, Hanesa-Woolfa oraz Hofstee [14, 15].

W tabeli 2 zamieszczono uzyskane wyniki zmiany stężenia substratu (MCAA) w czasie prowadzenia procesu, na podstawie których wykreślono krzywe Lineweavera-Burka, Woolfa oraz Hofstee (rys. 2-4). W tabeli 3 przedstawiono równania prostych.

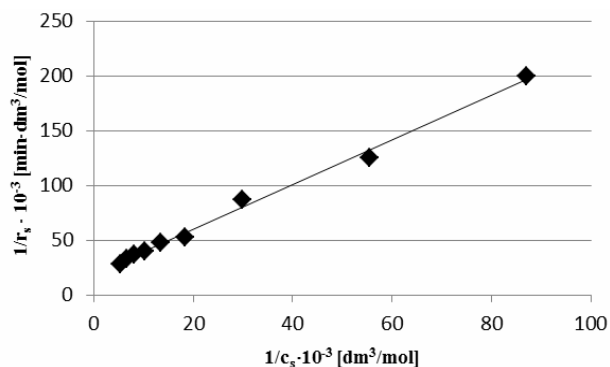
Tabela 2

Zmiana stężenia kwasu monochlorooctowego w czasie prowadzenia procesu jego usuwania z wykorzystaniem membrany katalitycznej

Table 2

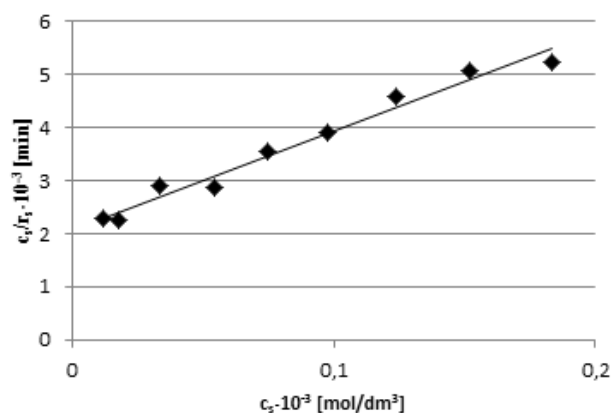
The change of monochloroacetic acid concentration in time during its removal process with the use of catalytic membrane

Czas [min]	C_s [mol/dm ³] · 10 ³	Czas [min]	C_s [mol/dm ³] · 10 ³
0	21,16	7	2,22
1	17,46	8	1,27
2	14,49	9	0,85
3	11,5	10	0,65
4	9,1	11	0,34
5	6,88	12	0,13
6	4,67	13	0,08



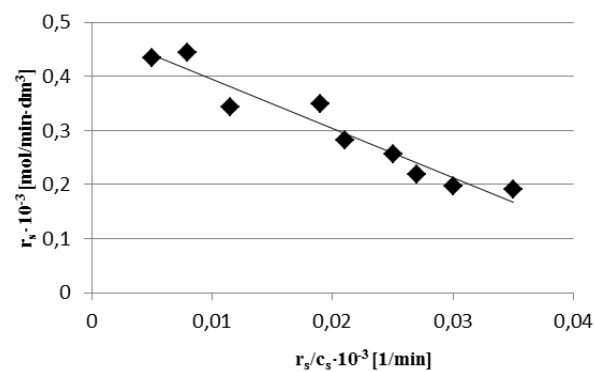
Rys. 1. Wykres Lineweavera-Burka otrzymany dla reakcji ultrafiltracyjnej biodegradacji MCAA

Fig. 1. Lineweaver-Burk diagram obtained for ultrafiltration biodegradation of MCAA



Rys. 2. Wykres Woolfa otrzymany dla reakcji ultrafiltracyjnej biodegradacji MCAA

Fig. 2. Woolf diagram obtained for ultrafiltration biodegradation of MCAA



Rys. 3. Wykres Hofstee otrzymany dla reakcji ultrafiltracyjnej biodegradacji MCAA

Fig. 3. Hofstee diagram obtained for ultrafiltration biodegradation of MCAA

Równania otrzymanych krzywych opisujących parametry kinetyczne reakcji zachodzącej podczas ultrafiltracyjnej biodegradacji MCAA

Tabela 3

Equations of curves describing kinetic parameters of the reaction which occurred during ultrafiltration biodegradation of MCAA

Table 3

Metoda	Równanie funkcji
Lineweaver-Burka	$\frac{1}{r_s} = 0,3638 \cdot \frac{1}{[S]} + 2,5547$
Woolfa	$\frac{[S]}{r_s} = 0,8365 \cdot [S] + 2,2142$
Hofstee	$r_s = -0,0299 \frac{r_s}{[S]} + 0,5652$

W tabeli 4 zestawiono wyniki obliczeń parametrów kinetyki badanej reakcji enzymatycznej wyznaczone w temperaturze 25°C za pomocą omówionych trzech metod graficznych przy zachowaniu stałego ciśnienia transmembranowego (0,01 MPa) oraz stałego stężenia wyjściowego usuwanego kwasu (2 mg/dm³).

Tabela 4

Wyniki obliczeń parametrów kinetycznych reakcji zachodzącej podczas ultrafiltracyjnej biodegradacji MCAA wyznaczonych metodami: Lineweaver-Burka, Woolfa i Hofstee

Table 4

Results of calculation of kinetic parameters which occurred during MCAA ultrafiltration biodegradation determined by Lineweaver-Burk, Woolfa and Hofstee methods

Metoda	r_m [mol/min·dm ³]	Błąd obl. r_m	K_M [mol/dm ³]	Błąd obl. K_M
Lineweaver-Burka	$0,482 \cdot 10^{-3}$	3,2%	$0,243 \cdot 10^{-3}$	6,1%
Woolfa	$0,513 \cdot 10^{-3}$	1,9%	$0,274 \cdot 10^{-3}$	3,4%
Hofstee	$0,5701 \cdot 10^{-3}$	1,2%	$0,301 \cdot 10^{-3}$	2%

Podsumowanie i wnioski

Z przeprowadzonych badań wynika, że możliwe jest wyznaczenie parametrów kinetycznych reakcji ultrafiltracyjnej biodegradacji kwasu monochlorooctowego metodami graficznymi Lineweaver-Burka, Woolfa oraz Hofstee. Z punktu widzenia obliczeń numerycznych najmniej efektywną metodą jest metoda Lineweaver-Burka. Decydujące znaczenie mają w niej wartości zmierzone dla najmniejszych stężeń substratu i odpowiadających im najmniejszych szybkości reakcji, a w tym zakresie błędy oznaczeń są największe. Najmniejszym błędem charakteryzowała się metoda Hofstee.

Podziękowania

Praca naukowa została sfinansowana ze środków przeznaczonych na naukę w latach 2009-2011 jako projekt badawczy nr N N523 4523 36 pt. „Biodegradacja kwasów halogenooctowych w reaktorze z enzymatycznymi membranami ultrafiltracyjnymi”.

Literatura

- [1] Lin Ch, Gan L, Zuliang Ch, Mallavarapu M, Ravendra N. Biodegradation of naphthalene using a functional biomaterial based on immobilized *Bacillus fusiformis* (BFN). *Biochem Eng J.* 2014;90:1-7. DOI: 10.1016/j.bej.2014.05.003.
- [2] Jiwu L, Weijian C, Ling Z. The characteristics and enzyme activities of 4-chlorophenol biodegradation by *Fusarium sp.* *Bioresour Technol.* 2010;102:2985-2989. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.10.006.
- [3] Godjevargova T, Ivanova D, Aleksieva Z, Burdelova G. Biodegradation of phenol by immobilized *Trichosporon cutaneum* R57 on modified polymer membranes. *Process Biochem.* 2006;41:2342-2346. DOI: 10.1016/j.procbio.2006.05.012.
- [4] Rodriguez MJ, Serodes J, Roy D. Formation and fate of haloacetic acids (HAAs) within the water treatment plant. *Water Res.* 2007;41(18):4222-44232. DOI: 10.1016/j.watres.2007.05.048.
- [5] Kucharski M, Koprowicz D. Chloroacetic acids in drinking water as ozonation and disinfection chlorine by-products. *Pol J Environ Stud.* 2007;16(2A):150-157.
- [6] Ghani A, Dalvi I, Al-Rasheed R, Javeed MA. Haloacetic acids (HAAs) formation in desalination processes from disinfectants. *Desalination.* 2000;129(3):261-271. DOI: 10.1016/S0011-9164(00)0066-7.
- [7] Peters RIB, Erkelens C, Leer EWB, Glan L. The analysis of halogenated acetic acids in dutch drinking water. *Water Res.* 2008;25(4):473-477. DOI: 10.1016/j.watres.2008.07.048.
- [8] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *DzU* 2010, Nr 72, poz. 466.
- [9] Kowalska M, Dudziak M, Bohdziewicz J. Usuwanie kwasów halogenooctowych w zintegrowanym procesie biodegradacja - ultrafiltracja z zastosowaniem enzymatycznych membran kapilarnych. *Ochr Środ.* 2011;33(4):49-51.
- [10] Kowalska M, Dudziak M, Bohdziewicz J. Usuwanie kwasów halogenooctowych z wody w bioreaktorze z enzymatyczną membraną ultrafiltracyjną. *Nauka Przyr Technol.* 2011;5(4): #37.
- [11] Kowalska M, Dudziak M. GC-MS determination of halogen derivatives of acetic acid. *ACEE.* 2011;4(3):117-120.
- [12] USEPA, Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection. *Method 552.2, Rev. 1.0, 1995.*
- [13] Roig MG, Pedraz MA, Sanchez JM. Sorption isotherms and kinetics in the primary biodegradation of anionic surfactants by immobilized bacteria: I. *Pseudomonas C12B.* *J Mol Catal B-Enzym.* 1998;4:253-270. DOI: 10.1016/S1381-1177(98)00005-8.
- [14] Thao TP, Hsiang-Chien K, Ruey-Shin J, Chi-Wei JL. Kinetic characteristics of biodegradation of methyl orange by *Pseudomonas putida* mt2 in suspended and immobilized cell systems. *J Taiwan Inst Chem E.* 2013;44(5):780-785. DOI: 10.1016/j.jtice.2013.01.015.
- [15] Mohidem NA, Hanapi BM. The catalytic activity enhancement and biodegradation potential of free laccase and novel sol-gel laccase in non-conventional solvents. *Bioresour Technol.* 2012;114:472-477. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.02.138.

THE STUDY OF THE KINETICS OF ULTRAFILTRATION BIODEGRADATION OF MONOCHLOROACETIC ACID

Division of Sanitary Chemistry and Membrane Processes, Institute of Water and Wastewater Engineering
Faculty of Energy and Environmental Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice

Abstract: The study of the kinetics of ultrafiltration biodegradation of monochloroacetic acid and the impact of the temperature on the reaction rate are discussed in the paper. The graphical interpretation of the reaction kinetics was made. The process was carried out with the use of polyacrylonitrile enzymatic membrane obtained by the covalent bonding of the membrane polymer with enzymes able to decompose CH_2ClCOOH (MCAA). The obtained results were represented using three equations: Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf and Woolf-Augustinsson-Hofstee, which enabled the determination of kinetics parameters of the investigated reaction.

Keywords: monochloroacetic acid, immobilization, biodegradation, ultrafiltration enzymatic membranes, kinetics of ultrafiltration biodegradation

Anna KUBALA¹ i Lucyna PRZYWARA¹

UTLENIE SIARCZKÓW W ŚCIEKACH GARBARSKICH

OXIDATION OF SULPHIDES IN TANNERY WASTEWATER

Abstrakt: Przemysł garbarski charakteryzuje się znaczną uciążliwością dla środowiska naturalnego. Wytworza duże ilości ścieków zawierających związki organiczne wypłukiwane ze skóry (m.in. tłuszcze i białka), różnorodne substancje nieorganiczne, w tym chrom(III), siarczki. Skład ścieków z przemysłu garbarskiego zależy od rodzaju wyprawy oraz od pochodzenia danej skóry. Obecnie wszystkie garbarnie w procesie przetwarzania skór zwierzęcych na skórę używają siarczków. Zazwyczaj jest to siarczek sodu lub wodorosiarczek sodu. Forma siarczków, w jakiej znajdują się one w ściekach, zależy od odczynu. W roztworze kwaśnym przy $\text{pH} < 6$ dominuje obecność H_2S ; przy $\text{pH} \geq 8$ główną postacią są MeHS , natomiast siarczki występują przy $\text{pH} \geq 10$. Związki te mogą być usuwane w procesach biologicznych, chemicznych i fizycznych. Jedną z metod usuwania siarczków ze ścieków garbarskich może być ich utlenienie. W pracy przedstawiono wyniki laboratoryjnych badań utleniania siarczków w ściekach z garbarni przy zastosowaniu siarczanu(VI) manganu(II). Przedmiotem opisywanych badań w pracy było określenie optymalnej dawki manganu i czasu utlenienia. Badania przeprowadzono przy różnym stosunku Mn:S . Zmiana w czasie zawartości siarczków w ściekach wskazuje, że reakcje chemiczne prowadzące do obniżenia parametrów mają miejsce natychmiast po dodaniu utleniacza.

Słowa kluczowe: ścieki garbarskie, siarczki, utlenianie, siarczan manganu

Wstęp

Garbowanie skóry jest procesem wyprawy skóry, w którym odpowiednio przygotowana skóra surowa zostaje przekształcona w skórę wyprawioną o nowych, lepszych właściwościach użytkowych. Technika garbowania skóry jest procesem złożonym, składającym się z wielu procesów i operacji technologicznych, wśród których należy wymienić: warsztat mokry, garbowanie właściwe oraz wykańczanie. Warsztat mokry obejmuje następujące procesy: moczenie, wapnienie, chemiczne lub mechaniczne usunięcie włosa, mizdrowanie, dwojenie, odwapnienie, wytrawianie, odtłuszczanie i piklowanie. W dalszej kolejności prowadzi się proces garbowania właściwego przy użyciu m.in. związków chromu(III), żelaza(III), cyrkonu(IV), glinu(III), tytanu(IV). Obecnie najczęściej w procesie garbowania używa się brzeczek chromowych czy roztworów soli chromu(III). Ostatnią operacją technologiczną jest proces wykańczania skóry, który składa się z neutralizacji, dogarbowania, barwienia, natłuszczania, wyżymania, wygładzania, suszenia, nawilżania, zmiękczenia, prasowania, nakładania powłok lakierniczych [1]. Kwasy, zasady, sole chromu(III), siarczki i wiele innych związków, które są używane w procesie przekształcenia surowej skóry, nie są całkowicie wyczerpane (zużyte) i stają się składnikami ścieków [2]. Zatem ścieki garbarskie zawierają nie tylko związki organiczne wypłukiwane ze skóry (m.in. tłuszcze i białka), ale również różnorodne substancje nieorganiczne, w tym chrom(III), siarczki. Jednym z bardzo ważnych zagadnień w przemyśle garbarskim jest usunięcie siarczków ze ścieków. Obecność siarczków w ściekach stanowi zagrożenie ze względu na możliwość emisji siarkowodoru, którego

¹ Instytut Ochrony i Inżynierii Środowiska, Akademia Techniczna-Humanistyczna w Bielsku-Białej, ul. Willowa 2, 43-309 Bielsko-Biała, tel. 33 827 91 46, email: kubalaanna@wp.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

toksyczne właściwości stwierdza się już od zawartości w powietrzu powyżej 1 ppm [3]. Usuwanie siarczków z roztworów wodnych może się odbywać z wykorzystaniem procesów fizykochemicznych, takich jak: wytrącanie trudno rozpuszczalnych siarczków metali ciężkich, utlenianie tlenem z powietrza, utlenianie utleniaczami, utlenianie katalityczne tlenem z powietrza, nazywane inaczej utlenianiem tlenem w obecności metali przejściowych, adsorpcja [3, 4] lub biologicznych [5].

Stosując tradycyjne metody unieszkodliwiania ścieków garbarskich, coraz trudniejsze jest ich oczyszczanie do poziomu obowiązujących wymagań odnośnie do jakości ścieków odprowadzanych do środowiska [6]. Z tego względu ciągle ulepsza się znane metody oczyszczania ścieków lub poszukuje nowych rozwiązań. Jedną z efektywniejszych metod usuwania siarczków ze ścieków jest utlenianie. Polega ono na utlenianiu siarczków do produktów o mniejszej toksyczności (uciążliwości), głównie do siarki elementarnej i siarczanów. Do utleniania siarczków wykorzystywane są klasyczne utleniacze, takie jak: tlen, ozon, nadtlenek wodoru oraz chlor i jego związki. Chemizm procesów utleniania i rodzaj powstających produktów jest złożony i uzależniony głównie od stosunku molowego reagentów, pH środowiska. Wiadomo, że utlenianie siarczków przebiega stopniowo, a powstającymi produktami mogą być m.in. siarka elementarna, siarczany(IV), tiosiarczany oraz siarczany(VI) [4].

Inną metodą usuwania siarczków jest utlenianie tlenem w obecności metali przejściowych, np. manganu. Metoda ta została opisana m.in. przez Valeika i in. [5], gdzie wykorzystano do katalitycznego utlenienia siarczków tlenek manganu(IV).

W pracy przedstawiono wyniki laboratoryjnych badań utleniania siarczków w ściekach z garbarni przy zastosowaniu siarczanu(VI) manganu(II). Przedmiotem opisywanych badań w pracy było określenie optymalnej dawki manganu i czasu utlenienia. Badania przeprowadzono przy różnym stosunku Mn:S.

Materiał i metodyka badań

W badaniach wykorzystano ścieki ogólne powstające podczas produkcji skór z garbarni zlokalizowanej w południowej części Polski. Próbkę do badań pobrano trzykrotnie i wszystkie doświadczenia prowadzono w trzech niezależnych seriach. Ogólna charakterystyka fizykochemiczna materiału badawczego została przedstawiona w tabeli 1.

Tabela 1
Charakterystyka fizykochemiczna ścieków z przemysłu garbarskiego

Tabela 1

Table 1

Characteristics of the tannery wastewater

Parametr	Jednostka	Seria 1	Seria 2	Seria 3	Zakres wartości
pH	-	8,60	9,42	9,27	8,60-9,42
ORP	[mV]	-370	-385	-375	-385-370
Przewodność	[μ S/cm]	17 800	10 240	10 550	10 240-17 800
Siarczki	[mg S ²⁻ /dm ³]	55,40	59,60	56,30	55,40-59,60
ChZT	[mg O ₂ /dm ³]	14 000	6320	8100	6320-14 000

Proces utleniania katalitycznego prowadzono w naczyniach szklanych o pojemności 2 dm³ przy wykorzystaniu siarczanu(VI) manganu(II) dozowanego w postaci 1% roztworu

dla następujących stosunków Mn:S: w serii pierwszej 2:1, 3:1 i 3,5:1, w serii drugiej 2:1, 2,5:1 i 3:1, a w serii trzeciej 0,7:1 i 1:1. Podczas eksperymentu prowadzono analizy fizykochemiczne ścieków utlenionych. Wszystkie oznaczenia fizykochemiczne wykonano zgodnie z metodyką przedstawioną w Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater [7].

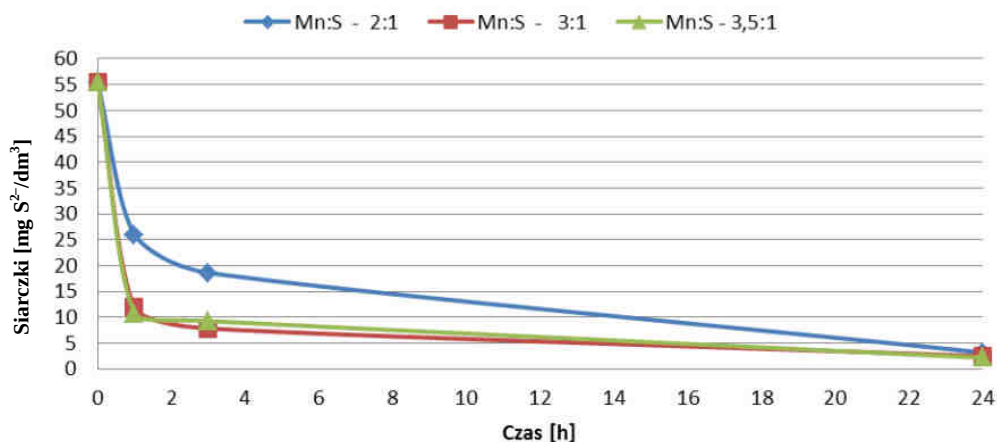
Omówienie wyników badań

Nie tylko stężenie siarczków w ściekach garbarskich, ale również zawartość związków organicznych wyrażonych jako ChZT przekracza zamieszczone w Rozporządzeniu Ministra Środowiska dopuszczalne stężenia tych zanieczyszczeń [6]. Porównanie z danymi literaturowymi zawartości siarczków w badanych ściekach w zakresie od 55 do 60 mg S^{2-}/dm^3 dowodzi, iż są w nich obecne w stosunkowo niewielkich ilościach. Stężenie siarczków w ściekach garbarskich może wynosić 100 mg S^{2-}/dm^3 [8, 9], a nawet od 250 do 3300 mg S^{2-}/dm^3 [10, 11]. Wartości ChZT w badanych ściekach garbarskich kształtowały się w zakresie od 6320 do 14 000 mg O_2/dm^3 , co koresponduje z wynikami przedstawionymi przez Lofrano i in. [12].

Seria I

Podczas pierwszej serii badań dawka katalizatora - siarczanu(VI) manganu(II) została określona na podstawie zawartości siarczków w ściekach i wyznaczona stosunkiem manganu do siarki (Mn:S) na poziomie 2:1, 3:1 i 3,5:1.

Proces utleniania prowadzono dla każdej dawki katalizatora przez 24 godziny, a analizy wykonano kolejno po 1, 3 i 24 godzinie. Podczas procesu utleniania siarczków tlenem z powietrza wspomaganym manganem stężenie siarczków szybko zmniejsza się już w ciągu 1 godziny. Podobne rezultaty uzyskali Valeika i in. [5], stosując tlenek manganu(IV).



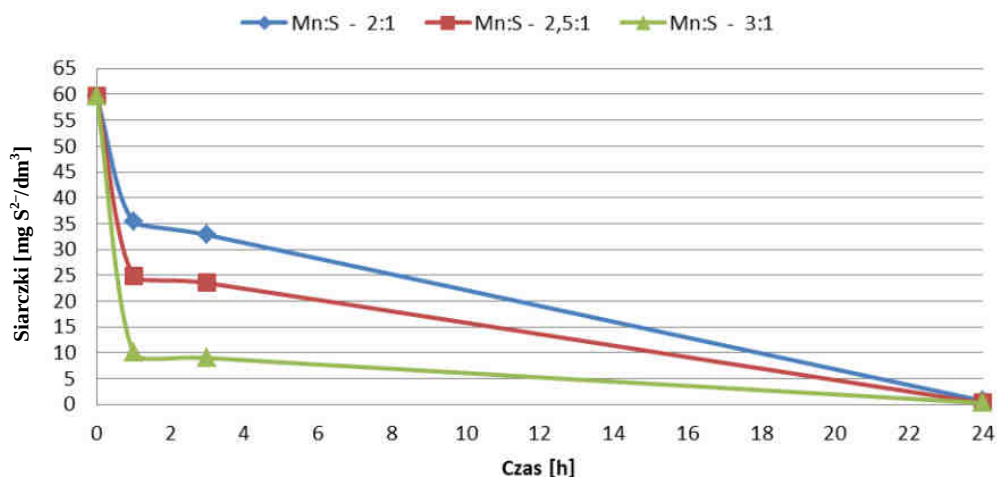
Rys. 1. Zawartość siarczków w trakcie trwania eksperymentu - seria I

Fig. 1. Concentration of sulphides during experiment time - serie I

Zawartość siarczków w ściekach po procesie utleniania w ciągu jednej godziny zależy od ilości zadozowanego katalizatora i wynosiła od 10 do 26 mg S^{2-}/dm^3 (rys. 1). Oznaczenia wskaźników zanieczyszczeń, głównie siarczków, wykazały, że proces utleniania ścieków garbarskich prowadzony w ciągu jednej godziny przyczynił się do uzyskania najlepszych rezultatów dla dawki siarczanu manganu odpowiadającej stosunkowi Mn:S jak 3,5:1 - 80% efektywność usunięcia siarczków. Po 24 godzinach prowadzenia procesu uzyskano dla wszystkich analizowanych próbek ok. 95% usunięcie siarczków.

Seria II

Na podstawie uzyskanych wyników badań serii pierwszej podczas wykonywania drugiej serii badań dawkę siarczanu(VI) manganu(II) wyznaczono w następujących stosunkach Mn:S jak 2:1, 2,5:1 oraz 3:1. Nie wykonano badań dla stosunku Mn:S jak 3,5:1, ponieważ w serii I uzyskano nieznacznie różniące się rezultaty - stężenie siarczków prawie na tym samym poziomie co dla stosunku Mn:S jak 3:1. Analogicznie jak w serii pierwszej w ciągu pierwszej godziny zmniejsza się w największym stopniu stężenie siarczków w ściekach utlenianych. Uzyskano stężenie siarczków w zakresie od 10 do 35 mg S^{2-}/dm^3 (rys. 2) w zależności od ilości zadozowanego manganu. Również przeprowadzenie procesu przez okres 24 godzin przyczynia się do uzyskania ok. 99% efektywności usunięcia siarczków.



Rys. 2. Zawartość siarczków w trakcie trwania eksperymentu - seria II

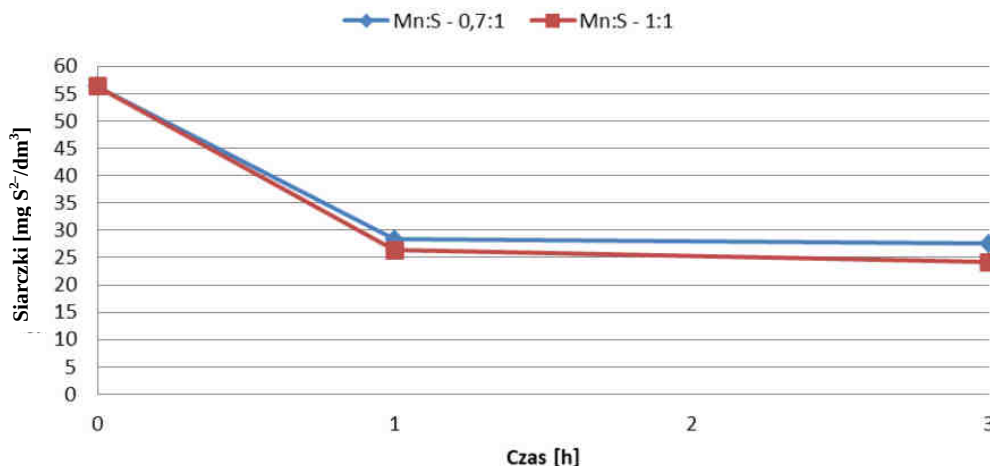
Fig. 2. Concentration of sulphides during experiment time - serie II

Zauważyć można, że czas odgrywa kluczową rolę, gdyż najlepsze wyniki usunięcia siarczków zarówno w serii I, jak i drugiej uzyskano po 24-godzinym czasie procesu. Jednak prowadzenie procesu przez tak długi okres jest ekonomicznie nieuzasadnione.

Seria III

Podczas wykonywania trzeciej serii badań kierowano się nie tylko chęcią obniżenia dawek katalizatora, ale przede wszystkim seria ta była zainspirowana informacją o dawce katalizatora stosowanej w jednej z polskich garbarni. Zastosowana dawka katalizatora odpowiadała stosunkowi Mn:S jak 0,7:1 i 1:1.

W tej serii badań postępowano analogicznie jak w seriach poprzednich, jedynie skrócono czas procesu do 3 godzin. W procesie utleniania wspomaganym manganem uzyskano po pierwszej godzinie reakcji zmniejszenie zawartości siarczków do poziomu ok. 28 mg S^{2-}/dm^3 dla Mn:S jak 0,7:1 oraz do poziomu 26 mg S^{2-}/dm^3 (rys. 3). Prowadzenie procesu przez kolejne trzy godziny nie wpłynęło znacząco na zmniejszenie stężenia siarczków w ściekach garbarskich, zaledwie do ok. 25 mg S^{2-}/dm^3 .



Rys. 3. Zawartość siarczków w trakcie trwania eksperymentu - seria III

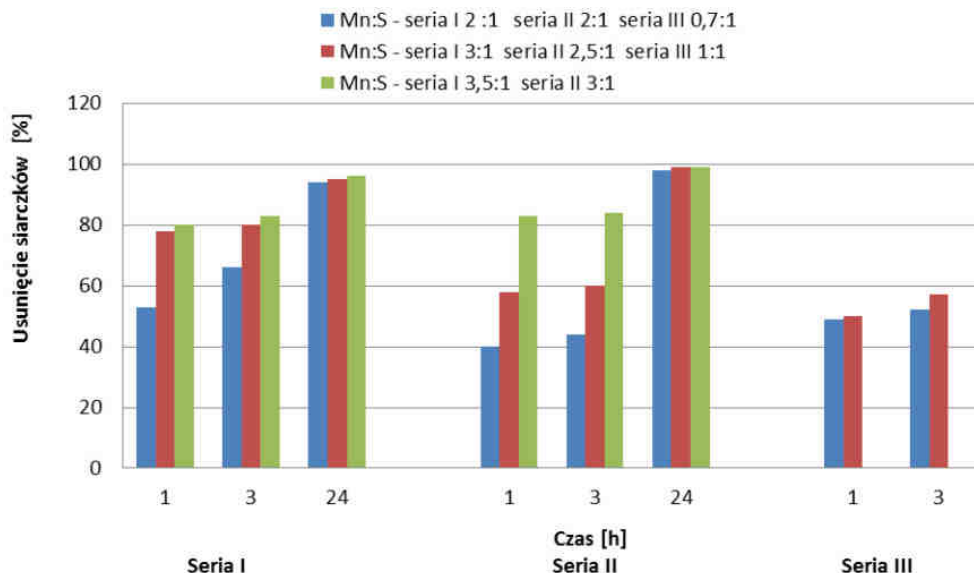
Fig. 3. Concentration of sulphides during experiment time - series III

Na podstawie uzyskanych analiz zawartości siarczków w ściekach utlenionych można stwierdzić, że działanie siarczanu(VI) manganu(II) jako katalizatora wspomaga usuwanie siarczków ze ścieków garbarskich. O skuteczności procesu w największym stopniu decyduje czas reakcji, ale również ilość dodanego manganu, co pokazuje rysunek 4.

Zastosowany proces utleniania w obecności manganu(II) w bardzo dużym stopniu przyczynia się do usunięcia siarczków ze ścieków garbarskich. Jednak efektywność procesu zależy od czasu prowadzenia i dawki manganu. Stosowanie dużych dawek (na poziomie stosunku Mn: S jak 2:1 i powyżej) i prowadzenie procesu przez 24 h jest kosztowne i ekonomicznie nieuzasadnione.

Pomimo uzyskanych rezultatów nie można traktować omawianego procesu jako możliwości usunięcia siarczków do poziomu wymaganego przy odprowadzaniu ścieków bezpośrednio do odbiornika czy oczyszczalni ścieków. Proces ten może być wykorzystany jako proces wspomagający oczyszczanie ścieków garbarskich, a ze względu na to, że

siarczki są bardzo uciążliwym parametrem badanych ścieków, ich nawet częściowe usunięcie jest wskazane.



Rys. 4. Skuteczność utleniania siarczków

Fig. 4. Sulphides oxidation efficiency

Wnioski

1. Na efektywność utleniania siarczków w ściekach garbarskich istotny wpływ ma dawka manganu oraz czas prowadzenia procesu.
2. Zastosowany proces katalitycznego utleniania prowadzony w ciągu trzech godzin nie zapewnił odpowiednio wysokiego stopnia usunięcia zanieczyszczeń z uwagi na zbyt duże stężenie siarczków w ściekach oczyszczonych.
3. Przedstawiona metoda jest przydatna do podczyszczenia ścieków garbarskich w celu zmniejszenia zawartości siarczków.
4. Stosując siarczan manganu do wstępnego podczyszczania ścieków garbarskich, uzyskuje się do 50% usunięcia siarczków dla stosunku Mn:S jak 0,7:1 i 1:1.

Literatura

- [1] Domański W, Surgiewicz J. Zagrożenia chemiczne w przemyśle garbarskim. *Bezp Pracy*. 2001;4:6-9.
- [2] Mendrycka M, Stawarz M. Zastosowanie biopreparatu wspomagającego oczyszczanie ścieków garbarskich osadem czynnym. *Inż Ekol*. 2012;28:43-56.
- [3] Kociołek-Balawejder E, Wilk Ł. Siarczki w środowisku wodnym. Cz. I. Zapobieganie powstawaniu. *Przem Chem*. 2012; 91(12):2339-2344.
- [4] Kociołek-Balawejder E, Wilk Ł. Siarczki w środowisku wodnym. Cz. II. Zapobieganie emisji i usuwanie. *Przem Chem*. 2012;91(12):2345-2350.
- [5] Valeika V, Beleška K, Valeikienė V. Oxidation of sulphides in tannery wastewater by use of manganese(IV) oxide. *Polish J Environ Stud*. 2006;15(4):623-629.

- [6] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 28.01.2009 w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego. DzU Nr 27, poz.169. www.isap.sejm.gov.pl.
- [7] APHA, Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21 ed. Washington: American Public Health Association; 2005.
- [8] Song Z, Williams CJ, Edyvean RGJ. Coagulation and anaerobic digestion of tannery wastewater. *Proc Safety Environ Protect*. 2001;79(1):23-28.
- [9] Murugananthan M, Bhaskar Raju G, Prabhakar S. Removal of sulfide, sulfate and sulfite ions by electro coagulation. *J Hazard Mater*. 2004;B109:37-44. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2003.12.009.
- [10] Lofrano G, Meriç S, Belgiorno V. Tannery wastewater treatment by advanced oxidation processes. In: Belgiorno V, Naddeo V, Rizzo L, editors. *Water, Wastewater and Soil Treatment by Advanced Oxidation Processes (AOPs)*. Salerno, Italy: Aster onlus 978-1-4461-2967-8. 2010a:197-217.
- [11] Lofrano G, Meriç S, Inglese M, Nikolaou AD, Belgiorno V. Fenton oxidation treatment of tannery wastewater and tanning agents: synthetic tannin and nonylphenol ethoxylate based degreasing agent. *Desalin Water Treat*. 2010b;23:1-8. DOI: 10.5004/dwt.2010.1991.
- [12] Lofrano G, Meriç S, Zengin GE, Orhon D. Chemical and biological treatment technologies for leather tannery chemicals and wastewater: A review. *Sci Total Environ*. 2013;461-462:265-281. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.05.004.

OXIDATION OF SULPHIDES IN TANNERY WASTEWATER

Institute of Environmental Protection and Engineering, University of Bielsko-Biala

Abstract: Tanning industry is characterized by a considerable environmental nuisance. It produces large amounts of wastewater, containing organic compounds leached from skin (*eg* fats and protein) as well as various inorganic substances including chromium(III), sulphides. The composition of wastewater from tanning industry depends on the type and origin of leather used. Nowadays, in the transforming process of animal skin into leather almost every tannery uses sulphides, mostly sodium sulphide and sodium hydrosulphide. The form of sulphides in effluents depends on the pH. The acidic solution ($\text{pH} < 6$) is dominated by the presence of H_2S , while, MeHS constitutes the main form for at $\text{pH} \geq 8$. Sulphides dominate at the $\text{pH} \geq 10$. These compounds can be removed by biological, chemical and physical processes. The paper presents the results of laboratory studies of sulphides oxidation in the effluent from tannery wastewater, using manganese sulphate. The aim of the experiments performed was to determine the optimal dosage of manganese and the most appropriate oxidation time. The studies were conducted at various Mn:S ratios. Changes of sulphides during the oxidation time indicate that chemical reactions leading to the reduction of the parameter take place immediately after oxidizer addition.

Keywords: tannery wastewater, sulphides, oxidation, manganese sulphate

Mateusz MALINOWSKI¹ i Katarzyna WOLNY-KOŁADKA²

BADANIA PROCESU SAMONAGRZEWANIA SIĘ PALIWA ALTERNATYWNEGO WYTWARZANEGO ZE ZMIESZANYCH ODPADÓW KOMUNALNYCH

INVESTIGATION OF THE SELF-HEATING PROCESS OF AN ALTERNATIVE FUEL DERIVED FROM MUNICIPAL SOLID WASTE

Abstrakt: Paliwa alternatywne (RDF) znane są jako stabilne i bezpieczne źródła energii dla przemysłu cementowego i energetycznego zarówno pod względem mikrobiologicznym, jak i sanitarnym. Pomimo to w literaturze opisano wiele przypadków samozapłonu paliw alternatywnych w czasie ich magazynowania. Przeprowadzone badania wstępne wykazały, że przy zastosowaniu sita o średnicy oczka 80 mm do paliwa alternatywnego wytwarzanego ze zmieszanych odpadów komunalnych przedostają się odpady ulegające biodegradacji, w tym: papier, odpady organiczne, drewno itp. Udział tych odpadów w paliwie zawiera się w przedziale 11-29%. Znaczący udział odpadów ulegających biodegradacji w paliwie oraz mikroorganizmy, które je zasiedlają, są główną przyczyną samonagrzewania się tego źródła energii. Podstawowym celem badań była analiza procesu samonagrzewania się magazynowanego w pryzmie paliwa alternatywnego od momentu jego wytworzenia aż do czasu ustabilizowania się temperatury. Analizy przeprowadzono w instalacji mechaniczno-biologicznego przetwarzania odpadów komunalnych w Krakowie w okresie od września 2013 do sierpnia 2014 roku. W celu określenia zmian temperatury w czasie wykorzystano technikę termograficzną, a także system pomiarowy firmy APAR, składający się z 3 czujników temperatury PT100, umieszczonych na różnej głębokości pryzmy. Ponadto przeanalizowano zmiany zawartości tlenu wewnątrz pryzmy oraz wstępnie oceniono różnorodność mikroorganizmów zasiedlających paliwo. Badania wykazały, iż rozkład temperatury wewnątrz pryzmy magazynowanego paliwa nie jest jednakowy. Maksymalna osiągnięta temperatura wynosiła 76°C. W pryzmie stwierdzono obecność grzybów pleśniowych, promieniowców oraz bakterii węgetatywnych i spoczynkowych. Wyizolowano także drobnoustroje chorobotwórcze (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecalis* i *Clostridium perfringens*), stanowiące zagrożenie dla zdrowia osób pracujących przy instalacji do wytwarzania paliwa alternatywnego.

Słowa kluczowe: odpady komunalne, paliwo alternatywne (RDF), mikroorganizmy

Wprowadzenie

Paliwo alternatywne wytwarzane jest najczęściej ze zmieszanych odpadów komunalnych w instalacjach mechaniczno-biologicznego przetwarzania w procesie sortowania [1, 2] lub biologicznego suszenia [3, 4]. Ponadto do produkcji paliwa wykorzystuje się uciążliwe dla środowiska odpady, np. osady ściekowe, zużyte opony, odpady zwierzęce, biomasę pochodzenia rolniczego, trociny, wióry i inne substancje [5-9].

Paliwo dla cementowni wytwarzane ze zmieszanych stałych odpadów komunalnych powinno charakteryzować się odpowiednimi standardami jakościowymi w celu zapewnienia właściwego poziomu ochrony środowiska [10] oraz bezpieczeństwa ludzi pracujących w strefie bezpośredniego kontaktu z paliwem. Na jakość paliwa wpływa

¹ Zakład Infrastruktury Technicznej i Ekoenergetyki, Instytut Inżynierii Rolniczej i Informatyki, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, ul. Balicka 116b/311, 30-149 Kraków, tel. 12 662 46 60, email: Mateusz.Malinowski@ur.krakow.pl

² Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. A. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

przede wszystkim zastosowana technologia jego wytwarzania. Paliwa generowane w wyniku mechanicznego sortowania odpadów komunalnych z wykorzystaniem rozdrabniaczy, separatorów, np. bębnowych, pneumatycznych i/lub magnetycznych, mogą stanowić źródło zagrożenia o charakterze mikrobiologicznym ze względu na drobnoustroje, które przedostały się do paliwa z surowca do ich wytwarzania - zmieszanych odpadów komunalnych. Zróżnicowany skład gatunkowy populacji mikroorganizmów rozwijających się w paliwie alternatywnym nie został jak dotąd wystarczająco rozpoznany, tymczasem jest jednym z głównych powodów wzrostu temperatury w magazynowanym paliwie. Mikroorganizmy, przetwarzając materię organiczną, wytwarzają w tym procesie ciepło. Proces ten umożliwia przeprowadzenie np. kompostowania lub stabilizacji tlenowej, w czasie których substancje organiczne zawarte w odpadach ulegających biodegradacji transformowane są w substancje mineralne, a temperatura procesu samoistnie wzrasta do poziomu 65°C. Niestety znane są przypadki samozapłonu paliwa w czasie magazynowania [11-13]. Hogland i Marques [14] podają, iż przypadki samozapłonu magazynowanego w pryzmach paliwa były obserwowane nawet po 6 miesiącach od momentu jego wytworzenia.

Celem badań było przeprowadzenie analizy zmian temperatury wewnątrz pryzmy magazynowanego paliwa alternatywnego oraz wstępna ocena zróżnicowania mikroorganizmów zasiedlających to paliwo. Ponadto w artykule przedstawiono wyniki analizy składu morfologicznego paliwa alternatywnego oraz jego podstawowych właściwości paliwowych.

Materiał i metody

Analizy wykonano w przedsiębiorstwie MIKI Recykling Sp. z o.o. w Krakowie. Materiał do badań stanowiło paliwo alternatywne wytworzone ze zmieszanych stałych odpadów komunalnych pochodzących z terenu Aglomeracji Krakowskiej. Paliwo było formowane w nienapowietrzane pryzmy - graniastosłupy o prostokątnej podstawie (6 x 10 metrów) i wysokości 3 metrów. Pomiary temperatury i właściwości paliwowych wykonywano raz na kwartał od 15 września 2013 roku do 20 sierpnia 2014 roku. Trzy próbki o masie 100 g do badań mikrobiologicznych pobrano w sposób jałowy z pryzmy na głębokości 1 metra w sierpniu 2014 roku. Analizowane paliwo alternatywne generowane jest w 100% ze zmieszanych odpadów komunalnych o granulacji ponad 80 mm (po wcześniejszym wysortowaniu odpadów o granulacji do 80 mm, a także metali żelaznych, szkła, PCV oraz PCB).

Pomiar zmian temperatury w pryzmie

Temperaturę paliwa mierzono 2 metodami. W pierwszej metodzie wykorzystano 3 czujniki temperatury PT100. Czujniki, zamocowane na sondach o różnej długości, umieszczano na głębokości: 0,1, 1 oraz 2 m od zewnętrznej ściany pryzmy. Ponadto monitorowano w pryzmie zawartość tlenu. Wyniki pomiarów zapisywane były przez 10 dni przez system kontrolno-pomiarowy firmy APAR. Analizę powtórzono 3 razy w każdym kwartale. Druga metoda polegała na wykorzystaniu kamery termograficznej ThermoCAM e300 firmy FLIR i rejestrowaniu promieniowania podczerwonego przez okres 72 godzin (pomiaru wykonywano 2 razy dziennie o godzinie 7.00 i 19.00). Uzyskane termogramy

przeanalizowano w programach QuickReport 1.2 oraz Reporter 2000 Pro. Termogramy wykonywano w różnych miejscach pryzmy po odsłonięciu warstwy 1-1,5 m magazynowanego paliwa przez spycharkę. Termogramy, na których zarejestrowano obsypanie się paliwa, zostały wyłączone z analizy. Pomiar promieniowania podczerwonego emitowanego przez paliwo pozwolił na określenie zmian temperatury w całym przekroju pryzmy. Termogramy wykonywano w różnych miejscach pryzmy. Współczynnik emisyjności paliwa ustalono na 0,95.

Analiza składu morfologicznego

Analiza składu morfologicznego paliwa alternatywnego obejmowała wydzielenie 10 grup odpadów: tworzywa sztuczne, odpady organiczne, drewno, papier i tektura, szkło, metal, tekstylia, odpady wielomateriałowe, odpady inertne oraz frakcję poniżej 2 mm (piasek, pyły). Przeanalizowano 60 próbek paliwa (o masie około 2 kg każda), po 15 próbek w każdym kwartale. Na podstawie składu morfologicznego określono udział odpadów ulegających biodegradacji zgodnie z metodyką przyjętą za KPGO 2014 [15] oraz [16]. Pozostałe badania wykonano zgodnie z następującymi normami:

1. PN-EN 15443-2011 Stałe paliwa wtórne - Metody przygotowania próbki laboratoryjnej [17],
2. PN-EN 15400-2011 Stałe paliwa wtórne - Oznaczanie wartości opałowej [18],
3. PN-EN 15403-2011 Stałe paliwa wtórne - Oznaczanie zawartości popiołu [19],
4. PN-EN 15414-3-2011 Stałe paliwa wtórne - Oznaczanie zawartości wilgoci metodą suszarkową - część 3: wilgoć w ogólnej próbce analitycznej [20].

Analiza mikrobiologiczna

Izolację mikroorganizmów wykonano metodą seryjnych rozcieńczeń wg Kocha, wykorzystując szereg podłoży mikrobiologicznych. Badano wybrane grupy drobnoustrojów: bakterie ogólne wegetatywne i spoczynkowe (agar bakteriologiczny, BTL), grzyby pleśniowe (agar glukozowo-ziemniaczany PDA, BTL) oraz promieniotwórcze (agar Pochona, BTL). Analizie poddano również występowanie bakterii chorobotwórczych: *Staphylococcus* spp. (agar Chapmana, BTL), *Escherichia coli* (agar Endo, TBX agar, BTL), *Salmonella* spp. i *Shigella* spp. (agar SS, BTL), *Enterococcus faecalis* (podłoże Slanetz Bartley, BTL), *Clostridium perfringens* (podłoże Wilson-Blaira, BTL).

Analiza wyników

W tabeli 1 zaprezentowano strukturę morfologiczną paliwa alternatywnego wytwarzanego na instalacji firmy MIKI Recykling Sp. z o.o. w Krakowie w okresie od września 2013 do sierpnia 2014 roku. Analiza post-hoc (test Tukeya) nie wykazała istotnych różnic pomiędzy średnimi udziałami poszczególnych grup odpadów zawartych w paliwie alternatywnym produkowanym w różnych porach roku. Pomimo iż frakcja nadsitowa, która wydzielona jest ze zmieszanych odpadów komunalnych w ramach separacji na sicie bębnowym (średnica ziaren ponad 80 mm), jest następnie poddawana dodatkowej klasyfikacji powietrznej, w gotowym paliwie nadal znajdują się znaczne ilości odpadów ulegających biodegradacji. Udział tych odpadów zawiera się w przedziale od 11 do 29% (średnia roczna: 22,8%) i jest wyższy niż w badaniach prowadzonych przed

1 lipca 2013 roku [21], co może wynikać ze zmian, jakie nastąpiły w strukturze zmieszanych odpadów komunalnych. W składzie grupowym odpadów po 1 lipca 2013 roku obserwowane jest zmniejszenie się udziału odpadów opakowaniowych (szczególnie tworzyw i szkła) oraz wzrost odsetka tekstyliów, odpadów wielomateriałowych oraz organicznych.

Paliwo poddane analizie charakteryzowało się wilgotnością w zakresie od 19 do 44% (średnia dla całego roku: $30,8 \pm 5,4\%$). Ciepło spalania wynosiło $22,25 \pm 0,6 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$, zawartość popiołów: $9,6 \pm 3,7\%$, natomiast wartość opałowa kształtowała się na poziomie $14,1 \pm 3 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$. Ze względu na niską jakość uzyskanego paliwa (bardzo wysoka zawartość wody) było ono kierowane do procesu biologicznego suszenia prowadzonego w specjalistycznych kontenerach. Przed rozpoczęciem procesu biosuszenia paliwo alternatywne formowano w pryzmy (w celach badawczych) i magazynowano w hali magazynowo-produkcyjnej.

Tabela 1

Skład morfologiczny paliwa alternatywnego w różnych porach roku

Table 1

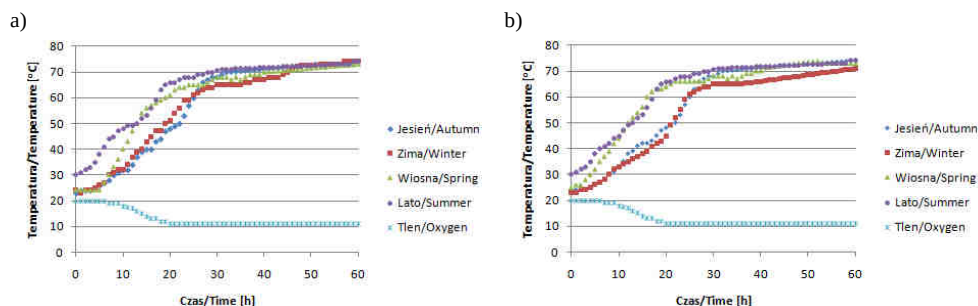
Morphological composition of an alternative fuel manufactured in the seasons

Lp.	Grupa morfologiczna odpadów / Waste group	Jesień / Autumn $\pm SD^*$	Zima / Winter $\pm SD^*$	Wiosna / Spring $\pm SD^*$	Lato / Summer $\pm SD^*$
		[%]	[%]	[%]	[%]
1	Tworzywa sztuczne / Plastics	$64,0 \pm 4,2$	$65,0 \pm 4,3$	$62,8 \pm 2,6$	$65,6 \pm 5,1$
2	Odpady organiczne / Organic waste	$4,0 \pm 0,9$	$3,7 \pm 1,2$	$3,8 \pm 1,5$	$3,6 \pm 1,0$
3	Drewno / Wood	$4,0 \pm 1,2$	$3,1 \pm 0,5$	$3,1 \pm 1,4$	$3,9 \pm 0,7$
4	Papier / Paper	$12,6 \pm 2,9$	$12,1 \pm 1,8$	$12,5 \pm 2,1$	$11,3 \pm 2,7$
5	Tekstylia / Textiles	$4,2 \pm 0,9$	$4,4 \pm 1,6$	$4,7 \pm 2,0$	$2,9 \pm 1,6$
6	Szkło / Glass	$0,5 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$
7	Metal / Metal	$0,6 \pm 0,8$	$0,5 \pm 0,6$	$0,3 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,2$
8	Odpady wielomateriałowe / Composite waste	$3,5 \pm 0,8$	$3,2 \pm 1,2$	$3,1 \pm 0,9$	$3,5 \pm 0,9$
9	Odpady inertne i inne / Inert waste	$1,4 \pm 1,0$	$1,5 \pm 1,5$	$2,8 \pm 1,8$	$2,2 \pm 2,3$
10	Frakcja poniżej 2 mm / Undersize fraction	$5,3 \pm 2,0$	$6,3 \pm 3,5$	$6,8 \pm 4,0$	$6,6 \pm 2,8$

*SD - odchylenie standardowe

Temperatura paliwa w chwili jego wygenerowania (po rozdrobnieniu końcowym) wynosiła średnio $24 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Najwyższą temperaturę paliwa (tuż po wygenerowaniu) zaobserwowano w kwartale letnim (31°C). W wyniku pomiarów stwierdzono brak znaczącego przyrostu temperatury paliwa na głębokości 0,1 m od ściany pryzmy. Średnia temperatura paliwa na tej głębokości zawierała się w zakresie $24\text{--}32^\circ\text{C}$ (brak istotnych różnic pomiędzy średnimi temperaturami w kwartałach). Samonagrzewanie się paliwa w pryzmie na głębokości 1 i 2 m przebiegało podobnie w każdym z kwartałów (rys. 1a i 1b). W kwartałach wiosennym i letnim pryzma magazynowanego paliwa po 19-24 godzinach osiągała temperaturę 65°C . Osiągnięcie takiej temperatury w procesie samonagrzewania powinno zagwarantować dezaktywację większości drobnoustrojów,

w tym mikroorganizmów chorobotwórczych [22]. W kwartałach jesiennym i zimowym temperatura 65°C osiągnięta była w czasie od 27 do 40 godzin. Maksymalna zaobserwowana temperatura procesu samonagrzewania się paliwa wynosiła 76°C i dla analizowanego czasu trwania procesu była porównywalna z wynikami badań Hoglanda i Marquesa [14]. Proces samonagrzewania się paliwa do momentu uzyskania temperatury 65°C zachodził w podobnym tempie jak w przypadku osadów ściekowych [23] (około 24 godziny) oraz znacznie szybciej niż w przypadku zmieszanych odpadów komunalnych umieszczonych w specjalnych kontenerach (ponad 40 godzin) [24, 25]. Udział tlenu w powietrzu wypełniającym wolne przestrzenie w paliwie zmniejszył się w ciągu 18-20 godzin do poziomu 11%. Zawartość tlenu na poziomie 10-11% utrzymywała się przez cały czas magazynowania paliwa. W kwartale letnim zawartość tlenu w jednym z cykli zmniejszyła się do 6%.

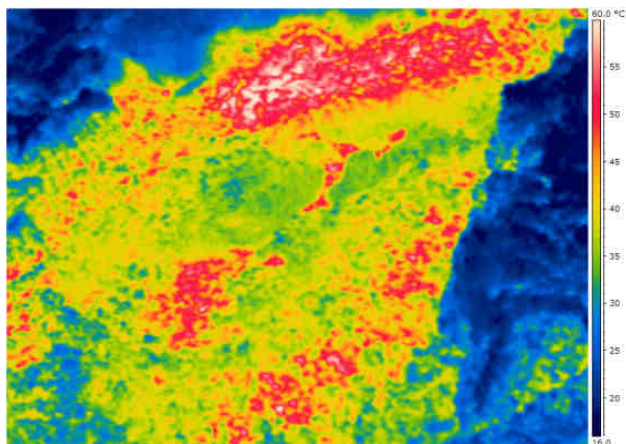


Rys. 1. Zmiany temperatury w pryzmie paliwa alternatywnego w czasie magazynowania: a) na głębokości 1 m, b) na głębokości 2 m

Fig. 1. Changes of alternative fuel temperature during storage: a) the depth of 1 m, b) the depth of 2 m

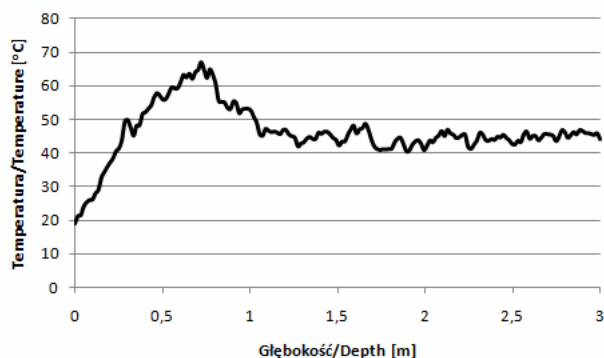
Pomiar samonagrzewania się paliwa z wykorzystaniem kamery termograficznej wykazał zróżnicowany rozkład temperatury w pryzmie paliwa (rys. 2 i 3). Wysoka temperatura (ponad 50°C) w pryzmie była obserwowana na każdym z wykonanych termogramów. Temperatura powierzchni pryzmy wynosiła od 8 do 24°C (średnia 18,4°C) i zmieniała się w zależności od pory roku i temperatury zewnętrznej. Na głębokości do około 0,5 m temperatura wzrastała do około 60°C i następnie do głębokości około 1-1,5 m utrzymywała się w zakresie 55-70°C. W pryzmie na głębokości ponad 1 m wartość temperatury zawierała się w przedziale 40-60°C, co pokazano na rysunkach 2 i 3. We wszystkich pomiarach termograficznych najcieplejszym miejscem pryzmy był obszar na głębokości 0,5-1 metra. Wysoka temperatura była również obserwowana na głębokościach ponad 1 m. Obszary o wysokiej temperaturze (ponad 50°C) tworzyły na termogramie ciepłe plamy. Niezbędne jest wykonanie szczegółowych badań w kierunku określenia przyczyny występowania tych cieplejszych obszarów.

W wyniku wstępnej izolacji wybranych grup drobnoustrojów stwierdzono w paliwie alternatywnym obecność bakterii vegetatywnych i spoczynkowych, grzybów pleśniowych oraz promieniowców, które uczestniczą w rozkładzie materii organicznej zawartej w odpadach. Wykryto także mikroorganizmy chorobotwórcze, tj.: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecalis* i *Clostridium perfringens*.



Rys. 2. Termogram przekroju poprzecznego pryzmy paliwa alternatywnego

Fig. 2. Thermal image of an alternative fuel (prism cross-section)



Rys. 3. Średnia temperatura wewnątrz pryzmy paliwa alternatywnego

Fig. 3. Average temperature inside the prism of alternative fuel

Wnioski

Udział odpadów ulegających biodegradacji na poziomie 22,8% oraz wysoka różnorodność drobnoustrojów zasiedlających paliwo alternatywne niewątpliwie przyczynia się do samonagrzewania magazynowanego paliwa. Maksymalna zanotowana temperatura wewnątrz pryzmy paliwa wynosiła 76°C. Najwyższe temperatury paliwa alternatywnego odnotowywano na głębokości od 0,5 do 1 m od ściany pryzmy.

Zarówno surowce służące do produkcji paliwa alternatywnego, jak i samo paliwo nie powinny stanowić zagrożeń mikrobiologicznego dla osób pracujących przy przetwarzaniu tych odpadów. Stąd niezwykle interesujące z poznawczego punktu widzenia jest szczegółowe określenie liczebności i składu gatunkowego drobnoustrojów zasiedlających paliwo z odpadów. Drobnoustroje mogą wpływać na właściwości paliwa alternatywnego, ale również stanowić zagrożenie dla osób uczestniczących w jego produkcji.

Podziękowania

Praca została sfinansowana ze środków BM 4626. Dziękujemy właścicielom firmy MIKI Recykling Sp. z o.o. w Krakowie za nieodpłatne przekazanie materiału badawczego.

Literatura

- [1] Skutan S, Brunner H. Metals in RDF and other high calorific value fractions from mechanical treatment of MSW: Analysis and sampling errors. *Waste Manage Res.* 2012;30.7:645-655. DOI: 10.1177/0734242X12442740.
- [2] Malinowski M. Selected properties of an alternative fuel manufactured from municipal solid waste. *Infrastruct Ecol Rural Areas.* 2013;2013/4/2:125-139. http://www.infraeco.pl/pl/art/a_17260.htm?plik=1520.
- [3] Ragazzi M, Rada EC. RDF/SRF evolution and MSW bio-drying. *WIT Trans Ecol Environ.* 2012;163:199-208. DOI: 10.2495/WM120191.
- [4] Dębicka M, Żygadło M, Latosińska J. Investigations of bio-drying process of municipal solid waste. *Ecol Chem Eng A.* 2013;20(12):1461-1470. DOI: 10.2428/ecea.2013.20(12)132.
- [5] Celińska A, Marek E. Potencjał paliw odpadowych do wykorzystania w kompleksach agrotechnicznych. *Paliwa z Odpadów.* 2009;7:11-22.
- [6] Karcz H, Kantorek M, Głabik R, Grabowicz M, Szczepaniak S. Energetyczny recykling odpadów zwierzęcych. Cz. 2. Proces termicznej utylizacji mączki w prototypowej instalacji doświadczalnej. *Paliwa z Odpadów.* 2009;7:285-294.
- [7] Oleniacz R. Assessment of the impact of using alternative fuels in the cement klin on the emissions of selected substances into the air. *Waste Energy Environ.* 2011;1:37-49.
- [8] Wzorek M. Wpływ dodatku lepiszczy na właściwości paliwa z osadów ściekowych i mułu węglowego. *Paliwa z Odpadów* 2009;7:45-52.
- [9] Ariyaratne WKH, Melaen MC, Tokheim LA. Determination of biomass fraction for partly renewable solid fuels. *Energy.* 2014;70.1:465-472. DOI: 10.1016/j.energy.2014.04.017.
- [10] Mokrzycki E, Uliasz-Bocheńczyk A, Sarna M. Use of alternative fuels in the Polish cement industry. *Appl Energy.* 2003;74:101-111. DOI: 10.1016/S0306-2619(02)00136-8.
- [11] Yasuhara A, Amano Y, Shibamoto T. Investigation of the self-heating and spontaneous ignition of refuse-derived fuel (RDF) during storage. *Waste Manage.* 2010;30:1161-1164. DOI: 10.1016/j.wasman.2009.11.003.
- [12] Yasuhara A. Chemical consideration on spontaneous incineration accidents of refuse-derived fuels and exothermic reaction mechanism. *J Japan Soc Safety Eng.* 2006;45:117-124.
- [13] Gao L, Hirano T. Process of accidental explosions at a refuse derived fuel storage. *J Loss Prev Process Ind.* 2006;19:288-291. DOI: 10.1016/j.jlp.2005.05.016.
- [14] Hogland W, Marques M. Physical, biological and chemical processes during storage and spontaneous combustion of waste fuel. *Resources Conserv Recycl.* 2003;40:53-69. DOI: 10.1016/S0921-3449(03)00025-9.
- [15] KPGO 2014. Krajowy Plan Gospodarki Odpadami na lata 2010-2014. MP Nr 101, poz. 1183.
- [16] Jędrzak A. Skład sitowy i morfologiczny odpadów komunalnych na terenie powiatu zgorzeleckiego. Raport końcowy. Zielona Góra: Instytut Inżynierii Środowiska UZ; 2011.
- [17] PN-EN 15443-2011 Stałe paliwa wtórne - Metody przygotowania próbek laboratoryjnej.
- [18] PN-EN 15400-2011 Stałe paliwa wtórne - Oznaczanie wartości opałowej.
- [19] PN-EN 15403-2011 Stałe paliwa wtórne - Oznaczanie zawartości popiołu.
- [20] PN-EN 15414-3-2011 Stałe paliwa wtórne - Oznaczanie zawartości wilgoci metodą suszarkową. Część 3: Wilgoć w ogólnej próbce analitycznej.
- [21] Malinowski M, Sikora J. Wpływ zawartości odpadów ulegających biodegradacji na właściwości paliwa alternatywnego z odpadów. *Proc EColPole.* 2014;8(1):223-230. DOI: 10.2429/proc.2014.8(1)029.
- [22] Jędrzak A, Haziak K. Określenie wymagań dla kompostowania i innych metod biologicznego przetwarzania odpadów. Zielona Góra; 2005.
- [23] Winkler MKH, Bennenbroek MH, Horstink FH, van Loosdrecht MCM, van de Pol GJ. The biodrying concept: An innovative technology creating energy from sewage sludge. *Bioresour Technol.* 2013;147:124-129. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.07.138.
- [24] Sugni M, Calcaterra E, Adani F. Biostabilization-biodrying of municipal solid waste by inverting air-flow. *Bioresour Technol.* 2005;96:1331-1337. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.11.016.

- [25] Adani F, Baido D, Calcaterra E, Genevini P. The influence of biomass temperature on biostabilization-biodrying of municipal solid waste. *Bioresour Technol.* 2002;83:173-179. DOI: 10.1016/S0960-8524(01)00231-0.

INVESTIGATION OF THE SELF-HEATING PROCESS OF AN ALTERNATIVE FUEL DERIVED FROM MUNICIPAL SOLID WASTE

¹ Institute of Agricultural Engineering and Computer Science, ² Department of Microbiology
University of Agriculture in Krakow

Abstract: Alternative fuel (RDF) has been known as a stable and safe solid-fuel (in terms of microbiological and sanitary) for cement and power plant. However, some spontaneous ignition incidents occurred during storage of RDF in certain facilities. As introductory research proves, the morphological composition of an alternative fuel manufactured from mixed municipal solid waste reveals such bio-degradable components as paper, organics, wood, etc. The share of those components in an alternative fuel (examined with the use of an 80 millimeter sifter) is in the range 11-29%. A significant share of biodegradable waste in the fuel and the high variety of microorganisms that colonize them are a major cause of self-heating is this energy source. The main aim of the study was to analyze the self-heating process in heap of alternative fuel since its manufacture until the temperature stabilizes. Analyses were carried out in the installation of mechanical - biological treatment of municipal solid waste in Krakow in the period from September 2013 to August 2014. To determine temperature changes during process, the thermographic technique was used, and the APAR measurement system consisting of three PT100 temperature sensors (placed at different depths of heap). The oxygen content inside the heap and the variety of microorganisms inhabiting RDF was analyzed too. Research has shown that the temperature distribution inside heap of stored fuel is not uniform. The presence of mold fungi, actinomycetes, as well as vegetative and spore-forming bacterial cells were found in the heap. Pathogenic microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecalis* and *Clostridium perfringens*), which pose threat to the health of people working with the installation for the production of alternative fuel, were also isolated.

Keywords: municipal solid waste, alternative fuel (RDF), microorganisms