

Artykuły

Papers

Wojciech BARAN¹, Ewa ADAMEK¹, Alicja SZYMKIEWICZ² i Joanna WILK²

DYNAMIKA BIODEGRADACJI TYLOZYNY I IDENTYFIKACJA PRODUKTÓW TEGO PROCESU

THE DYNAMICS OF TYLOSIN BIODEGRADATION AND IDENTIFICATION OF PRODUCTS

Abstrakt: Tylozyna, należąca do grupy antybiotyków makrolidowych, jest powszechnie stosowana w hodowli zwierząt. Pozostałości tego leku wraz z odchodami zwierząt trafiają do wód powierzchniowych i gleb. Celem pracy było wyznaczenie dynamiki i ustalenie produktów degradacji tylozyny aplikowanej w dużych dawkach (od 30 do 200 mg/dm³) do osadu czynnego z oczyszczalni ścieków komunalnych, do odcieków glebowych pochodzących z pola uprawianego w sposób naturalny (tzn. nawożonego nawozem naturalnym) oraz z mieszanego ekosystemu leśnego. Proces biodegradacji prowadzono w warunkach aerobowych. Badania były poprzedzone wstępną oceną wrażliwości mikroorganizmów na tylozynę. Produkty degradacji antybiotyku w odciekach glebowych identyfikowano metodą UPLC/MS detektorem Q-TOF. Stwierdzono, że stężenie tylozyny wynoszące 80 mg/dm³ nie spowodowało zahamowania aktywności osadu czynnego. W tych warunkach uległa ona biotransformacji w czasie krótszym niż jedna doba. Najwyższe zastosowane stężenie tylozyny (200 mg/dm³) spowodowało zahamowanie wzrostu mikroorganizmów pochodzących ze wszystkich badanych próbek. Jedynie w próbkach odcieku z pola uprawnego po adaptacji zaobserwowano powolne, ale systematyczne obniżanie stężenia tego związku. Czas jego półtrwania ($t_{0,5}$) wyniósł ok. 38 dni. W tych próbkach zidentyfikowano również sześć produktów rozkładu tylozyny. Jej degradacja przebiegała najprawdopodobniej poprzez eliminację cząsteczek cukrowych, a następnie wskutek utlenienia laktenocyny i pierścienia laktonowego.

Słowa kluczowe: antybiotyki, środowisko, biodegradacja, mechanizm procesu biodegradacji.

Wprowadzenie

Tylozyna (rys. 1) należy do grupy naturalnych antybiotyków makrolidowych o właściwościach bakteriostatycznych, a w większych stężeniach do leków bakteriobójczych.

Preparaty dostępne w sprzedaży są mieszaniną tylozyny A oraz tylozyny B, tylozyny C i tylozyny D. Tylozyna A jest głównym składnikiem tej mieszaniny, a jej ilość w preparacie wynosi około 90% [1-5]. W krajach europejskich stosowana jest w weterynarii, głównie w zakażeniach układu oddechowego, moczowo-płciowego i skóry u bydła i trzody chlewnej. Tylozyna jest również jednym z promotorów wzrostu najczęściej dodawanym do paszy zwierząt hodowlanych w krajach pozaeuropejskich. Wchodzi w skład popularnego preparatu Tylan[®], stosowanego w celu zwiększenia masy i poprawy jakości mięsa [3, 4, 6].

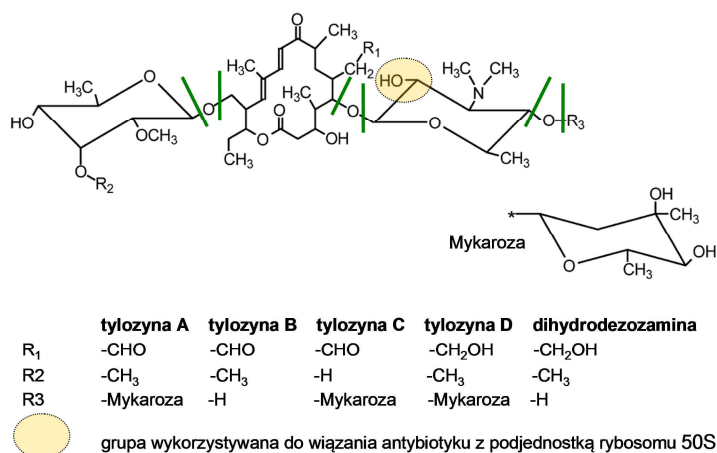
Aktywność tylozyny skierowana jest przeciwko szeregu drobnoustrojów Gram(-), Gram(+) oraz mykoplazmie. Mechanizm działania tylozyny, jak również innych antybiotyków makrolidowych, polega na zaburzeniu procesu translacji podczas syntezy

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 62, email: bw-xxl@wp.pl

² Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie 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 62, email: eadamek@sum.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

białek bakteryjnych wskutek ich związania z podjednostką 50S rybosomów bakteryjnych. W tworzeniu tego wiązania bierze udział jedna z grup hydroksylowych cząsteczki leku (rys. 1). Antybiotyki makrolidowe zostały wprowadzone do leczenia w pierwszej połowie lat 90. XX wieku, jednak niezwykle szybko pojawiły się szczepy bakterii chorobotwórczych odporne na te farmaceutyki [6].



Rys. 1. Struktury różnych form tylozyny [1]

Fig. 1. Structures of various forms of tylosin [1]

Tylozyna, podobnie jak inne leki wykorzystywane w weterynarii, może przedostawać się do środowiska wraz z odchodami zwierzęcymi [6-8]. Wskutek działania mikroorganizmów bytujących w ekosystemie, do którego została wprowadzona, może ona ulegać biodegradacji. Z drugiej strony, według Gao i in. [9], wydajność degradacji tylozyny podczas oczyszczania ścieków metodą biologiczną nie przekroczyła 30%.

Celem badań było określenie kinetyki aerobowej biodegradacji tylozyny przebiegającej w różnych ekosystemach oraz identyfikacja produktów tego procesu.

Materiały i metody

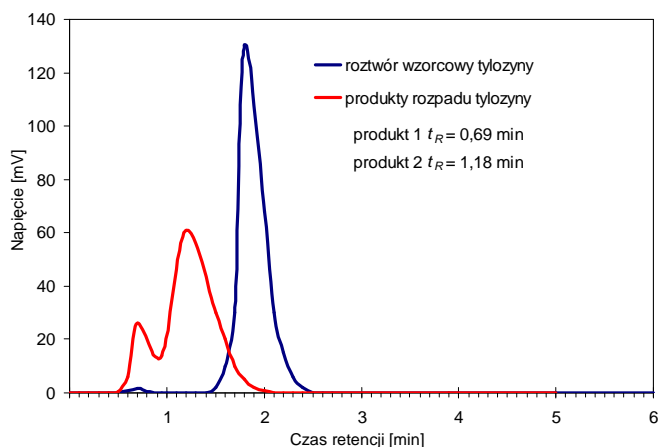
Do badań użyto winianu tylozyny (800 jednostek/mg, Sigma-Aldrich), wodę z rzeki Brynicy (pobraną w punkcie pomiarowym w Sosnowcu), osad czynny z komory tlenowej (pochodzący z oczyszczalni „Radocha II” w Sosnowcu), odciek z gleby uprawnej nawożonej nawozem naturalnym oraz odciek z gleby (pobranej w parku Dąbrowa Górnicza - Zielona o charakterze naturalnego lasu mieszanego). Odcieki zostały przygotowywane przez zmieszanie równych objętości gleby i wody destylowanej. Po ich intensywnym wstrząśnieniu przez ok. 5 min mieszaniny pozostawiano na 30 minut (do naturalnej sedymentacji), a następnie zdekantowano natant, który bezzwłocznie wykorzystywano do przygotowania próbek zawierających tylozynę o stężeniu 200 mg/dm³. Z wody rzecznej i osadu czynnego przygotowano próbki zawierające ten lek o stężeniu odpowiednio 30 i 80 mg/dm³.

Proces biodegradacji prowadzono w warunkach aerobowych. Wykorzystana w nim aparatura oraz metodologia zostały szczegółowo opisane w pracy Adamek i in. [10]. W celu uwzględnienia ewentualnego udziału reakcji hydrolytycznych w procesie degradacji tylozyny w analogiczny sposób badano zmiany stężenia tego związku w wodzie destylowanej w warunkach sterylnych.

Badania zostały podzielone na dwa etapy. W pierwszym z nich dokonano oceny zmiany stężenia tylozyny w wodzie destylowanej, w wodzie pobranej z rzeki oraz w próbkach osadu czynnego. Po odwirowaniu wymienionych próbek (10 min, 4000 RPM) stężenie pozostałego leku oznaczano metodą HPLC (zestaw YL-9100; kolumna Hypersil C-18, 150 x 2,1 mm; faza ruchoma CH_3CN - 70% i H_3PO_4 o pH 2,7 - 30%; przepływ $1 \text{ cm}^3/\text{min}$; długość fali (λ) detektora - 290 nm). Do analizy chromatogramów wykorzystano program YL Clarity w wersji 3.0. W drugim etapie badań dokonano analizy składu odwirowanych próbek uzyskanych po biodegradacji tylozyny w odciekach glebowych. W tym celu zastosowano metodę MS-TOF ES^+ (zestaw UPLC/DAD i Xevo G2-XS-QTOF, Waters). Rozdziału dokonano na kolumnie Acquity UPLC BEH C18 (100 x 2,1 mm, przepływ $0,35 \text{ cm}^3/\text{min}$, faza ruchoma A - 0,01% roztwór HCOOH w wodzie, B - 0,01% roztwór HCOOH w CH_3CN ; gradient A: 0 min 95%, 5 min 70%, 6-7 min 30%, 8 min 95%). Do analizy chromatogramów wykorzystano program MassLynx V4.1.

Omówienie wyników

W pierwszym etapie badań oceniano proces degradacji tylozyny w wodzie destylowanej, w obecności osadu czynnego oraz w wodzie pobranej z rzeki Brynicy. Stwierdzono, że w wodzie destylowanej w warunkach septycznych stężenie tylozyny w czasie trwania eksperymentu (28 dni) praktycznie nie ulega zmianie.

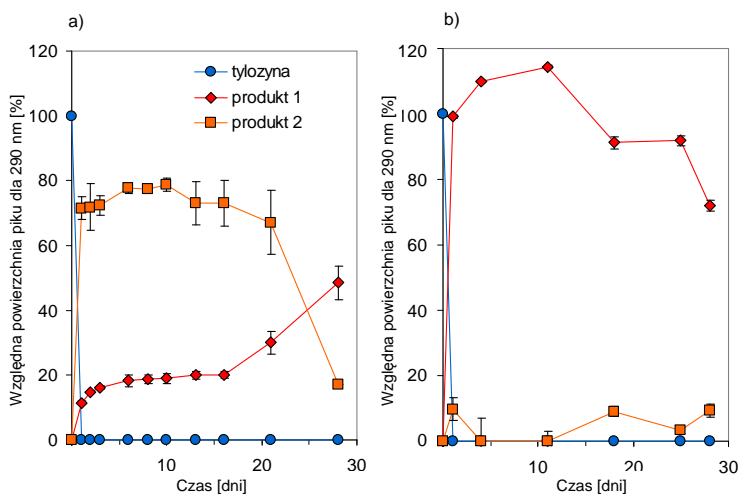


Rys. 2. Porównanie chromatogramów wzorcowego roztworu tylozyny i produktów jej rozpadu w osadzie czynnym w warunkach tlenowych po 24 godzinach

Fig. 2. Comparison of chromatograms of a standard tylosine solution (blue line) and its degradation products (red line) in the activated sludge under aerobic conditions and after 24 hours

Przykładowy chromatogram uzyskany w trakcie eksperymentów prowadzonych z użyciem osadu czynnego przedstawiono na rysunku 2. Po 24 godzinach napowietrzania w próbkach zarejestrowano (przy $\lambda = 290$ nm) dwa piki o czasach retencji (t_R) różnych od t_R piku wzorcowego roztworu antybiotyku (rys. 2).

Oznacza to, że w obecności osadu czynnego, a także w wodzie rzecznej już po 24 godzinach tylozyna uległa całkowitemu rozkładowi do przynajmniej dwóch produktów. Ich trwałość była znacznie większa niż trwałość tylozyny. Dynamikę zmian powierzchni pików odpowiadających prawdopodobnym produktom degradacji tego leku przedstawiono na rysunkach 3a i 3b.



Rys. 3. Zmiany względnej powierzchni pików odpowiadających tylozynie oraz produktom jej rozkładu podczas napowietrzania: a) roztworu antybiotyku w osadzie czynnym, b) w wodzie z rzeki Brynicy

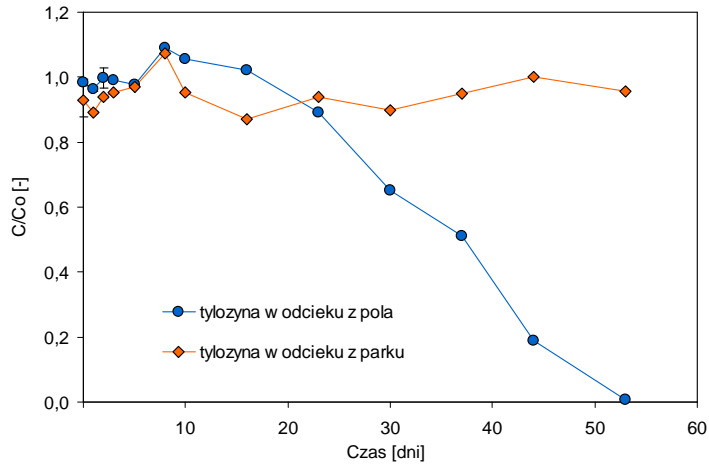
Fig. 3. Changes in relative peak areas of tylosin and its degradation products after aeration of the tylosin solution: a) in the activated sludge, b) in water from the Brynica river

Wyniki tych doświadczeń skłoniły autorów do dalszych prac, których celem była identyfikacja produktów degradacji tylozyny. Środowiskiem reakcji były odcieki glebowe, do których dodano antybiotyku w stężeniu 200 mg/dm^3 . Wartość ta jest kilka rzędów wyższa od stężenia tylozyny oznaczanego w rutynowych próbkach środowiskowych. Istnieją jednak prace wskazujące na to, że odchody zwierząt hodowlanych mogą zawierać porównywalnie wysokie stężenia antybiotyków [8].

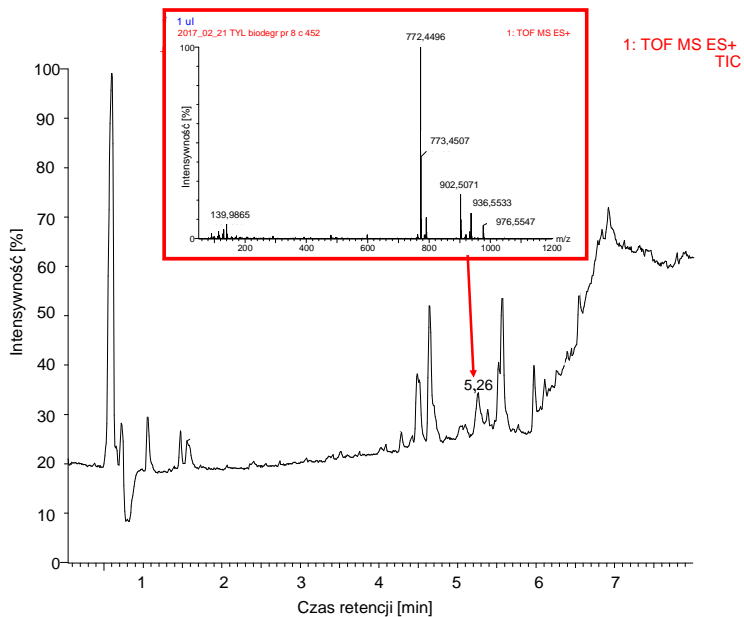
Zmiany stężenia tylozyny podczas trwającego 53 dni eksperymentu przedstawiono na rysunku 4. Zastosowanie tak wysokiego stężenia tylozyny spowodowało wyjałowienie środowiska reakcji. Najprawdopodobniej z tego powodu degradacja tylozyny zachodziła wyłącznie w próbkach odcieku pochodzącego z pola uprawnego i to po okresie adaptacji trwającym ok. 20 dni ($t_{0,5} \approx 38$ dni).

Przykładowy chromatogram uzyskany po 53 dniach napowietrzania próbki odcieku z pola uprawnego zawierającej dodaną tylozynę przedstawiono na rysunku 5. W tabeli 1

zestawiono wzory sumaryczne i nazwy zidentyfikowanych związków, będących prawdopodobnymi produktami biodegradacji.



Rys. 4. Zmiany stężenia tylozyny ($C_0 = 200 \text{ mg/dm}^3$) podczas degradacji aerobowej w odciekach glebowych
 Fig. 4. Changes in tylosin concentration ($C_0 = 200 \text{ mg/dm}^3$) during its aerobic degradation in the leachate soil



Rys. 5. Chromatogram i widmo MS-TOF uzyskane po 53 dniach napowietrzania roztworu tylozyny w odcieku glebowym

Fig. 5. Chromatogram and MS-TOF spectrum of the tylosin solution in the soil leachate after aeration for 53 days

Tabela 1
Substancje zidentyfikowane w roztworze po biodegradacji tylozyny w odcieku glebowym

Tabela 1

Table 1

Identified substances in the solution after tylosin biodegradation in the soil leachate

Lp.	Czas retencji [min]	Oznaczona wartość m/z [M+H ⁺]	Prawdopodobny wzór	Teoretyczna wartość m/z [M+H ⁺] ¹	Prawdopodobna nazwa zidentyfikowanej substancji
1	0,72	208,1190	C ₈ H ₁₇ NO ₅	208,1185	2-deoksy-2-(dimetylamino)heksopiranoza
2	4,29	614,3549	C ₃₁ H ₅₁ NO ₁₁	614,3540	pochodna laktenocyny
3	4,49	614,3549	C ₃₁ H ₅₁ NO ₁₁	614,3540	pochodna laktenocyny
4	4,52	628,3333	C ₃₁ H ₄₉ NO ₁₂	628,3333	pochodna laktenocyny
5	5,00	612,3070	C ₃₁ H ₄₇ O ₁₂	612,3146	pochodna laktenocyny
6	5,26	772,4496	C ₃₉ H ₆₅ NO ₁₄	772,4483	tylozyna B
7	5,38	758,4290	C ₃₈ H ₆₃ NO ₁₄	758,4327	pochodna tylozyny B
8	5,57	437,2049	C ₂₃ H ₃₂ O ₈	437,2175	pochodna makrocyklicznego pierścienia laktonowego
9	6,14	916,5256	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	916,5270	tylozyna A
10	6,26	598,3597	C ₃₁ H ₅₁ NO ₁₀	598,3591	laktenocyna
11	6,92	193,1007	C ₈ H ₁₆ O ₅	193,1076	mycynoza

¹⁾ obliczone z użyciem aplikacji MassLynx V4.1

Niektóre ze zidentyfikowanych substancji występują również w dostępnych preparatach tylozyny. Tylozyna D, tylozyna B, dihydrodezosamina (C₃₉H₆₇NO₁₄) oraz tylozyna C mogą być zarówno produktami degradacji, jak i naturalnymi produktami ubocznymi biosyntezy tylozyny A [1, 5, 11-13]. W badanych próbkach nie potwierdzono jednak obecności dihydrodezosaminy, tylozyny C oraz tylozyny D. Z drugiej strony wykryto i zidentyfikowano takie produkty, jak laktenocyna, tylozyna B, mycynoza czy 2-deoksy-2-(dimetylamino)-heksopiranoza, a więc związki opisane w literaturze [1, 11, 12]. Zidentyfikowano również prawdopodobne produkty utlenienia (dehydratacji) laktenocyny (tabela 1, lp. 2, 3, 4 i 5) i pierścienia laktonowego (lp. 8). Przedstawione wyniki wskazują, że degradacja tylozyny przebiega głównie poprzez eliminację cząsteczek cukrowych, według schematu przedstawionego na rysunku 1 (zielone linie). Schemat taki jest również zgodny z wnioskami zaproponowanymi przez innych badaczy [1, 11, 14]. Kolejny etap degradacji może polegać na utlenianiu laktenocyny i pierścienia laktonowego.

Wnioski

Tylozyna w stężeniach 30 i 80 mg/dm³ nie powodowała zahamowania aktywności nieselekcjonowanych mikroorganizmów występujących, odpowiednio, w wodzie rzeki i w osadzie czynnym. W obu typach próbek uległa ona szybkiej biotransformacji. Z kolei, przy stężeniu 200 mg tylozyny/dm³ hamowała ona wzrost mikroorganizmów pochodzących z niemal wszystkich typów badanych próbek. Wyjątek stanowiły próbki odcieku z pola uprawnego, w których po wstępnym okresie adaptacji zaobserwowano powolne, ale systematyczne obniżanie stężenia leku ($t_{0,5} \sim 38$ dni). Zidentyfikowano również sześć produktów rozkładu tylozyny. Jej biodegradacja przebiega najprawdopodobniej poprzez eliminację cząsteczek cukrowych, a następnie utlenienie laktenocyny i pierścienia laktonowego.

Podziękowania

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

Literatura

- [1] Kolz AC, Moorman TB, Ong SK, Scoggin KD, Douglass EA. *Water Environ Res.* 2005;77:49-56. <https://pubag.nal.usda.gov/pubag/downloadPDF.xhtml?id=39767&content=PDF>.
- [2] 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.
- [3] Charakterystyka produktu leczniczego weterynaryjnego. http://opium.urpl.gov.pl/chplw/wet/TYLAN_G_100_PREMIX.pdf.
- [4] Landers T, Cohen B, Wittum T, Larson E. *Public Health Rep.* 2012;127:4-22.
- [5] Tylosin tartrate for veterinary use EUROPEAN PHARMACOPOEIA 5.0, http://library.njucm.edu.cn/yaodian/ep/EP5.0/16_monographs/monographs_q-z/Tylosin%20tartrate%20for%20veterinary%20use.pdf.
- [6] The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP) 2014: Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. http://www.danmap.org/~media/Projekt%20sites/Danmap/DANMAP%20reports/DANMAP%202014/Danmap_2014.ashx.
- [7] Kümmerer K. *Chemosphere.* 2009;75:417-434. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.
- [8] Widyasari-Mehta A, Hartung S, Kreuzig R. *J Environ Manage.* 2016;177:129-137. DOI: 10.1016/j.jenvman.2016.04.012.
- [9] Gao L, Shi Y, Li W, Niu H, Liu J, Cai Y. *Chemosphere.* 2012;86:665-671. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.11.019.
- [10] Adamek E, Baran W, Sobczak A. *J Hazard Mater.* 2016;313:147-158. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.03.064.
- [11] Hu D, Fulton B, Henderson K, Coats J. *Environ Sci Technol.* 2008;42:2982-2987. http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1312&context=ent_pubs.
- [12] Loke ML, Ingerslev F, Halling-Sørensen B, Tjørnelund J. *Chemosphere.* 2000;40:759-765. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653599004506>.
- [13] Ingerslev F, Halling-Sørensen B. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2001;48:311-320. DOI: 10.1006/eesa.2000.2026.
- [14] Mitchell SM, Ullman JL, Teel AL, Watts RJ. *Chemosphere.* 2015;134:504-511. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.08.050.

THE DYNAMICS OF TYLOSIN BIODEGRADATION AND IDENTIFICATION OF PRODUCTS

^{1,2}Medical University of Silesia in Katowice

Abstract: Tylosin, an antibiotic belonging to the class of macrolide antibiotics, is commonly used in animal husbandry. Its residues enter the surface water and soil with animal waste. The aim of the study was to determine the dynamics and products of tylosin degradation. The antibiotic was added at high concentration (from 30 to 200 mg/dm³) to the activated sludge from municipal WWTP, to the soil leachate (from natural farming, i.e. field fertilized with manure) and to the mixed forest ecosystem. The biodegradation process was carried out under aerobic conditions. The experiment was preceded by a preliminary assessment of the microorganisms sensitivity to tylosin. Antibiotic degradation products in the leachate samples were identified by UPLC/MS methods using a Q-TOF detector. It was found that tylosin at a concentration of 80 mg/dm³ did not inhibit the sludge activity. In these samples the biotransformation of antibiotic proceeded fast in the time shorter than one day. Tylosin at the highest concentration (200 mg/dm³) inhibited the growth of microorganisms present in all environmental samples. However, a slow but systematic decrease in tylosin concentration was observed in leachate samples from cultivated field after their adaptation ($t_{0.5} \sim 38$ days). Six degradation products of tylosin were identified in these samples. Tylosine degradation likely proceeds through an elimination of the sugar molecules and subsequent oxidation of the lactone ring and lactenocin.

Keywords: antibiotics, environment, biodegradation mechanism

Mariusz DUDZIAK¹

WPLYW WARUNKÓW ŚRODOWISKA WODNEGO NA ROZKŁAD BISFENOLU A

INFLUENCE OF THE AQUATIC ENVIRONMENT CONDITIONS ON THE DECOMPOSITION OF BISPHENOL A

Abstrakt: Bisfenol A to związek chemiczny stosowany do produkcji tworzyw sztucznych. Współcześnie identyfikowany jest on w środowisku wodnym. W pracy podjęto badania dotyczące oceny wpływu warunków środowiska wodnego na rozkład bisfenolu A. Przedmiot badań stanowiły różne roztwory wodne sporządzone na bazie wody zdejonizowanej lub powierzchniowej z dodatkiem wzorca bisfenolu A w stężeniu 1 mg/dm³. Do wybranych roztworów dodawano pożywkę mineralną lub wodę powierzchniową, która to stanowiła źródło zarówno substancji organicznych, jak i nieorganicznych oraz mikroorganizmów. Opcjonalnie wybrane roztwory były przetrzymywane w ciemni lub w świetle słonecznym oraz napowietrzane. Roztwory po biodegradacji poddano również ocenie toksykologicznej z użyciem testu enzymatycznego z bakteriami bioluminescencyjnymi *Aliivibrio fischeri*, testu przeżywalności ze skorupiakami *Daphnia magna* oraz testu wzrostowego z rośliną wodną *Lemna minor*. Określono, że rozkład bisfenolu A w środowisku wodnym jest niewielki i zachodzi głównie pod wpływem światła słonecznego przy udziale mikroorganizmów. Istotną jest również obecność w środowisku wodnym soli mineralnych. Natomiast dokonana ocena toksykologiczna roztworów podczas badań biodegradacyjnych wykazała, że charakteryzują się one różną toksycznością. Klasa toksyczności roztworu zależała także od rodzaju użytego organizmu wskaźnikowego, co świadczy o ich różnej wrażliwości na działanie bisfenolu A. Wysoką toksyczność odnotowano w przypadku bakterii bioluminescencyjnymi *Aliivibrio fischeri* po 14 dobach trwania badań biodegradacyjnych.

Słowa kluczowe: bisfenol A, środowisko wodne, rozkład, toksyczność roztworu

Wprowadzenie

W środowisku wodnym mikrozanieczyszczenia organiczne mogą występować zarówno w toni wodnej, jak i w osadach dennych. W toni wodnej częściowo ulegają adsorpcji na materii organicznej (cząsteczkowy węgiel organiczny). Yamamoto i Liljestrang w pracy [1] określili, że w przybliżeniu od 15 do 50% mikrozanieczyszczeń w wodach powierzchniowych jest związana z występującymi tam wysokocząsteczkowymi substancjami organicznymi. Dla przykładu, związanie estrogenów z poszczególnymi frakcjami charakterystycznymi dla wody powierzchniowej o typowej zawartości ogólnego węgla organicznego 5,0 mg/dm³ wynosiło od 23 do 33% z kwasami humusowymi i od 15 do 18% w przypadku kwasów fulwowych. Adsorpcja pięciu różnych mikrozanieczyszczeń organicznych, w tym 17 β -estradiolu, 17 α -etynyloestradiolu, bisfenolu A, 4-tert-oktylofenolu i 4-nonylofenolu na osadach rzecznych opisana została przez Yinga i in. w pracy [2]. W swoich porównawczych badaniach autorzy wykazali, że wraz z obniżeniem polarności związków wzrasta ich adsorpcja na osadach rzecznych. Adsorpcja substancji aktywnych biologicznie na osadach rzecznych zależy od zasolenia wody [3].

¹ Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska, ul. S. 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'16, Zakopane, 5-8.10.2016

Należy również wspomnieć o bioakumulacji mikrozanieczyszczeń organicznych w tkankach organizmów. Zjawisko to ma wpływ na poziomy ich stężenie w środowisku wodnym. Bioakumulacja jest szacowana na podstawie wartości współczynnika biokoncentracji lub współczynnika bioakumulacji. Pierwszy z podanych współczynników można określić na podstawie wartości współczynnika podziału n-okanol i woda ($\log K_{ow}$), charakteryzującego hydrofobowe właściwości związków chemicznych. Współczynnik biokoncentracji (podany w formie logarytmicznej) np. dla bisfenolu A wynosi 1,86, a dla 17 β -estradiolu - 2,39 [4]. Potwierdza to, że zawartość tych mikrozanieczyszczeń jest wyższa w tkankach organizmów żywych niż w środowisku wodnym.

Kluczowe zjawiska decydujące o występowaniu mikrozanieczyszczeń w środowisku wodnym to naturalna degradacja i biodegradacja [5-7].

Degradacja (rozkład) substancji aktywnych biologicznie w środowisku wodnym może przebiegać pod wpływem różnych czynników fizycznych (promieniowanie słoneczne, temperatura i in.), chemicznych (odczyn, obecność soli mineralnych, obecność substancji toksycznych i in.), biologicznych (obecność mikroorganizmów i in.) czy też fotochemicznych (promieniowanie UV) [5]. Z kolei o procesie biodegradacji mówi się wówczas, gdy rozkład związku odbywa się przy udziale mikroorganizmów i enzymów bez względu na warunki środowiskowe (tlenowe, beztlenowe) [6]. Głównymi końcowymi produktami rozkładu substancji organicznych są proste naturalne związki, tj. CO₂ i H₂O, powszechnie występujące w środowisku naturalnym. Jednak wcześniej w środowisku reakcji pojawiają się również produkty pośrednie rozkładu [8]. Często takie pośrednie produkty rozkładu substancji aktywnych biologicznie wykazują znacznie większą aktywność biologiczną w stosunku do mikroorganizmów, roślin, zwierząt i ludzi niż związki pierwotne [9].

Bisfenol A to związek chemiczny stosowany do produkcji tworzyw sztucznych. Współcześnie identyfikowany jest on w środowisku wodnym. Do środowiska wodnego związek ten wprowadzany jest m.in. w wyniku jego nieskutecznego usuwania ze ścieków. Może on być również wydzielany i wmywany z zatopionych w środowisku wodnym elementów plastikowych. Bisfenol A w odpływach z oczyszczalni ścieków występuje w szerokim zakresie stężeń od $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ do nawet ng/dm^3 [10-12]. W wodach powierzchniowych poziomy stężenie są niższe.

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu wybranych warunków środowiska wodnego na rozkład bisfenolu A oraz toksyczność roztworów.

Materiały i metodyka badań

Wykorzystane w badaniach roztwory sporządzono na bazie wody zdejonizowanej lub powierzchniowej z dodatkiem wzorca bisfenolu A firmy Sigma-Aldrich. Stężenie związku wynosiło $1 \text{ mg}/\text{dm}^3$. Skład poszczególnych roztworów wodnych oraz warunki prowadzenia procesu degradacji przedstawiono w tabeli 1. Do napowietrzania roztworów użyto pompki o wydajności $0,25 \text{ cm}^3$ powietrza na 1 godzinę. Pożywkę mineralną stanowiącą źródło soli mineralnych sporządzono z 10 cm^3 roztworu dwuwodoroortofosforanu potasu (stężenie roztworu wyjściowego $8,50 \text{ g}/\text{dm}^3$), wodorooortofosforanu potasu ($21,75 \text{ g}/\text{dm}^3$), dwunastowodnego wodorooortofosforanu sodu ($44,60 \text{ g}/\text{dm}^3$) i chlorku amonu ($1,70 \text{ g}/\text{dm}^3$) oraz 1 cm^3 roztworu siedmiowodnego siarczanu magnezu ($22,50 \text{ g}/\text{dm}^3$), chlorku wapnia

(27,50 g/dm³) i sześciowodnego chlorku żelaza(III) (0,25 g/dm³), które następnie rozpuszczono w 1 dm³ wody zdejonizowanej. Roztwory wodne V i VI zaszczipiano objętością 10 cm³ wody powierzchniowej pochodzącej ze zbiornika zlokalizowanego w województwie śląskim. Parametry fizyczno-chemiczne wody powierzchniowej stanowiącej zaszczipienie zestawiono w tabeli 2. Zaszczipienie było źródłem zarówno substancji organicznych, jak i nieorganicznych oraz mikroorganizmów potencjalnie zdolnych do rozkładu substancji organicznych.

Do pomiarów parametrów ogólnych (pH i temperatura) oraz przewodności właściwej roztworów stosowano laboratoryjny miernik wieloparametrowy inoLab® 740 wyprodukowany przez WTW, Pomiarowy i Analityczny Sprzęt Techniczny. Absorbancję mierzono przy długości fali 254 nm z użyciem UV VIS Cecil 1000 firmy Analytik Jena AG. Bisfenol A oznaczano metodą ekstrakcji do fazy stałej (SPE) oraz analizy chromatografii cieczowej (HPLC). Do ekstrakcji wykorzystano kolumnienki Supelclean™ ENVI-18 (objętość 6 cm³, faza stała 1,0 g) firmy Supelco. Złoże 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 związku w ekstraktach, po wcześniejszym ich zatężeniu w lekkim strumieniu azotu, przeprowadzono z użyciem HPLC z detektorem UV ($\lambda = 218$ nm) firmy Varian. 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.

Skład roztworów wodnych oraz warunki prowadzenia procesu degradacji

Tabela 1

The composition of aqueous solutions and the degradation process conditions

Table 1

Roztwór wodny	Skład	Warunki prowadzenia procesu degradacji
I	woda zdejonizowana + bisfenol A	światło słoneczne
II	woda zdejonizowana + bisfenol A	ciemnia
III	woda zdejonizowana + bisfenol A	światło słoneczne + napowietrzanie
IV	woda zdejonizowana + bisfenol A + pożywka	światło słoneczne
V	woda zdejonizowana + bisfenol A + zaszczipienie	światło słoneczne
VI	woda zdejonizowana + bisfenol A + pożywka + zaszczipienie	światło słoneczne
VII _s	woda powierzchniowa + bisfenol A	światło słoneczne
VII _{sn}	woda powierzchniowa + bisfenol A	światło słoneczne + napowietrzanie

Toksyczność badanych roztworów oceniono na podstawie wyników poszczególnych testów, tj. enzymatycznego Microtox®, wykorzystującego luminescencyjny szczep bakterii morskich *Aliivibrio fischeri*, przeżywalności ze skorupiakami *Daphnia magna* i wzrostowego z rzęsą wodną *Lemna minor*.

Test enzymatyczny Microtox® wykorzystuje luminescencyjny szczep bakterii morskich *Aliivibrio fischeri*. Ekspozycja bakterii na działanie substancji toksycznych prowadzi do zmian w procesach metabolicznych, co równocześnie powoduje

zróznicowanie natężenia światła emitowanego przez mikroorganizmy [13]. Badania przeprowadzono z użyciem systemu MicrotoxOmni w analizatorze Microtox model 500 firmy Tigret sp. z o.o. pełniącego funkcję zarówno inkubatora, jak i fotometru. Po 5 i 15 minutach ekspozycji wyznaczono procent inhibicji bioluminescencji względem próby kontrolnej (2% NaCl).

Tabela 2

Parametry fizyczno-chemiczne wody powierzchniowej stanowiącej zaszczerpienie

Table 2

Physico-chemical parameters of surface water whis is constituting the inoculation

Parametr	Jednostka	Wartość
pH	[-]	7,13
Temperatura	[°C]	20
Przewodność	[mS/cm]	0,843
Absorbancja (UV ₂₅₄)	[l/cm]	0,167
Ogólny węgiel organiczny	[mg/dm ³]	25,02

Z kolei test przeżywalności ze skorupiakami *Daphnia magna* przeprowadzono zgodnie z PN 90C-04610/03 [14], rejestrując ich śmiertelność po upływie 24 i 48 godzin kontaktu organizmów wskaźnikowych z roztworem. Organizmy testowe pochodziły z własnej hodowli.

Test wzrostowy z rzęszą wodną *Lemna minor* wykonano wg metodyki opisanej w [15], zakładającej obserwację jej zmian morfologicznych, w tym ocenę ilości liści przed i po upływie 7 dni. W każdym badanym roztworze umieszczano kilkanaście roślin zawierających 2 listki (frondy). Hodowle prowadzono przy oświetleniu ciągłym o natężeniu 3000 lx i w temperaturze 25°C. Organizmy testowe również pochodziły z własnej hodowli.

Efekt toksyczności E określono według wzoru:

$$E = 100 \cdot (E_k - E_t) / E_k \quad (1)$$

gdzie E_k - obserwowany efekt dla próbki kontrolnej, a E_t - obserwowany efekt dla próbki testowanej.

W zależności od użytego testu miarą toksyczności była inhibicja bioluminescencji bakterii *Aliivibrio fischeri* (test Microtox[®]), śmiertelność skorupiaków *Daphnia magna* lub inhibicja wzrostu liści rośliny wodnej *Lemna minor*.

Do klasyfikacji toksyczności zastosowano powszechnie używany przez wielu badaczy system [16, 17], oparty na wielkości obserwowanego efektu wywoływanego u stosowanego organizmu wskaźnikowego (tab. 3).

Tabela 3

System klasyfikacji toksyczności próbek [16, 17]

Table 3

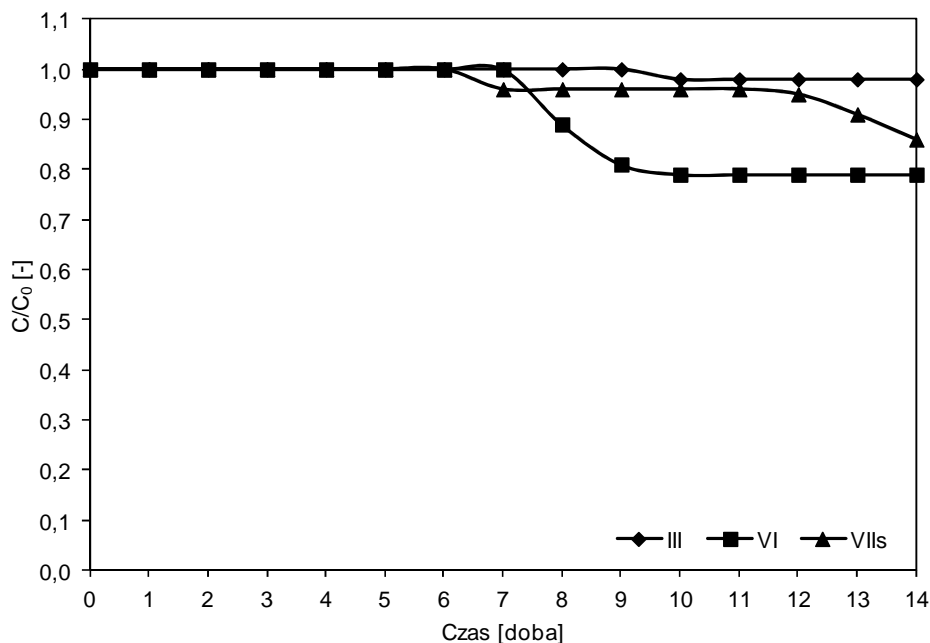
Samples toxicity classification system [16, 17]

E [%]	Klasa toksyczności
< 25	nietoksyczna
25-50	niska toksyczność
50,1-75	toksyczność
75,1-100	wysoka toksyczność

Wyniki i dyskusja

Spośród badanych roztworów wodnych i zastosowanych warunków prowadzenia procesu biodegradacji obniżenie stężenia bisfenolu A zaobserwowano wyłącznie w roztworach nr II, VI i VIIs (rys. 1). Jednak zmiany stężenia badanego związku były bardzo małe i nie przekraczały 21%. Największe obniżenie stężenia obserwowano dla roztworu VI, który stanowiła woda zdejonizowana z dodatkiem pożywki i zaszczepienia, który był ekspozycyj w świetle słonecznym. Obecność soli nieorganicznych w tym roztworze, stanowiących pożywkę mineralną dla mikroorganizmów wprowadzonych do wody wraz z zaszczepieniem, wpływała na intensyfikację procesów metabolicznych bakterii zdolnych do rozkładu bisfenolu A.

Rozkład mikrozanieczyszczeń w środowisku wodnym w dużej mierze zależy od obecności mikroorganizmów. Hervé w swojej pracy [18] udokumentował zależność pomiędzy rozkładem wybranych farmaceutyków z grupy antybiotyków a obecnością w środowisku reakcji poszczególnych szczepów bakteryjnych (*Rhodococcus rhodochrous*, *Aspergillus niger*, *Sphingomonas herbicidovorans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*). Autor stwierdził, że do rozkładu większości badanych substancji aktywnych biologicznie są zdolne głównie bakterie *Rhodococcus rhodochrous*. W przypadku pozostałych ocenianych przez autora pracy szczepów bakteryjnych zjawiska rozkładu antybiotyków nie zaobserwowano.



Rys. 1. Zmiana stężenia bisfenolu A w wybranych roztworach podczas badań degradacji

Fig. 1. The change of concentration of bisphenol A in the selected solutions during biodegradation experiments

Jak już wspomniano we wstępie pracy, w trakcie rozkładu substancji w środowisku reakcji pojawiają się również produkty pośrednie o różnej aktywności biologicznej. W celu oceny tego zjawiska dokonano porównania oddziaływania roztworów wodnych zawierających bisfenol A na różne organizmy wskaźnikowe. W tym zakresie przeprowadzono testy enzymatyczne z bakteriami bioluminescencyjnymi *Aliiovibrio fischeri*, testy przeżywalności ze skorupiakami *Daphnia magna* oraz testy wzrostowe z rośliną wodną *Lemna minor*. Ocenie poddano roztwór VI, w przypadku którego odnotowano największe obniżenie stężenia związku w porównaniu do pozostałych badanych roztworów (tab. 1). Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4
Wpływ oddziaływania wybranego roztworu wodnego zawierającego bisfenol A na organizmy wskaźnikowe

Table 4

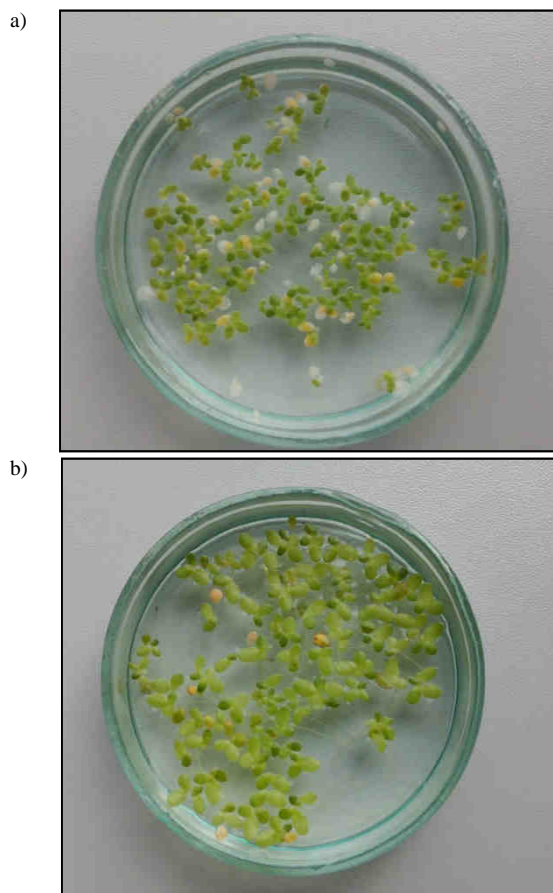
The influence of aqueous solutions containing bisphenol A on a variety of indicator organisms

Test/organizm wskaźnikowy	Czas testu	Czas prowadzenia badań biodegradacyjnych [dni]		
		0	7	14
		Efekt (klasa toksyczności ^{**}) [%]		
Enzymatyczny z <i>Aliiovibrio fischeri</i>	5 min	10 (-)	51 (++)	58 (++)
	15 min	11 (-)	51 (++)	100 (+++)
Przeżywalności z <i>Daphnia magna</i>	1 dzień	0 (-)	40 (+)	50 (+)
	2 dni	0 (-)	45 (+)	60 (++)
Wzrostowy z <i>Lemna minor</i>	7 dni	0 (-)	25 (+)	50 (+)

* roztwór sporządzono na bazie wody zdejonizowanej z dodatkiem pożywki i zaszczepiania oraz badanego związku w stężeniu 1 mg/dm³

** (-) brak toksyczności, (+) niska toksyczność, (++) toksyczność, (+++) wysoka toksyczność

Roztwór zawierający bisfenol A po 7 dobie trwania eksperymentu charakteryzował się toksycznością wobec bakterii *Aliiovibrio fischeri*, przy czym próbka pochodząca z 14 doby i badana w dłuższym czasie ekspozycji (15 min) była wysokotoksyczna (tab. 4). Zbliżone obserwacje dotyczyły skorupiaków *Daphnia magna*, ale w tym przypadku klasa toksyczności była niższa, a czas trwania testu nie miał dużego wpływu na obserwowaną zależność. W większości badane próbki roztworów charakteryzowały się niską toksycznością wobec skorupiaków. Niską toksyczność zaobserwowano również dla rośliny wodnej *Lemna minor* po 7 i 14 dobie prowadzenia badań biodegradacyjnych. Jednak, analizując zdjęcia obrazujące zarówno rzęsę wodną kontaktującą się z roztworem zawierającym bisfenol A, jak i próbkę kontrolną, można zauważyć, że badany związek hamował rozwój roślin (rys. 2). Liście roślin w tym przypadku były bardzo drobne. Stwierdzono również zjawisko mikoryzy.



Rys. 2. Zdjęcia rzęsy wodnej w roztworze zawierającym bisfenol A: a) po 14 dobie prowadzenia badań biodegradacyjnych oraz b) próbka kontrolna

Fig. 2. The images of duckweed in the solution containing bisphenol A: a) after 14 days of biodegradation and b) control sample

Wnioski

- Określono, że rozkład bisfenolu A w środowisku wodnym zależy od warunków środowiska wodnego. W większości badanych roztworów w rozpatrywanym czasie biodegradacji (14 dób) rozkład związku nie był obserwowany. Niewielki rozkład bisfenolu A (poniżej 21%) zaobserwowano w roztworze ekspozycywnym w świetle słonecznym, do którego dodano pożywki stanowiącej źródło soli mineralnych. Roztwór ten był również zaszczerpiony mikroorganizmami.
- Dokonana ocena toksykologiczna roztworów podczas badań biodegradacji wykazała, że charakteryzują się one różną toksycznością. Klasa toksyczności roztworu zależała także od rodzaju użytego organizmu wskaźnikowego (bakterie bioluminescencyjne

Aliivibrio fischeri, skorupiaki *Daphnia magna*, roślina wodna *Lemna minor*), co dowodzi o różnej ich wrażliwości na działanie bisfenolu A. Wysoką toksyczność odnotowano w przypadku bakterii bioluminescencyjnymi po 14 dobach trwania badań biodegradacyjnych. Z kolei wrażliwość skorupiaków i rośliny wodnej na bisfenol A była porównywalna.

Podziękowania

Praca naukowa wykonana w ramach badań statutowych Wydziału Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Śląskiej.

Literatura

- [1] Yamamoto H, Nakamura Y, Moriguchi S, Nakamura Y, Honda Y, Tamura I, et al. *Water Res.* 2009;43:351-362. DOI: 10.1016/j.watres.2008.10.039.
- [2] Ying G-G, Kookana RS, Dillon P. *Water Res.* 2003;37:3785-3791. DOI: 10.1016/S0043-1354(03)00261-6.
- [3] Xu N, Zhang B, Tan G, Li J, Wang H. *Environ Sci Process Impacts.* 2015;17:1722-1730. DOI: 10.1039/c5em00190k.
- [4] De Voogt P, Van Hattum B. *Pure Appl Chem.* 2003;75:1949-1953. DOI: 10.1351/pac200375111933.
- [5] Kunkel U, Radke M. *Water Res.* 2012;46:5551-5565. DOI: 10.1016/j.watres.2012.07.033.
- [6] Kunkel U, Radke M. *Environ Sci Technol.* 2008;1:7273-7279. DOI: 10.1021/es801562j.
- [7] Escher BI, Bramaz N, Quayle P, Rutishauser S, Vermeirssen EL. *J Environ Monit.* 2008;10:622-631. DOI: 10.1039/b800951a.
- [8] Topal M, Arslan Topal EI. *Environ Monit Assess.* 2015;187:750. DOI: 10.1007/s10661-015-4978-4.
- [9] Tufi S, Wassenaar PN, Osorio V, de Boer J, Leonards PE, Lamoree MH. *Environ Sci Technol.* 2016;50:3937-344. DOI: 10.1021/acs.est.5b04577.
- [10] Pookpoosa I, Jindal R, Morknoy D, Tantrakarnapa K. *Water Sci Technol.* 2015;72:463-471. DOI: 10.2166/wst.2015.232.
- [11] Blackburn MA, Waldock MJ. *Water Res.* 1995;29:1623-1629. DOI: 10.1016/0043-1354(94)00340-D.
- [12] Ying GG, Williams B, Kookana R. *Environ Int.* 2002;28:215-226. DOI: 10.1016/S0160-4120(02)00017-X.
- [13] Pöllumaa L, Kahru A, Manusadzianas L. *J Soils Sediments.* 2004;4:267-275. DOI: 10.1007/BF02991123.
- [14] PN 90C-04610/03: Polska Norma. Woda i Ścieki. Badania toksyczności zanieczyszczeń dla organizmów wodnych - Oznaczenie toksyczności ostrej na rozwielitce *Daphnia magna* Straus. 2003. Polska.
- [15] EN ISO 20079: European Standard. *Water Quality. Determination of the growth-inhibiting response of duckweed (Lemna minor) to substances and mixtures contained in water, treated municipal wastewater and industrial effluents.* 2005.
- [16] Ricco G, Tomei MC, Ramadori R, Laera G. *Water Res.* 2004;38:2103-2110. DOI: 10.1016/j.watres.2004.01.020.
- [17] Mahugo Santana C, Sosa Ferrera Z, Torres Padrón ME, Santana Rodríguez JJ. *Molecules.* 2009;14:298-320. DOI: 10.3390/molecules14010298.
- [18] Hervé G. *Biodegradation of pharmaceuticals by microorganisms.* Master of Engineering Thesis, Dept Chem Eng. Montreal: McGill University; 2008. http://digitool.library.mcgill.ca/webclient/StreamGate?folder_id=0&dvs=1494954948939~980.

INFLUENCE OF THE AQUATIC ENVIRONMENT CONDITIONS ON THE DECOMPOSITION OF BISPHENOL A

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

Abstract: Bisphenol A is a compound used to produce plastics. Today, it is identified in the aquatic environment. As part of the work there are performed studies to determine the effect of the aquatic environment conditions on the decomposition of bisphenol A. As the subject of research there were used different aqueous solutions prepared on the basis of deionized or surface water with addition of a bisphenol A standard at concentration of 1 mg/dm³.

To the selected solutions it was added the mineral medium or surface water, which was the source of both organic materials and inorganic compounds and microorganisms. Optionally, the selected solutions had been kept in the dark or in the light of sun, and they had been aerated. Solutions after biodegradation were also subjected of the toxicological evaluation with application of the enzymatic test using bioluminescent bacteria *Aliivibrio fischeri*, survival test using shellfish *Daphnia magna* and the growth test of aquatic plant *Lemna minor*. It was determined that the decomposition of bisphenol A in an aquatic environment is low and it is mainly under the influence of sunlight, with the participation of microorganisms. The presence of mineral salts in aquatic environment is also important. on the other hand, the toxicological assessment of solutions, which was made during testing biodegradation, showed that they have a different toxicity. Toxicity class of the solution also depended on the type of applied indicator, which proves their differences in sensitivity to bisphenol A. High toxicity was noted in the case of bioluminescent bacteria *Aliivibrio fischeri* after 14 days of the biodegradation study.

Keywords: bisphenol A, aquatic environment, decomposition, solution toxicity

Marta HUCULAK-MAŁCZKA¹, Maciej KANIEWSKI¹, Dawid GRZESIAK¹
i Józef HOFFMANN¹

OCENA SZYBKOŚCI SORPCJI WILGOCI PRZEZ ODPADOWĄ WEŁNĘ MINERALNĄ

THE ASSESSMENT OF SPEED OF MOISTURE SORPTION BY MINERAL WOOL WASTE

Abstrakt: Wełna mineralna jest obecnie jednym z najczęściej stosowanych podłoży w uprawach roślin pod osłonami. Niestety, stosowanie tego rodzaju systemu upraw generuje trudny do zagospodarowania odpad. Jego utylizacja jest kłopotliwa i kosztowna, ponieważ maty wełny mineralnej nie ulegają praktycznie biodegradacji oraz charakteryzują się dużą objętością. Szacuje się, że w dwuletnim cyklu użytkowania mat z wełny mineralnej w produkcji szklarniowej z jednego hektara uprawy otrzymuje się od 100 do 150 m³ odpadu w postaci zużytego podłoża. Ciągłe rosnące zapasy odpadowej wełny mineralnej stanowią ponadto poważny problem ekologiczny, gdyż odpad ten coraz częściej składowany jest na dzikich i nielegalnych wysypiskach. W efekcie zmienne warunki otoczenia mogą prowadzić zarówno do zmian właściwości fizycznych użytkowej wełny mineralnej, jak i wpływać na skład chemiczny, rozwój patogenów grzybowych i bakteryjnych, czy reakcje między składnikami pożywki zachodzące wskutek przede wszystkim oddziaływania wody. Średnia roczna wilgotność względna powietrza w Polsce wynosi od 78 do 84%, a średnia roczna suma opadów około 600 mm. W celu wtórnego wykorzystania wełny mineralnej w rolnictwie i w perspektywie magazynowania czy transportu zużytych mat ważne jest, by ocenić szybkość sorpcji wilgoci w temperaturze i wilgotności względnej odpowiadającym warunkom zewnętrznym. Celem przeprowadzonych badań była ocena poziomu zawartości wilgoci w odpadowej wełnie mineralnej w temperaturze 25°C w zależności od zadanej wilgotności względnej: 30, 60, i 90%. W celu osiągnięcia zakładanej wilgotności wykorzystano dane tabelaryczne prężności parcjalej nad roztworami woda-H₂SO₄. W badaniach wykorzystano wełnę w formie postrzępionej, jak również w formie sześcianu, oddającej kształt i strukturę maty.

Słowa kluczowe: ogrodnicza wełna mineralna, odpad, sorpcja wilgoci

Wprowadzenie

Hydroponiczne techniki upraw roślin, z powodu coraz intensywniejszego wykorzystywania gleby przez rolnictwo, stają się alternatywą dla produkcji tradycyjnej [1]. Metody hydroponiczne polegają najczęściej na wykorzystywaniu inertnych podłoży stabilizujących wzrost roślin poprzez zapewnianie im stałego dostępu do wody, tlenu oraz niezbędnych składników pokarmowych [2]. Istotnym aspektem upraw bezglebowych jest zastosowanie odpowiedniego podłoża umożliwiającego kontrolę jak największego zakresu parametrów mających znaczący wpływ na jakość uprawy i otrzymywanych plonów [3, 4]. Najczęściej stosowanym inertnym podłożem w uprawach bezglebowych jest wełna mineralna lub jej mieszanina z innymi dodatkami. Podłoża z wełny mineralnej pozwalają uzyskiwać duże plony przy stosunkowo niewielkich nakładach pieniężnych [5]. Z uwagi na posiadanie przez wełnę mineralną korzystnych właściwości fizycznych i chemicznych stanowi ona doskonałe podłoże do upraw kwiatów i warzyw, takich jak pomidory, ogórki, truskawki, róże, gerbery, storczyki itp. [6].

¹ Zakład Technologii i Procesów Chemicznych, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, ul. M. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 62 93, fax 71 328 04 25, email: marta.huculak@pwr.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

Produkcja wełny mineralnej składa się z wysokotemperaturowego procesu topienia skał bazaltowych i formowania masy w odpowiednie włókna, które łączone są następnie za pomocą spoiwa w procesie ściskania. Charakterystyczny kształt płyt formuje się z połączonych ze sobą włókien, a całość następnie poddaje się utwardzaniu [7]. Producenci mat ogrodniczych dążą do wytwarzania produktów o jak najkorzystniejszych właściwościach, aby mogły z łatwością chłonać wodę i umożliwiać odpowiedni rozwój korzeni rośliny. Stosowanie mat wełny mineralnej jako inertnego podłoża w rolnictwie pozwala na kontrolę temperatury, wilgotności, zasolenia oraz pH [8]. Tego rodzaju system upraw generuje jednakże trudny do zagospodarowania odpad.

Nie ma obecnie metod, które umożliwiłyby odnawianie zużytej wełny mineralnej i jej ponowne wykorzystanie. Z tego powodu jest ona coraz częściej składowana na dzikich i nielegalnych wysypiskach [9]. W efekcie zmienne warunki otoczenia mogą prowadzić zarówno do zmian właściwości fizycznych użytkowej wełny mineralnej, jak i wpływać na jej skład chemiczny czy rozwój patogenów. W celu ponownego wykorzystania użytkowej wełny mineralnej, a także ułatwienia jej magazynowania i transportu ważne jest, by ocenić szybkość sorpcji wilgoci w temperaturze i wilgotności względnej odpowiadającym warunkom zewnętrznym. Z uwagi na to, że w Polsce średnia roczna wilgotność względna mieści się w przedziale od 78 do 84%, badania na wełnie mineralnej powinno prowadzić się w warunkach charakterystycznych dla klimatu umiarkowanego [10].

Metodyka badań

Celem przeprowadzonych badań była ocena poziomu zawartości wilgoci w użytkowej wełnie mineralnej w temperaturze otoczenia w zależności od zadanej wilgotności względnej: 30, 60, i 90%. Badanym materiałem była odpadowa wełna mineralna pozyskana po dwóch cyklach upraw warzyw. Aby osiągnąć odpowiednią wilgotność względną, wykorzystano dane tabelaryczne prężności parcyjnej nad roztworami woda-kwas siarkowy(VI). Roztwory kwasu siarkowego(VI) o odpowiednich stężeniach sporządzono poprzez rozcieńczenie odpowiedniej masy 95% kwasu siarkowego(VI) wodą destylowaną.

Przed przystąpieniem do właściwej części badań maty odpadowe wełny mineralnej zanurzono w wodzie na czas około 10 minut, po czym nadmiar wody usunięto poprzez odcisnięcie, a wełnę uformowano na dwa sposoby: poprzez wycięcie sześcianów oraz poprzez rozzerwanie maty na drobne części.

Tak przygotowane próbki wełny mineralnej umieszczono w uprzednio wysuszonych i zważonych naczynkach wagowych, a następnie przeniesiono do pojemników zawierających naczynia z odpowiednimi roztworami kwasu siarkowego(VI). Szczelnie zamknięte pojemniki z próbkami umieszczono w suszarce laboratoryjnej z naturalnym obiegiem powietrza SLN 32 ECO i zamknięto na 168 godzin w temperaturze 25°C. Zmianę masy próbek kontrolowano w 24-godzinnych odstępach czasu w ciągu 7 dni. Równolegle w próbkach odpadowej wełny mineralnej oznaczono suchą masę. W tym celu próbki suszono w 105°C w czasie 24 godzin z wykorzystaniem suszarki próżniowej VD 23 firmy BINDER.

Procentowy udział suchej masy w próbkach został obliczony ze wzoru:

$$X_{mas} = \frac{m_k}{m_p} \cdot 100 [\%] \quad (1)$$

gdzie: X_{mas} - procentowy udział suchej masy w próbce [% mas.], m_k - masa próbki po 24 h suszenia w 105°C [g], m_p - masa początkowa mokrej próbki wełny mineralnej [g].

Wszystkie pomiary mas próbek po regularnych odstępach czasu były zapisywane i wykorzystane do stworzenia wykresów ubytku masy próbek w czasie 7 dni. Do obliczenia ubytku masy próbek korzystano ze wzoru (2). Ubytek masy reprezentuje ilość wody desorbującej z próbki

$$X_{ubyt} = \frac{m_p - m_k}{m_p} \cdot 100 [\%] \quad (2)$$

gdzie: X_{ubyt} - procentowy ubytek masy próbki [% mas.], m_k - masa próbki po określonym czasie suszenia w 25°C [g], m_p - masa początkowa mokrej próbki wełny mineralnej [g].

Zawartość wilgoci w próbce obliczono za pomocą wzoru

$$X_{wilg} = \frac{m_p - m_k}{m_k} \cdot 100 [\%] \quad (3)$$

gdzie: X_{wilg} - procentowy udział wilgoci w próbce [% mas.], m_k - masa próbki po określonym czasie suszenia w 25°C [g], m_p - masa początkowa mokrej próbki wełny mineralnej [g].

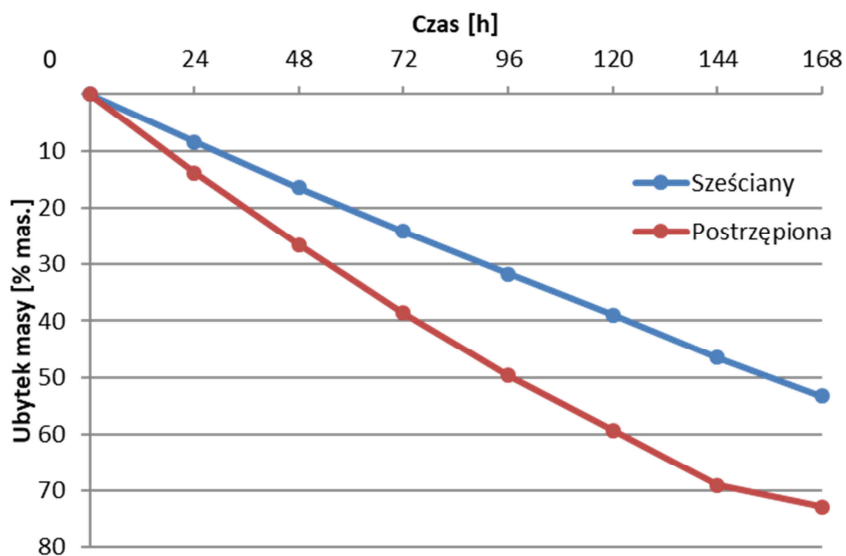
Omówienie wyników

Na rysunku 1 przedstawiono procentowy ubytek masy próbek przy wilgotności względnej 30% w temperaturze 25°C w ciągu 7 dni. Maksymalny ubytek masy dla wełny w formie sześcianu wynosił 53,3% mas., a dla wełny postrzępionej 72,9% mas. po 168 godzinach eksperymentu.

Doświadczenie przeprowadzane przy wilgotności względnej wynoszącej 60% w temperaturze 25°C wykazało, że ubytki w masie próbek wełny są znacznie niższe przy 30% wilgotności względnej. W tym przypadku dla wełny w postaci sześcianów ubytek masy osiągał 32,6% mas., a dla formy postrzępionej 46,8% mas. po 168 godzinach eksperymentu. Otrzymane wyniki przedstawiono na rysunku 2.

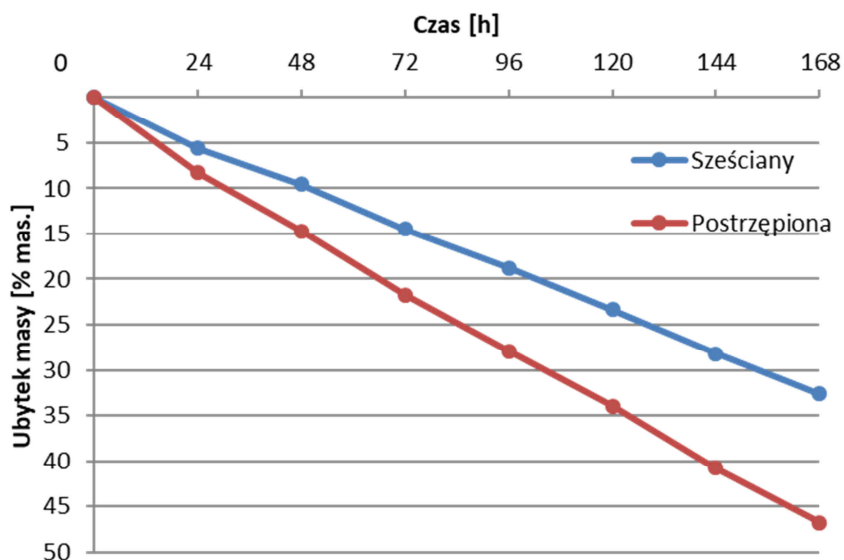
Próbki wełny mineralnej w warunkach wilgotności względnej, wynoszącej 90%, wykazywały się natomiast znacząco niższymi ubytkami masy spośród wszystkich badanych próbek. Maksymalny ubytek masy dla próbek w formie sześcianu wynosił 5,9% mas., a dla próbek postrzępionych 12,0% mas. po 168 godzinach doświadczenia. Strata masy w czasie dla danych próbek została przedstawiona na rysunku 3.

Podsumowanie otrzymanych wyników zawartości pozostałej wilgoci we wszystkich badanych próbkach wełny mineralnej przedstawiono w tabeli 1.



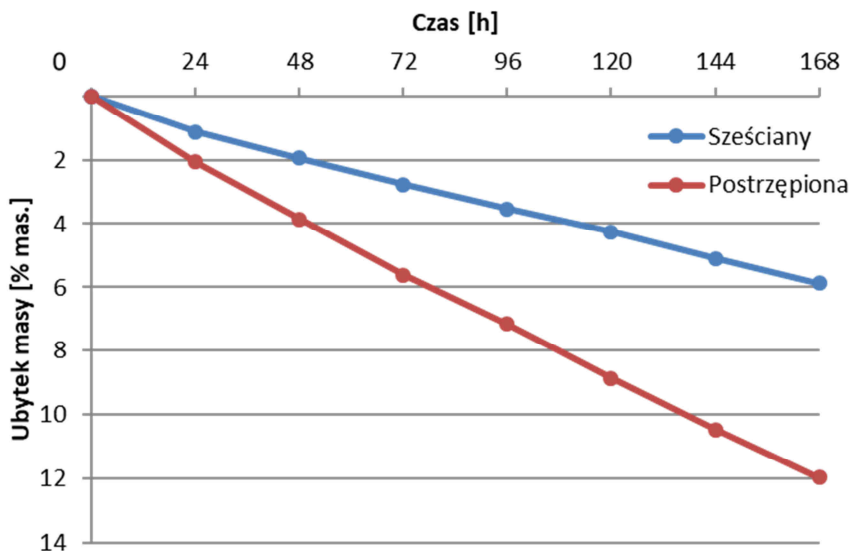
Rys. 1. Procentowy ubytek masy próbek wełny mineralnej w temperaturze 25°C i przy wilgotności względnej 30%

Fig. 1. The percentage mass loss of mineral wool samples at 25°C and a relative humidity of 30%



Rys. 2. Procentowy ubytek masy próbek wełny mineralnej w temperaturze 25°C i przy wilgotności względnej 60%

Fig. 2. The percentage mass loss of mineral wool samples at 25°C and a relative humidity of 60%



Rys. 3. Procentowy ubytek masy próbek wełny mineralnej w temperaturze 25°C i przy wilgotności względnej 90%

Fig. 3. The percentage mass loss of mineral wool samples at 25°C and a relative humidity of 90%

Tabela 1

Wpływ wilgotności względnej i postaci fizycznej wełny na zawartość wilgoci w próbkach wełny mineralnej po 168 godzinach doświadczenia w temperaturze 25°C

Table 1

Effect of relative humidity and physical form of rockwool on the moisture content of mineral wool samples after 168 hours of experiment at 25°C

Forma wełny mineralnej	Wilgotność względna [%]	Wilgotność próbki [%]
Sześciian	30	51,39
	60	66,32
	90	75,89
Postrzępiona	30	16,19
	60	57,36
	90	74,21

Podsumowanie i wnioski

Na podstawie otrzymanych wyników badań można stwierdzić, że najlepsze efekty redukcji wilgotności z odpadowej wełny mineralnej uzyskuje się przy niskiej wilgotności względnej otoczenia. Rozsądnym zabiegiem jest zatem składowanie odpadowej wełny mineralnej w zewnętrznych warunkach otoczenia w okresach letnich, charakteryzujących się wyższą temperaturą i mniejszą wilgotnością względną powietrza, a następnie transportowanie takiej wełny do miejsc z ograniczonym dostępem wilgoci w celu wstępnego przygotowania do ponownego użycia w rolnictwie. Ponadto próbki wełny mineralnej, mające formę postrzępioną, łatwiej desorbują wodę, o czym świadczą większe

procentowe ubytki masy niż w przypadku próbek w kształcie sześcianów oddającym typową strukturę maty. Rozdrobnienie wełny mineralnej ma zatem wpływ na szybkość oddawania wody i w konsekwencji ekonomikę procesu.

Obserwowany spadek masy próbek osiągną przy wyższych wartościach wilgotności względnej otoczenia wskazuje, że nawet przy standardowym magazynowaniu wilgotnej odpadowej wełny mineralnej w Polsce można uzyskać usunięcie ponad 10% zawartej w wełnie wody bez konieczności stosowania kosztownych procesów technologicznych jej usunięcia. Opłacalność usuwania pozostałej wody z wełny mineralnej musi zostać określona w dalszych etapach badań w celu ustalenia optymalnego punktu uwzględniającego koszty procesów oraz jakość otrzymywanej wełny mineralnej. Istnieje możliwość, że właściwości tak magazynowanej wełny mineralnej nie będą w znaczącym stopniu odbiegać od właściwości czystej wełny mineralnej, co pozwoli na ponowne jej wykorzystanie w formie dodatków do podłoży stosowanych w uprawach hydroponicznych.

Podziękowania

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Nr zlec. S50136/Z-0314. Wykorzystano wyniki badań zrealizowanych w ramach Projektu Badań Stosowanych o nr PBS1/A9/19/2013 Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w latach 2013-2016.

Literatura

- [1] Hoffmann K, Hoffmann J. Zrównoważony rozwój w produkcji nawozów. *Przem Chem.* 2003;82(8/9):837-839. <http://www.sigma-not.pl/publikacja-28729-zr%C3%B3wnowa%C5%BCony-rozw%C3%B3j-w-produkcji-nawoz%C3%B3w-przemysl-chemiczny-2003-8-9-1.html>.
- [2] Raviv M, Leith JH. *Soilles Culture: Theory and Practice*. New York: Elsevier; 2008.
- [3] Stępnowska A, Elkner K. *Zesz Nauk Roln.* 2001;46(234):123-129.
- [4] Piróg J, Gembiak R. *Zesz Nauk Roln.* 2001;46(234):109-115.
- [5] Nurzyński J. Plonowanie i skład chemiczny pomidora uprawianego w szklarni w podłożach ekologicznych. *Acta Agrophys.* 2006;7(3):681-690. <http://www.old.acta-agrophysica.org/pl/polrocznik.html?stan=detail&paper=681&i=17&vol=7&numer=3>.
- [6] Bussel WT, McKennie S. Rockwool in horticulture, and its importance and sustainable use in New Zealand. *New Zeal. J Crop Hort.* 2004;32:29-37. DOI: 10.1080/01140671.2004.9514277.
- [7] Saint-Gobain I, Courbevoise FR. Wełna mineralna, jej zastosowanie i sposób jej wytwarzania. PL 194126 B1 30.04.2007 WUP 04/07. <http://pubserv.uprp.pl/publicationserver/Temp/kpfd1hfokvuhc76gqk3r2d30q0/PL194126B1.pdf>.
- [8] Carlile WR, Coules A. *Control of Crop Diseases*. Cambridge: Cambridge University Press; 2012.
- [9] Dyśko J, Kaniszewski S, Kowalczyk W, Dziedziczak K, Kowalski B, Moraczewski A, et al. Ekologiczne włókniste podłoża bezglebowe w uprawach szklarniowych. *Probl Ekspolatacji.* 2012;2:37-56. http://www.problemyekspolatacji.itee.radom.pl/images/pe_2012/pe_2_2012/pe_2_2012_037-056.pdf.
- [10] Atlas klimatu Polski pod redakcją Haliny Lorenc, Warszawa: Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej; 2005.

THE ASSESSMENT OF SPEED OF MOISTURE SORPTION BY MINERAL WOOL WASTE

Department of Technology and Chemical Processes, Faculty of Chemistry
Wrocław University of Science and Technology

Abstract: Mineral wool is commonly used as a substrate for soilless cultivation of plants. However, the use of this type of cultivation system generates a specific kind of waste, which is difficult to manage. Its recycling is troublesome and expensive because mats of rockwool are not biodegradable and, as a waste, have a large volume. It is estimated that 100-150 m³ of waste in the form of used substrate is obtained from two-years lifetime of rockwool mats in greenhouse production used in one hectare of crop. Constantly increasing stocks of waste mineral wool are also the serious environmental problem because this waste is being stored on a wild and illegal landfills. As a result, variable environmental conditions may lead to changes in the physical properties of postconsumer mineral wool and may affect the chemical composition, the development of fungal and bacterial pathogens or reaction between the components of the medium occurring as a result of water action. The annual average relative air humidity in Poland ranges from 78 to 84% and average annual rainfall is about 600 mm. To reuse the mineral wool in agriculture or to determine valid methods of its storage and transportation, it is important to evaluate the rate of moisture sorption at a temperature and relative humidity corresponding to external conditions. The aim of this study was to evaluate the level of moisture in the waste mineral wool at 25°C, depending on relative humidity: 30, 60, and 90%. In order to achieve the expected humidity, tabular data of the partial vapor pressure over water-H₂SO₄ solutions were used. The study used mineral wool in the frayed form and in the form of a cube, which reflects the shape and structure of the mat.

Keywords: garden rockwool, waste, moisture sorption

Maciej KANIEWSKI¹, Ewelina KLEM-MARCINIAK¹, Marta HUCULAK-MĄCZKA¹
i Józef HOFFMANN¹

BADANIA STABILNOŚCI TERMICZNEJ MIESZANIN AZOTANU AMONU Z CHLORKIEM POTASU

STUDY OF THERMAL STABILITY OF AMMONIUM NITRATE AND POTASSIUM CHLORIDE MIXTURES

Abstrakt: Azotan amonu jest substancją chemiczną posiadającą wiele zastosowań, między innymi w produkcji nawozów mineralnych oraz materiałów wybuchowych. Jest to substancja, której rozkład stanowi poważne zagrożenie dla otoczenia. Obecność jonów chlorkowych zdefiniowana jest jako czynnik przyspieszający rozkład azotanu amonu. Z uwagi na występowanie mieszanin azotanu amonu z chlorkiem potasu w nawozach wieloskładnikowych konieczne jest zbadanie stabilności termicznej układów zawierających oba związki. Celem wykonanych analiz było zbadanie zachodzących w mieszaninach przemian fizykochemicznych z uwzględnieniem niebezpiecznego rozkładu azotanowego dodatku nawozowego. Porównano wyniki otrzymane w trakcie analizy mieszaniny azotanu amonu oraz chlorku potasu w różnych proporcjach, a także wyniki uzyskane dla tych składników zbadanych osobno. Do przeprowadzenia analizy zachodzących w badanym układzie przemian zastosowano różnicową analizę termiczną sprzężoną z termogravimetrią (DTA-TG). Otrzymane wyniki mogą pomóc w odpowiednim komponowaniu składu nawozów zawierających azotan amonu oraz jony chlorkowe. Pozwolą one także na kontynuację badań w celu określenia wpływu dodatku innych związków chemicznych na zbadany układ.

Słowa kluczowe: azotan amonu, chlorek potasu, analiza termiczna, nawozy

Wprowadzenie

Azotan(V) amonu (AN - ammonium nitrate) jest powszechnie stosowany jako nawóz, składnik materiałów wybuchowych oraz dość często jako substancja utleniająca w paliwach raketowych [1-3]. Znaczna większość jego produkcji jest przeznaczana do celów nawozowych [4]. Jego popularność powodowana jest przez niskie koszty produkcji, łatwą dostępność i wysoką zawartość azotu [5]. Azot występuje w nawozie w dwóch formach - azotanowej i amonowej. NH_4NO_3 stosowany jest w wielu formach: saletry amonowej, saletrzaków, RSM, a także w nawozach NPK [6, 7]. Jako materiał wybuchowy, azotan(V) amonu jest zwykle mieszany z olejem napędowym w odpowiednich proporcjach, tworząc tzw. ANFO (ammonium nitrate fuel-oil) [8]. Pomimo faktu, że w warunkach standardowych azotan(V) amonu uważany jest za substancję stabilną i względnie bezpieczną, w przeszłości wydarzyło się wiele wypadków z jego udziałem [9]. Z powodu wszystkich powiązanych z tym związkiem chemicznym zagrożeń naukowcy wykonywali liczne badania mające na celu określenie wpływu innych substancji na azotan(V) amonu. Znaleziono zarówno substancje inhibujące egzotermiczny rozkład NH_4NO_3 , takie jak węglany wapnia i magnezu, amoniak lub niektóre siarczany, jak i katalizujące - chlorki, sole miedzi, chromu, niklu, substancje organiczne [10-12].

¹ Zakład Technologii i Procesów Chemicznych, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, ul. M. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 62 93, fax 71 328 04 25, email: jozef.hoffmann@pwr.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

Przy produkcji nawozów typu NPK wraz z azotanem(V) amonu stosowane są różnorodne sole nieorganiczne, w zależności od zapotrzebowania na odpowiednie składniki odżywcze roślin. Jednym z najczęściej stosowanych źródeł potasu jest chlorek potasu, głównie z powodu jego niskiej ceny. Pomimo powolnego odchodzenia od składników nawozowych zawierających jony chlorkowe, bardzo istotne jest dokładne badanie ich wpływu na reaktywność AN [13, 14]. W ten sposób można zminimalizować ryzyko pojawienia się podobnej katastrofy jak w Tuluzie w 2001 roku [15]. Praca ta skupia się na zbadaniu stabilności termicznej mieszanin azotanu(V) amonu z chlorkiem potasu w różnych stosunkach masowych.

Metodyka badań

W przeprowadzonych badaniach zastosowano azotan(V) amonu czystości nawozowej, dostarczony przez jednego z krajowych producentów nawozów azotowych, oraz chlorek potasu czysty (min. 99% zawartości KCl). Przeprowadzono analizę próbek o masie 100 mg ($\pm 0,5$ mg) w wybranych proporcjach masowych. Przed pomiarem mieszaniny zostały dokładnie utarte w moździerzu, aby ujednorodnić ich skład. W celu dokładniejszej analizy uzyskanych wyników zbadano próbki 100 mg azotanu(V) amonu oraz chlorku potasu stosując takie same metody pomiarowe. Wykresy z uzyskanymi wynikami wygenerowano z wykorzystaniem profesjonalnego oprogramowania komputerowego dostarczonego przez producenta wraz z urządzeniami pomiarowymi.

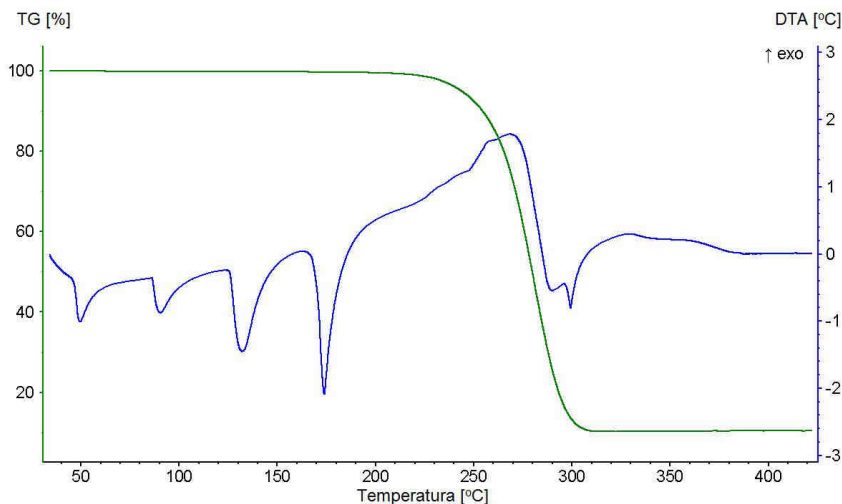
Pomiary zostały przeprowadzone z zastosowaniem różnicowej analizy termicznej sprzężonej z termograwimetrią (DTA-TG). Użyto analizatora termicznego STA 449 F3 z termowagą firmy Netzsch. Zastosowano tygłe pomiarowe z tlenku glinu o pojemności 0,3 cm³. Badania składały się z kilku następujących po sobie etapów. Pierwszym było wygrzewanie pustego tygla do 650°C w celu usunięcia ewentualnych zanieczyszczeń. Następnie tygiel z próbką ogrzewano w piecu analizatora termicznego do temperatury 450°C z szybkością grzania 5°C/min w atmosferze powietrza syntetycznego o łącznym przepływie 60 cm³/min.

Omówienie wyników badań

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu chlorku potasu na nawozowy azotan(V) amonu. Zbadano właściwości termiczne azotanu(V) amonu w formie mieszanin z chlorkiem potasu w wybranych proporcjach. Azotan amonu, jako związek stosowany w nawożeniu do zaopatrywania roślin w niezbędny dla nich azot, może ulegać gwałtownemu rozkładowi w kontakcie z różnymi substancjami chemicznymi. Chlorek potasu jest jednym z najczęściej stosowanych chlorkowych związków nawozowych i występuje w układach z azotanem(V) amonu, niezbędne jest więc określenie jego wpływu na stabilność termiczną tego typu mieszanin.

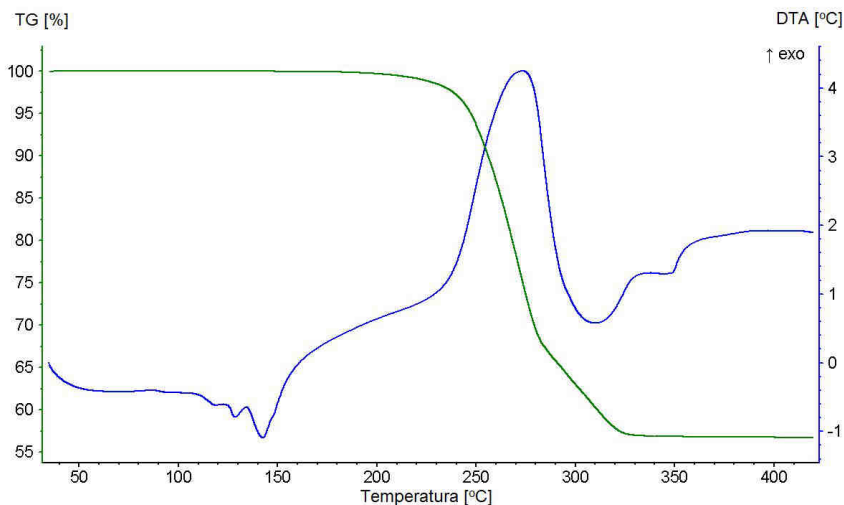
Wynik analizy termicznej próbki 100 mg azotanu(V) amonu czystości nawozowej przedstawiono na rysunku 1. Właściwości termiczne próbki nie różniły się znacząco od danych literaturowych. Krzywa DTA pozwala zaobserwować endotermiczne przemiany fazowe przy temperaturze 46,8, 86,5, 126,0 oraz 169,7°C. Egzotermiczny rozkład próbki miał miejsce w przedziale temperaturowym 230-300°C. Próbka uległa całkowitemu rozkładowi, masa tygla po pomiarze była równa masie po wygrzewaniu do 650°C.

Analiza termiczna próbki czystego chlorku potasu nie wykazała żadnych przemian fazowych ani ubytku masy do 600°C. Pozwala to stwierdzić, że jakiegokolwiek zmiany w termogramach badanych mieszanin nie będą rozkładem samego chlorku potasu, a ewentualną interakcją obu związków.



Rys. 1. Wyniki pomiaru DTA-TG próbki 100 mg nawozowego azotanu(V) amonu

Fig. 1. DTA-TG measurement results for a 100 mg sample of a fertilizer grade ammonium nitrate

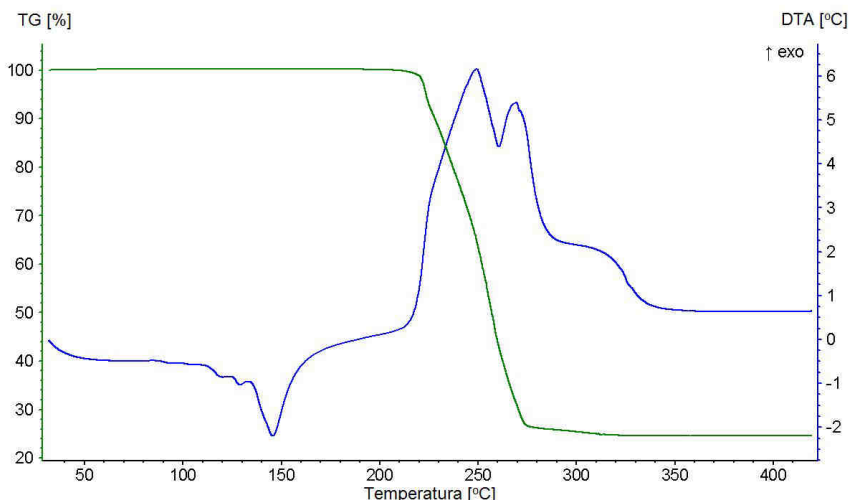


Rys. 2. Wyniki pomiaru DTA-TG próbki 100 mg mieszaniny w stosunku AN:KCl równym 1:1

Fig. 2. DTA-TG measurement results for a 100 mg sample of AN:KCl mixture in the ratio 1:1

Na rysunku 2 pokazano wyniki analizy termicznej próbki 100 mg mieszaniny azotanu(V) amonu oraz chlorku potasu w stosunku 1:1. Program temperaturowy wszystkich mieszanin NH_4NO_3 z KCl został dobrany na podstawie pomiaru samego azotanu amonu, ponieważ wyższe przedziały temperaturowe nie są istotne, biorąc pod uwagę fakt, że egzotermiczna reakcja zachodzi w całości do około 300°C . Termogram (rys. 2) pozwala zaobserwować zanikające endotermiczne przemiany fazowe oraz wzrost intensywności reakcji egzotermicznej, pomimo dwukrotnie mniejszej zawartości NH_4NO_3 . Topnienie próbki zachodzi poniżej 150°C , co jest temperaturą ponad 20°C niższą od temperatury topnienia czystego azotanu(V) amonu.

Mieszanka w stosunku AN:KCl wynoszącym 4:1 wykazała większy wzrost intensywności reakcji egzotermicznej niż próbka 1:1, rozkład rozpoczyna się również w niższej temperaturze (poniżej 220°C). W odróżnieniu od poprzedniej próbki sygnał egzotermiczny rozdziela się na dwa wierzchołki. Wyniki analizy próbki przedstawiono na rysunku 3.



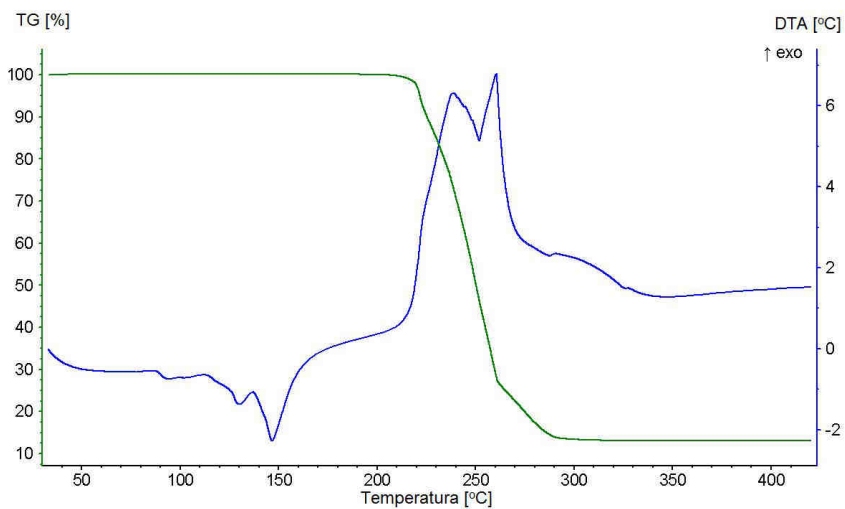
Rys. 3. Wyniki pomiaru DTA-TG próbki 100 mg mieszaniny w stosunku AN:KCl równym 4:1

Fig. 3. DTA-TG measurement results for a 100 mg sample of AN:KCl mixture in the ratio 4:1

Pomiar próbki zawierającej azotan(V) amonu i chlorek potasu w stosunku 9:1 pozwolił uzyskać termogram wizualnie podobny do próbki 4:1. Różniącymi je cechami jest rozkład egzotermiczny, który zaczyna się w nieznacznie niższej temperaturze oraz jest mocniejszy i bardziej gwałtowny, co można zobaczyć na wcześniej kończącym się sygnale oznaczającym rozkład.

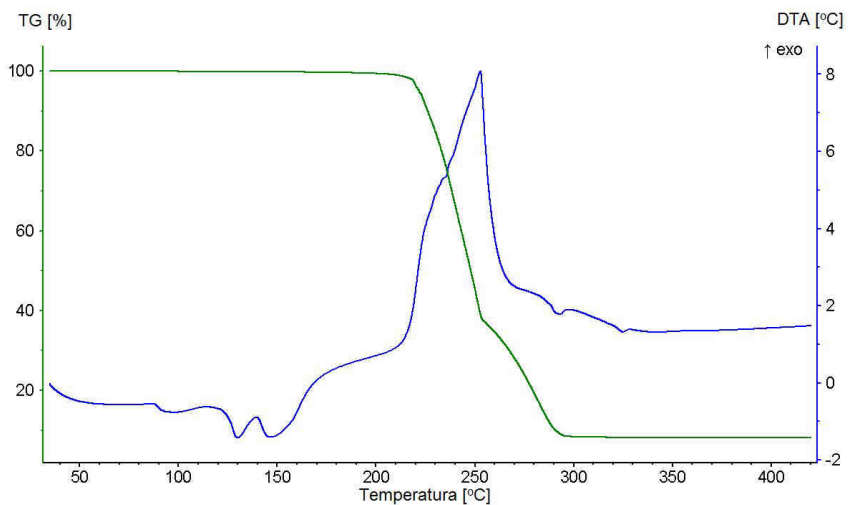
Analiza ostatniej próbki (NH_4NO_3 :KCl 19:1) cechowała się najwcześniej zachodzącym egzotermicznym rozkładem mieszaniny oraz jego największą intensywnością. Rozpoczął się on w $216,5^\circ\text{C}$ i trwał najkrócej, generując największy sygnał egzotermiczny ze

wszystkich próbek. Charakterystyka sygnału również uległa zmianie względem próbek 4:1 i 9:1, ponieważ wygenerowany sygnał rozkładu miał tylko jeden wierzchołek.



Rys. 4. Wyniki pomiaru DTA-TG próbki 100 mg mieszaniny w stosunku AN:KCl równym 9:1

Fig. 4. DTA-TG measurement results for a 100 mg sample of AN:KCl mixture in the ratio 9:1



Rys. 5. Wyniki pomiaru DTA-TG próbki 100 mg mieszaniny w stosunku AN:KCl równym 19:1

Fig. 5. DTA-TG measurement results for a 100 mg sample of AN:KCl mixture in the ratio 19:1

Wszystkie badane próbki mieszanin azotanu(V) amonu i chlorku potasu wykazały się mniejszą stabilnością termiczną niż czysty azotan(V) amonu. Wraz ze wzrostem zawartości NH_4NO_3 w mieszaninach zwiększała się intensywność egzotermicznego rozkładu próbek.

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że wzajemne oddziaływanie azotanu(V) amonu oraz chlorku potasu powoduje obniżenie stabilności termicznej soli azotanowej, ponieważ egzotermiczny rozkład rozpoczyna się w niższej temperaturze oraz jest dużo gwałtowniejszy w obecności chlorku potasu. Analizując otrzymane termogramy mieszanin NH_4NO_3 i KCl widać, że gwałtowność egzotermicznego sygnału na krzywej DTA wzrasta wraz ze zwiększaniem zawartości pierwszego związku w próbkach. Prawdopodobnie oznacza to, że sygnał ten przedstawia wzmocniony i przyspieszony rozkład azotanu(V) amonu katalizowany obecnością jonów chlorkowych, a nie reakcję między dwoma solami. Z uwagi na fakt stosowania obu związków chemicznych przy produkcji nawozów należy mieć na uwadze, że nawet niewielkie ilości chlorku potasu silnie przyspieszają rozkład azotanu(V) amonu. W przypadku konieczności wykorzystywania obu związków chemicznych w nawozach NPK niezbędne jest utrzymywanie zawartości jonów chlorkowych na wystarczająco niskim poziomie lub dodanie innych związków w celu ustabilizowania całego układu. W przyszłości istotne będzie wykonanie badań mających na celu określenie stabilności termicznej mieszanin azotanu(V) amonu i soli chlorkowych z więcej niż jednym nawozowym związkiem chemicznym.

Podziękowania

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Nr zlec. S50136/Z-0314.

Literatura

- [1] Kaljuvee T, Edro E, Kuusik R. Influence of lime-containing additives on the thermal behaviour of ammonium nitrate. *J Therm Anal Calorim.* 2008;92(1):215-221. DOI: 10.1007/s10973-007-8769-1.
- [2] Zygmunt B, Buczkowski D. Influence of ammonium nitrate prills' properties on detonation velocity of ANFO. *Propell Explos Pyrot.* 2007;32(5):411-414. DOI: 10.1002/prep.200700045.
- [3] Pandey M, Jha S, Kumar R, Mishra S, Jha RR. The pressure effect study on the burning rate of ammonium nitrate-HTPB-based propellant with the influence catalysts. *J Therm Anal Calorim.* 2012;107:135-140. DOI: 10.1007/s10973-011-1718-z.
- [4] Oxley JC, Smith JL, Rogers E, Yu M. Ammonium nitrate: thermal stability and explosivity modifiers. *Thermochim Acta.* 2002;384:23-45. DOI: 10.1016/S0040-6031(01)00775-4.
- [5] Najlepsze Dostępne Techniki (BAT). Wytyczne dla Branży Chemicznej w Polsce. Przemysł Wielkotonazowych Chemikaliów Nieorganicznych, Amoniak, Kwasów i Nawozów Sztucznych. 2005;13-75, 98-111. Warszawa: Ministerstwo Środowiska; 2005. http://www.ekoportal.gov.pl/fileadmin/Ekoportal/Pozwolenia_zintegrowane/poradniki_branzowe/11.3_Przemysl_Wielkotonazowych_Chemikaliow_Nieorganicznych_Amoniak_Kwasow_i_Nawozow_Sztucznych.pdf.
- [6] Kiiski H. Properties of Ammonium Nitrate based Fertilisers. PhD Thesis. Helsinki, Finland: University of Helsinki; 2009.

- [7] Akhmed R, Shafoat N. Nitrogen-phosphorous fertilizers on the base of concentrated ammonium nitrate solution and Central Kyzylkum phosphate raw material. *Pol J Chem Tech.* 2014;16(3):3-35. DOI: 10.2478/pjct-2014-0046.
- [8] Marlair G, Kordek MA. Safety and security issues relating to low capacity storage of AN-based fertilizers. *J Hazard Mater A1.* 2005;23:13-28. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.03.028.
- [9] Pittman W, Han Z, Harding B, Tosas C, Jiang J, Pineda A, et al. Lessons to be learned from an analysis of ammonium nitrate disasters in the last 100 years. *J Hazard Mater.* 2014;280:472-477. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.08.037.
- [10] Li XR, Koseki H. Study on the contamination of chlorides in ammonium nitrate. *Process Saf Environ.* 2005;83:31-37. DOI: 10.1205/psep.04060.
- [11] Rudjak I, Kaljuvee T, Triikkel A, Mikli V. Thermal behaviour of ammonium nitrate prills coated with limestone and dolomite powder. *J Therm Anal Calorim.* 2010;99:749-754. DOI: 10.1007/s10973-009-0391-y.
- [12] Han Z, Sachdeva S, Papadaki MI, Mannan MS. Ammonium nitrate thermal decomposition with additives. *J Loss Prevent Proc.* 2015;35:307-315. DOI: 10.1016/j.jlp.2014.10.011.
- [13] Izato Y, Miyake A. Thermal decomposition mechanism of ammonium nitrate and potassium chloride mixtures. *J Therm Anal Calorim.* 2015;121:287-294. DOI: 10.1007/s10973-015-4739-1.
- [14] Han Z, Sachdeva S, Papadaki MI, Mannan S. Effects of inhibitor and promoter mixtures on ammonium nitrate fertilizer explosion hazards. *Thermochim Acta.* 2016;624:69-75. DOI: 10.1016/j.tca.2015.12.005.
- [15] Dechy N, Bourdeaux T, Ayrault N, Kordek MA, Le Coze JC. First lessons of the Toulouse ammonium nitrate disaster, 21st September 2001, AZF plant, France. *J Hazard Mater.* 2004;111:131-138. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2004.02.039.

STUDY OF THERMAL STABILITY OF AMMONIUM NITRATE AND POTASSIUM CHLORIDE MIXTURES

Department of Technology and Chemical Processes, Faculty of Chemistry
Wrocław University of Science and Technology

Abstract: Ammonium nitrate is a chemical compound that has many uses, including a production of mineral fertilizers or explosives. Decomposition of this substance poses a serious threat to its surroundings. Presence of chloride ions is defined as an accelerating factor for ammonium nitrate decomposition. Due to the existence of multicomponent fertilizers containing ammonium nitrate and potassium chloride, it is necessary to examine thermal stability of chemical systems comprising both compounds. The main objective of the research was to study phase transitions occurring in analyzed mixtures including dangerous decomposition of nitrate fertilizer component. Results from thermal analysis of ammonium nitrate, potassium chloride and mixtures containing both compounds in various proportions were compared. Analysis was carried out using differential thermal analysis coupled with thermogravimetry (DTA-TG). Acquired results might become helpful in formulation of an appropriate composition of fertilizers containing ammonium nitrate and chloride ions. Further research can be conducted in order to determine the effect of an addition of different chemical compounds to abovementioned systems.

Keywords: ammonium nitrate, potassium chloride, thermal analysis, fertilizers

Ewelina KLEM-MARCINIAK¹, Krystyna HOFFMANN¹, Maciej KANIEWSKI¹
i Józef HOFFMANN¹

WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE WYBRANYCH CHELATÓW NAWOZOWYCH

PHISICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SELECTED FERTILIZER CHELATES

Abstrakt: Wzrost liczby ludności spowodował zwiększenie areалу pól uprawnych, wprowadzenie nowych gatunków roślin, a także zubożenie gleb, co doprowadziło do rozwoju przemysłu nawozów makro- i mikroelementowych. Mikroelementy podawane w postaci chelatów charakteryzują się większym pobieraniem zastosowanego składnika, ułatwiają ich przemieszczanie się w roślinie, przez co charakteryzują się szybszym i skuteczniejszym działaniem, nawet w warunkach ograniczonej wilgotności. Struktura kleszczowa, którą tworzą, zapewnia trwałość oraz stabilizację mikroelementu. W Rozporządzeniu nawozowym opisano 13 związków należących do związków aminopolikarboksyłowych (APCAs). Ligand z grupy APCA reaguje z mikroelementami w stosunku molowym 1:1, jest dobrze rozpuszczalny w wodzie, stabilizuje mikroelement w szerokim zakresie pH oraz zapewnia wysoki stopień skompleksowania. Nawozy takiego typu są 2-5 razy efektywniejsze niż nieorganiczne sole siarczanowe. Wysoki stopień pobrania składnika pokarmowego pozwala zmniejszyć dawkowanie nawozów, co minimalizują także niekorzystne wpływy na środowisko. Zastosowanie chelatów umożliwia stworzenie preparatu zawierającego jeden lub kilka składników występujących w małej ilości w roztworze glebowym. Celem pracy jest analiza właściwości fizykochemicznych wybranych chelatów stosowanych w przemyśle nawozowym.

Słowa kluczowe: chelaty, mikroelementy, nawóz, kompleksy cynku

Wprowadzenie

Wielość i jakość plonów uzależniona jest od dostępności makro- i mikroelementów. Mikroskładniki pobierane są w niewielkich ilościach, na powierzchni 1 ha od kilku do kilkaset gramów. Na ilość przyswajalnych mikroelementów wpływa szereg czynników, takich jak: pH gleby, zawartości próchnicy oraz części ilastych, gatunek oraz wiek rośliny, a także zawartość rozpuszczalnych, przyswajalnych mikropierwiastków. Preparaty nawozowe produkowane są na bazie sześciu mikroskładników, do których zaliczamy żelazo, cynk, miedź, bor, molibden oraz mangan. W celu zapewnienia efektywności stosowania nawozów oraz zmniejszenia negatywnego wpływu na środowisko konieczne jest, by wytwarzane nawozy charakteryzowały się zróżnicowanymi właściwościami fizykochemicznymi. Wśród nawozów mikroelementowych wyróżniamy:

- stałe nawozy makroelementowe z dodatkiem soli mikroelementowych,
- nawozy płynne,
- chelaty nawozowe,
- szkliwa nawozowe,
- mikronawozy specjalne [1].

¹Zakład Technologii i Procesów Chemicznych, Politechnika Wrocławska, ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 39 30, fax 71 328 04 25, email: jozef.hoffmann@pwr.edu.pl
Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

Chelaty nawozowe cechują się trwałością oraz stabilizują mikroelement w szerokim zakresie pH. Ligandy syntetyczne zatwierdzone przez Parlament Europejski należą do grupy związków aminopolikarboksylowych (APCA) (tab. 1). Związki te reagują z mikroelementami w stosunku molowym metal : ligand 1 : 1, są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Do ligandów o właściwościach chelatujących zatwierdzonych przez Unię Europejską zaliczane są ligninosulfoniany [2].

Nadal poszukuje się nowych substancji, które kompleksowałyby mikroelement w stopniu co najmniej 80%, a także nie miały negatywnego wpływu na środowisko. Wysoki stopień biodegradacji oraz właściwości chelatujące są najistotniejszymi kryteriami [3].

Tabela 1

Substancje chelatujące stosowane do celów nawozowych [4, 5]

Table 1

Fertilizers chelating agents [4, 5]

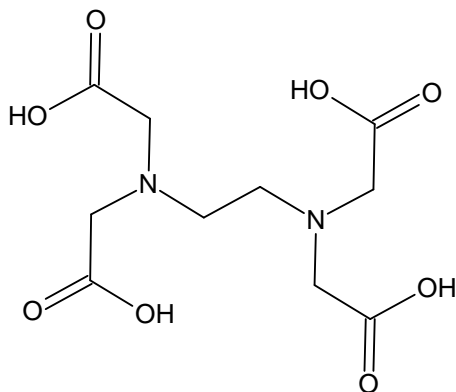
Lp.	Kwasy lub ich sole sodowe, potasowe bądź amonowe	Skrót	Wzór sumaryczny
1	kwasy etylenodiaminotetraoctowy	EDTA	C ₁₀ H ₁₆ O ₈ N ₂
2	kwasy 2-hydroksyetylenodiaminotrioctowy	HEEDTA	C ₁₀ H ₁₈ O ₇ N ₂
3	kwasy dietylenotriaminopentaoctowy	DTPA	C ₁₄ H ₂₅ O ₁₀ N ₅
4	kwasy [o,o]: etylenodiamino-di[(orto-hydroksyfenylo)octowy]	[o,o] EDDHA	C ₁₈ H ₂₀ O ₆ N ₂
5	kwasy [o,p]: etylenodiamino-N-[(orto-hydroksyfenylo)octowy]-N'-[(para-hydroksyfenylo)octowy]	[o,p] EDDHA	C ₁₈ H ₂₀ O ₆ N ₂
6	kwasy [o,o]: etylenodiamino-N,N'-di[(orto-hydroksymetylofenylo)octowy]	[o,o] EDDHMA	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ N ₂
7	kwasy [o,p]: etylenodiamino-N-[(orto-hydroksymetylofenylo)octowy]-N'-[(para-hydroksymetylofenylo)octowy]	[o,p] EDDHMA	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ N ₂
8	kwasy etylenodiamino-N,N'-di[(5-karboksy-2-hydroksyfenylo)octowy]	EDDCHA	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₀ N ₂
9	kwasy etylenodiamino-N,N'-di[(2-hydroksy-5-sulfofenylo)octowy] oraz produkty jego kondensacji	EDDHSA	C ₁₈ H ₂₀ O ₁₂ N ₂ S ₂ + n*(C ₁₂ H ₁₄ O ₈ N ₂ S)
10	kwasy iminodibursztynowy	IDHA	C ₈ H ₁₁ O ₈ N
11	kwasy N,N'-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-dioctowy	HBED	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₆

Ligandy APCA, dzięki swoim właściwościom, znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, takich jak: produkcja papieru, środków czyszczących, w gospodarstwach domowych, w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym, w produkcji agrochemikaliów, w uzdatnianiu wody, w przemyśle fotograficznym, tekstylnym i spożywczym, w obróbce metalu i wielu innych. Poniżej scharakteryzowano kilka z chelatów: EDTA, EDDHA, HBED oraz IDHA.

EDTA

Kwasy etylenodiaminotetraoctowy (rys. 1) lub jego sól to najczęściej stosowane substancje ze wszystkich związków chelatujących. Sól jest stosowana do produkcji detergentów, papieru, agrochemikaliów, kosmetyków, leków, jedzenia, w fotografii, w procesie uzdatnianiu wody i innych. Badania wykazują, że jej wysokie stężenie występuje w glebie nawet po 15 latach, co może prowadzić do eutrofizacji wód,

remobilizacji metali ciężkich z osadów dennych i rzecznych, a w konsekwencji występowania metali ciężkich w łańcuchu pokarmowym [6, 7].

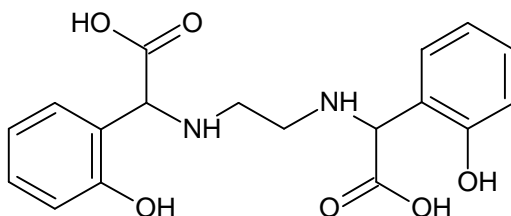


Rys. 1. Wzór strukturalny EDTA

Fig. 1. Structure of EDTA

EDDHA

Kwas [*o,o*]: etylenodiamino-di[*orto*-hydroksyfenylo]octowy oraz jego izomer (*orto, para*) lub ich sól stabilizują mikroelement w szerokim zakresie pH (rys. 2). Związki te mogą być stosowane nawet na glebach alkalicznych i wapiennych. Często wykorzystywane są w przypadku występowania chlorozy w celu uzupełnienia niedoboru żelaza. Obecność sześciu miejsc wiążących (2 donory na grupie fenolowej, 2 donory na grupach aminowych oraz 2 na grupach karboksylowych) powoduje szczególnie dużą trwałość takich chelatów. EDDHA stabilizuje mikroelement w pH od 3,5 do 8,5. Jest to bardzo ważne w przypadku jonów Fe(III). Wartość stałej trwałości z tymi jonami jest równa $\sim 10^{35}$. Obecność dwóch chiralnych atomów węgla powoduje występowanie dwóch izomerów chelatu: *meso* oraz *rac*, które charakteryzują się innymi stałymi trwałości. Przemysłowa synteza ligandu EDDHA prowadzi do powstania mieszaniny izomerów: (*orto, orto*), (*orto, para*) oraz (*para, para*). Izomer *para, para* ze względu na przeszkodę steryczną nie chelatuje jonów żelaza [8-10].

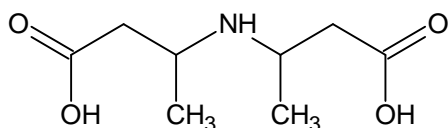


Rys. 2. Wzór strukturalny (*orto, orto*) EDDHA

Fig. 2. Structure of (*ortho, ortho*) EDDHA

IDHA

Kwas iminodibursztynowy lub jego sól ma wzór strukturalny podobny do powszechnie stosowanego EDTA. IDHA (rys. 3) zawiera tylko 5 grup funkcyjnych, które stanowią miejsca wiążące. Stałe trwałości, utworzonych przez IDHA chelatów, są trochę mniejsze niż w przypadku EDTA, HBED czy EDDHA, jednak wyniki pokazują, że sposób uzupełniania niedoboru jest równie efektywny jak w przypadku pozostałych ligandów. Należy do chelatów całkowicie biodegradowalnych, przez co nie wpływa negatywnie na środowisko [11].

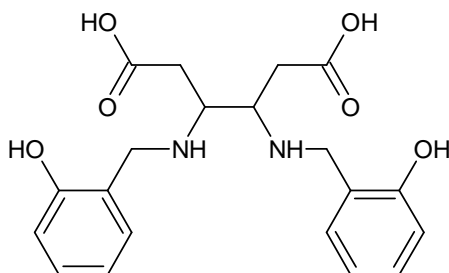


Rys. 3. Wzór strukturalny IDHA

Fig. 3. Structure of IDHA

HBED

Kwas *N,N'*-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-*N,N'*-dioctowy) lub jego sól tworzy chelaty charakteryzujące się wysoką trwałością w szerokim zakresie pH. Obecność dwóch grup fenolowych wpływa na zwiększoną trwałość chelatu. Stała trwałości chelatu Fe(III)-HBED jest równa $\sim 10^{39}$ [12].



Rys. 4. Wzór strukturalny HBED

Fig. 4. Structure of HBED

Metodyka badań

W celu określenia właściwości kompleksujących wybranych ligandów, na podstawie wykonanych analiz, obliczono stopień skompleksowania jonów cynku. Do badań wybrano cynk, który jest jednym z najistotniejszych mikroelementów biorących udział w procesach biochemicznych rośliny. Mikroelement był wprowadzany do układu w postaci soli heptahydratu siarczanu(VI) cynku, prod. POCh. Zastosowano cztery ligandy z grupy substancji aminopolikarboksyłowych: ligand syntetyczny w postaci soli disodowej kwasu etylenodiaminotetraoctowego (prod. POCh), sól sodową kwasu iminodibursztynowy (prod.

ADOB), kwas *N,N'*-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-*N,N'*-dioctowy) (prod. ADOB), kwas [*o,o*]: etylenodiamino-di[(*orto*-hydroksyfenylo)octowy] (zsyntezowany w Zakładzie Technologii i Procesów Chemicznych Politechniki Wrocławskiej) [13].

Stopień skompleksowania jonów cynku(II) został wyznaczony metodą woltamperometrii pulsowej różnicowej. Metoda ta polega na pomiarze natężenia prądu płynącego przez badaną próbkę podczas elektrolizy w zależności od liniowo zmieniającego się potencjału. Pomiarzy wykonane były aparatem firmy Eco Chemie: AUTOLAB PGSTST 12 z oprogramowaniem GPES. Zastosowano elektrodę rtęciową nr 663 VA Stand firmy Methrom, pracującą w trybie SMDE (*Static Mercury Drop Electrode*). Elektroda odniesienia była elektroda chlorosrebrowa, a elektrodą pomocniczą elektroda z węgla szklistego. Eksperymenty powtarzano trzy razy, a dla wyników obliczono średnią arytmetyczną. W tabeli 2 zamieszczono szczegółowe parametry aparaturowe stosowane w metodyce analitycznej.

Tabela 2
Wartość wielkości stosowanych podczas analizy woltamperometrycznej zawartości jonów cynku

The value of the voltammetric analysis used when the content of zinc ions

Table 2

Wielkość	Wartość danej wielkości
Rozmiar kropli rtęci	0,25 mm ²
Wartość potencjału skokowego	0,00495 V
Wartość amplitudy modulacji	0,00255 V
Czas modulacji	0,05 s
Czas ustalenia równowagi	5 s
Wartość potencjału depozycji	1,3 V
Czas depozycji	60 s
Zakres potencjału dla jonów Zn ²⁺	od -1,2 do -0,7 V

Badania prowadzono w środowisku wodnym w obecności elektrolitów podstawowych. Pomiarzy stopnia skompleksowania jonów cynku wykonywano w obecności 0,1 mol/dm³ KCl przy pH równym 7.

Badaną próbkę o pojemności 25 cm³, zawierającą jony cynku, ligand chelatujący oraz elektrolit podstawowy, umieszczono w naczynku pomiarowym i poddano odtlenieniu z jednoczesnym mieszaniem w czasie 5 minut. Z otrzymanych woltamperogramów odczytano potencjał redukcji jonów metali [V] oraz wysokość sygnału.

Stężenie mikroelementu wyznaczono na podstawie wysokości sygnału natężenia prądu. Otrzymane sygnały są proporcjonalne do stężenia jonów w roztworze. Skompleksowany jon mikroelementu jest elektrycznie obojętny. Stopień skompleksowania obliczono z różnicy stężeń mikroelementu przed i po reakcji chelatacji.

Do obliczenia stopnia skompleksowania zastosowano wzór:

$$X = \left(\frac{C_0 - C}{C_0} \right)$$

gdzie: *X* - stopień skompleksowania jonów cynku [%], *C*₀ - stężenie jonów cynku w próbce zerowej [mol/dm³], *C* - stężenie niezwiązanych jonów cynku [mol/dm³].

Gęstość oraz pH zmierzono tradycyjnymi metodami.

Analiza wyników

EDTA

EDTA najczęściej do celów przemysłowych stosowany jest w postaci 35% roztworu soli sodowej. Roztwór ma żółty kolor, a jego pH jest równe około 10,5.

EDDHA

EDDHA najczęściej używany jest w postaci soli sodowej. Stosowany jest jak jasnożółte drobnokrystaliczne ciało stałe. Dobrze rozpuszczalny w alkoholach polihydroksylowych. Rozpuszczalność zwiększa także dodatek mocznika. Odczyn roztworu EDDHA jest zasadowy.

IDHA

Do celów przemysłowych najczęściej stosowany jest wodny 33-35% roztwór soli sodowej. Roztwór ten ma kolor jasnożółty. Wartość pH jest równa około 10,9, a jego gęstość wynosi 1,33 kg/dm³.

HBED

Do celów przemysłowych stosowany jest ligand w postaci stałej. Jest to drobnokrystaliczna biała substancja. HBED rozpuszczalne jest w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak etanol i DMSO. Odczyn roztworu jest kwaśny. Wartość pH roztworu zależy od stężenia związku.

W tabeli 3 przedstawiono otrzymane wyniki skompleksowania jonów cynku ligandami z grupy APCA. Jony cynku zostały skompleksowane w 100% przez ligandy EDDHA i HBED. Oba chelatory zawierają w swej strukturze pierścienie fenolowe, które stabilizują chelat i wpływają na właściwości kompleksotwórcze. Najczęściej stosowany ligand w wielu gałęziach przemysłu - EDTA skompleksował jony cynku w 92%. Biodegradowalny ligand IDHA skompleksował jony cynku w 89%.

Stopień skompleksowania jonów cynku przez ligandy z grupy APCA

Tabela 3

The degree of complexed zinc ions by ligands from the APCA group

Table 3

Ligand	Stopień skompleksowania jonów cynku [%]
EDTA	92
EDDHA	~100
HBED	~100
IDHA	89

Wnioski

Analizowano właściwości fizyczne oraz stopień skompleksowania wybranych ligandów o właściwościach chelatujących (EDTA, IDHA, EDDHA oraz HBED). Każda z analizowanych substancji spełnia warunki Rozporządzenia Europejskiego dotyczącego nawozów. Należące do grupy związków aminopolikarbosylowych ligandy reagują z jonami

mikroelementów w stosunku molowym 1:1. Najwyższym stopniem skompleksowania cechują się EDDHA oraz HBED. Obie substancje dzięki obecności grup fenolowych posiadają dobre właściwości kompleksujące.

Podziękowania

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Nr zlec. Z-0314 0401/0261/16-W-3/Z-14.

Literatura

- [1] Hoffmann J, Hoffmann K. *Przem Chem.* 2006;85(8-9):827-830.
- [2] Lucena JJ, Gárate A, Villén M. *J Plant Nutr Soil Sci.* 2010;173:900-906. DOI: 10.1002/jpln.200900154.
- [3] Kołodyńska D. *Desalination Water Treat.* 2010;16(1-3):146-155. DOI: 10.5004/dwt.2010.1050.
- [4] Regulation (EC) No 2003/2003 of the European Parliament and of the Council of 14 June 2012 relating to fertilisers. (Rozporządzenie (WE) nr 2003/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 14 czerwca 2012 r. w sprawie nawozów). <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/En/TXT/PDF/?uri=CELEX:02003R2003-20130607&rid=2>.
- [5] Shuman LM. *J Crop Prod.* 1998;1-2:165-195. DOI: 10.1300/J144v01n02_07.
- [6] Oviedo C, Rodríguez J. *Quim Nova.* 2003;26(6):901-905. DOI: 10.1590/S0100-40422003000600020.
- [7] Villean M, Garcia-Arsuaga A, Lucena JJ. *J Agric Food Chem.* 2007;55:402-407. DOI: 10.1021/jf062471w.
- [8] Medawar G, Srour G, El Azzi D. *Frontiers Life Sci.* 2016;9(3):182-189. DOI: 10.1080/21553769.2016.1193828.
- [9] Lopez-Rayó S, Hernandez D, Lucena JJ. *J Agric Food Chem.* 2010;58:7908-7914. DOI: 10.1021/jf100994s.
- [10] Yunta F, Garciaa-Marco S, Lucena JJ. *J Agric Food Chem.* 2003;51:5391-5399.
- [11] Lucena JJ, Sentís JA, Villén M, Lao T, Pérez-Sáez M. *Agron J.* 2007;100:813-818. DOI: 10.2134/agronj2007.0257.
- [12] Lopez-Rayó S, Hernandez D, Lucena JJ. *J Agric Food Chem.* 2009;57:8504-8513. DOI: 10.1021/jf9019147.
- [13] Klem-Marciniak E, Olszewski T, Hoffmann K, Huculak-Mączka M, Popławski D. *Proc. of ECOpole.* 2016;10:165-173. DOI: 10.2429/proc.2016.10(1)019.

PHISICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SELECTED FERTILIZER CHELATES

Department of Technology and Chemical Processes, Faculty of Chemistry
Wroclaw University of Science and Technology

Abstract: Causes of population growth include increasing the area of arable land, the introduction of new species of plants and soil depletion, which led to the development of the fertilizer industry macro- and micronutrients. Micronutrients in the form of chelates have a greater collection trace element, facilitate the movement of the plant, which are characterized by faster and more efficient operation, even under conditions of reduced humidity. The tick structure which is formed provides durability and stabilization of the micronutrient. The Regulation of the European Parliament and of the Council EC No 2003/2003 of 13 October 2003 is described 13 compounds belonging to the aminopolycarboxylic group (APCAs). Ligand from the group APCA reacts with trace elements in a molar ratio of 1:1, is highly soluble in water, stabilized trace element in a wide range of pH and a high degree of complexation. This type of fertilizer are 2-5 times more efficient than inorganic sulfate salts. The high degree of nutrients uptake can reduce the dosage of fertilizers, which minimize the adverse effects on the environment. The use of chelates allows the creation of a preparation comprising one or more microelements occurring deficiency. The aim of the study is to analyze the physicochemical properties of selected chelates used in the fertilizer industry.

Keywords: chelate, micronutrients, fertilizer, zinc complexes

Ewelina KLEM-MARCINIAK¹, Dariusz POPŁAWSKI¹, Marta PORWOŁ¹
Joanna PAJĄK¹ i Krystyna HOFFMANN¹

HODOWLA OSADU PRZEZNACZONEGO DO BADAŃ BIODEGRADACJI CHELATÓW NAWOZOWYCH

BREEDING OF THE ACTIVATED SLUDGE TO USE FOR STUDIES ON BIODEGRADATION OF FERTILIZER CHELATES

Abstrakt: Chelaty mikroelementowe znajdują coraz częściej zastosowanie w produkcji nawozów płynnych i drobnokrystalicznych. Ligandy o właściwościach chelatujących pozwalają stabilizować mikroskładnik w szerokim zakresie pH oraz zapewniają lepszą i skuteczniejszą przyswajalność. Związki należące do grupy aminopolikarboksylowych (APCAs) stosowane są w produkcji nawozów. Najczęściej wykorzystywana jest sól sodowa kwasu etylenodiaminotetra octowego (EDTA). Związek ten zaliczany jest do substancji niebiodegradowalnych. Jego wysokie stężenie występuje w środowisku nawet po 15 latach i może powodować remobilizację metali dennyh i rzecznych, eutrofizację wód, a w konsekwencji wprowadzenie metali ciężkich do łańcucha pokarmowego. Wpływ na środowisko naturalne określa się poprzez czas rozkładu związku pod wpływem mikroorganizmów. Stopień biodegradacji wyznacza się metodą testu statycznego i kinetycznego. W obu metodach istotna jest jakość zastosowanego osadu czynnego pobieranego z oczyszczalni ścieków. Celem badań było określenie właściwości fizykochemicznych osadu czynnego pobranego bezpośrednio z komór napowietrzających w oczyszczalni ścieków oraz modyfikacja sposobu hodowli osadu w taki sposób, by umożliwić wykorzystywanie go do badań biodegradacji chelatów nawozowych.

Słowa kluczowe: chelaty, mikroelementy, nawóz, osad czynny

Wprowadzenie

Zintensyfikowana gospodarka doprowadziła do zubożenia gleb w makro- i mikroelementy. By zniwelować występujące zjawisko, konieczne jest uzupełnienie niedoborów składników pokarmowych poprzez nawożenie. Warunkiem prawidłowego rozwoju roślin jest dostarczenie makroelementów, do których zalicza się między innymi fosfor, siarkę, potas, wapń, magnez, oraz mikroelementów. Obecnie grupa mikroskładników składa się z około 30 pierwiastków. Do najpopularniejszych, będących składnikami preparatów nawozowych, zalicza się mangan, żelazo, cynk, miedź, bor, molibden. Tylko niewielki ułamek mikroelementów zawartych w glebie stanowi przydatną i łatwo przyswajalną przez rośliny formę tych pierwiastków. Znaczna część całkowitej zawartości mikropierwiastków uznawana jest za potencjalne źródło, z którego pierwiastki śladowe zostaną uwolnione w wyniku procesów wietrzenia minerałów oraz mineralizacji materii organicznej. Szybkość zachodzenia tych procesów jest różna w zależności od różnego rodzaju gleb. Mikropierwiastki są konieczne do prawidłowego wzrostu rośliny, ponieważ wchodzi w skład wielu systemów enzymatycznych oraz katalizują przemiany chemiczne zachodzące w komórkach żywych. Umożliwiają także łatwiejsze przyswajanie makroelementów przez organizmy zielone. Zapotrzebowanie roślin na mikroelementy w stosunku do makroelementów jest zdecydowanie mniejsze (od kilku do kilkuset gramów na 1 ha uprawy) i bardziej zróżnicowane [1-4].

¹ Zakład Technologii i Procesów Chemicznych, Politechnika Wroclawska, ul. M. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 20 65, fax 71 328 04 25, email: krystyna.hoffmann@pwr.edu.pl
Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

Nawozy mikroelementowe produkowane są w formie: nawozów stałych z dodatkiem soli mikroelementowych, nawozów płynnych z dodatkiem soli mikroelementowych, nawozów specjalnych, fryt nawozowych oraz chelatów. Obecnie jednym z najpopularniejszych rozwiązań w produkcji mikronawozów jest wykorzystanie związków chelatujących. Są to syntetyczne związki kompleksowe, które posiadają połączenia kleszczowe między organicznym ligandem i mikroelementem. Dzięki temu ich struktura charakteryzuje się dużą trwałością oraz stabilnością. Specyficzna budowa kompleksu ułatwia ich przemieszczanie się w roślinie. Dodatkowo ligandy o właściwościach chelatujących pozwalają stabilizować mikroskładnik w szerokim zakresie pH, zapewniając lepszą i skuteczniejszą przyswajalność składników odżywczych przez roślinę. Chelaty pozwalają na jednorazowe wprowadzenie kilku mikroelementów do środowiska, dlatego mogą być stosowane jako płynne nawozy wieloskładnikowe podczas trwania całego cyklu wegetacji. Dawkowanie tego typu nawozów jest mniejsze, co ogranicza niekorzystny wpływ na środowisko. Związki chelatujące powinny charakteryzować się biodegradowalnością nieprzekraczającą znacznie czasu pobrania mikroelementu nawozowego przez roślinę. Współcześnie stosowane związki chelatujące to głównie związki należące do grupy aminopolikarboksyłowych (APCAs). Charakteryzują się zdolnością do tworzenia kompleksów z jonami metali. Wykazują trwałość chemiczną oraz termiczną. Są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Zatwierdzone przez Parlament Europejski czynniki chelatujące zostały zapisane w Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 marca 2012 roku (tab. 1) [1, 3-7].

Tabela 1

Czynniki chelatujące [5]

Table 1

Fertilizers chelating agents [5]

Lp.	Kwasy lub sole	Skrót	Wzór sumaryczny
1	kwasy etylenodiaminotetraoctowy	EDTA	$C_{10}H_{16}O_8N_2$
2	kwasy 2-hydroksyetylenodiaminotrioctowy	HEEDTA	$C_{10}H_{18}O_7N_2$
3	kwasy dietylenotriaminopentaoctowy	DTPA	$C_{14}H_{25}O_{10}N_5$
4	kwasy [o,o]: etylenodiamino-di [(orto-hydroksyfenylo)octowy]	[o,o] EDDHA	$C_{18}H_{20}O_6N_2$
5	kwasy [o,p]: etylenodiamino-N-[(orto-hydroksyfenylo)octowy]-N'-[(para-hydroksyfenylo)octowy]	[o,p] EDDHA	$C_{18}H_{20}O_6N_2$
6	kwasy [o,o]: etylenodiamino-N,N'-di[(orto-hydroksymetylofenylo)octowy]	[o,o] EDDHMA	$C_{20}H_{24}O_6N_2$
7	kwasy [o,p]: etylenodiamino-N-[(orto-hydroksymetylofenylo)octowy]-N'-[(para-hydroksymetylofenylo)octowy]	[o,p] EDDHMA	$C_{20}H_{24}O_6N_2$
8	kwasy etylenodiamino-N,N'-di [(5-karboksy-2-hydroksyfenylo)octowy]	EDDCHA	$C_{20}H_{20}O_{10}N_2$
9	kwasy etylenodiamino-N,N'-di [(2-hydroksy-5-sulfofenylo)octowy] oraz produkty jego kondensacji	EDDHSA	$C_{18}H_{20}O_{12}N_2S_2+n^*(C_{12}H_{14}O_8N_2S)$
10	kwasy iminodiburszynowy	IDHA	$C_8H_{11}O_8N$
11	kwasy N,N'-di (2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-dioctowy	HBED	$C_{20}H_{24}N_2O_6$

Najczęściej stosowany jest kwas lub sól disodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA). Związek ten jest zaliczany do związków niebiodegradowalnych. Wprowadzony do środowiska utrzymuje wysokie stężenie przez kilkanaście lat. Niszcząco wpływa na

faunę, powodując remobilizację metali dennych i rzecznych, eutrofizację wód, a w konsekwencji wprowadzenie do łańcucha pokarmowego metali ciężkich [6, 8].

Przyszłość przemysłu nawozowego bezpośrednio związana jest z rozwojem biodegradowalnych związków chelatujących mikroelementy. Nadal poszukuje się nowych substancji chelatujących, które będą charakteryzowały się wysokim stopniem skompleksowania oraz odpowiednim czasem biodegradacji. By określić wpływ na środowisko związków kompleksujących mikroelementy nawozowe, należy zbadać ich podatność na biodegradację, stosując test kinetyczny oraz statyczny. W obu tych metodach wykorzystywany jest osad czynny [9].

Biodegradacja związków chelatujących w środowisku wodnym w warunkach testu statycznego prowadzona jest zgodnie z zaleceniami zawartymi w normie PN-88/C-05561 [10]. Opiera się na określeniu szybkości, z jaką maleje stężenie tego związku na podłożu mineralnym zaszczerpionym osadem czynnym. Odbywa się to w warunkach tlenowych, w temperaturze pokojowej. Proces prowadzi się przez 20 dni. Podatność na biochemiczny rozkład ocenia się na podstawie prowadzonych codziennie oznaczeń stężenia badanego związku, chemicznego zapotrzebowania na tlen i pomiaru pH. Dodatkowo określa się czas adaptacji biomasy, czyli okresu, kiedy rozkład zachodzi w minimalnym stopniu lub nie zachodzi wcale [10].

Przeprowadzenie biodegradacji w warunkach testu kinetycznego polega na oznaczeniu efektywności biochemicznego utleniania badanego związku chelatującego w urządzeniu modelowym. Aparatura składa się ze zbiornika zasilającego oraz zbiornika dla odpływu, komory napowietrzania oraz osadnika wtórnego. Codziennie doprowadza się świeże ścieki syntetyczne oraz roztwór badanego związku. Dopływ dozowany jest w takiej ilości, aby czas kontaktu dopływu z osadem czynnym w komorze napowietrzania wynosił około 3 godziny. Po tygodniowym czasie adaptacji osadu stężenie wprowadzanego związku chelatującego zwiększa się zgodnie z instrukcjami zawartymi w normie PN-C-04646:2001 [11]. Redukcję określa się na podstawie analizy zawartości badanego związku oraz chemicznego zapotrzebowania na tlen. Pomiarów dokonuje się w dopływie przed kontaktem z osadem czynnym i w odpływie po kontakcie z osadem czynnym. Dodatkowo wykonuje się oznaczenia przewodnictwa elektrolitycznego, pH oraz temperatury [11].

Metodyka badań

W badaniach wykorzystano osad czynny pochodzących z oczyszczalni ścieków z Kątów Wrocławskich. Jest to oczyszczalnia mechaniczno-biologiczna z osadem czynnym. Oczyszcza 2900 m³/dobę ścieków komunalnych doprowadzanych klasyczną siecią kanalizacyjną oraz ścieków dostarczanych samochodami asenizacyjnymi z pobliskiego terenu. Zakład nastawiony jest na wysoki stopień neutralizacji związków fosforu i azotu, które mogą powodować eutrofizację wód. Stosowany proces technologiczny opiera się na oczyszczaniu mechanicznym, biologicznym oraz przeróbce osadów. Oczyszczony ściek trafia do osadnika wtórnego, gdzie w wyniku sedymentacji oddzielany jest od osadu czynnego. Klarowny ściek trafia do rzeki Bystrzycy, a osad jest recykulowany do komory. Osad, pochodzący z Oczyszczalni Ścieków w Kątach Wrocławskich, hodowany jest bez dodatku związków żelaza - PIX i PAX. Są to środki strącające oraz koagulujące, które wspomagają proces oczyszczania ścieków, wiążąc

siarczki oraz eliminując przykry zapach. W hodowli laboratoryjnej osadu czynnego związku PIX oraz PAX niekorzystnie wpływają na kondycję osadu oraz zafałszowują przeprowadzane testy do biodegradacji [12, 13].

Laboratoryjną hodowlę osadu czynnego prowadzono zgodnie z normą PN-C-04616-10:1987 [9]. Wykorzystywany osad stanowi kłaczkowatą zawiesinę mikroorganizmów zawierającą między innymi bakterie heterotroficzne, wiciowce, pierwotniaki, orzęski oraz małe bezkręgowce. Najistotniejszymi mikroorganizmami są orzęski osiadłe. Ich dominacja jest wskaźnikiem efektywnego oczyszczania ścieków. Hodowla osadu czynnego w warunkach laboratoryjnych opiera się na namnażaniu biomasy. Odbywa się to w trzech bioreaktorach, każdy o pojemności roboczej $3,5 \text{ dm}^3$ (rys. 1). Reaktory zaopatrzone są w pompki wodne zakończone kamieniami napowietrzającymi. W ten sposób osad poddawany jest aeracji. Stałe napowietrzanie zapewnia również ciągły ruch w całej objętości bioreaktora, co zabiega osiadaniu i gniciu osadu. Cały proces zachodzi w warunkach ciśnienia atmosferycznego oraz w temperaturze 21°C [9-13].



Rys. 1. Bioreaktory służące do hodowli osadu czynnego

Fig. 1. Bioreactor used to breeding of the activated sludge

Do każdego z bioreaktorów codziennie dolewano świeżo przygotowaną porcję ścieków. Syntetyczne ścieki swoim składem ilościowym i jakościowym odpowiadały typowym ściekom bytowo-gospodarczym. Stanowiły one roztwory podstawowych składników organicznych i mineralnych. Roztwory przygotowywano w kolbach o pojemności 1 dm^3 poprzez dodanie odpowiednich składników, a następnie uzupełnieniu wodą destylowaną. Skład jakościowy wszystkich roztworów ścieków syntetycznych przedstawiono w tabeli 2. Wprowadzane do reaktorów próbki ścieków stanowiły mieszaninę 5 cm^3 z każdego rodzaju ścieku syntetycznego oraz wody destylowanej, której ilość zależała od rozcieńczenia osadu. Sposób przygotowania próbek pokarmu opracowano na podstawie danych literaturowych oraz własnych doświadczeń.

Skład jakościowy poszczególnych ścieków syntetycznych

Tabela 2

Qualitative composition of synthetic sewage

Table 2

Numer kolby ze ściekiem syntetycznym	Związek	Ilość substratu [g/dm ³]
1	Glukoza	25
	Bulion suchy	76,25
2	Octan sodu	2,5
	Fosforan potasu I zas.	2,5
	Fosforan potasu II zas.	6,25
	Chlorek amonu CZDA	2,5
	Chlorek potasu	6,25
	Chlorek sodu	6,25
3	Siarczan magnezu	5
	Siarczan manganu II	0,612
4	Chlorek wapnia bezw.	0,973
5	Węglan potasu kwaśny	20



Rys. 2. Mikroorganizmy występujące w osadzie czynnym - orzęski osiadłe

Fig. 2. The microorganisms present in activated sludge - *Epistylis plicatilis*

Po upływie 7 dni od rozpoczęcia hodowli osadu czynnego w warunkach laboratoryjnych wprowadzono recyrkulację. Codziennie podczas podawania pokarmu zlewano 50 cm³ zalegającego w dolnych partiach bioreaktora osadu. Operacja ta pozwala utrzymać osad w dobrej kondycji i zapobiega jego starzeniu się. Każdorazowo pobierano również próbkę do badań mikroskopowych określających obecność oraz udział odpowiednich gatunków mikroorganizmów. Najczęściej występującymi mikroorganizmami były orzęski osiadłe (rys. 2), wolno pływające oraz wrotki (rys. 3) [9, 13-15].



Rys. 3. Mikroorganizmy występujące w osadzie czynnym - wrotek

Fig. 3. The microorganisms present in activated sludge - *Platyzoa*

Wyniki przeprowadzonych badań

Tabela 3

Results of the research

Table 3

Pomiar	Próbka	Wynik	
		$t = 0$ dni	$t = 20$ dni
Zawartość wapnia	ściek	0,42%	0,093%
	osad	0,38%	0,101%
Zawartość magnezu	ściek	0,015%	0,024%
	osad	0,001%	0,064%
ChZT metodą dichromianową	osad	2004,5 mg O ₂ /dm ³	4907,5 mg O ₂ /dm ³
ChZT metodą nadmanganianową	osad	9,26 mg O ₂ /dm ³	8,18 mg O ₂ /dm ³
Zawartość związków żelaza	ściek	2,33 mg Fe/100 g próbki	1,61 mg Fe/100 g próbki
	osad	6,67 mg Fe/100 g próbki	1,54 mg Fe/100 g próbki
Zawartość związków fosforu	osad	0,028 mg P ₂ O ₅ /100 g próbki	0,012 mg P ₂ O ₅ /100 g próbki
Zawartość OWO	ściek	0,013%	0,003%
	osad	0,29%	0,16%
Zawartość wilgoci	osad	95,41%	95,32%
Zawartość zawiesin	osad	1,26 mg/dm ³	4,07 mg/dm ³
pH	osad	7,75	-

Badania kontrolne hodowli osadu czynnego w warunkach laboratoryjnych wykonano w dniu rozpoczęcia hodowli oraz po upływie 20 dni od jej rozpoczęcia. Dokonano oznaczeń w ściekach:

- chemicznego zapotrzebowania tlenu wg PN-EN ISO 8467:2001 oraz PN-ISO 6060:2006 [16, 17]
- zawartości ogólnego węgla organicznego (OWO) wg PN-Z-15011-3:2001 [18]

- zawartości związków fosforu wg PN-EN ISO 6878:2006 [19]
 - zawartości zawiesin ogólnych wg PN-EN 872:2002 [20]
 - zawartości związków żelaza
 - zawartości wapnia i magnezu
 - zawartości wilgoci
 - pomiar pH
- Wyniki przeprowadzonych badań zestawiono w tabeli 3.

Omówienie wyników badań

W celu modyfikacji sposobu hodowli osadu czynnego w warunkach laboratoryjnych przeprowadzono oznaczenia chemicznego zapotrzebowania tlenu dwoma metodami - nadmanganianową oraz dichromianową, zawartości ogólnego węgla organicznego, zawartości związków fosforu i żelaza, zawartości zawiesin ogólnych i wilgoci, zawartości związków wapnia i magnezu oraz pomiaru pH. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

Osad czynny pochodzący z oczyszczalni ścieków w Kątach Wrocławskich jest dobrym substratem do hodowli laboratoryjnej osadu czynnego. Jednym z najważniejszych parametrów do hodowli jest zawartość żelaza oraz fosforu. Omawiane pierwiastki biogenne prowadzą do obumierania osadu oraz zahamują proces biodegradacji. Z przedstawionych badań wynika, że ilość żelaza i fosforu w próbce maleje wraz z upływem czasu. Wraz ze wzrostem zawartości zawiesin w osadzie zwiększa wydajność oczyszczania ścieków. Badany substrat wykazuje 4-krotny wzrost ilości zawiesin w ciągu 20 dni hodowli, co świadczy o wysokiej efektywności oczyszczania. Pomiar chemicznego zapotrzebowania na tlen informuje o aktywności mikroorganizmów w rozkładzie związków organicznych. Zaprezentowane efekty przeprowadzonych prób ChZT dwoma metodami - nadmanganianową oraz dichromianową - świadczą o wysokiej aktywności biomasy, która będzie wykorzystywana w procesie rozkładu związków organicznych.

Wnioski

Celem pracy było opracowanie i modyfikacja sposobu hodowli osadu, który umożliwiłby jego wykorzystanie do testów biodegradacji. Jakość osadu odgrywa nadrzędną rolę w prowadzeniu procesu biodegradacji. Rodzaj oraz ilość zawartych związków wpływa bezpośrednio na efektywność przebiegu redukcji ligandów o właściwościach chelatujących wykorzystywanych w przemyśle nawozowym. Wysokie stężenie pierwiastków biogennych zahamowuje ich biorozkład. Szczególnie niekorzystnie na proces biodegradacji ligandów wpływa wysokie stężenie żelaza, które jest chelatowane przez związki należące do grupy aminopolikarboksylowych (APCAs). Żelazo wprowadzane jest do osadu czynnego w postaci związków PIX i PAX. Obecnie większość oczyszczalni ścieków stosuje koagulanty, ponieważ poprawiają jakość oczyszczania oraz eliminują przykry zapach. Oczyszczalnia ścieków w Kątach Wrocławskich jest jednym z nielicznych zakładów niedodających PIX i PAX. Opracowana metoda hodowli osadu czynnego oraz modyfikacja składu ścieków pozwoliły na wykorzystanie badanego osadu czynnego w dalszych doświadczeniach.

Podziękowania

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej.
Nr zlec. S50136/Z-0314

Literatura

- [1] Hoffmann J, Hoffmann K. *Przem Chem.* 2006;8-9:827-830.
- [2] Lityński T. *Mikroelementy w życiu roślin, zwierząt i ludzi.* Kraków: Państw. Wyd. Naukowe; 1967.
- [3] Fagria NK, Filho MP, Moreira A, Guimaraes CM. *J Plant Nutr.* 2009;32(6):1044-1064. DOI: 10.1080/01904160902872826.
- [4] Szkolnik M. *Mikroelementy w życiu roślin.* Warszawa: Państw. Wyd. Rolnicze i Leśne; 1980.
- [5] Regulation (EC) No 2003/2003 of the European Parliament and of the Council of 14 June 2012 relating to fertilisers. (Rozporządzenie (WE) nr 2003/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 14 czerwca 2012 r. w sprawie nawozów). <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/En/TXT/PDF/?uri=CELEX:02003R2003-20130607&rid=2>.
- [6] Blom E, Haneklaus S, Schnug E. *Sci Total Environ.* 2017;577:166-173. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.153.
- [7] Pinto I, Neto I, Soaes H. *Environ Sci Pollut Res.* 2014;21:11893-11906. DOI: 10.1007/s11356-014-2592-6.
- [8] Chen L, Liu T, Ma C. *J Phys. Chem. A* 2010;114:443-454. DOI: 10.1021/jp904296m.
- [9] Polska Norma: PN-C-04616-10:1987. *Badania specjalne osadów. Hodowla standardowego osadu czynnego w warunkach laboratoryjnych.* <http://sklep.pkn.pl/pn-c-04616-10-1987p.html>.
- [10] Polska Norma: PN-C-05561:1988. *Badanie tlenowej biodegradacji związków organicznych w środowisku wodnym w warunkach testu statycznego.* <http://sklep.pkn.pl/pn-c-05561-1988p.html>.
- [11] Polska Norma: PN-C-04646:2001. *Badanie biodegradacji „częściowej” anionowych i niejonowych substancji powierzchniowo czynnych. Test potwierdzający metodą osadu czynnego.* <http://sklep.pkn.pl/pn-c-04646-2001p.html>.
- [12] Neto I, Pinto I, Soares H. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2014;21(20):11893-906, DOI: 10.1007/s11356-014-2592-6.
- [13] Kowalska A, Lenart A. *Kosmos Problemy Nauk Biol.* 2012; 297:677-689.
- [14] Kocwa-Haluch R, Woźniakiewicz T. *Czasopismo Techniczne.* 2011;108:142-161.
- [15] Błaszczuk M. *Mikroorganizmy w ochronie środowiska.* Warszawa: Wyd. Naukowe PWN; 2009.
- [16] Polska Norma PN-EN ISO 8467:2001. *Jakość wody - oznaczanie indeksu nadmanganianowego.* <http://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-8467-2001p.html>.
- [17] Polska Norma: PN-ISO 6060:2006. *Oznaczanie chemicznego zapotrzebowania tlenu.* <http://sklep.pkn.pl/pn-iso-6060-2006p.html>.
- [18] Polska Norma: PN-Z-15011-3:2001. *Kompost z odpadów komunalnych. Oznaczanie: pH, zawartości substancji organicznej, węgla organicznego, azotu, fosforu i potasu.* <http://sklep.pkn.pl/pn-z-15011-3-2001p.html>.
- [19] Polska Norma: PN-EN ISO 6878:2006. *Oznaczanie fosforu. Metoda spektrometryczna z molibdenianem amonu.* <http://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-6878-2006p.html>.
- [20] Polska Norma: PN-EN 872:2002. *Badanie zawartości zawiesin. Oznaczanie zawiesin ogólnych, mineralnych i lotnych metodą wagową.* <http://sklep.pkn.pl/pn-en-872-2002p.html,options=cart>.

BREEDING OF THE ACTIVATED SLUDGE TO USE FOR STUDIES ON BIODEGRADATION OF FERTILIZER CHELATES

Department of Technology and Chemical Processes and Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry
Wrocław University of Science and Technology

Abstract: Microelement chelates are increasingly being used in the production of liquid fertilizers and fine crystal. Ligands for chelating properties allow to stabilize trace elements in wide range of pH and provide better and more efficient assimilation. The compounds belonging to aminopolycarboxylic group (APCAs) are used in fertilizer

production. Most commonly used is the sodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). This compound is one of the substances, which are not biodegradable. High concentrations found in the environment even after 15 years and may cause remobilization of metal from river bottom, eutrophication and consequently, the introduction of heavy metals into the food chain. Impact on the environment is determined by the time distribution of the compound under the influence of microorganisms. The degree of biodegradation is determined by static and kinetic test. In both methods, it is important quality of the used activated sludge taken from wastewater treatment plants. The aim of the study was to determine the physicochemical properties of the activated sludge downloaded directly from the aeration chambers in sewage treatment plant and modification of breeding activated sludge in such a way as to allow use it to research fertilizer chelate biodegradation.

Keywords: chelate, micronutrients, fertilizer, activated sludge

Sabina KORDANA¹, Kamil POCHWAT¹ i Daniel SŁYŚ¹

OCENA RACJONALNOŚCI ZASTOSOWANIA SYSTEMU ODZYSKU CIEPŁA ZE ŚCIEKÓW SZARYCH Z WYKORZYSTANIEM ANALIZY SWOT

RATIONALITY ASSESSMENT OF DRAIN WATER HEAT RECOVERY SYSTEM APPLICATION USING SWOT ANALYSIS

Abstrakt: Efektem rozwoju świadomości ekologicznej społeczeństwa jest wzrost zainteresowania wykorzystaniem niekonwencjonalnych źródeł energii. Szczególna uwaga poświęcana jest jednak energii odnawialnej, podczas gdy znaczenie energii odpadowej jest marginalizowane, co powoduje, że znaczna jej część jest bezproduktywnie odprowadzana do otoczenia. Obecny rozwój techniki pozwala wprawdzie na odzyskiwanie tej formy energii, jednakże brak szerokiej wiedzy na temat racjonalności zastosowania systemów odzysku ciepła odpadowego, szczególnie na etapie indywidualnej konsumpcji energii, wyraźnie ogranicza możliwość ich implementacji. Jednym z nośników energii odpadowej, który może pełnić rolę alternatywnego źródła energii do podgrzewania wody w budynkach mieszkalnych i usługowych, są ścieki szare. Zawarte w nich ciepło może zostać przekazane do dopływającej wody wodociągowej za pomocą wymienników ciepła o specjalnej konstrukcji. Dostępność stosownych rozwiązań na polskim rynku jest jednak ograniczona, co powoduje potrzebę propagowania takiej formy zrównoważonego gospodarowania energią wśród mieszkańców w celu zwiększenia popytu na te urządzenia. Celem artykułu jest zdefiniowanie oraz przeanalizowanie mocnych i słabych stron systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych odprowadzanych z prysznicza, jak również potencjalnych szans i zagrożeń wynikających z ich stosowania. Jako narzędzie wykorzystano analizę SWOT, która umożliwia precyzyjne uporządkowanie informacji oraz pozwala przedstawić cechy badanego przedsięwzięcia w klarowny dla odbiorcy sposób. Aplikacja otrzymanych wyników badań w proces edukacji prośrodowiskowej przyczyni się do wzrostu stopnia akceptacji dla takich rozwiązań, a w rezultacie także do zwiększenia liczby systemów odzysku ciepła stosowanych przez mieszkańców.

Słowa kluczowe: analiza SWOT/TOWS, odzysk ciepła odpadowego, ścieki szare, wymiennik ciepła DWHR

Wprowadzenie

Obserwowany w ostatnich latach wzrost zainteresowania wykorzystaniem niekonwencjonalnych źródeł energii jest naturalnym następstwem zarówno zwiększonego zapotrzebowania na energię, jak i rozwoju świadomości ekologicznej społeczeństwa w aspekcie ochrony zasobów środowiska.

Szereg państw wciąż boryka się jednak z problemem niedostatecznej znajomości zagadnień dotyczących zrównoważonego gospodarowania energią, czego konsekwencją jest nadmierna eksploatacja surowców kopalnych. Przykładem takiego kraju jest Polska, gdzie sektor energetyczny opiera się w ponad 80% na konwencjonalnych nośnikach energii, głównie węgla kamiennym i brunatnym [1]. Następstwem krótkowzrocznego podejścia do kwestii pozyskiwania i wykorzystania zasobów węgla są pogarszające się warunki jego wydobywania oraz nadmierna emisja do atmosfery produktów spalania paliw, szczególnie ditlenku węgla pochodzenia antropogenicznego [2]. Jednym z obszarów,

¹ Zakład Infrastruktury i Ekorozwoju, Wydział Budownictwa, Inżynierii Środowiska i Architektury, Politechnika Rzeszowska, al. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, tel. 17 74 32 409, 17 86 51 784, email: sk@prz.edu.pl, kp@prz.edu.pl, daniels@prz.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'16, Zakopane, 5-8.10.2016

którego funkcjonowanie uzależnione jest od dostępności surowców kopalnych, jest budownictwo. Szacuje się, że sumaryczne zużycie energii w budynkach mieszkalnych i usługowych stanowi ponad 20% zapotrzebowania światowego [3]. W przypadku Polski udział budynków w całkowitym bilansie zużycia energii znacznie przekracza średnią światową, gdyż same gospodarstwa domowe odpowiedzialne są tu za konsumpcję około 33% energii finalnej [4]. Istotną kwestią jest zatem umożliwienie wdrażania proekologicznych systemów energetycznych przeznaczonych do zastosowania w budynkach oraz sprzyjanie ich dalszemu rozwojowi.

Kreowanie zrównoważonego podejścia do problemu wyboru systemu zaopatrzenia budynku w energię, podobnie jak ma to miejsce w przypadku innych dziedzin życia [5, 6], wymaga kompleksowej wiedzy w zakresie możliwości wykorzystania potencjalnych źródeł ciepła. Z tego względu uwaga skupiana jest na źródłach energii odnawialnej. Znaczenie energii odpadowej jest natomiast marginalizowane, co powoduje, że większa jej część jest bezproduktywnie odprowadzana do otoczenia i bezpowrotnie tracona.

Jednym ze źródeł energii odpadowej, które z powodzeniem może zostać wykorzystane w budynkach, są ścieki szare. Obecny rozwój techniki pozwala na odzyskiwanie zdeponowanego w nich ciepła zarówno na etapie transportu i utylizacji, jak i bezpośrednio u źródła ich powstawania [7-9]. Brak szerokiej znajomości zagadnień dotyczących możliwości pozyskiwania niesionego przez ścieki ciepła skutkuje jednak znikomym zainteresowaniem ze strony potencjalnych odbiorców tego ciepła oraz niewielką podażą stosownych urządzeń na polskim rynku, co dodatkowo utrudnia ekspansję systemów odzysku ciepła ze ścieków.

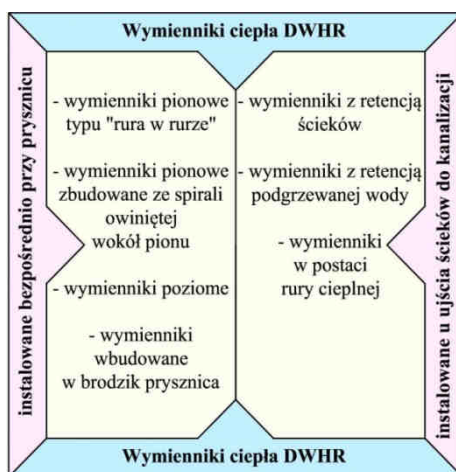
W celu zwiększenia stopnia akceptacji dla instalacji odzysku ciepła ze ścieków szarych odprowadzanych z prysznica, jak również stopnia ich implementacji w budynkach mieszkalnych, w artykule przedstawiono mocne i słabe strony takiego rozwiązania. Opisano także potencjalne szanse i zagrożenia wynikające z eksploatacji systemów odzysku ciepła ze ścieków w budynkach mieszkalnych oraz określono strategię ich rozwoju. Jako narzędzie wykorzystano analizę SWOT, która stosowana jest w celu precyzyjnego uporządkowania informacji oraz przedstawienia ich w czytelny dla odbiorcy sposób.

Metodyka badań

Analiza SWOT (*Strengths - Weaknesses - Opportunities - Threats*) zaliczana jest do metod planowania strategicznego. Najczęściej znajduje zastosowanie w przypadku konieczności wyznaczenia strategii rozwoju organizacji i przedsiębiorstw, jednakże niekiedy wykorzystywana jest także w celu oceny osób czy projektów inwestycyjnych [10].

Założeniem metody jest usystematyzowanie informacji dotyczących obiektu badań w czterech charakterystycznych grupach, które przedstawiono na rysunku 1, oraz zidentyfikowanie powiązań występujących między elementami przyporządkowanymi do poszczególnych grup. Mocne i słabe strony ocenianego projektu zaliczane są do czynników wewnętrznych, natomiast szanse i zagrożenia - do czynników zewnętrznych. Mocne strony (zalety) pozwalają wykorzystywać pojawiające się szanse oraz pokonywać ewentualne zagrożenia. Z kolei słabe strony (wady) potęgują zagrożenia i uniemożliwiają czerpanie korzyści ze sprzyjających rozwojowi szans [11, 12].

potencjalnych użytkowników oraz inwestorów. Ponadto w wielu przypadkach podaż tych urządzeń na rynku jest niewystarczająca, co dodatkowo utrudnia ekspansję systemów odzysku ciepła ze ścieków.



Rys. 2. Klasyfikacja urządzeń DWHR (na podstawie [8])

Fig. 2. Classification of DWHR units (based on [8])

Analiza SWOT systemów DWHR

W celu zwiększenia świadomości ekologicznej społeczeństwa odnośnie do możliwości zastosowania systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych odprowadzanych z prysznicza przeprowadzono analizę SWOT takiego rozwiązania. W tabeli 1 zestawiono po pięć najważniejszych czynników opisujących mocne i słabe strony rozpatrywanych systemów, jak również potencjalne szanse i zagrożenia związane z ich implementacją. Na podstawie opinii zespołu ekspertów, w skład którego wchodziło przedstawicieli pracowników naukowych oraz wykonawców i operatorów instalacji sanitarnych w budynkach, wymienionym czynnikom przypisano wagi. Wagi te uwzględniono w dalszej części analizy, a jej wyniki opisano w kolejnym podrozdziale.

Do mocnych stron systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych zaliczono możliwość wyraźnego zredukowania zużycia kopalnych surowców energetycznych w porównaniu do sytuacji, gdy eksploatowane są instalacje konwencjonalne. Zastosowanie urządzeń DWHR pozwala bowiem odzyskać od około 30 do ponad 60% niesionej przez ścieki energii [16]. Najwyższe korzyści zauważalne są w przypadku wymienników pionowych, które charakteryzuje największa powierzchnia wymiany ciepła pomiędzy odprowadzanymi z prysznicza ściekami a podgrzewaną wodą. Wynika to z faktu, iż wprowadzone do pionowego przewodu ścieki nie wypełniają jego całego przekroju, lecz spływają po ściankach. Zweryfikowano to, wykonując symulacje przepływu cieczy w wymienniku ciepła DWHR za pomocą oprogramowania do modelowania dynamiki płynów Autodesk Simulation CFD 2015. Wyniki symulacji przedstawiono na rysunku 3, na którym przestrzeń zajmowana przez przepływające ścieki została oznaczona kolorem czerwonym.

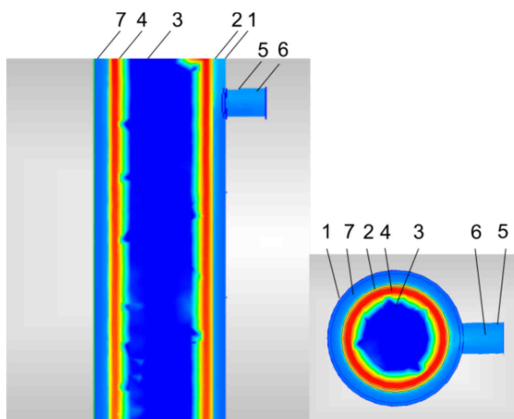
Analiza SWOT systemów przeznaczonych do odzysku ciepła ze ścieków szarych

Tabela 1

Table 1

SWOT analysis of Drain Water Heat Recovery systems

Mocne strony	Waga	Słabe strony	Waga
1. Niskie zużycie energii na potrzeby przygotowania ciepłej wody użytkowej	0,30	1. Brak doświadczenia w eksploatacji systemów DWHR	0,15
2. Niezależność źródła ciepła od warunków atmosferycznych	0,25	2. Brak wytycznych dotyczących stosowania systemów odzysku ciepła ze ścieków	0,20
3. Duża różnorodność opracowanych konstrukcji wymienników ciepła DWHR	0,10	3. Stosunkowo wysokie koszty inwestycyjne	0,25
4. Bezpieczna i komfortowa eksploatacja systemu	0,25	4. Uzależnienie efektywności systemu od natężenia przepływu oraz temperatury wody i ścieków	0,25
5. Możliwość łącznego wykorzystania energii odpadowej i odnawialnej	0,10	5. Opóźnienie odzysku ciepła w stosunku do czasu rozpoczęcia kąpieli	0,15
Szanse	Waga	Zagrożenia	Waga
1. Poprawa stanu środowiska naturalnego	0,30	1. Nieprzewidywany okres zwrotu inwestycji	0,30
2. Poprawa budżetu gospodarstw domowych	0,25	2. Brak akceptacji ze strony potencjalnych użytkowników	0,30
3. Poprawa świadomości ekologicznej społeczeństwa	0,15	3. Niewielka dostępność systemów DWHR na polskim rynku	0,25
4. Wprowadzenie regulacji prawnych nakazujących wykorzystanie niekonwencjonalnych źródeł energii	0,10	4. Ryzyko nadmiernego zanieczyszczenia powierzchni wymiennika ciepła DWHR	0,05
5. Rozwój technologii odzysku ciepła ze ścieków	0,20	5. Zły dobór techniki odzysku ciepła	0,10



Rys. 3. Wizualizacja przepływu wody i ścieków przez wymiennik ciepła DWHR uzyskana za pomocą oprogramowania do modelowania CFD: 1 - przewód zewnętrzny z PE, 2 - przewód wewnętrzny z miedzi, 3 - wnętrze pionu kanalizacyjnego, 4 - ścieki, 5 - przewód odpływowy wody, 6 - woda, 7 - płaszcz wodny w urządzeniu DWHR

Fig. 3. The visualization of water and drain water flow inside the DWHR unit obtained using CFD software: 1 - outside PE pipe, 2 - inside copper pipe, 3 - the interior of waste pipe, 4 - drain water, 5 - water outflow, 6 - water, 7 - water jacket

Warto również podkreślić, że w przeciwieństwie do źródeł energii odnawialnej dostępność źródła ciepła, jakim są ścieki szare, jest całkowicie niezależna od panujących warunków atmosferycznych. Preferencje odnośnie do temperatury wykorzystywanej wody zmieszanej nie ulegają bowiem wyraźnym zmianom w ciągu całego roku. Dzięki temu wahania temperatury odprowadzanych do kanalizacji ścieków szarych są nieznaczne, co gwarantuje stabilną pracę systemu.

Do montażu systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych zachęca także różnorodność opracowanych konstrukcji wymienników ciepła DWHR. Różnorodność ta pozwala na wybór optymalnego w danej sytuacji rozwiązania systemu przy uwzględnieniu wielkości instalacji, efektywności urządzeń i ich ceny, jak również dostępności miejsca pod zabudowę systemu. Indywidualne podejście do kwestii wyboru konkretnego typu wymiennika ciepła oraz konfiguracji instalacji ułatwia także rozpatrzenie wszystkich istotnych parametrów projektowych i eksploatacyjnych, które decydują o osiągniętych w trakcie użytkowania systemu oszczędnościach finansowych.

Zaletą odpowiednio zaprojektowanego i wykonanego systemu odzysku ciepła ze ścieków jest także jego bezpieczna i wygodna eksploatacja, gdyż urządzenia DWHR działają bezobsługowo, a ich budowa uniemożliwia kontakt ścieków i podgrzewanej wody. Dodatkowo zmniejszenie różnicy temperatur wody na wlocie i wylocie z podgrzewacza przepływowego, z którym współpracuje wymiennik ciepła, pozwala zwiększyć efektywność podgrzewania wody.

Ostatnią mocną stroną rozpatrywanych systemów, którą uwzględniono w analizie, jest możliwość zintegrowania instalacji odzysku ciepła ze ścieków z instalacją wykorzystującą odnawialne źródła energii. Przykładowo w pracy [17] opisano współpracę wymiennika ciepła DWHR z kolektorami słonecznymi.

Do słabych stron systemów DWHR zaliczyć należy natomiast brak doświadczenia w ich eksploatacji. Co prawda idea wykorzystania zdeponowanego w ściekach ciepła staje się coraz powszechniejsza wśród eksploatorów systemów kanalizacyjnych, jednakże wśród indywidualnych użytkowników energii taki sposób jej pozyskiwania wciąż budzi liczne kontrowersje. Konsekwencją krytycznego podejścia do kwestii wykorzystania ścieków szarych w celu wstępnego podgrzewania wody jest brak zainteresowania systemami DWHR, który powoduje, że dominującym sposobem przygotowania ciepłej wody w obiektach mieszkalnych pozostaje wykorzystanie paliw konwencjonalnych. Sytuacji nie poprawia też brak jakichkolwiek unormowań i regulacji prawnych dotyczących stosowania systemów odzysku ciepła ze ścieków.

Opór ze strony potencjalnych użytkowników potęgują również relatywnie wysokie nakłady inwestycyjne, które należy ponieść na zakup i montaż stosownego urządzenia. W zależności od jego konstrukcji i efektywności, koszt zakupu wymiennika ciepła przeznaczonego do zastosowań w budynkach jednorodzinnych może się wahać w szerokim zakresie od niespełna 2000 zł do ponad 3000 zł. W wielu przypadkach do ceny urządzenia, oprócz kosztów montażu, doliczyć należy także koszt jego transportu z innego kraju.

Istotny jest również fakt, że efektywność działania systemu DWHR, a w rezultacie także osiągnięte oszczędności finansowe, uzależnione są od parametrów działania instalacji, takich jak natężenie wypływu wody zmieszanej z baterii czerpalnej prysznicza czy czas korzystania z wody o określonej temperaturze. Nie bez znaczenia pozostaje też konfiguracja systemu odzysku ciepła, która decyduje o udziale wody przepływającej przez

wymiennik ciepła w jej całkowitym zużyciu [8]. W związku z tym jednoznaczne określenie opłacalności zastosowania takiego systemu nie jest możliwe, co powoduje potrzebę każdorazowego przeprowadzania szczegółowej analizy techniczno-finansowej potencjalnych rozwiązań.

Dodatkowo należy zwrócić uwagę na to, iż długość kąpieli pod prysznicem nie jest tożsama z czasem trwania odzysku ciepła ze ścieków. Przeprowadzone badania wstępne wskazują bowiem, że temperatura wody na odpływie z wymiennika ciepła osiąga pożądany poziom dopiero po upływie kilkudziesięciu sekund, co często nie jest brane pod uwagę w analizie opłacalności zastosowania tych urządzeń.

Oprócz czynników wewnętrznych w pracy przeanalizowano także czynniki zewnętrzne dotyczące stosowania instalacji odzysku ciepła ze ścieków szarych odprowadzanych z prysznicza. Do szans systemów DWHR zaliczono możliwość poprawy stanu środowiska naturalnego związaną z ograniczeniem zapotrzebowania na paliwa konwencjonalne. W efekcie zredukowania zużycia surowców kopalnych zmniejszeniu ulega także emisja do atmosfery produktów ich spalania. Wykorzystanie urządzeń *Drain Water Heat Recovery* z pewnością nie rozwiąże problemu niszczącego oddziaływania sektora energetyki na środowisko naturalne w skali globalnej, jednakże może być małą cegiełką w budowaniu zrównoważonej polityki energetycznej.

Zmniejszeniu zapotrzebowania na energię wykorzystywaną na potrzeby przygotowania ciepłej wody użytkowej towarzyszy również wyraźne obniżenie kosztów ponoszonych za zaopatrzenie budynku w energię. Osiągane oszczędności są tym większe, im wyższa jest cena energii, dlatego zastosowanie systemu DWHR pozwoli chronić budżet domowy w przypadku jej znacznego wzrostu.

Kolejną szansą, która może zapewnić dynamiczny rozwój systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych, jest wzrost świadomości ekologicznej społeczeństwa. Systematyczna edukacja i propagowanie zrównoważonych technologii wśród mieszkańców może bowiem doprowadzić do zwiększenia stopnia akceptacji dla rozwiązań niekonwencjonalnych.

Do powszechnego stosowania urządzeń DWHR mogłoby zachęcić także wprowadzenie nowych wytycznych dotyczących ograniczenia zużycia paliw kopalnych. Obecne regulacje nakładają bowiem do wykorzystania jedynie energii odnawialnej, podczas gdy znaczenie energii odpadowej zawartej w ściekach jest bagatelizowane.

Godne podkreślenia jest również to, że technologia odzysku ciepła ze ścieków jest ciągle rozwijana, co stwarza dogodne warunki do opracowywania nowych konstrukcji wymienników ciepła DWHR oraz doskonalenia już istniejących. To z kolei pozwala mieć nadzieję, że ceny urządzeń dedykowanych do odzysku niesionego przez ścieki szare ciepła ulegną wyraźnemu obniżeniu, dzięki czemu będą one w zasięgu większej liczby mieszkańców. Następnym etapem rozwoju rozpatrywanej technologii pozyskiwania ciepła odpadowego może być także wzrost efektywności dostępnych wymienników ciepła, który zaowocuje zwiększeniem ilości odzyskiwanej ze ścieków energii.

Do czynników zagrażających implementacji systemów DWHR zaliczono z kolei brak możliwości jednoznacznego określenia okresu zwrotu inwestycji, gdyż jest on uzależniony od szeregu czynników, takich jak charakterystyka korzystania z instalacji prysznicowej czy rodzaj wykorzystywanego paliwa. Przykładowo nieprzewidziana zmiana użytkowanego podgrzewacza ciepłej wody z elektrycznego na gazowy będzie skutkować znacznym obniżeniem osiągniętych korzyści finansowych w stosunku do wartości oczekiwanych.

Kolejnym zagrożeniem dla analizowanych systemów jest brak akceptacji ze strony ich potencjalnych użytkowników, który jest naturalną konsekwencją niedostatecznej wiedzy na temat racjonalności zastosowania urządzeń DWHR oraz znikomego doświadczenia w ich eksploatacji. Dodatkowo wśród negatywnych czynników zewnętrznych wymienić należy niewielką podaż stosowanych urządzeń na polskim rynku. Ograniczona liczba dostępnych modeli wymienników ciepła powoduje bowiem potrzebę poszukiwania odpowiednich urządzeń poza granicami naszego kraju, co nie zachęca do ich zakupu.

Projektując systemy odzysku ciepła ze ścieków szarych, należy wziąć pod uwagę również możliwość nadmiernego zanieczyszczenia powierzchni wymiennika ciepła. Tworzenie cienkiej warstwy biofilmu na powierzchni przewodu kanalizacyjnego prowadzi co prawda do intensyfikacji procesu transferu niesionego przez to medium ciepła do podgrzewanej wody, jednakże zbyt duże zanieczyszczenie urządzenia może spowodować obniżenie jego efektywności.

Problemy na etapie eksploatacji systemu DWHR może spowodować także niewłaściwie dobrana technologia odzysku ciepła. Wynika to z faktu, iż niedostosowanie wielkości i rodzaju systemu do charakterystyki użytkownika instalacji prysznicowej w budynku jest jedną z głównych przyczyn jego nieefektywnej pracy.

Wybór strategii rozwoju systemów DWHR

W dalszej kolejności przeanalizowano występowanie interakcji między elementami przypisanymi do grup czynników wewnętrznych i zewnętrznych. W celu zapewnienia kompleksowości i wiarygodności przeprowadzonych badań występowanie relacji oceniono zarówno metodą SWOT, jak i TOWS. Bazując na wytycznych opisanych w pracy [18], opracowano osiem tablic pomocniczych, z pomocą których wyznaczono łączną liczbę interakcji oraz iloczyn interakcji i wag przypisanych poszczególnym czynnikom. Otrzymane wyniki analizy zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2

Zestawienie wyników analizy

Table 2

The summary of analysis results

Kombinacja czynników	Wyniki analizy SWOT		Wyniki analizy TOWS		Wyniki analizy SWOT/TOWS	
	Suma interakcji	Suma iloczynów	Suma interakcji	Suma iloczynów	Suma interakcji	Suma iloczynów
Mocne strony/Szanse	38/2	7,45	26/2	4,75	64/2	12,20
Mocne strony/Zagrożenia	24/2	4,65	28/2	5,85	52/2	10,50
Słabe strony/Szanse	30/2	6,30	22/2	4,20	52/2	10,50
Słabe strony/Zagrożenia	30/2	6,35	32/2	6,55	62/2	12,90

Wyniki przeprowadzonej analizy SWOT („od wewnątrz do zewnątrz”) wskazują na istotną przewagę interakcji występujących między wewnętrznymi i zewnętrznymi czynnikami pozytywnymi. Sugeruje to, iż systemy DWHR posiadają znaczący potencjał rozwoju i należy dążyć do jak największego wykorzystania sprzyjających im szans za pomocą posiadanych przez te systemy mocnych stron. Rezultaty otrzymane w przypadku analizy TOWS („od zewnątrz do wewnątrz”) wskazują jednak, że potencjalne zagrożenia

dla systemów odzysku ciepła ze ścieków potęgują w znacznym stopniu wady tych systemów. Z tego względu należy dążyć do ograniczenia pejoratywnego wpływu słabych stron i zagrożeń, których oddziaływanie może uniemożliwić ekspansję systemów DWHR.

Również wyniki całościowej analizy SWOT/TOWS nie rozstrzygają jednoznacznie, jaką strategię rozwoju powinno się zastosować w przypadku systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych. Największą sumaryczną liczbę interakcji uzyskano co prawda dla kombinacji mocnych stron i szans, jednakże jest ona tylko nieznacznie wyższa od wartości wyznaczonej dla zestawienia czynników negatywnych, które dodatkowo charakteryzuje najwyższy iloczyn wag i interakcji.

Wyznaczone w kolejnych zestawieniach iloczyny wag i interakcji, które określono dla poszczególnych elementów zbiorów, pozwoliły także wskazać czynniki, które cechuje największy wpływ na rozpatrywane systemy. W przypadku negatywnych czynników zewnętrznych najwyższe wyniki w każdym z czterech zestawień, w którym występowały, uzyskano dla zagrożenia związanego z brakiem akceptacji ze strony potencjalnych użytkowników. Potwierdza to potrzebę propagowania zrównoważonego gospodarowania zdeponowaną w ściekach energią, gdyż wyeliminowanie negatywnego nastawienia mieszkańców jest kluczem do wzrostu stopnia wykorzystania systemów DWHR.

Podsumowanie i wnioski

Otrzymane wyniki analizy wskazują na znaczne możliwości ekspansji systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych, które wynikają głównie ze sprzyjających im szans. Z tego względu istotne jest dążenie do jak najlepszego ich wykorzystania z pomocą posiadanych przez systemy DWHR zalet, takich jak niskie zużycie energii na potrzeby przygotowania ciepłej wody użytkowej czy niezależność źródła ciepła od warunków atmosferycznych.

Przeprowadzone badania świadczą jednak także o dużej podatności rozpatrywanych systemów na obecne w środowisku zewnętrznym zagrożenia, pośród których dominującą rolę odgrywa brak akceptacji ze strony potencjalnych użytkowników. Nie bez znaczenia pozostają też słabe strony urządzeń DWHR, do których zaliczono m.in. brak doświadczenia w eksploatacji systemów odzysku ciepła oraz wytycznych dotyczących ich eksploatacji. W związku z tym istotną kwestią pozostaje potrzeba propagowania zastosowania zrównoważonych rozwiązań gospodarki energetycznej oraz edukowanie społeczeństwa, gdyż tylko takie podejście pozwoli zapewnić zdywersyfikowany rozwój rozpatrywanych systemów oraz wzrost stopnia ich implementacji w budynkach mieszkalnych.

Niejednoznaczność uzyskanych wyników badań wskazuje na potrzebę prowadzenia dalszych analiz, których założeniem jest ocena systemów odzysku ciepła ze ścieków szarych. Dodatkowo należy zwrócić uwagę na fakt, że otrzymane wyniki badań odnoszą się wyłącznie do systemów DWHR i racjonalności ich zastosowania w budynkach mieszkalnych. W przypadku innych systemów dedykowanych do odzysku niesionego przez ścieki ciepła, jak również budynków o odmiennym przeznaczeniu, przykładowo obiektów przemysłowych, opisane w artykule wyniki badań nie będą miały zastosowania. W takiej sytuacji jako narzędzie umożliwiające ocenę danego rozwiązania systemu wykorzystana może zostać analiza SWOT.

Literatura

- [1] Lelek L, Kulczycka J, Lewandowska A, Zarebska J. *Int J Life Cycle Ass.* 2016;21:1-14. DOI: 10.1007/s11367-015-0979-3.
- [2] Kolasa-Wiecek A. *J Environ Sci.* 2015;30:47-54. DOI: 10.1016/j.jes.2014.09.037.
- [3] EIA. *International Energy Outlook 2016 with Projections to 2040.* U.S. Energy Information Administration; 2016. [http://www.eia.gov/forecasts/ieo/pdf/0484\(2016\).pdf](http://www.eia.gov/forecasts/ieo/pdf/0484(2016).pdf).
- [4] Central Statistical Office. *Energy Efficiency in Poland in years 2003-2013.* Warsaw; 2015. <http://stat.gov.pl/en/topics/environment-energy/energy/energy-efficiency-in-poland-in-years-2003-2013,5,11.html>.
- [5] Dziopak J, Starzec M. *JCEEA.* 2014;61(3/I):83-93. DOI: 10.7862/rb.2014.48.
- [6] Zeleňáková M, Čarnogurská M, Šlezinger M, Słyś D, Purcz P. *Hydrol Earth Syst Sci.* 2013;17:201-209. DOI: 10.5194/hess-17-201-2013.
- [7] Ramadan M, Lemenand T, Khaled M. *Energy Buildings.* 2016;128:575-582. DOI: 10.1016/j.enbuild.2016.07.017.
- [8] Słyś D, Kordana S. *Energy Buildings.* 2014;71:1-11. DOI: 10.1016/j.enbuild.2013.11.088.
- [9] Stransky D, Kabelkova I, Bares V, Stastna G, Suchorab Z. *Ecol Chem Eng S.* 2016;23:87-98. DOI: 10.1515/eces-2016-0006.
- [10] Helms MM, Nixon J. *J Strategy Manage.* 2010;3:215-251. DOI: 10.1108/17554251011064837.
- [11] Analiza SWOT. <http://analiza-swot.pl/>.
- [12] Team FME. *SWOT Analysis. Strategy Skills;* 2013. <http://www.free-management-ebooks.com>.
- [13] Zhang P, Ye J, Zeng G. *Water Environ Res.* 2015;87:1901-1913. DOI: 10.2175/106143015X14338845156588.
- [14] Wallin J, Claesson J. *Energy Buildings.* 2014;80:7-16. DOI: 10.1016/j.enbuild.2014.05.003.
- [15] Kordana S, Słyś D, Dziopak J. *J Clean Prod.* 2014;82:58-69. DOI: 10.1016/j.jclepro.2014.06.078.
- [16] Kimmels A. *Shower Heat Recovery: Overview of Commercially Available DWHR Systems.* Meander Heat Recovery; 2011. http://www.meanderhr.com/report/meanderhr_com_shower_dwhr_overview.pdf.
- [17] Tanha K, Fung AS, Kumar R. *Appl Therm Eng.* 2015;90:444-459. DOI: 10.1016/j.applthermaleng.2015.07.038.
- [18] Obłój K. *Strategia organizacji.* Warszawa: PWE; 2007.

RATIONALITY ASSESSMENT OF DRAIN WATER HEAT RECOVERY SYSTEM APPLICATION USING SWOT ANALYSIS

Department of Infrastructure and Sustainable Development
Faculty of Civil and Environmental Engineering and Architecture, Rzeszow University of Technology

Abstract: The development of environmental awareness leads to an increased interest in using unconventional energy sources. Special attention is, however, devoted to renewable energy, while the importance of waste energy is marginalized. Consequently, a substantial part of this energy is lost to the environment. Although the current development of technology allows recovery of waste heat, the possibility of the application of heat recovery systems is clearly limited due to the lack of extensive knowledge of such systems. Sources of waste heat include, among others, warm drain water discharged from the shower. The thermal energy contained in the drain water can be transferred to the incoming cold tap water by using special heat exchangers. The availability of Drain Water Heat Recovery (DWHR) units in Poland is, however, limited. Therefore, in order to increase the demand for DWHR systems, it is important to promote such a way of saving energy. The paper defines and analyzes the strengths and weaknesses of DWHR systems, as well as the potential opportunities and threats arising from their use in residential buildings. For this purpose, SWOT analysis has been used, which allows organizing information and presenting it in a clear and logical way. Application of the research results in areas connected with education will contribute to the increase of acceptance of such systems. In result, the number of operating DWHR systems will also increase.

Keywords: SWOT/TOWS analysis, waste heat recovery, greywater, DWHR unit

Rafał KOZŁOWSKI¹, Mirosław SZWED² i Joanna PRZYBYLSKA²

WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNO-CHEMICZNE ŚNIEGU NA TERENIE MIASTA KIELCE W STYCZNIU 2016 ROKU

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF SNOW IN THE CITY OF KIELCE IN JANUARY 2016

Abstrakt: Określono właściwości fizyczno-chemiczne pokrywy śnieżnej zalegającej w miejskiej strefie Kielc. Analizie poddano próbki śniegu z 14 stanowisk skupionych na osiedlu Pod Telegrafem, z silną presją antropogeniczną związaną z funkcjonowaniem stoku narciarskiego, parkingu samochodowego dla narciarzy oraz niskiej emisji z domków jednorodzinnych. W stopionych próbkach oznaczono właściwości fizyczno-chemiczne oraz skład chemiczny za pomocą chromatografu jonowego DIONEX ICS 3000. Uzyskane wartości pH oraz stężeń Cl, Na i Ca wskazują na wyraźny udział różnokierunkowej presji antropogenicznej na środowisko przyrodnicze.

Słowa kluczowe: chemizm opadów, antropopresja, pokrywa śnieżna

Wstęp

Pokrywa śnieżna stanowi źródło informacji o stanie jakości powietrza atmosferycznego [1-4]. Wykorzystywano ją dotychczas m.in. do oceny wpływu zanieczyszczeń na środowisko aglomeracji krakowskiej [5, 6], terenów położnych wokół cementowni w Opolu [7], jak również w Górach Świętokrzyskich na terenie tzw. Białego Zagłębia [8]. Skład chemiczny pokrywy śnieżnej jako indyktor wielkości emisji i depozycji zanieczyszczeń wykorzystywano również na obszarze północnej Europy [9, 10]. Od ponad dwudziestu lat stanowi przedmiot badań realizowanych w ramach podprogramu Zintegrowanego Monitoringu Środowiska Przyrodniczego [11].

Funkcjonowanie miasta, zwłaszcza w okresie zimowym, powoduje emisję znacznych ilości zanieczyszczeń do atmosfery. Pochodzą one zarówno ze źródeł lokalnych (domowe paleniska, spaliny samochodowe, elektrociepłownie), jak i zdalnych, przenoszonych ze znacznych odległości. Na terenie miasta w okresie zimowym dobrym wskaźnikiem zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego może być zatem pokrywa śnieżna [12]. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań zanieczyszczeń próbek śniegu pobranych w styczniu 2016 r. na terenie osiedla Pod Telegrafem w Kielcach, z zabudową domków jednorodzinnych z rozwiniętą siecią dróg dojazdowych, stokiem użytkowanym narciarsko i konwencjonalną ciepłownią miejską.

Metodyka badań

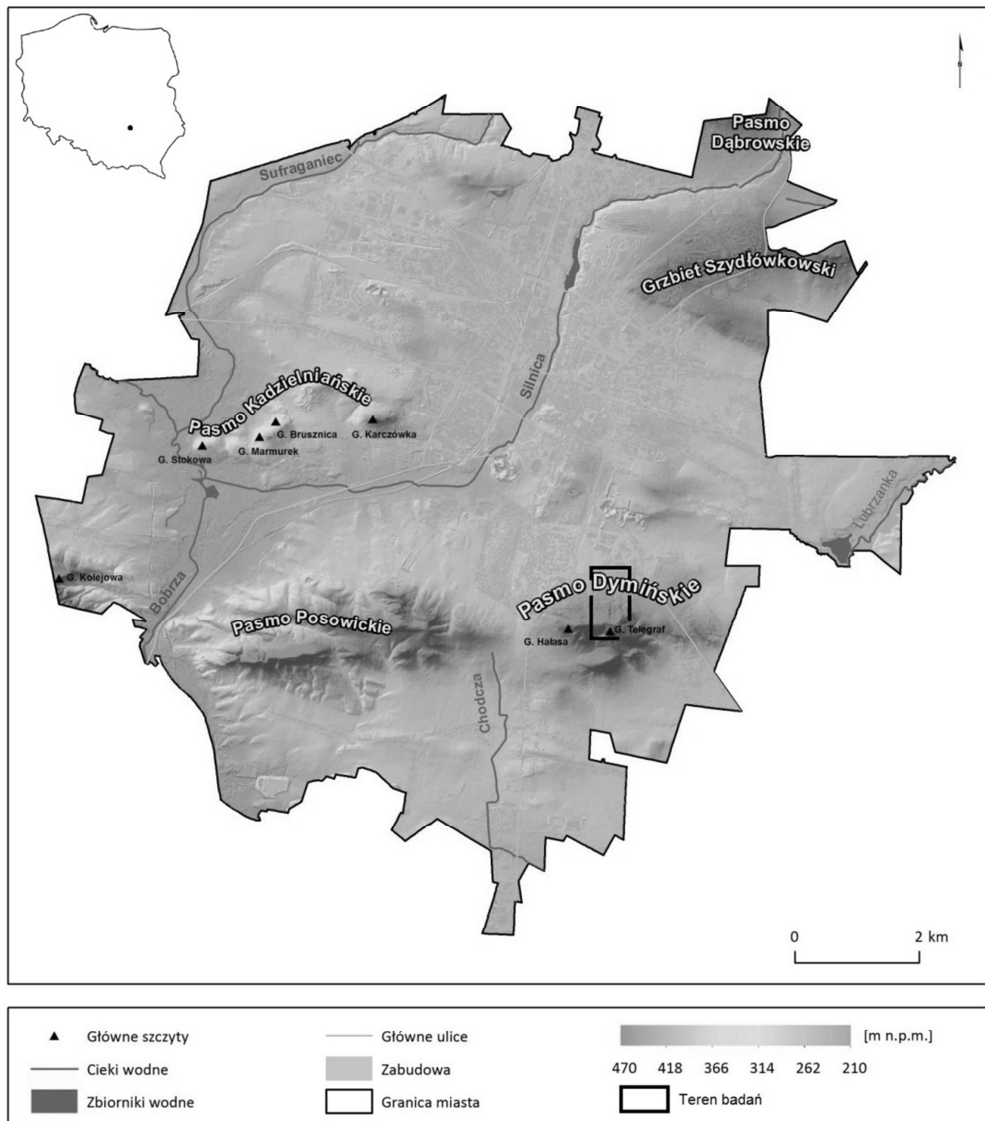
Badania przeprowadzono 23 stycznia 2016 r. na terenie miasta Kielce (Wyżyna Kielecka), w południowo-wschodniej jego części na terenie osiedla Pod Telegrafem, zamieszkanego przez 985 mieszkańców (dane UM Kielce na dzień 31.12.2015 r.).

¹ Katedra Ochrony i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce

² Instytut Geografii, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce, email: mireneusz@ujk.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

Najwyższy punkt pomiarowy zlokalizowano na szczycie góry Telegraf 408 m n.p.m. Kolejne punkty pomiarowe zlokalizowano: na stoku, poza strefą sztucznego naśnieżania, u podnóża stoku, koło parkingu, w wolnych przestrzeniach wśród zabudowy domków jednorodzinnych i okolicach ciepłowni miejskiej (rys. 1). Łącznie pobrano próbki z 14 punktów pomiarowych.



Rys. 1. Lokalizacja punktów pomiarowych [13]

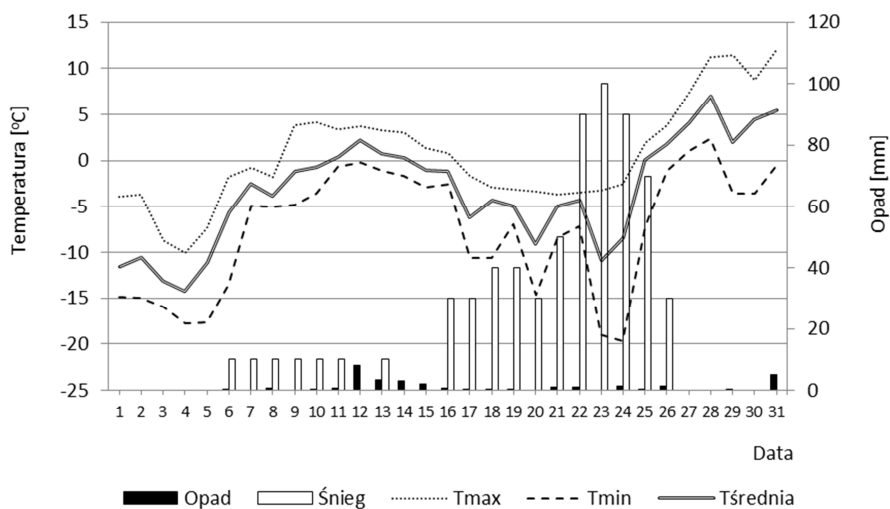
Fig. 1. Map of the sampling site in Kielce [13]

Pobrano materiał przewieziono w pojemnikach polietylenowych do Laboratorium Badań Środowiska Katedry Ochrony i Kształtowania Środowiska Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. W próbkach analizowano właściwości fizyczno-chemiczne i skład chemiczny próbek wody z roztopionego śniegu. Do analizy składu chemicznego wykorzystano chromatograf jonowy DIONEX ICS 3000 (Ca, Mg, Na, K, NH_4 , Cl, SO_4 , NO_3) wyposażony w kolumnę analityczną IonPac CS16 3x250 mm (kationy) i IonPac AS18 2x250 mm (aniony). Poziom detekcji dla poszczególnych parametrów wynosił: dla Ca^{2+} - $0,4 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$, dla Mg^{2+} , Na^+ , NH_4^+ - $0,2 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$, a dla pozostałych jonów $0,1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. Do kontroli jakości uzyskiwanych wyników wykorzystywano certyfikowany materiał referencyjny KEIJM-02 produkowany przez *Environment Canada*. Do pomiarów pH i konduktywności wykorzystano wieloparametrowy miernik jakości wody Elmetron CX-701 z elektrodą Hamilton.

W ocenie warunków meteorologicznych rozwoju i zaniku pokrywy śnieżnej w rejonie Kielc wykorzystano dane dobowe temperatury powietrza, grubości pokrywy śnieżnej i występowania zjawisk atmosferycznych w Kielcach prezentowanych przez hiszpański serwis OGIMET. Badanie kierunku napływu mas powietrza wykonano za pomocą modelu NOAA Hysplit.

Analiza wyników

Znaczne różnice wysokości względnej, ekspozycja i zagospodarowanie terenu spowodowały lokalne różnice w miąższości pokrywy śnieżnej. W trakcie poboru próbek miąższość pokrywy wahała się od 3 do 12 cm. W okresie od 17 do 24 stycznia temperatura powietrza w ciągu doby utrzymywała się znacznie poniżej 0°C z minimalną temperaturą $-19,7^\circ\text{C}$ (24.01.2016 r.). Przeważały wiatry z kierunku północnego i północno-zachodniego, z wysokim ciśnieniem powyżej 1030 hPa (rys. 2).



Rys. 2. Warunki termiczno-opadowe i śniegowe dla stacji Kielce, styczeń 2016 r. [14]

Fig. 2. Meteorological conditions for Kielce station, January 2016 [14]

Do identyfikacji źródła zanieczyszczeń wykorzystano model HYSPLIT, który został zaprojektowany do symulacji zjawisk związanych z transportem oraz dyspersją zanieczyszczeń. Analiza wykresu trajektorii wstecznych dla obszaru badań z czterodniowym wyprzedzeniem, zakończonych 23 stycznia 2016 r., wskazuje kierunek północny, północno-zachodni oraz południowo-zachodni napływu powietrza (rys. 3). Ten ostatni dowodzi wpływu zanieczyszczeń z obszaru o znacznej alkalizacji środowiska przyrodniczego w obrębie lokalizacji zakładów przemysłu cementowo-wapienniczego w Górach Świętokrzyskich tzw. Białego Zagłębia.

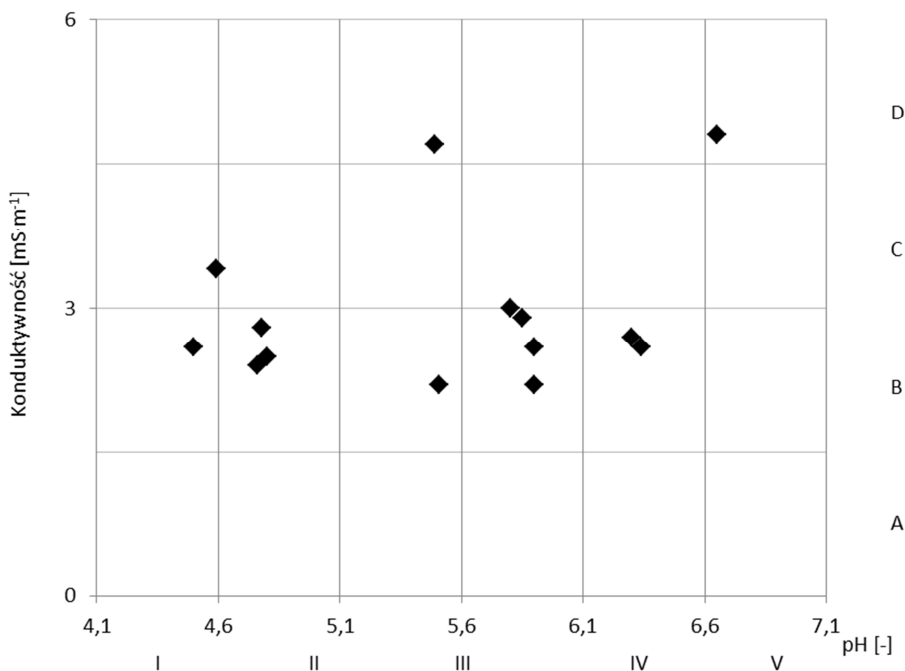


Rys. 3. Wykres trajektorii wstecznych dla Kielce wyznaczonych za pomocą modelu Hysplit, z czterodniowym wyprzedzeniem, zakończona 23 stycznia 2016 r.

Fig. 3. Four-day backward airmass trajectories calculated with HYSPLIT model for snow measurements in Kielce, ending on a 23 January 2016

Analiza właściwości fizyczno-chemicznych próbek stopionego śniegu wykazała, że w przypadku pH wartości wahały się od pH 4,50 do pH 6,65 przy średniej arytmetycznej pH 5,51 (rys. 4). Odnosząc uzyskane wyniki do klasyfikacji opadów wg Jansen i in. [15], wartość minimalną należy zakwalifikować jako znacznie obniżoną, natomiast maksymalną jako lekko podwyższoną. Analizując zmienność przewodności elektrolitycznej właściwej,

stwierdzono, że w próbkach wartości wahały się od $2,2 \text{ mS}\cdot\text{m}^{-1}$ (lekką podwyższona) do $4,8 \text{ mS}\cdot\text{m}^{-1}$ (mocno podwyższona) przy średniej $2,96 \text{ mS}\cdot\text{m}^{-1}$ (lekką podwyższona).

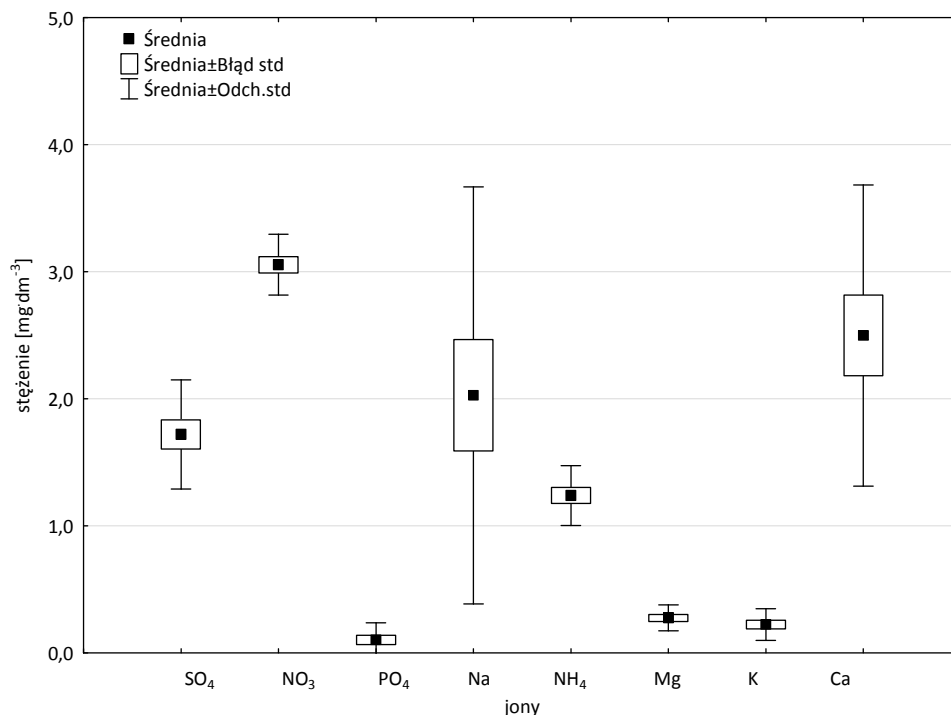


Rys. 4. Klasyfikacja opadów atmosferycznych w Kielcach zgodnie z podziałem zaproponowanym przez [15]. A - nieznaczna, B - lekko podwyższona, C - znacznie podwyższona, D - mocno podwyższona; I - znacznie obniżony, II - lekko obniżony, III - normalny, IV - lekko podwyższony, V - znacznie podwyższony

Fig. 4. Classification of precipitation at Kielce city acc. to [15]. A - negligible, B - somewhat higher, C - considerably higher, D - much higher; I - considerably lower, II - somewhat lower, III - normal, IV - somewhat higher, V - considerably higher

Analiza składu chemicznego próbek wody z roztopionego śniegu wykazała, że wśród kationów dominowały jony wapnia, a wśród anionów jony chlorkowe (rys. 5). Stężenia jonów wapnia wahały się od $1,46$ do $5,77 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ przy średniej $2,49 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$; w przypadku jonów chlorkowych odpowiednio od $1,59$ do $9,40 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ przy średniej $3,50 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. Podwyższone stężenie w stosunku do pozostałych wykazywały ponadto jony sodu (ze średnią $2,02 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$).

Źródłem jonów wapnia są zlokalizowane w pobliżu Kielc zakłady przemysłu cementowo-wapienniczego, emitujące znaczne ilości pyłów do atmosfery. Najwyższe wartości notowano w górnej części stoku góry Telegraf (punkty 1-9), stanowiącej naturalną barierę orograficzną dla przemieszczających się mas powietrza. Z kolei podwyższone stężenia jonów chlorkowych i sodowych wystąpiły przede wszystkim w punktach u podnóża stoku z dobrze rozwiniętą siecią dróg głównych i lokalnych. Ich źródłem jest sól drogowa wykorzystywana do zimowego utrzymania dróg.



Rys. 5. Średnie wartości stężeń analizowanych próbek wraz z odchyleniem i błędem standardowym
 Fig. 5. Average concentrations of the analyzed samples (with standard error and standard deviation)

Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania właściwości fizyczno-chemicznych oraz składu chemicznego wody uzyskanej po stopieniu próbek śniegu potwierdzają, że pokrywa śnieżna na terenie miasta jest skutecznym akumulatorem zanieczyszczeń powietrza deponowanych z atmosfery. Dominujące w składzie chemicznym jony wapnia wskazują na presję antropogeniczną związaną z dominującą w regionie gałęzią przemysłu cementowo-wapieniczego oraz w przypadku jonów chlorkowych i sodowych wskazującą na rolę soli drogowej w zimowym utrzymaniu dróg na terenie osiedla. Uzyskane wyniki analiz wykazują zmienność w zależności od odległości i wysokości nad poziomem morza oraz obecnością liniowych źródeł emisji zanieczyszczeń. Jony wapnia wykazują najwyższe stężenia w górnych partiach, gdzie są deponowane bezpośrednio z atmosfery na stoku góry Telegraf, stanowiącej barierę orograficzną dla przemieszczających się mas powietrza. Jony chlorkowe i sodowe swoje wartości maksymalne osiągają w sąsiedztwie dróg lokalnych i chodników.

Literatura

- [1] Cichała-Kamrowska K, Błaś M, Sobik M, Polkowska Ż, Namieśnik J. Snow cover studies: a review on the intensity of human pressure. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2011;20(4):815-833. <http://www.pjoes.com/pdf/20.4/Pol.J.Envir.Stud.Vol.20.No.4.815-833.pdf>.
- [2] Vasić M.V, Mihailovic A, Kozmidis-Luburić U, Nemes T, Ninkov J, Zeremski-Skorić T, et al. Metal contamination of short-term snow cover near urban crossroads: Correlation analysis of metal content and fine particles distribution. *Chemosphere*. 2012;85:585-592. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.10.023.
- [3] Huang J, Kang S, Zhang Q, Guo J, Chen P, Zhang G, et al. Atmospheric deposition of trace elements recorded in snow from the Mt. Nyainqêntanglha Region, Southern Tibetan Plateau. *Chemosphere*. 2013;92:871-881. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.038.
- [4] Telloli C. Metal concentrations in snow samples in an urban area in the Po Valley. *IJG*. 2014;5;1116-1136. DOI: 10.4236/ijg.2014.5.10095
- [5] Zajac P, Grodzińska K. Snow contamination by heavy metals and sulphur in Cracow agglomeration (Southern Poland). *Water Air Soil Pollut*. 1982;17(3):269-280. DOI: 10.1007/BF00283157.
- [6] Stachnik Ł, Plenzler J, Żelazny M. Zakłady przemysłowe wschodniej części aglomeracji krakowskiej jako źródło zanieczyszczenia pokrywy śnieżnej. *Przegląd Geograf*. 2010;82(3):389-408. <http://rcin.org.pl/igipz/dlibra/docmetadata?id=969&from=publication>.
- [7] Sporek M, Sporek K. Monitoring odczynu śniegu w aglomeracji miejskiej Opola. *Proc ECOpole*. 2008;2(2):489-492. http://tchie.uni.opole.pl/ecoproc08b/Sporek_2Monitoring_08b.pdf.
- [8] Kozłowski R. Wpływ przemysłu cementowo-wapienniczego na właściwości fizyczno-chemiczne opadów atmosferycznych na terenie „Białego Zagłębia”. *Monit Środ Przyrod*. 2012;13:63-69. <http://www.monitoringsrodowiskaprzyrodniczego.pl/wplyw-przemyslu-cementowo-wapienniczego-na-wlasciwosci-fizyczno-chemiczne-opadow-atmosferycznych-na-terenie-bialego-zaglebia/>.
- [9] Wright RF, Doveland H. Regional surveys of the chemistry of the snowpack in Norway, late winter 1973, 1974, 1975 and 1976. *Atmos Environ*. 1978;12:1755-1768. DOI: 10.1016/0004-6981(78)90324-4.
- [10] Viklander M. Substances in urban snow. A comparison of the contamination of the snow in different parts of the city of Lulea, Sweden. *Water Air Soil Pollut*. 1998;114:377-394. DOI: 10.1023/A:1005121116829.
- [11] Kostrzewski A, Kruszyk R, Kolander R. Zintegrowany Monitoring Środowiska Przyrodniczego. Zasady organizacji, system pomiarowy, wybrane metody badań. 2006; <http://www.staff.amu.edu.pl/~zmsp/dok.html>.
- [12] Polkowska Ż, Demkowska I, Cichała-Kamrowska K, Namieśnik J. Zanieczyszczenia obecne w próbkach śniegu pobranego z warstw jako źródło informacji o stanie środowiska w dużej aglomeracji miejskiej. *Ecol Chem Eng S*. 2010;17(2):204-231. [http://tchie.uni.opole.pl/freeECE/S_17_2/PolkowskaDemkowska_17\(S2\).pdf](http://tchie.uni.opole.pl/freeECE/S_17_2/PolkowskaDemkowska_17(S2).pdf).
- [13] Stan środowiska Kielc. Kielce: Urząd Miasta Kielce. 2012. http://www.um.kielce.pl/raport_o_stanie_srodowiska/.
- [14] <https://www.ogimet.com/cgi-bin/gsynres?lang=en&ord=REV&ndays=30&ano=2017&mes=08&day=10&hora=18&ind=12570>.
- [15] Jansen W, Block A, Knaack J. Acid rain. History, generation, results. *Aura*. 1988;4:18-19.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF SNOW IN THE CITY OF KIELCE IN JANUARY 2016

¹ Department of Environment Protection and Modelling, The Jan Kochanowski University in Kielce

² Institute of Geography, The Jan Kochanowski University in Kielce

Abstract: The physical and chemical properties of snow cover in the urban area of Kielce have been determined in this paper. Snow samples from 14 samples locations Pod Telegrafem were analyzed, with strong anthropogenic pressure associated with the ski slope, the car park for skiers, and the low emissions from detached houses. Fused samples identified physicochemical properties and chemical composition by means of DIONEX ICS 3000 ion chromatograph. The pH values and concentrations of Cl, Na and Ca show a clear contribution of the differentiated anthropogenic pressure on the natural environment.

Keywords: chemism of precipitation, antropopresion, snow cover

Magdalena KRĘCIDŁO¹ i Teresa KRZYŚKO-ŁUPICKA¹

WPLYW ŚRODKA DEZYNFEKCYJNEGO DIVOSAN FORTE NA PRZYROST BIOMASY ŚRODOWISKOWEGO SZCZEPU *Trichoderma viride*

INFLUENCE OF DIVOSAN FORTE ON BIOMASS GROWTH OF *A Trichoderma viride* ENVIRONMENTAL STRAIN

Abstrakt: Środki dezynfekcyjne w dzisiejszych czasach są niezbędnym elementem w medycynie, przemyśle farmaceutycznym i spożywczym. Mikroorganizmy odporne lub posiadające zdolność degradacji dezynfektantów stanowią zagrożenie dla bezpieczeństwa zdrowia człowieka, ale mogą też zostać wykorzystane w procesach unieczynnienia środków dezynfekcyjnych. Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu środka dezynfekcyjnego na bazie kwasu nadoctowego na przyrost biomasy środowiskowego izolatu *Trichoderma viride*. Materiałem badawczym były izolat *T. viride* 56 pochodzący z hali technologicznej zakładu produkcyjnego branży spożywczej, odporny na preparat dezynfekcyjny Divosan Forte (DF). Użyty preparat zawiera: kwas nadoctowy, kwas octowy oraz nadtlenek wodoru w stosunku 1:1:1. Hodowle prowadzono w podłożu pełnym mineralnym CYA i podłożach zmodyfikowanych. Modyfikacja polegała na dodaniu preparatu (0,15; 0,30, 0,60% v/v) lub kwasu octowego (0,15; 0,30% v/v), lub nadtlenku wodoru (0,30% v/v). Równolegle prowadzono hodowlę w podłożach mineralnych z alternatywnymi źródłami węgla w formie preparatu lub kwasu octowego. Kontrolę negatywną stanowiło podłoże mineralne bez źródła węgla. Układy inokulowano wystandaryzowaną zawiesiną zarodników grzyba i inkubowano przez 21 dni. W 7, 14 i 21 dniu wyznaczano suchą masę grzybni każdego z układów. Wyniki przedstawiono w [g s.m.dm⁻³]. Nie stwierdzono istotnych różnic w przyroście biomasy szczepu *T. viride* 56 w układach z alternatywnym źródłem węgla w porównaniu do kontroli negatywnej. W obecności komercyjnego preparatu i obecności łatwo przyswajalnego źródła węgla obserwowano większy przyrost biomasy niż w pełnym podłożu mineralnym.

Słowa kluczowe: *Trichoderma viride*, kwas nadoctowy, przemysł spożywczy, Divosan Forte

Wprowadzenie

Jednym z istotnych problemów branży spożywczej są zanieczyszczenia mikrobiologiczne podczas procesu produkcji. Mogą one wpływać na obniżenie jakości produktu finalnego i przynosić straty ekonomiczne. Przeprowadzone wstępne analizy wykazały, iż w specyficznym środowisku, jakim są hale produkcyjne, występuje różnicowanie mikrobiota [1].

Grzyby strzępkowe stanowią istotne zagrożenie na wszystkich etapach produkcji żywności, a wytwarzane przez nie mykotoksyny mogą stanowić bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia pracowników i konsumentów. Ich zarodniki występujące w powietrzu z łatwością rozprzestrzeniają się w przestrzeni produkcyjnej, co sprzyja kontaminacji produktu finalnego. Dlatego w celu ograniczenia spadku jakości oraz strat ekonomicznych wysoce istotne jest dobranie odpowiednich technik oraz preparatów dezynfekcyjnych zmniejszających ryzyko rozwoju mikroorganizmów w trakcie produkcji [1, 2]. W zależności od branży, specyfikacji oraz technologii produkcji należy dobrać odpowiedni preparat dezynfekcyjny. Podczas wyboru dezynfektanta należy zwrócić uwagę na strukturę

¹ Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-092 Opole, email: teresak@uni.opole.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

występującej mikrobioty, gdyż coraz częściej odnotowuje się oporność mikroorganizmów na wybrane preparaty dezynfekcyjne oraz ich stężenia. Dlatego w celu optymalizacji procesu dezynfekcji należy przeprowadzać testy skuteczności działań sanitacyjnych [3, 4].

W branży spożywczej stosowane są głównie preparaty dezynfekcyjne na bazie sody lub kwasów nieorganicznych, jednak coraz częściej wykorzystuje się mniej obciążające środowisko preparaty na bazie kwasu nadoctowego. Dezynfektanty zawierające kwas nadoctowy wykorzystywane są głównie w takich branżach, jak produkcja napojów i soków owocowych, mleczarstwo i browarnictwo, gdzie dezynfekcja prowadzona jest w obiegu zamkniętym (CIP) [5]. Jednym z najczęściej stosowanych preparatów dezynfekcyjnych na bazie kwasu nadoctowego podczas produkcji żywności jest Divosan Forte. Preparat ten zawiera w swoim składzie kwas nadoctowy, kwas octowy oraz nadtlenek wodoru w stosunku 1:1:1. Zgodnie z danymi podanymi przez producenta, Divosan Forte należy stosować w stężeniu objętościowym (v/v) 0,1% [6].

Przedstawiciele rodzaju *Trichoderma* występują powszechnie w glebie, bioaerozolu atmosferycznym i wewnątrz budynku. Najczęściej opisywanym przez naukowców gatunkiem jest *Trichoderma viride* [7, 8]. Gatunek ten ze względu na rozbudowany kompleks enzymatyczny wykorzystywany jest w różnych kontekstach badawczych dotyczących: biodegradacji ksenobiotyków, biologicznej ochrony roślin, stymulacji kiełkowania roślin, stymulacji absorpcji fosforu przez rośliny, produkcji enzymów lipolitycznych oraz biodegradacji odpadów poprzemysłowych [9-17]. Dotychczas wyizolowano 373 metabolity *T. viride* wykorzystywane w medycynie lub agrotechnice [18]. Gatunek ten uznawany jest za nieszkodliwy dla człowieka. Jednak w przypadku dominacji w wodzie pitnej nasila występowanie astmy u dzieci [19]. Izolaty *T. viride* wykazują oporność na działanie środków dezynfekcyjnych wykorzystywanych podczas produkcji żywności [20]. Sugeruje to, że grzyby te mogły nabyć zdolności do biodegradacji substancji czynnych dezynfektantów, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia skuteczności procesu dezynfekcji.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu środka dezynfekcyjnego na bazie kwasu nadoctowego na przyrost biomasy środowiskowego izolatu *Trichoderma viride*.

Materiał i metody

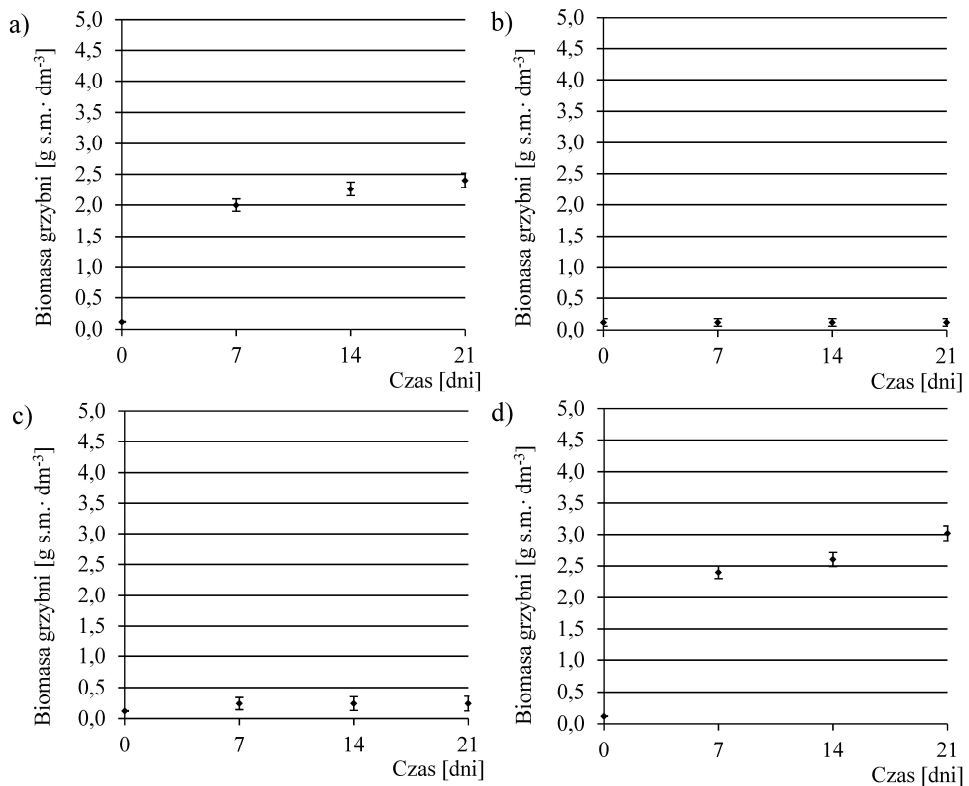
Materiał badawczy stanowił izolat *Trichoderma viride* 56 pochodzący z hali technologicznej zakładu produkcyjnego branży spożywczej, oporny na preparat dezynfekcyjny Divosan Forte (DF), oparty na bazie kwasu nadoctowego [20]. Izolację z powierzchni produkcyjnych przeprowadzono metodą wymazów w podłożu selekcyjnym zawierającym Divosan Forte (DF) w ilości odpowiadającej 0,1% (v/v) stężeniu kwasu nadoctowego.

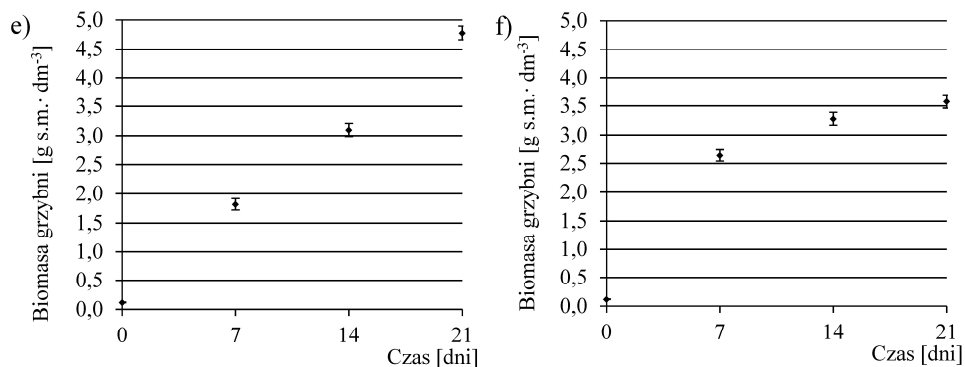
Badania prowadzono w płynnym podłożu mineralnym CYA i podłożach zmodyfikowanych. Modyfikacja polegała na wprowadzeniu do podłoża DF w stężeniach - 0,15, 0,30, 0,60% v/v lub kwasu octowego w stężeniach - 0,15, 0,30% v/v, lub nadtlenu wodoru w stężeniu 0,30% v/v. Równolegle prowadzono hodowlę w podłożach mineralnych z alternatywnymi źródłami węgla w formie DF lub kwasu octowego. Kontrolę negatywną stanowiło podłoże mineralne bez źródła węgla.

Ocenę wpływu DF na przyrost biomasy *T. viride* 56 prowadzono w dziesięciu układach badawczych w trzech powtórzeniach. Izolat namnażano na skosach z Czapek Dox Agar (BTL Polska), zmywu dokonano wodą z Tweenem (0,05%). Układy inokulowano wystandaryzowaną zawiesiną zarodników *T. viride* 56. Szczepionkę o gęstości $2 \cdot 10^6$ jtk \cdot cm^{-3} wprowadzano w ilości 10% do każdego z układów. Inkubacje układów prowadzono w warunkach tlenowych w temperaturze 22°C przez 3 tygodnie [16]. Ocenę przyrostu biomasy dla każdego z układów badawczych wykonano po 7, 14 i 21 dniach. Wyniki przedstawiono w postaci przyrostu suchej masy grzybni [g s.m. \cdot dm^{-3}].

Wyniki badań

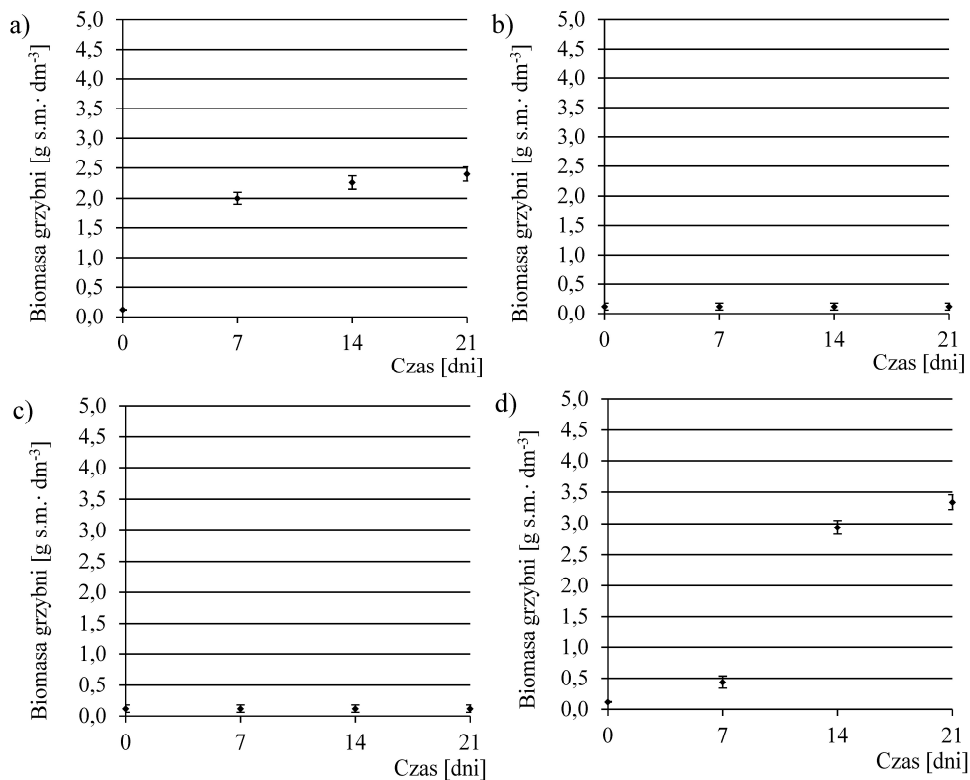
Przyrost biomasy izolatu *T. viride* 56 w stosunku do kontroli zaobserwowano w układach zawierających podłoże modyfikowane z DF. Dodatek DF do podłoża mineralnego w alkalizowanych stężeniach wpływał stymulująco na przyrost biomasy grzybni. W przypadku zastosowania 0,30% stężenia preparatu dezynfekcyjnego odnotowano najwyższy przyrost biomasy. Po zastosowaniu DF jako jedynego źródła węgla nie stwierdzono istotnych różnic w przyroście biomasy izolatu *T. viride* 56, w porównaniu do kontroli negatywnej (rys. 1).

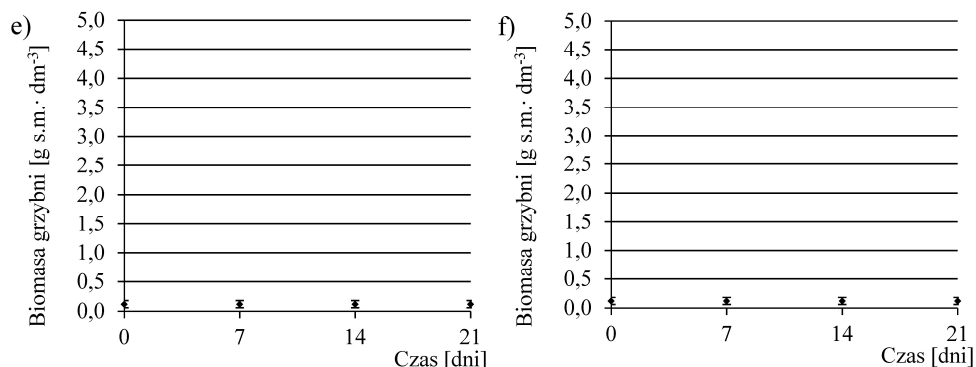




Rys. 1. Przyrost biomasy \pm odchylenie standardowe szczepu *Trichoderma viride* 56 w trakcie 21-dniowego okresu badawczego: a) próba kontrolna, b) podłoże bez źródła węgla, c) DF jako jedyne źródło węgla, d) DF w stężeniu 0,15%, e) DF w stężeniu 0,30% i f) DF w stężeniu 0,60%

Fig. 1. Growth of biomass \pm standard deviation *Trichoderma viride* 56 in duration of 21 days research period: a) control sample, b) medium without source of carbon, c) DF as only source of carbon, d) DF in concentration of 0.15%, e) DF in concentration of 0.30% and f) DF in concentration of 0.60%





Rys. 2. Przyrost biomasy \pm odchylenie standardowe szczepu *Trichoderma viride* 56 w trakcie 21-dniowego okresu badawczego: a) próba kontrolna, b) podłoże bez źródła węgla, c) kwas octowy jako jedyne źródło węgla, d) kwas octowy w stężeniu 0,15%, e) kwas octowy w stężeniu 0,30% i f) nadtlenek wodoru w stężeniu 0,30%

Fig. 2. Growth of biomass \pm standard deviation *Trichoderma viride* 56 in duration of 21 days research period: a) control sample, b) medium without source of carbon, c) acetic acid as only source of carbon, d) acetic acid in concentration of 0.15%, e) acetic acid in concentration of 0.30% and f) hydrogen peroxide in concentration of 0.30%

Przeprowadzona analiza wpływu substancji składowych DF na przyrost biomasy szczepu *Trichoderma viride* 56 wykazała, iż jedynie w przypadku układu zawierającego pełne podłoże mineralne z dodatkiem kwasu octowego w stężeniu 0,15% obserwowano przyrost grzybni. W porównaniu do kontroli powyższy układ po 14 i 21 dniach badań wpływał stymulująco na przyrost biomasy grzybni. W przypadku pozostałych układów zawierających kwas octowy oraz nadtlenek wodoru nie spowodowało to istotnych różnic w przyroście biomasy izolatu *T. viridae* 56 w porównaniu do kontroli negatywnej (rys. 2).

Podsumowanie i wnioski

Preparat dezynfekcyjny stosowany w zakładzie branży spożywczej w stężeniu zalecanym przez producenta nie ograniczał rozwoju izolatu *T. viride* 56. Wręcz przeciwnie, w układach zawierających łatwo dostępne źródło węgla wykazywał działanie stymulujące przyrost biomasy grzybni w porównaniu do pełnego podłoża mineralnego. Wyższą skutecznością od dezynfektanta wykazywały substancje wymienione przez producenta w jego składzie, mianowicie kwas octowy oraz nadtlenek wodoru. Kwas octowy jedynie w stężeniu 0,15% wykazywał właściwości stymulujące. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w przyroście biomasy szczepu *T. viride* 56 w układach z alternatywnym źródłem węgla a kontrolą negatywną. Mikroorganizmy odporne na działanie środków dezynfekcyjnych izolowane z powierzchni produkcyjnych mogą być wykorzystywane jako wskaźniki skuteczności działania dezynfektantów i jakości produktu końcowego w branży spożywczej. Dlatego wprowadzenie takiego wskaźnika wydaje się być zasadne.

Literatura

- [1] Koszałkowska M, Kręcidło Ł, Krzyško-Łupicka T. Microbiological analysis of bioaerosol in food industry. *Proc ECOpole*. 2014;8(1):43-47. DOI: 10.2429/proc.2014.8(1)005.
- [2] Garijo P, Santamaria P, López R, Sanz S, Olarte C, Gutierrez AR. The occurrence of fungi, yeasts and bacteria in the air of a Spanish winery during vintage. *Int J Food Microbiol*. 2008;125(2):141-145. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.014.
- [3] Bonetta S, Mosso S, Sampò S, Carraro E. Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. *Environ Monit Assess*. 2010;161:473-483. DOI: 10.1007/s10661-009-0761-8.
- [4] Kręcidło Ł, Krzyško-Łupicka T. Sensitivity of molds isolated from warehouses of food production facility on selected essential oils. *Inż Ekol*. 2015;43:100-108. DOI: 10.12912/23920629/58910.
- [5] Pakulska D, Czerniak S. Kwas nadoctowy. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podst Met Oceny Środ Przynr*. 2014;1(79):25-54.
- [6] http://www.pesan.pl/karty/CHEMIA%20MYJACA/Divosan_Forte_leaflet_pol.pdf (dostęp w dniu 20.06.2017).
- [7] Jaklitsch WM, Samuels GJ, Dodd SL, Lu BS, Druzhinina IS. *Hypocrea rufa* / *Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Stud Mycol*. 2006;56:135-177. DOI: 10.3114/sim.2006.56.04.
- [8] Neethu K, Rubeena M, Sajith S, Sreedevi S, Priji P, Unni KN, et al. A novel strain of *Trichoderma viride* shows complete lignocellulolytic activities. *Advances Bioscience Biotechnology (ABB)*. 2012;3:1160-1166. DOI: 10.4236/abb.2012.38142.
- [9] Baig MM, Baig MLB, Baig MIA, Yasmeeen M. Saccharification of banana agrowaste by cellulolytic enzymes. *Afr J Biotechnol*. 2004;3(9):447-450. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/download/14995/59085>.
- [10] Nobe R, Sakakibara Y, Ogawa K, Suiko M. Cloning and expression of a novel *Trichoderma viride* laminarinase AI gene (lamAI). *Bioscience Biotech Biochem*. 2004;68:211-219. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1271/bbb.68.2111>.
- [11] Celar F, Valic N. Effects of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium roseum* culture filtrates on seed germination of vegetables and maize. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 2005;112:343-350. DOI: 10.1271/bbb.68.2111.
- [12] Mishra SK, Singh RP. Prospects for the bio-management of *Trichoderma viride* - an organism harmful to button mushroom. *Journal Appl Hort*. 2005;7(1):38-42.
- [13] Chitale A, Jadhav DV, Waghmare SR, Sahoo AK, Ranveer RC. Production and characterization of brown coloured pigment from *Trichoderma viride*. *J Agric Food Chem*. 2012;11(5):529-537.
- [14] Li X-H, Yang H-J, Roy B, Park EY, Li J, Wang D, et al. Enhanced cellulase production of the *Trichoderma viride* mutated by microwave and ultraviolet. *Microbiol Res*. 2010;165(3):190-198. DOI: 10.1016/j.micres.2009.04.001.
- [15] Elakkiya P, Muralikrishnan V. Physical and chemical mutation of cellulase producing fungi *Trichoderma viride*. *Int J Adv Res Biol Sci*. 2014;1(6):1-6.
- [16] Huang X, Fan J, Yang Q, Chen X, Liu Z, Wang Y, et al. Cloning, expression, and characterization of endoglucanase gene eg IV from *Trichoderma viride* AS 3.3711. *J Microbiol Biotechnol*. 2012;322(3):390-399. DOI: 10.4014/jmb.1107.06064.
- [17] Jiang X, Geng A, He N, Li Q. New isolate of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. *J Biosci Bioeng*. 2011;111:121-127. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2010.09.004.
- [18] Rudresh DL, Shivaprakash MK, Prasad RD. Tricalcium phosphate solubilizing abilities of *Trichoderma* spp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Can J Microbiol*. 2005;51:217-222. DOI: 10.1139/w04-127.
- [19] Hageskal G, Lima N, Skaar I. The study of fungi in drinking water. *Mycol Res*. 2009;113:165-172. DOI: 10.1016/j.mycres.2008.10.002.
- [20] Kręcidło M, Krzyško-Łupicka T. Wrażliwość izolatów *Trichoderma viride* ze strefy produkcji zakładu spożywczego na Divosan Forte. *Proc ECOpole*. 2016;10(1):193-200. DOI: 10.2429/proc.2016.10(1)022.

INFLUENCE OF DIVOSAN FORTE ON BIOMASS GROWTH OF A *Trichoderma viride* ENVIRONMENTAL STRAIN

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, University of Opole

Abstract: Nowadays disinfectants are necessary in medicine, food and pharmaceutical industry. Microorganisms that are resistant to disinfectants or are able to degrade them, threaten human health, but these species may be used to inactivate disinfectant solutions Divosan Forte (DF). The aim of the study was to evaluate the effect of disinfectant based on peracetic acid on the growth of environmental biomass of *Trichoderma viride* strain. The research material was a disinfectant-resistant *T. viride* 56 strain, which came from the technological area of food processing facility. Applied preparation contained: peracetic acid, acetic acid and hydrogen peroxide in the ratio of 1:1:1. Cultures were carried out in the full mineral medium CYA with and without the modifications. Medium modifications consist of an addition of the following substances: a disinfectant (0.15; 0.30, 0.60% v/v) or an acetic acid (0.15; 0.30% v/v), or a hydrogen peroxide (0.30% v/v). Simultaneously, cases of cultures in the mineral medium with a sole carbon source, as well as a disinfectant solution or an acetic acid. The negative control was the medium without any carbon source. All cases were inoculated with a standard solution of fungal spores and were incubated for 21 days. On the 7th, 14th and 21st day of experiment, in all cases, the dry mass of fungal mycelium was estimated. The results are shown in the [g s.m. \cdot dm⁻³]. No significant differences in the biomass growth of *T. viride* 56 strains in the cases with alternative carbon source and negative control. In the presence of commercial preparation and an easily degradable carbon source, a higher growth of mycelium biomass was estimated than in a full mineral medium.

Keywords: *Trichoderma viride*, peracetic acid, food industry, Divosan Forte

Edyta KUDLEK¹, Mariusz DUDZIAK¹, Jolanta BOHDZIEWICZ¹
i Gabriela KAMIŃSKA¹

BADANIA EFEKTU TOKSYKOLOGICZNEGO FOTOKATALIZATORÓW

STUDY OF TOXICOLOGICAL EFFECT OF PHOTOCATALYSTS

Abstrakt: Efektywność rozkładu zanieczyszczeń organicznych w procesie fotokatalizy zależy od szeregu czynników, wśród których decydującą rolę odgrywają zarówno, dobór rodzaju, jak i dawki fotokatalizatora. Do najczęściej opisywanych w literaturze półprzewodników stosowanych w procesach oczyszczania strumieni wodnych zalicza się tlenek tytanu(IV) i tlenek cynku. W pracy przedstawiono zmiany toksyczności wodnych mieszanin fotokatalizatorów bez i w trakcie ich naświetlania promieniami UV o długości fali przekraczającej 300 nm. Badania prowadzono z użyciem czterech półprzewodników, tj. TiO_2 jako mieszaniny anatazu i rutyłu, TiO_2 w postaci czystego anatazu, ZnO oraz ZnO farmaceutycznego w dawce 25, 50, 100 i 200 mg/dm^3 . Efekt toksyczny oceniono z użyciem biotestu Microtox[®]. Wykazano, że wraz ze wzrostem czasu napromieniowania mieszaniny ZnO oraz ZnO farmaceutycznego wzrasta odpowiedź toksykologiczna organizmów testowych. Świadczy to o braku stabilności fotochemicznej obu tych półprzewodników oraz dyskwalifikuje ich użycie w przypadku oczyszczania strumieni wodnych odprowadzanych do środowiska naturalnego. Zmiany efektu toksykologicznego nie obserwowano w przypadku mieszanin wodnych z półprzewodnikami, które nie były naświetlane promieniami UV. Również naświetlanie mieszanin zawierających TiO_2 bez względu na formę nie wpłynęło na zmianę ich toksyczności.

Słowa kluczowe: TiO_2 , ZnO , promieniowanie UV, toksyczność roztworu

Wprowadzenie

Proces fotokatalizy znajduje szerokie zastosowanie zarówno w obszarze inżynierii środowiska, jak i energetyce [1, 2]. Konwersja energii słonecznej na energię chemiczną zachodząca w tym procesie przy udziale katalizatorów pozwala na efektywny przebieg reakcji utleniania i/lub redukcji substancji i materiałów prowadzących między innymi do wytwarzania wodoru [3, 4], węglowodorów [5] oraz usuwania zanieczyszczeń ze środowiska wodnego [6, 7], glebowego [8] oraz powietrza [9]. Spośród wielu różnych półprzewodników najszersze zastosowanie znajdują ditlenek tytanu (TiO_2) oraz tlenek cynku (ZnO).

Kluczową rolę w trakcie prowadzenia procesów oczyszczania strumieni wodnych odprowadzanych do środowiska naturalnego odgrywa dobór odpowiedniej technologii i stosowanych w niej reagentów. Zapewnia to nie tylko uzyskanie całkowitej eliminacji zanieczyszczeń, ale również uzyskanie strumieni poprocesowych bezpiecznych pod względem ekotoksykologicznym. Proces fotokatalitycznego rozkładu związków organicznych uzależniony jest od szeregu czynników, wśród których wymienia się budowę chemiczną zanieczyszczeń, skład fizykochemiczny wody oraz parametry procesowe, w tym dobór rodzaju i dawki fotokatalizatora. Półprzewodniki powinny cechować się wysoką

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

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 15, Jarnołtówek, 14-16.10.2015

stabilnością fotochemiczną i brakiem niepożądanych przemian w wyniku reakcji ze składnikami roztworów wodnych prowadzących do wzrostu ich toksyczności.

Celem przeprowadzonych badań było określenie stabilności fotochemicznej czterech różnych katalizatorów stosowanych w trakcie procesu fotokatalitycznego utleniania mikrozanieczyszczeń w roztworach wodnych. Badania prowadzono na mieszaninach katalizatorów sporządzonych na bazie wody zdejonizowanej. Rozkład cząstek pólprzewodników oceniono na podstawie zmiany odpowiedzi toksykologicznej wybranego organizmu wskaźnikowego, tj. bakterii morskich *Aliivibrio fischeri* (test Microtox®) dla mieszanin przed i po procesie ich naświetlania promieniami UV. Jako źródło promieniowania UV zastosowano zanurzeniową lampę rtęciową o mocy 150 W.

Materiały i metodyka badań

Przedmiot badań stanowiły mieszaniny czterech komercyjnych fotokatalizatorów (tab. 1) w dawce 25, 50, 100 i 200 mg/dm³ przygotowane na bazie wody zdejonizowanej o pH 6,5, przewodności poniżej 0,2 µS/cm i stężeniu tlenu rozpuszczonego 2,48 mg/dm³.

Czas kontaktu katalizatora z wodą zdejonizowaną zarówno w mieszaninach naświetlanych, jak i nienaświetlanych promieniami UV wynosił 5, 15 oraz 45 min. Przed oceną toksykologiczną katalizatory separowano z mieszanin z użyciem zestawu filtracyjnego wyposażonego w filtr (0,45 µm) z włókien szklanych firmy Merck Millipore (Warszawa, Polska) podłączonego do pompy próżniowej firmy AGA Labor (Warszawa, Polska).

Tabela 1

Charakterystyka stosowanych katalizatorów

Table 1

Characteristics of the used catalysts

Symbol	Katalizator	Producent	Skład	Czystość	Rozmiar cząsteczki [nm]
(a)	Ditlenek tytanu P25	Evonik Degussa GmbH	anataz i rutyl (75:25)	99,5%	~ 21
(b)	Ditlenek tytanu nanocząsteczki	Sigma-Aldrich	anataz	99,7%	< 25
(c)	Tlenek cynku nanocząsteczki	Sigma-Aldrich	b.d.*	99,9%	< 100
(d)	Tlenek cynku farmaceutyczny	Hadron Scientific	b.d.*	99,8%	< 100

* b.d. - brak danych

Naświetlanie mieszanin promieniami UV realizowano w szklanym porcjowym reaktorze o objętości 0,7 dm³ firmy Heraeus (Hanau, Niemcy), wyposażonym w średniociśnieniową rtęciową lampę UV o mocy 150 W, umieszczoną w płaszczu chłodzącym. Chłodzenie lampy zapewniało utrzymanie stałej temperatury prowadzenia procesu nieprzekraczającej 20 ± 1°C. Lampa emitowała promieniowanie o długości fali λ_{exc} równej 313, 365, 405, 436, 546 oraz 578 nm. Mieszaniny wodne były zatem naświetlane promieniowaniem z zakresu UV-A oraz światła widzialnego. Aby zapobiegać sedymentacji katalizatora, reaktor umieszczono na mieszadle magnetycznym w celu zapewnienia ciągłego mieszania badanych roztworów.

Obecność odpowiedniej ilości tlenu w roztworach wodnych w trakcie procesu fotokatalizy pozwala na generowanie znacznej liczby reaktywnych form tlenu, w tym rodników $\cdot\text{OH}$ [10] zdolnych do utleniania zanieczyszczeń. W związku z powyższym mieszaniny katalizatorów były natleniane w trakcie badań z użyciem pompki napowietrzającej o wydajności 4 dm^3 powietrza na minutę. W trakcie badań wstępnych stwierdzono, że proces natleniania mieszanin wodnych półprzewodników nie wpływa na zmianę ich odpowiedzi toksykologicznej.

Zmiany toksyczności mieszanin przed i po procesie naświetlania promieniami UV oceniono na podstawie pomiaru intensywności bioluminescencji bakterii *Aliivibrio fischeri*, będących organizmami wskaźnikowymi biotestu Microtox[®]. Bakterie te wykazują wysoką wrażliwość na działanie substancji toksycznych, wpływających na przebieg ich przemian metabolicznych i/lub zmniejszenie populacji bakterii, skutkującą zmianą natężenia światła emitowanego przez mikroorganizmy. Badanie przeprowadzono zgodnie z procedurą Screening Test systemu MicrotoxOmni w analizatorze Microtox Model 500 firmy Modern Water (Warszawa, Polska). Procent inhibicji bioluminescencji względem próby kontrolnej (bakterie w 2% roztworze NaCl) zmierzono po 5- oraz 15-minutowym czasie ekspozycji.

Interpretację wyników wykonano zgodnie z klasyfikacją toksyczności zestawioną w tabeli 2 [11, 12].

Klasyfikacja toksyczności próbek [11, 12]

Tabela 2

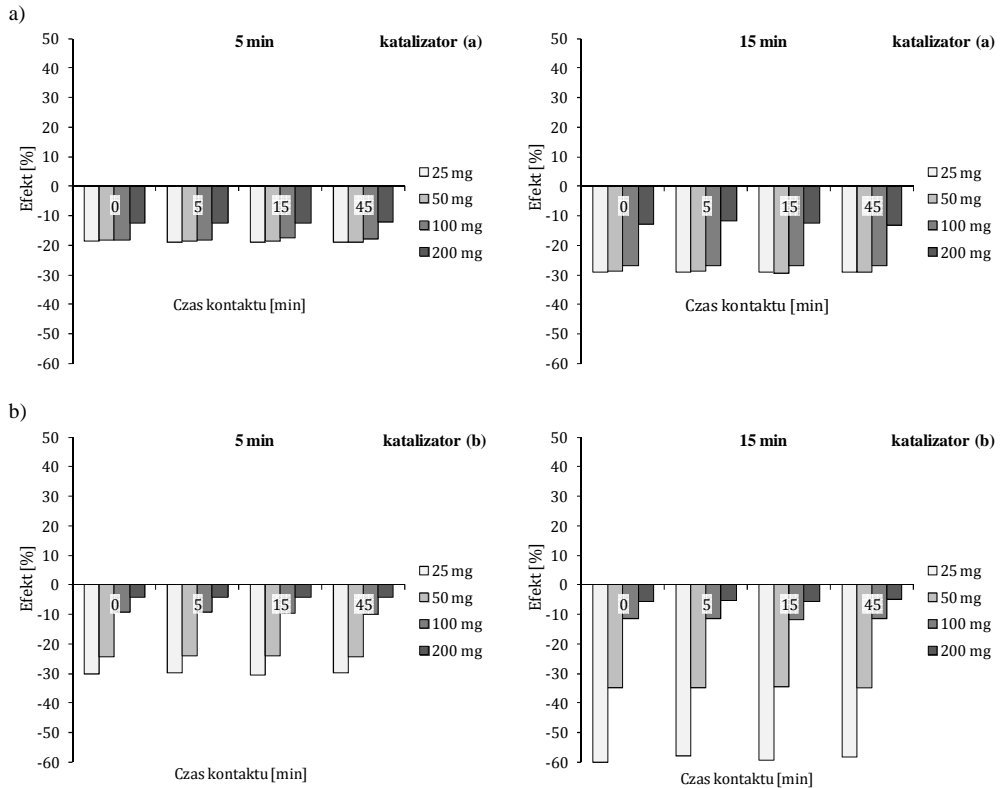
Sample toxicity classification system [11, 12]

Table 2

Inhibicja bioluminescencji [%]	Klasa toksyczności
< 25,00	Brak toksyczności
25,00 - 50,00	Niska toksyczność
50,01 - 75,00	Toksyczność
> 75,00	Wysoka toksyczność

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań oceniono wpływ czasu kontaktu katalizatorów z wodą zdejonizowaną na zmianę jej odpowiedzi toksykologicznej, bez poddawania roztworów na ekspozycję promieniowania UV. Uzyskane wyniki po 5, 15 i 45 min kontaktu przedstawiono na rysunkach 1 i 2. Żadna z rozważanych dawek ditlenku tytanu, oznaczonych jako (a) oraz (b) (rys. 1), nie oddziaływała negatywnie na jakość wody. Test Microtox[®] wykazał, że obecność tych półprzewodników stymulowała (ujemne wyniki inhibicji bioluminescencji) przebieg procesów metabolicznych bakterii wskaźnikowych. Najkorzystniejszy wpływ odnotowano dla ditlenku tytanu (b) w dawce 25 mg/dm^3 po 15 min prowadzenia biotestu, dla którego inhibicja bioluminescencji wynosiła -60% .

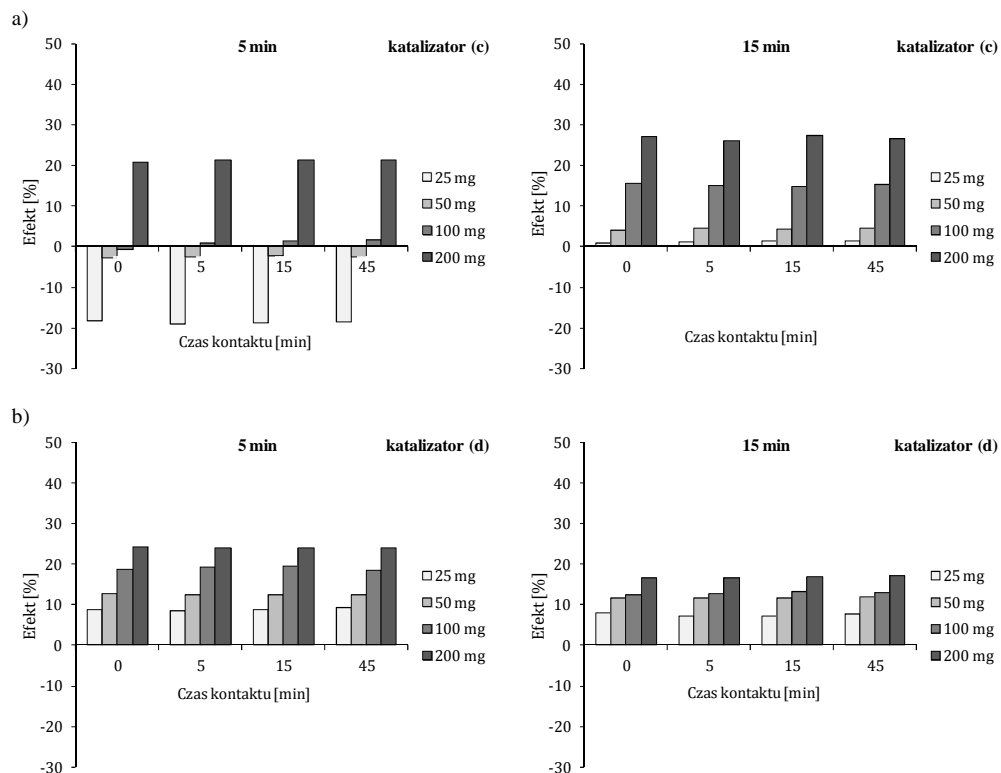


Rys. 1. Wpływ czasu kontaktu katalizatorów a) i b) z mieszaniną wodną na odpowiedź toksykologiczną mierzoną po 5- i 15-minutowym czasie ekspozycji

Fig. 1. Influence of contact time of catalysts a) and b) with water mixture on the toxicological response estimated after 5 and 15 min of exposure

W przypadku tlenku cynku (c) i (d) zaobserwowano wyraźny wzrost toksyczności próbek wody wraz ze wzrostem dawki katalizatorów (rys. 2). Jedynie dla tlenku cynku (c) w dawce 25 i 50 mg/dm³ po 5 min ekspozycji odnotowano intensyfikację świecenia bakterii. Dla pozostałych dawek katalizatorów uzyskany efekt wskazywał na brak toksycznego oddziaływania na bakterie bioluminescencyjne. Inhibicja bioluminescencji nie przekraczała 25%. Wyjątek stanowiły wyniki otrzymane dla dawki 200 mg/dm³ półprzewodnika (c). Zgodnie z klasyfikacją toksyczności (tab. 2), roztwór ten wykazywał niską toksyczność - inhibicja bioluminescencji sięgała 27%.

Wzrost czasu kontaktu z wodą zdejonizowaną w przypadku wszystkich czterech badanych katalizatorów nie wpłynął na wzrost jej toksyczności. Wyniki otrzymane dla próbek przed rozpoczęciem testu (czas 0 min) oraz w mieszaninach po 45 minutach kontaktu były bardzo zbliżone, o czym świadczy wyznaczona wartość odchylenia standardowego nieprzekraczająca 2%.



Rys. 2. Wpływ czasu kontaktu katalizatorów a) i b) z mieszaniną wodną na odpowiedź toksykologiczną mierzona po 5- i 15-minutowym czasie ekspozycji

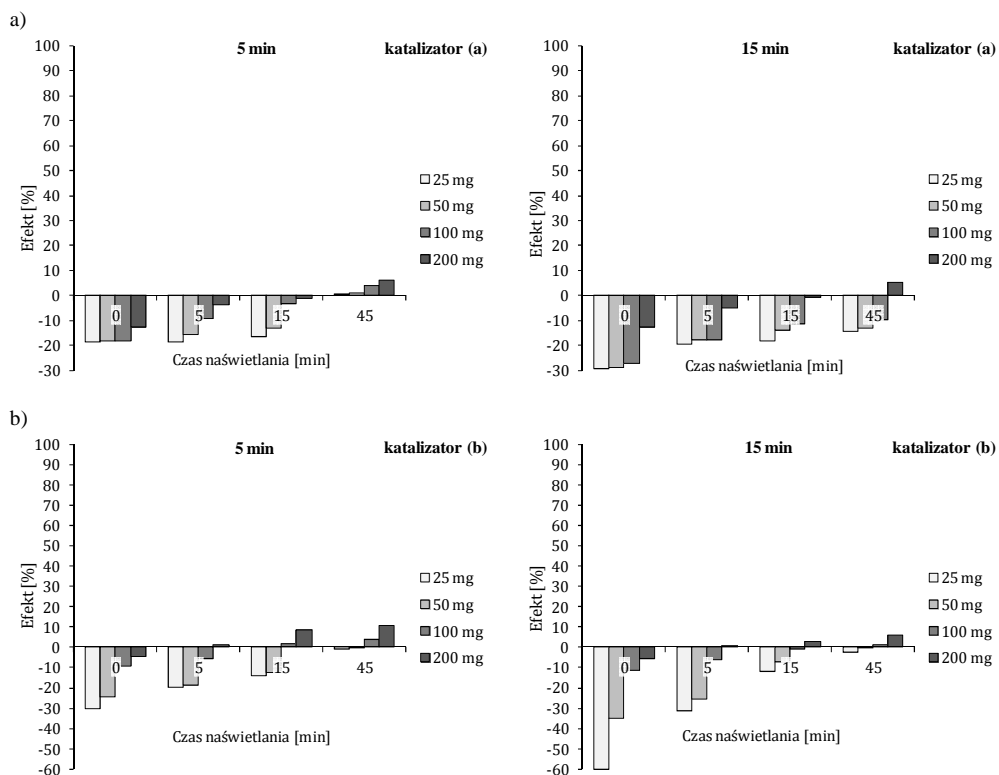
Fig. 2. Influence of contact time of catalysts a) and b) with water mixture on the toxicological response estimated after 5 and 15 min of exposure

W dalszym etapie badań roztwory katalizatorów poddano ekspozycji na promieniowanie UV w czasie 5, 15 i 45 min, a uzyskane wyniki przedstawiono na rysunkach 3 i 4.

Naświetlanie mieszanin zawierających ditlenek tytanu (a) w czasie 5 i 15 min niezależnie od stosowanej dawki katalizatora w nieznacznym stopniu wpłynęło na zmianę toksyczności próbek wodnych (rys. 3a). Uzyskane wyniki wskazały na stymulację świecenia bakterii zarówno po 5, jak i po 15 min czasie ich ekspozycji. Z kolei 45 min naświetlanie katalizatora (a) powodowało minimalne zahamowanie procesów metabolicznych organizmów wskaźnikowych nieprzekraczające 6%. Również próbki pobrane w trakcie naświetlania mieszaniny wody z ditlenkiem tytanu (b) klasyfikowane były jako nietoksyczne (rys. 3b).

W przypadku tlenku cynku (c) i (d) wraz ze wzrostem dawki katalizatora w mieszaninie wodnej i czasu jej naświetlania wzrastała odpowiedź toksykologiczna badanych próbek (rys. 4). W trakcie naświetlania UV cząsteczek tlenku cynku

w środowisku wodnym dochodzi do zjawiska fotokorozji [13] wpływającego na obniżenie jego fotoaktywności [14], co znacznie ogranicza możliwość jego zastosowania w skali technicznej. Uzyskane w przeprowadzonym eksperymencie wyniki badań wskazują na toksyczny charakter produktów fotokorozji półprzewodników. Bakterie poddane 15 min ekspozycji na próbki pobrane po 5 i 15 min naświetlania promieniami UV roztworów w dawkach 25, 50 i 100 mg ZnO/dm^3 obniżyły przebieg ich procesów metabolicznych w stopniu przekraczającym 25%, co klasyfikuje te roztwory jako niskotoksyczne. Natomiast dla najwyższej dawki katalizatora wynoszącej 200 mg/ dm^3 próbkę po 5 min naświetlania klasyfikowano jak toksyczną, a dalsze naświetlanie roztworu skutkowało wzrostem toksyczności przekraczającym 75%. Uzyskana po 45 min naświetlaniu próbka dla tego stężenia półprzewodnika była wysokotoksyczna.

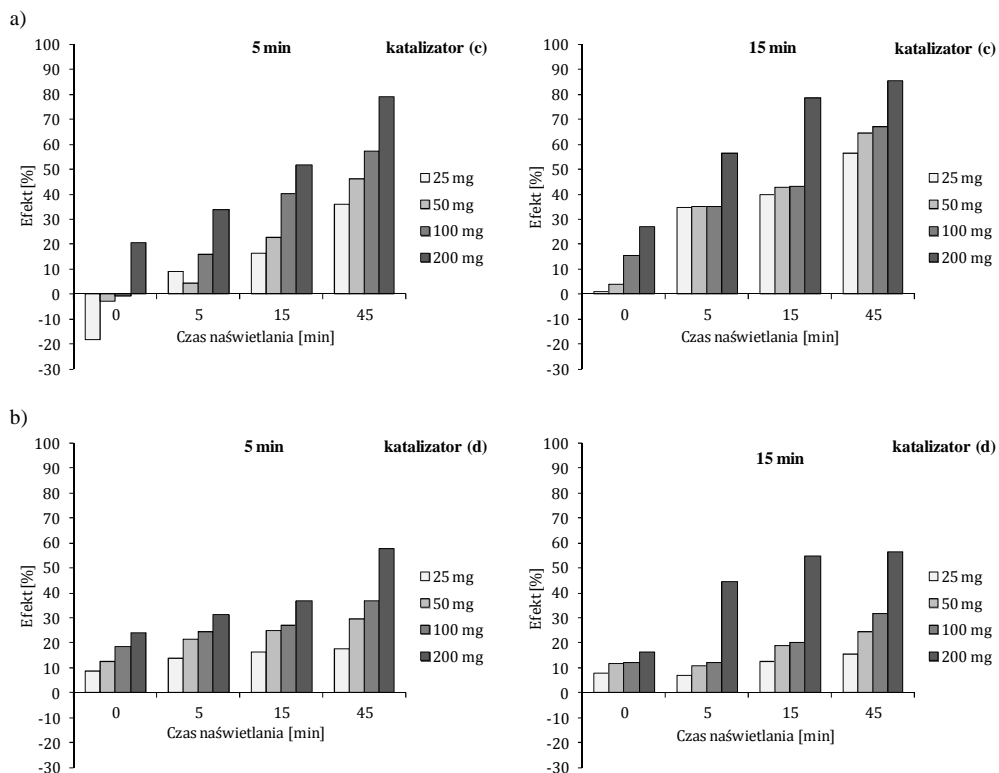


Rys. 3. Zmiany toksyczności mieszanin wodnych fotokatalizatorów a) i b) w trakcie naświetlania promieniami UV mierzone po 5- i 15-minutowym czasie ekspozycji

Fig. 3. Changes in toxicity of aqueous mixtures of photocatalysts a) and b) under UV irradiation estimated after 5 and 15 min of exposure

Dla porównania naświetlanie katalizatora (d) nie wpłynęło w tak znacznym stopniu na wzrost toksyczności próbek wody (rys. 4b). Wydłużenie czasu ekspozycji

mikroorganizmów na badaną próbkę powodowało obniżenie odpowiedzi toksykologicznej. W tym przypadku występuje proces adaptacji mikroorganizmów do warunków środowiskowych panujących w próbce. Procesu tego nie obserwowano dla dawki 200 mg/dm³, dla której inhibicja bioluminescencji wzrastała wraz z czasem ekspozycji bakterii. Dla czasów 15 i 45 min naświetlania mieszaniny wodnej odnotowano toksyczny charakter pobranych próbek, ponieważ inhibicja bioluminescencji przekraczała 50%.



Rys. 4. Zmiany toksyczności mieszanin wodnych fotokatalizatorów a) i b) w trakcie naświetlania promieniami UV mierzone po 5- i 15-minutowym czasie ekspozycji

Fig. 4. Changes in toxicity of aqueous mixtures of photocatalysts a) and b) under UV irradiation estimated after 5 and 15 min of exposure

Generowanie toksycznych produktów rozkładu katalizatora w trakcie procesu fotokatalizy dyskwalifikuje jego zastosowanie w procesach oczyszczania roztworów wodnych wprowadzanych w dalszych etapach do środowiska naturalnego, w tym np. odpływów z oczyszczalni ścieków komunalnych czy też przemysłowych. Półprzewodniki na bazie tlenku cynku wymagają więc modyfikacji mającej na celu poprawę ich stabilności fotochemicznej. Rozwiązaniem może być ich połączenie z innymi katalizatorami [15], metalami [16] lub materiałami węglowymi [17].

Wnioski

- Wraz ze wzrostem czasu naświetlania mieszaniny ZnO oraz ZnO farmaceutycznego promieniami o długości fali przekraczającej 300 nm wzrasta odpowiedź toksykologiczna organizmów testowych. Wyznaczona toksyczność mieszanin rosła również ze wzrostem dawki stosowanych półprzewodników. Świadczy to o braku stabilności fotochemicznej katalizatorów zawierających tlenek cynku oraz dyskwalifikuje ich użycie w przypadku oczyszczania strumieni wodnych odprowadzanych do środowiska naturalnego.
- Naświetlanie mieszanin zawierających TiO₂, niezależnie od stosowanej dawki katalizatora, nie wpłynęło na znaczną zmianę ich toksyczności. Badane mieszaniny sklasyfikowano jako nietoksyczne.
- Mieszaniny wszystkich badanych półprzewodników nieeksponowanych na sztuczne promieniowanie UV również nie wykazywały zmian odpowiedzi toksykologicznej.
- Test Microtox[®] może stanowić pośrednie narzędzie do szybkiej oceny zmian stabilności materiałów poddawanych działaniu czynników fizykochemicznych, w przypadku gdy produkty ich rozkładu mogą wykazywać charakter toksyczny.

Literatura

- [1] Mahlambi MM, Ngila CJ, Mamba BB. *J Nanomaterials*. 2015; ID 790173:29. DOI: 10.1155/2015/790173.
- [2] Michal R, Sfaelou S, Lianos P. *Molecules*. 2014;19:19732-19750. DOI: 10.3390/molecules191219732.
- [3] Ismail AA, Bahnemann DW. *Sol Energy Mat Sol C*. 2014;128:85-101. DOI:10.1016/j.solmat.2014.04.037.
- [4] Pan Q, Freitag L, Kowacs T, Falgenhauer JC, Korterik JP, Schlettwein D, et al. *Chem Commun*. 2016;52:9371-9374. DOI: 10.1039/C6CC05222C.
- [5] Mozia S, Kułagowska A, Morawski AW. *Molecules*. 2014;19:19633-19647. DOI: 10.3390/molecules191219633.
- [6] Prihod'ko RV, Soboleva NM. *J. Chem-NY*. 2013;ID 168701:8. DOI: 10.1155/2013/168701.
- [7] Dong S, Feng J, Fan M, Pi Y, Hu L, Han X, et al. *RSC Adv*. 2015;5:14610-14630. DOI: 10.1039/C4RA13734E.
- [8] Wang AN, Teng Y, Hu XF, Wu LH, Huang YJ, Luo YM, et al. *Sci Total Environ*. 2016;541:348-355. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.09.023.
- [9] Boyjoo Y, Sun H, Liu J, Pareek VK, Wang S. *Chem Eng J*. 2016. DOI: 10.1016/j.cej.2016.06.090.
- [10] Sin JC, Lam SM, Mohamed AR, Lee KT. *Int J Photoenergy*. 2012;ID 514856:11. DOI: 10.1155/2012/514856.
- [11] Werle S, Dudziak M. *Przem Chem*. 2013;92:1350-1353. www.sigma-not.pl/publikacja-77829-evaluation-of-toxicity-of-sewage-sludge-and-gasification-waste-products.-ocena-toksyczno%C5%9Bci-osad%C3%B3w-%C5%9Bciekowych-oraz-produkt%C3%B3w-ubocznych-powstajacych-podczas-ich-zgazowania-przemysl-chemiczny-2013-7.html.
- [12] Hsieh C-Y, Meng-Hsiun T, Ryan DK, Pancorbo OC. *Sci Total Environ*. 2004;320:37-50. DOI: 10.1016/S0048-9697(03)00451-0.
- [13] Zhang Y, Chen Z, Liu S, Xu Y-J. *Appl Catal B*. 2013;140-141:598-607. DOI:10.1016/j.apcatb.2013.04.059.
- [14] Chen Z, Zhang N, Xu Y-J. *Cryst Eng Comm*. 2013;15:3022-3030. DOI:10.1039/c3ce27021a.
- [15] Xu J, Chang Y, Zhang Y, Ma S, Qu Y, Xu C. *Appl Surf Sci*. 2008;255:1996-1999. DOI: 10.1039/c4ra12990c.
- [16] Yu ZB, Xie YP, Liu G, Lu GQ, Ma XL, Cheng H-M. *J Mater Chem A*. 2013;1:2773-2776. DOI: 10.1039/c5ta00402k.
- [17] Han C, Yang M-Q, Weng B, Xu Y-J. *Chem Phys*. 2014;16:16891-16903. DOI: 10.1039/c4cp02189d.

STUDY OF TOXICOLOGICAL EFFECT OF PHOTOCATALYSTS

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

Abstract: The efficiency of decomposition of organic pollutants during photocatalytic oxidation process depends on several factors, among which the type and dose of photocatalyst plays a significant role. According to literature, the most commonly used semiconductors in processes of water streams treatment are titanium dioxide and zinc oxide. The paper presents the change in toxicity of aqueous mixtures of photocatalysts unirradiated and irradiated with UV light with wavelength greater than 300 nm. Studies were carried out by the use of four semiconductor i.e. TiO₂ as a mixture of anatase and rutile, TiO₂ as a pure form of anatase, ZnO and pharmaceutical ZnO at a dose of 25, 50, 100 and 200 mg/dm³. Toxic effects were evaluated using the Microtox[®] bioassay. It has been demonstrated that the toxic response of the test organisms increases with the increase of the irradiation time of mixtures containing ZnO and ZnO pharmaceutical. That fact indicates a lack of photochemical stability of both semiconductors and disqualifies their use during the treatment of water streams which will be discharged into the environment. Changes in toxicological effects were not observed for semiconductors water mixtures, which were not irradiated with UV light. Also, the UV exposure of mixtures containing TiO₂ did not affect any change of their toxicity.

Keywords: TiO₂, ZnO, UV-irradiation, toxicity of solution

Konrad MERC¹, Wiesław KĘDZIA¹ i Ewa OCIEPA¹

ANALIZA STRAT WODY NA PODSTAWIE WSKAŹNIKÓW ZALECANYCH PRZEZ INTERNATIONAL WATER ASSOCIATION

ANALYSIS OF LOSSES WATER BASED ON INDICATORS RECOMMENDED BY INTERNATIONAL WATER ASSOCIATION

Abstrakt: Straty wody w systemach wodociągowych często stanowią bardzo wysoki procent wody włączanej do sieci. Już na etapie projektowania zakłada się nieuniknione straty wody, jednak bardzo często w rzeczywistości są one znacząco wyższe od założonych. Podejmowanie działań modernizacyjnych czy remontów mających na celu ograniczanie wycieków powinno zostać poprzedzone szczegółową analizą strat wody w systemie dystrybucji. W artykule przeanalizowano możliwości wyznaczenia zalecanych przez międzynarodowe stowarzyszenie wodne (International Water Association - IWA) wskaźników strat wody, takich jak Infrastructure Leakage Index (*ILI*), the water volume-profit (*NRWB*), Unavoidable Annual Real Losses (*UARL*), Real Leakage Balans (*RLB*). Wskazano utrudnienia w ocenie strat, którymi są często niekompletne i mało dokładne dane przedstawiane przez zakłady, a które są niezbędne do obliczenia zalecanych wskaźników strat wskazujących na stan eksploatowanego systemu dystrybucji.

Słowa kluczowe: analiza strat wody, straty wody, straty nieuniknione, wskaźniki strat wody

Wprowadzenie

Głównym problemem eksploatacyjnym zakładów dystrybucji wody, spotykanym we wszystkich krajach, są straty wody. Często stanowią one bardzo wysoki procent wody wyprodukowanej i włączonej do sieci. Straty wody powodują wzrost kosztów produkcji, co z kolei wpływa na stan finansowy zakładów oraz cenę wody. Dochód przedsiębiorstwu przynosi woda zafakturowana, dlatego też zakłady wodociągowe muszą dążyć do maksymalnego ograniczenia strat wody. Do podstawowych, najważniejszych działań zmierzających do ograniczenia strat należy zaliczyć ciągły monitoring, poprawne opracowanie bilansu wody oraz wyznaczenie wskaźników opisujących straty wody w zakładzie.

Analizując badania zmierzające w kierunku ograniczania strat wody w sieciach wodociągowych, stwierdzić można, że prowadzenie analizy oraz wyznaczanie strat wody jest często zadaniem niezwykle skomplikowanym. Potrzebna jest obszerna wiedza z zakresu stanu sieci (struktura materiałowa, wiek itp.), możliwości produkcyjnych, systemu opomiarowania oraz wykrywania strat wody w danym zakładzie. Biorąc pod uwagę stopień trudności, zaleca się wykorzystywanie różnych metod sporządzania bilansu wody i określanie wskaźników charakteryzujących straty wody. Pełna wiedza na temat strat wody przekłada się na możliwość optymalizacji warunków pracy sieci.

Istotną rolę w rozwoju zrównoważonej gospodarki wodnej, w tym w ograniczaniu strat wody, pełni (IWA) [1-4]. Stowarzyszenie to między innymi opracowało metodykę

¹ Instytut Inżynierii Środowiska, Wydział Infrastruktury i Środowiska, Politechnika Częstochowska, ul. Brzeźnicka 60a, 42-200 Częstochowa, tel. 34 325 73 34 wew. 49, email: k.merc@is.pcz.pl
Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

obliczania strat wody, która zaleca wyznaczenie wskaźników opisujących straty, umożliwiającą obiektywną ocenę stanu systemu dystrybucji wody. Ujednolicona metodyka prowadzenia obliczeń daje możliwość porównywania różnych zakładów pod względem strat wody.

Niniejszy artykuł ma na celu przeanalizowanie możliwości wyznaczenia zalecanych przez IWA wskaźników strat wody na przykładzie systemu dystrybucji wody eksploatowanego przez zakład A. Wskazano utrudnienia w ocenie strat, którymi są często niekompletne i niepewne dane, jakimi dysponuje zakład, a które są niezbędne do obliczenia zalecanych wskaźników strat wskazujących na stan eksploatowanego systemu dystrybucji.

Charakterystyka strat wody

Należy podkreślić, że na straty całkowite wody składają się straty rzeczywiste i pozorne oraz woda zużywana na własne potrzeby zakładów wodociągowych. Na straty rzeczywiste składają się przecieki powstałe na przewodach, połączeniach, armaturze wodociągowej oraz nieszczelności występujące na instalacjach wewnętrznych oraz straty w zbiornikach wodociągowych. Straty pozorne, w przeciwieństwie do rzeczywistych, nie stanowią faktycznych ubytków, a jedynie wpływają na wartość obliczeniowego wskaźnika strat, czyli na wynik liczbowy bilansu objętości wody dostarczonej do sieci i sprzedanej odbiorcom. Przyczyną pozornych strat są niedokładności i niejednoczesności pomiaru dostawy i zużycia wody. Teoretyczny błąd pomiaru powinien wynosić do 10% - w praktyce trudno określić błąd pomiaru przepływomierza. Według Siwoń i in. [2], straty pozorne mogą wynosić ok. 5% w zależności od instalacji i warunków pomiarowych. Ilość wody zużytej na potrzeby własne wodociągu jest na ogół trudna do dokładnego określenia i w związku z tym często jest określana szacunkowo. Częstą praktyką wodociągową jest zawyżanie wartości wody zużywanej na potrzeby własne w celu zaniżenia rzeczywistych strat wody [5-8].

Wskaźniki charakteryzujące straty wody

Obiektywna i miarodajna ocena strat wody i stanu sieci wodociągowej według IWA sprowadza się do systematycznego i rzetelnego sporządzania bilansu strat wody i wyznaczenia następujących wskaźników:

- *WS* - procentowy wskaźnik strat,
- *RLB* - jednostkowy wskaźnik strat rzeczywistych,
- *NRWB* - wskaźnik objętości wody niedochodowej,
- *UARL* - wskaźnik strat nieuniknionych,
- *ILI* - infrastrukturalny indeks wycieków.

Dane, jakimi należy dysponować w celu obliczenia wyżej wymienionych wskaźników, to [4-9]:

- V_{wt} - woda wyprodukowana (wtłoczona do sieci) [m^3/rok],
- V_{sp} - woda sprzedana [m^3/rok],
- V_{wt} - woda zużyta na potrzeby własne zakładu wodociągowego [m^3/rok],
- V_{st} - straty wody [m^3/rok],
- długość sieci wodociągowej:
 - M - magistralnej [km],

- R - rozdzielczej [km],
 P_w - długość połączeń wodociągowych [km],
 L_{pw} - liczba połączeń wodociągowych [szt.]

Wskaźniki charakteryzujące straty wody oblicza się ze wzorów (1)-(6).

Procentowy wskaźnik strat wody - WS

Wskaźnik procentowy strat wody pokazuje, jaką część wody w odniesieniu do wody włoczonej do sieci stanowią straty. Jest on najczęściej stosowany z uwagi na łatwość wyznaczenia. Procentowy wskaźnik strat wody wyznaczany jest z zależności [8, 10-11]:

$$WS = (V_{st}/V_{wtt}) \cdot 100 [\%] \quad (1)$$

Jednostkowy wskaźnik strat rzeczywistych - RLB

Wskaźnik jednostkowych strat rzeczywistych nazywany jest również indeksem strat rzeczywistych. Zastosowanie wskaźnika opisuje ilość strat wody przy uwzględnieniu ilości przyłączy wodociągowych. Wskaźnik RLB oblicza się zależnie od liczby przyłączy na jeden kilometr sieci wodociągowej, zgodnie z metodyką [8-12]:

- gdy ilość przyłączy jest mniejsza od 20:

$$RLB_1 = V_{st}/[(M+R) \cdot 365] [\text{m}^3/\text{km} \cdot \text{d}] \quad (2)$$

gdzie d - doba

- gdy gęstość przyłączy przekracza 20, stosuje się wzór:

$$RLB_2 = (V_{st} \cdot 1000) / (L_{pw} \cdot 365) [\text{dm}^3/(\text{d} \cdot \text{pod. wod.})] \quad (3)$$

gdzie: pod. wod. - połączenie wodociągowe [szt.]

Dla rozpatrywanego przedsięwzięcia ilość połączeń wodociągowych przypadających na 1 km sieci jest większa od 20, w związku z czym obliczeń dokonano zgodnie ze wzorem (3).

Wskaźnik objętości wody niedochodowej - $NRWB$

Zastosowanie wskaźnika eliminuje praktykę polegającą na zawyżaniu zużycia własnego, uzyskuje się wówczas wyniki bardziej rzetelne i dokładne. Obliczeń dokonuje się z użyciem następującego wzoru:

$$NRWB = [(V_{wtt} - V_{sp})/V_{wtt}] \cdot 100 [\%] \quad (4)$$

Wskaźnik strat nieuniknionych - $UARL$

Straty nieuniknione stanowią roczną ilość strat wody w systemach dystrybucji, które uważa się za nieuniknione, gdyż ich wykrycie jest bardzo trudne, a zlikwidowanie wycieku jest dla przedsiębiorstwa nieopłacalne. Dla każdego zakładu w zależności od poszczególnych parametrów powinno ustalić się tak zwany optymalny poziom strat wody w sieci, o czym coraz częściej wspomina się w aktualnej literaturze [13-18].

Przystępując do określania strat nieuniknionych zgodnie z wytycznymi IWA, należy przyjąć:

- wycieki nieuniknione na przewodach sieci magistralnej i rozdzielczej - 18 [$\text{dm}^3/(\text{km} \cdot \text{d} \cdot 1 \text{m H}_2\text{O})$],

- wycieki nieuniknione na przewodach podłączeń wodociągowych - 25 [dm³/(1 m podłączeń·d·1m H₂O)],
- wycieki nieuniknione związane z liczbą podłączeń wodociągowych - 0,8 [dm³/(1 podłączenie · d· 1m H₂O)],

Obliczenia wskaźnika *UARL* dokonuje się zgodnie ze wzorem [8]:

$$UARL = [18 \cdot (M+R) + 25 \cdot P_w + 0,8 \cdot L_{pw}] \cdot 0,365 \cdot p \text{ [m}^3/\text{rok]} \quad (5)$$

gdzie: *p* - średnie ciśnienie w analizowanym obszarze [mH₂O - metry słupa wody], 0,365 - współczynnik przeliczeniowy na rok i m³.

Infrastrukturalny indeks wycieków - *ILI*

Zastosowanie wskaźnika pozwala na zobrazowanie krotności strat rzeczywistych w odniesieniu do ich minimalnego poziomu, który może zostać uzyskany jedynie w poprawnie eksploatowanym systemie dystrybucji wody [8, 10-15].

$$ILI = V_{\text{w}}/UARL \text{ [-]} \quad (6)$$

Oceny sieci wodociągowej dokonuje się poprzez porównanie obliczonego wskaźnika *ILI* dla danego systemu z zakresami zawartymi w tabeli 1.

Tabela 1

Ocena sieci wodociągowej na podstawie wskaźnika *ILI* [11]

Table 1

Assessment of the water supply network on the basis of the indicator *ILI* [11]

Zakres oraz kategorie <i>ILI</i> wg IWA	Kategorie <i>ILI</i>	Zakres <i>ILI</i> wg WBI Banding System		Zakres <i>ILI</i> wg American Water Works Association (AWWA)
		Kraje rozwijające się	Kraje rozwinięte	
$ILI \leq 1,5$ - stan bardzo dobry	Stan bardzo dobry	$ILI \leq 4,0$	$ILI \leq 2,0$	$ILI \leq 3,0$
$1,5 < ILI \leq 2$ - stan dobry				
$1,5 < ILI \leq 2$ - stan średni	Stan dobry	$4,0 < ILI \leq 8,0$	$2,0 < ILI \leq 4,0$	$3,0 < ILI \leq 5,0$
$2,5 < ILI \leq 3,0$ - stan słaby	Stan słaby	$8,0 < ILI \leq 16,0$	$4,0 < ILI \leq 8,0$	$5,0 < ILI \leq 8,0$
$3,0 < ILI \leq 3,5$ - stan bardzo słaby				
$ILI > 3,5$ - stan niedopuszczalny	Stan niedopuszczalny	$ILI > 16,0$	$ILI > 8,0$	$ILI > 8,0$

Szczegółowy opis zalecanych przez IWA wskaźników strat wody oraz celowość ich stosowania autorzy niniejszego artykułu przedstawili we wcześniejszych publikacjach [6-8, 11, 18].

Straty wody w systemie dystrybucji przedsiębiorstwa

Przedsiębiorstwo A eksploatuje sieć wodociągową o długości 916 kilometrów. Źródło zasilania systemu wodociągowego stanowią ujęcia ujęcia powierzchniowe o łącznej wydajności 84,0 tys. m³/d, wspomagane przez ujęcia awaryjne, których wydajność stanowi ok. 710 m³/d. W rozpatrywanym zakładzie woda tłoczona jest z użyciem 36 hydroformi, a zbiorniki wyrównawcze na wodę czystą są w stanie zmagazynować 34,5 tys. m³.

W ostatnich latach w zakładzie prowadzone są gruntowne remonty hydroforni i przepompowni wody czystej mające na celu zmniejszenie awaryjności oraz zapewnienie stabilności ciśnienia w sieci. Analiza oraz wykrywanie strat wody odbywa się poprzez system monitorujący oparty na rejestrze przepływów i ciśnień w sieci [9]. W tabeli 2 zestawiono długość sieci magistralnej, rozdzielczej oraz długość i liczbę połączeń wodociągowych eksploatowanych w latach 2010-2015.

Tabela 2

Zestawienie długości sieci oraz liczby przyłączy wodociągowych [9]

Table 2

Summary of network length and the number of water connections [9]

Lata	Długość sieci magistralnej (M) [km]	Długość sieci rozdzielczej (R) [km]	Długość połączeń wodociągowych (P_w) [km]	Łącznie (L) [km]	Liczba połączeń wodociągowych (L_{pw}) [-]
2010	49,80	490,50	323,80	864,10	20 280
2011	49,80	504,10	323,80	877,70	20 682
2012	49,80	520,50	323,80	894,10	21 306
2013	49,80	524,80	324,00	898,60	21 845
2014	49,80	529,00	324,00	902,80	22 329
2015	53,00	538,70	324,30	916,00	22 936

Dane przedstawione w tabeli 2 wskazują na systematyczny wzrost długości eksploatowanej sieci rozdzielczej i ilości połączeń wodociągowych. Natomiast nie wzrasta lub wzrasta minimalnie długość przyłączy wodociągowych.

Przedsiębiorstwo A wyjaśnia, że nie inwentaryzuje i nie zna faktycznej długości połączeń wodociągowych, ponieważ inwestorem przyłączy są osoby fizyczne, w związku z czym dane dotyczące długości przyłączy wodociągowych są pomijane podczas aktualizacji danych. Zbierane i aktualizowane są jedynie informacje dotyczące liczby połączeń.

Bilans wody dla analizowanego przedsiębiorstwa

Sporządzenie miarodajnego bilansu strat wody wymaga dokładnego opomiarowania i systematycznej obróbki uzyskanych danych dających rzeczywiste odniesienie do sytuacji panującej w danym systemie. Dokonanie prawidłowych pomiarów gwarantuje uzyskanie danych potrzebnych do dalszych opracowań, najistotniejsze dane to [9]:

- ilości wody włożonej do sieci,
- ilości wody pobranej na potrzeby własne zakładu wodociągowego,
- ilości wody sprzedanej wszystkim odbiorcom.

Straty wody obliczono jako różnicę wody włożonej do sieci i sprzedanej oraz zużytej na potrzeby własne zakładu. Bilans wody dla rozpatrywanego przedsiębiorstwa w latach 2010-2015 przedstawiono w tabeli 3.

Analizując dane zawarte w tabeli 3, można stwierdzić, że ilość wody dostarczanej do sieci w zakładzie stopniowo rośnie z wyjątkiem 2013 roku, w którym następuje spadek w stosunku do lat poprzednich. Ilość wody sprzedanej przez cały rozpatrywany okres utrzymuje trend wzrostowy. Sytuacja taka związana jest ze stale rosnącą ilością odbiorców w latach 2010-2015. Należy podkreślić, że obserwuje się duży wzrost zużycia własnego

wody w analizowanym przedsiębiorstwie. W 2010 roku zużycie własne stanowiło ok. 4,2% wody wtłoczonej do sieci, a w 2015 - 7,4%. Zwiększenie zużycia własnego wpływa na ograniczenie strat, a w konsekwencji na wartości wszystkich wskaźników strat wody.

Tabela 3

Bilans wody w okresie 2010-2015 [9]

Table 3

Water balance during the 2010-2015 [9]

Lata	Woda dostarczona do sieci [tys. m ³ /rok]	Woda sprzedana [tys. m ³ /rok]	Zużycie własne wody czystej [tys. m ³ /rok]	Straty wody [tys. m ³ /rok]
2010	13 011	9413	545	3053
2011	13 122	9611	623	2888
2012	13 124	9720	592	2812
2013	12 995	9750	600	2645
2014	13 079	9861	849	2369
2015	13 820	10 085	1022	2713

Analiza wskaźników strat wody w przedsiębiorstwie

Okres, w jakim rozpatrywano straty wody w Przedsiębiorstwie A, wyniósł 5 lat (tab. 4). Dla tego okresu dokonano obliczeń procentowego wskaźnika strat wody, wskaźnika jednostkowych strat rzeczywistych oraz wskaźnika objętości wody niedochodowej [8-11].

Tabela 4

Wartości obliczeniowe wskaźników Przedsiębiorstwa A

Table 4

Calculated values of indicators in the Enterprise A

Lata	WS [%]	RLB ₂ [dm ³ /d·p.w.]	NRWB [%]
2010	23,46	412,44	27,65
2011	22,01	382,57	26,76
2012	21,43	361,59	25,94
2013	20,35	331,73	24,97
2014	18,11	290,67	24,60
2015	19,63	324,07	27,03

Niestety z uwagi na nieinwentaryzowanie przez zakład długości przyłączy wodociągowych, a tym samym brak rzetelnych danych na temat ich długości, nie ma możliwości prawidłowego obliczenia wszystkich wskaźników strat wody opisanych w wytycznych IWA. Dotyczy to wskaźnika strat nieuniknionych i infrastrukturalnego indeksu wycieków. Wskaźnik *ILI* jest obecnie uważany za najbardziej skuteczny parametr oceny prawidłowości działania systemów dystrybucji wody. Jednak stosowanie go ma pewne ograniczenia. Nie jest możliwe jego wyznaczenie, gdy zakład nie dysponuje lub posiada niepewne dane do obliczania wartości *UARL*. Często zdarza się, że zakłady nie posiadają pełnych inwentaryzacji sieci, czy nie mają rzetelnych danych dotyczących panującego ciśnienia w sieci, co uniemożliwia wyznaczenie *UARL* (lub jego wyznaczenie obarczone jest wysokim błędem), a w następstwie wskaźnika *ILI*. Ponadto zaleca się

stosowanie *ILI* wtedy, gdy liczba przyłączy jest większa niż 5000, a ich gęstość przekracza 20 na km sieci wodociągowej oraz przy ciśnieniu w sieci co najmniej 0,25 MPa [19].

Możliwe do wyznaczenia dla zakładu A wskaźniki obliczono na podstawie wzorów (1), (3), (4) i zestawiono w tabeli 4. Analizując uzyskane wyniki, stwierdzić można, że od 2010 roku obserwuje się spadek wartości wskaźnika procentowego z 23,46% uzyskanych w 2010 roku do 19,63% w 2015 roku, a wartość najniższą 18,11% zanotowano w 2014 roku. Podobną sytuację obserwuje się w przypadku jednostkowego wskaźnika strat rzeczywistych, tutaj w rozpatrywanych latach 2010-2015 obserwuje się spadek wielkości rzędu $88,37 \text{ dm}^3/\text{d} \cdot \text{podł. wod.}$. Jednak wartość tego wskaźnika jest nadal wysoka w porównaniu z innymi systemami [7, 8]. Wskaźnik objętości wody niedochodowej systematycznie ulegał zmniejszeniu aż do 2014 roku, natomiast w 2015 roku jego wartość porównywalna była z wartością uzyskaną w 2010 roku. Należy jednak podkreślić, że zwiększenie przez analizowany zakład zużycia własnego wpływa na wartości wszystkich przedstawionych w tabeli 4 wskaźników strat wody. Zużycie własne podawane jest szacunkowo, dlatego też w przypadku gwałtownego wzrostu każdy zakład powinien wskazać przyczyny jego wzrostu.

Podsumowanie i wnioski

Z uwagi na konieczność ochrony zasobów wód oraz kondycję finansową zakładów wodociągowych należy podejmować skuteczne działania dotyczące ograniczania strat wody. Bardzo często stanowią one wysoki procent wody włączanej do sieci. Należy podkreślić, że nie tylko w Polsce, ale i na świecie maleją zasoby wody pitnej, koszty jej produkcji stale rosną, a straty wody znacznie przyczyniają się do zwiększania tych kosztów. Dlatego też każdy zakład eksploatujący sieci wodociągowe powinien prowadzić rzetelną analizę strat wody, będącą podstawą do podejmowania działań remontowych czy modernizacyjnych w celu szybkiego wykrycia i likwidacji strat wody. Liczni autorzy podkreślają, że najczęściej wyznaczany procentowy wskaźnik strat wody jest niewystarczający do wiarygodnej oceny strat wody, ponieważ nie uwzględnia tak istotnych parametrów, jak np. długość sieci, ilość i długość przyłączy oraz ciśnienie i obciążenie hydrauliczne panujące w sieci. Można go stosować jako pierwszą, przybliżoną informację dotyczącą oceny strat oraz do analizy strat wody w dłuższym czasie w tym samym systemie dystrybucji. IWA proponuje rozszerzoną metodykę obliczania strat umożliwiającą bardziej obiektywną ocenę stanu danego systemu dystrybucji. Niestety dokładna ocena strat wody często jest niemożliwa z uwagi na ograniczoną ilość i wiarygodność danych uzyskanych z zakładów np. w zakresie długości sieci, ciśnienia czy ilości wody zużywanej na potrzeby własne wodociągu. Ilość wody zużytej na potrzeby własne wodociągu jest trudna do dokładnego określenia i zazwyczaj określana jest szacunkowo, a przez część przedsiębiorstw celowo zawyżana, aby obniżyć wartości wskaźników strat wody.

Analizowane przedsiębiorstwo w ostatnich latach znacznie zwiększyło zużycie własne, nie wskazując konkretnych przyczyn. Nieuzasadnione zawyżanie zużycia własnego wpływa na ograniczenie procentowego wskaźnika strat, przez co stawia zakład w pozornie lepszym świetle. Niepokojący jest wysoki wskaźnik jednostkowych strat rzeczywistych RLB. Ponadto dla analizowanego zakładu nie było możliwości wyznaczenia zalecanego przez IWA wskaźnika *ILI* z uwagi na brak szczegółowych danych do obliczenia strat

nieuniknionych. Należy podkreślić, że określenie *ILI* umożliwiłoby analizę porównawczą z innymi systemami wodociągowymi i obiektywną ocenę stanu sieci wodociągowej.

Analiza strat wody w systemie dystrybucji przedsiębiorstwa A pozwala stwierdzić, że zakład dla pełnej wiedzy na temat strat powinien przeanalizować i uzasadnić znaczny wzrost zużycia wody na potrzeby własne, określić przyczyny wysokiego wskaźnika *RLB* oraz zinventaryzować długość przyłączy. Jest to podstawą prawidłowego wykonania bilansu wody i obliczenia wszystkich wskaźników strat zalecanych przez IWA.

Podziękowania

Pracę wykonano w ramach badań: BS/MN-401-304/16.

Literatura

- [1] Clarke M, Boden P, McDonald A. DEBTOR: debt evaluation, bench-marking and tracking - a water debt management tool to address UK water debt. *Water Environ J.* 2012;26:292-300. DOI: 10.1111/j.1747-6593.2011.00288.x
- [2] Siwoń Z, Cieżak W, Cieżak J. Praktyczne aspekty badań strat wody w sieciach wodociągowych. *Ochr Środ.* 2004;4:25-30.
- [3] European Environment Agency. Towards efficient use of water resources in Europe. EEA Report 1.2012. DOI: 10.2800/95096.
- [4] Zambrano JA, Gil-Martinez M, Garcia-Sanz M, Irizar I. Benchmarking of control strategies for ATAD technology: a first approach to the automatic control of sludge treatment systems. *Water Sci Technol.* 2009;60(2):409-417. DOI: 10.2166/wst.2009.338.
- [5] Kwietniewski M, Gębki W, Wronowski N. Monitorowanie sieci wodociągowych i kanalizacyjnych. PZLiTS; Monografie Seria Wod. i Kan. 2007;10
- [6] Studziński A, Pietrucha-Urbanik K, Kluz W. Analiza strat wody w sieci wodociągowej w Stalowej Woli. *JCEEA.* 2014;61(1/14):333-342. DOI: 10.7862/rb.2014.23.
- [7] Rak J, Trojnar D. Analiza i ocena strat wody w wodociągu Łañcuta. *JCEEA.* 2014;61(1/14):245-256. DOI: 10.7862/rb.2014.17.
- [8] Ociepa E, Merc K. Analiza strat wody w systemie wodociągowym eksploatowanym przez Przedsiębiorstwo Wodociągów i Kanalizacji Okręgu Częstochowskiego S.A. *GWiTS.* 2016;7:249-253. DOI: 10.15199/17.2016.7.3.
- [9] Opracowanie własne na podstawie materiałów udostępnionych przez Przedsiębiorstwo A.
- [10] Lambert A, Hibner W. Losses from water supply systems: Standard terminology and recommended performance measures. *The Blu Pages.* Copyright by IWA, 2000;10:320-338.
- [11] Rak J, Sypień Ł. Analiza strat wody w wodociągu miasta Jasła. *JCEEA.* 2013;60(3/13):5-18. DOI: 10.7862/rb.2013.33.
- [12] Piechurski FG. Sposoby zmniejszania strat wody. *Ryn Instal.* 2011;11-12:74-76/72-75.
- [13] Hotłoś H. Quantitative assessment of the influence of water pressure on the reliability of water-pipe networks in service. *Environ Protect Eng.* 2010;36(3):103-112. http://epe.pwr.wroc.pl/2010/hotlos_3-2010.pdf.
- [14] Piechurski FG. Sposoby zmniejszania strat wody (cz. 2). *Ryn Instal.* 2011;12:1-4. <http://www.rynekinstalacyjny.pl/artukul/id3323,sp0soby-zmniejszania-strat-wody-cz-2?print=1>.
- [15] Piechurski FG. Straty wody w systemie wodociągowym (cz. I-III). *Wodociągi-Kanalizacja.* 2008;3(49):24-46.
- [16] Lambert A, McKenzie R. Practical Experience in using the Infrastructure Leakage Index. Paper to IWA Conference Leakage Management - A Practical Approach. November 2002. <http://www.studiomarcofantozzi.it/IWACYprusNov2002Lambert&McKenziepaper.pdf>.
- [17] Studziński A, Pietrucha-Urbanik K, Mędrała A. Analiza strat wody oraz awaryjności w wybranych systemach zaopatrzenia w wodę. *JCEEA.* 2014;61(4/14):193-201. DOI: 10.7862/rb.2014.137.
- [18] Ociepa E, Kędzia W. Analiza strat wody w wybranych wodociągach województwa śląskiego. *Inż Ochr Środ.* 2015;18(3):277-288. https://is.pcz.pl/static/pdf/2015/zeszyt3/2015_nr3_1-OciepaKedzia_p.pdf.

- [19] Kwietniewski M. Zastosowanie wskaźników strat wody do oceny efektywności jej dystrybucji w systemach wodociągowych. *Ochr Środ.* 2013;35(4):9-16. http://www.os.not.pl/docs/czasopismo/2013/4-2013/Kwietniewski_4-2013.pdf.

ANALYSIS OF LOSSES WATER BASED ON INDICATORS RECOMMENDED BY INTERNATIONAL WATER ASSOCIATION

Institute of Environmental Engineering, Faculty of Infrastructure and Environment
Czestochowa University of Technology

Abstract: Water loss in water supply systems often represent a very high percentage of water a press-fit to the network. Already at the design stage involves the inevitable loss of water, but very often they are in fact significantly higher than assumed. Taking action modernization or renovation aimed at reducing leaks should be preceded by a detailed analysis of water losses in the distribution system. The article analyzes the possibility of setting recommended by the International Association Water (International Water Association - IWA) indicators water losses such as the Infrastructure Leakage Index (*ILI*), the water volume-profit (*NRWB*) Unavoidable Annual Real Losses (*UARL*), Real Leakage Balance (*RLB*). Indicated difficulties in assessing damage, which are often incomplete and inaccurate data presented by the companies, and which are necessary to calculate the recommended rates of loss indicating the state operated distribution system.

Keywords: analysis of the loss of water, water loss, loss inevitable indicators loss water

Anna MUSZ-POMORSKA¹ i Marcin K. WIDOMSKI¹

ANALIZA PORÓWNAWCZA ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH MIGRUJĄCYCH Z RUR PEHD DO WODY

COMPARATIVE ANALYSIS OF ORGANIC COMPOUNDS MIGRATING FROM HDPE PIPES TO WATER

Abstrakt: Przewody wodociągowe z tworzyw sztucznych, w tym z polietylenu dużej gęstości (PEHD), w wyniku degradacji materiału, mogą uwalniać do wody różnego rodzaju związki organiczne: przeciwutleniacze, stabilizatory oraz produkty ich degradacji. Celem prezentowanych badań jest jakościowe i ilościowe porównanie związków organicznych migrujących do wody z dwóch nowych rur PEHD o średnicy 32 mm i grubości ścianki 3,0 mm, zakupionych u różnych producentów. Pomiary laboratoryjne wykonywane były za pomocą wielokanałowego chromatografu gazowego Trace Ultra Thermo sprzężonego ze spektrometrem mas Polaris Q. Przeprowadzone badania wykazały, iż badane rury różnią się względem siebie i zawierają różne związki organiczne, co wskazuje na potrzebę badań rur wykonanych z tych samych materiałów, ale pochodzących od różnych producentów. Porównanie związków organicznych migrujących do wody oraz ich stężeń w wodzie potwierdziło występowanie różnic pomiędzy badanymi materiałami. Z obu rur do wody zaobserwowano migrację przeciwutleniacza butylohydroksytoluenu (BHT), naftalenu, styrenu i benzenu. W pracy dokonano również wstępnej analizy ilościowej uwalniania BHT z materiału rur do wody. Na podstawie zmierzonych stężeń BHT w wodzie oraz pomierzonej wartości stężenia badanego przeciwutleniacza w materiale przewodu czas jego wymywania z materiału do wody oszacowano na około 29 lat.

Słowa kluczowe: BHT, rury PEHD, migracja związków organicznych

Wprowadzenie

Do produkcji przewodów z tworzyw sztucznych, w tym do rur z polietylenu dużej gęstości PEHD, dodaje się szeregu substancji dodatkowych, takich jak stabilizatory, w tym przeciwutleniacze, barwniki, plastyfikatory, które w wyniku degradacji materiału pod wpływem działania różnych czynników zewnętrznych: środowiskowych, mechanicznych, fizykochemicznych, mogą być wymywane z materiału rur do wody [1-9]. Badania literaturowe (m.in. [2, 3, 10]) potwierdzają uwalnianie z rur PEHD i PE-X do wody około 100 różnych związków organicznych, w tym przeciwutleniaczy, które mają za zadanie zwiększenie odporności na utlenianie, depolimeryzację czy procesy degradacji materiału [11]. Niektóre z wymywanych związków, głównie lotne związki organiczne, wpływają negatywnie na parametry jakości wody, szczególnie na smak i zapach [12]. Jak wskazują badania prowadzone przez Anselme i in. [1], Skjevraak i in. [3], obecność butylohydroksytoluenu (BHT) w wodzie może powodować m.in. niepożądany jej zapach. Natomiast obecność w wodzie związków zaliczanych do grupy węglowodorów aromatycznych, powszechnie stosowanych do produkcji tworzyw sztucznych [13], ze względu na właściwości toksyczne może negatywnie wpływać na zdrowie ludzi [14]. Przeprowadzony przez Skjevraak i in. [3] test na migrację na przewodach z PEHD potwierdził uwalnianie z materiału rur do wody takich związków, jak: 2,4-di-tert-butylofenyl, 2,6-di-tert-butylobenzochinon oraz estrów, aldehydów, ketonów

¹ Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska, ul. Nadbystrzycka 38D, 20-618 Lublin, tel. 81 538 44 81, email: a.musz@wis.pol.lublin.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'16, Zakopane, 5-8.10.2016

i węglowodorów aromatycznych. Związki te są produktami degradacji przeciwutleniaczy o nazwie handlowej Irganox 168, Irganox 1010 oraz Irganox 1076 [3]. Badania prowadzone przez Broca i in. [2] wykazały wymywanie 20 związków organicznych, złożonych głównie z fenolowego pierścienia i związanych z nim grup alkilowych z różnego rodzaju polietylenu (polietylenu sieciowanego PEX, polietylenu średniej gęstości PEMD, polietylenu małej gęstości PELD oraz pierwotnego polietylenu w postaci granulki) do wody.

Dane literaturowe wskazują, iż czas wymywania przeciwutleniaczy z matrycy materiałów polimerowych jest ściśle powiązany z warunkami prowadzenia badań [5, 15-19]. Opisane w literaturze wyniki badań czasu wymywania przeciwutleniacza z warstwy wewnętrznej materiału przewodu PEHD 80 i 100 do wody dotyczą badań prowadzonych w warunkach podwyższonej temperatury, zawartości w wodzie chloru oraz braku przepływu [5, 15-19]. Przykładowo, badania prowadzone przez Hoàng i Lowe [18] wskazują, iż czas wymywania przeciwutleniaczy dla wewnętrznej i zewnętrznej ściany przewodu wodociągowego o średnicy 32x3,0 mm, wykonanego z polietylenu dużej gęstości PEHD 100, wynosi odpowiednio 194 i 151 lat dla wody o temperaturze 10°C, 69 i 56 lat dla 20°C oraz 42 i 35 lat dla 25°C.

Celem prezentowanych badań było jakościowe i ilościowe porównanie związków organicznych migrujących do wody z dwóch nowych rur PEHD 80 o średnicy 32 mm i grubości ścianki 3,0 mm, zakupionych u różnych producentów. Dodatkowo dla jednej z rur na podstawie pomierzonych stężeń BHT w wodzie oraz zmierzonej wartości stężenia badanego przeciwutleniacza w materiale przewodu podjęto próbę określenia czasu wymywania przeciwutleniacza z materiału do wody.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na nowych przewodach wykonanych z PEHD 80 o średnicy 32x3,0 mm, produkowanych w Polsce zgodnie z normą PN-EN 12201-2:2011 [20]. Rury zakupiono bezpośrednio u dwóch różnych producentów przewodów i do czasu prowadzenia analiz składowano w ciemnym pomieszczeniu o zapewnionej stałej temperaturze otoczenia. Badane przewody w dalszej części pracy opisane są jako rury A i B. Podstawowe właściwości materiału rur PEHD zastosowanych w badaniach były następujące: gęstość - 0,945 g·cm⁻³, minimalna wymagana wytrzymałość (MRS) - 8 MPa, temperatura użytkowania od -30 do +85°C.

Badania materiału rury B wykazały, iż jest ona stabilizowana przeciwutleniaczem - butylohydroksytoluenem (BHT). Zawartość BHT w materiale przewodu wynosi od 300 do 530 mg·kg⁻¹, a w warstwie wewnętrznej przewodu średnio 260 mg·kg⁻¹, co wskazuje na brak homogeniczności materiału i niejednorodne wymieszanie składników.

Związki organiczne zidentyfikowane w rurze A oraz ich stężenia zostały opisane w pracy Kowalska i in. [20].

Test na migrację - identyfikacja związków organicznych migrujących z materiału do wody

Test na migrację przeprowadzono zgodnie z metodyką opisaną w PN-EN ISO 8795:2003 [21] oraz PN-EN 12873-1:2003 [22]. Badania te miały na celu identyfikację związków organicznych migrujących do wody oraz ich ocenę ilościową.

Do badań przygotowano odcinki rur o długości od 0,25 do 0,5 m każdy i stosunku powierzchni do objętości od ok. 9,1 do 14 dm⁻¹.

Przed wykonaniem testu przygotowane próbki rur były płukane strumieniem wody pochodzącej z instalacji wodociągowej przez 60 min, a następnie zostały napełnione wodą wodociągową i zamknięte z obu stron szklanymi pokrywkami (zgodnie z metodyką podaną w normie). Podstawowe parametry fizyczno-chemiczne wody użytej do przygotowania próbek były następujące: twardość ogólna - 375 mg(CaCO₃)·dm⁻³, przewodność elektryczna - 763 μS·cm, pH - 7,2, mętność - poniżej 0,2 NTU, barwa - poniżej 5 mg Pt·dm⁻³, zawartość chloru wolnego - 0,18 mg·dm⁻³. Próbkę pozostawiono w ciemnym pomieszczeniu na okres 72 godzin w temperaturze otoczenia 23±2°C. Po tym czasie woda z rur została przelana do szklanych butelek, a następnie poddana dalszym badaniom. Procedura ta została powtórzona trzykrotnie. W sumie łączny czas trwania badań wynosił 216 h. Po każdym zlanie wody testowej próbki przemywano i ponownie zalewano wodą wodociągową.

Uzyskane próbki wody ekstrahowano do fazy stacjonarnej, a następnie poddawano analizom za pomocą chromatografu gazowego GC-MS.

Ekstrakcja do fazy stacjonarnej

Przygotowane próbki wody poddano ekstrakcji do fazy stacjonarnej przy użyciu niebieskiego włókna SPME (grubość filmu fazy stacjonarnej 65 μm, rodzaj fazy stacjonarnej polidivinylosiloksan/diwinylbenzen - PDMS/DVB), przez okres 40 min metodą Head Space w temperaturze 25°C. Następnie próbkę dozowano bezpośrednio z włókna na dozownik chromatografu gazowego i przez 10 min w temperaturze dozownika 270°C prowadzono desorpcję w opcji splitless. Wynikiem analiz były chromatogramy (pole powierzchni pod pikiem po jonie charakterystycznym - base peak) i widma masowe potwierdzające obecność badanego związku.

Warunki pracy chromatografu gazowego GC-MS

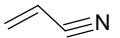








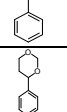









Badania wybranych związków organicznych zostały wykonane za pomocą wielokanałowego chromatografu gazowego Trace Ultra Thermo sprzężonego ze spektrometrem mas Polaris Q. Warunki pracy urządzenia były zgodne z opisanymi w [23]. Granica wykrywalności BHT w wodzie dla metody GC-MS wynosiła 0,0027 mg·dm⁻³, a oznaczalności (QL) 0,0081 mg·dm⁻³.

Wyniki analiz laboratoryjnych i ich dyskusja

Nazwy wszystkich zidentyfikowanych w wodzie związków organicznych oraz ich stężenia zmierzone w kolejnych etapach testu na migrację dla rur A i B przedstawiono odpowiednio w tabelach 1 i 2. Próbkę zawierającą wodę z instalacji wodociągowej opisano jako „woda z instalacji”. Próbkę wody testowej z testu na migrację oznaczono cyframi rzymskimi od I (I moczenie) do III (III moczenie). Podane dla nich wartości są średnimi uzyskanymi z trzech powtórzeń. Kolorem szarym w tabeli zaznaczono związki wymyte do wody z obu rur.







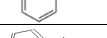
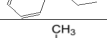


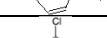

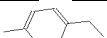



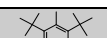


Tabela 1
Związki organiczne zidentyfikowane w wodzie oraz ich stężenia w kolejnych etapach testu - rura A

Table 1
Organic compounds identified in water and their concentration in successive tests - pipe A

Wzór strukturalny	Związek organiczny	Stężenie w kolejnych etapach testu [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$]			
		I	II	III	Woda z instalacji
	Akrylonitryl	4,20±0,52	3,80±0,29	3,40±0,29	< LOD
	Benzen	17,0±1,2	6,82±0,56	6,58±0,57	4,15±0,33
	Toluen	17,44±0,95	9,60±0,68	8,24±0,72	6,72±0,56
	Ksylen	23,1±1,2	19,2±1,1	15,1±1,1	12,1±1,4
	Styren	74,0±2,4	21,6±2,1	12,30±0,89	< LOD
	1-etylo-2-metylobenzen	13,10±0,76	0,95±0,09	< LOD	< LOD
	Fenol	7,30±0,86	3,80±0,29	0,90±0,12	< LOD
	Mezytylen	15,30±0,87	1,80±0,06	0,90±0,08	< LOD
	Metylostyren	29,40±0,99	6,20±0,58	< LOD	< LOD
	4-fenylo-1,3-dioksan	4,14±0,52	< LOD	< LOD	< LOD
	<i>t</i> -butylo metylofenol	11,80±0,65	0,90±0,05	< LOD	< LOD
	Indan	0,75±0,09	< LOD	< LOD	< LOD
	Metyloindeno	0,29±0,08	< LOD	< LOD	< LOD
	BHT (butylohydroksytoluen)	9,80±0,84	3,60±0,29	< LOD	< LOD
	3-fenylo-1-penten	3,60±0,54	< LOD	< LOD	< LOD
	Naftalen	0,21±0,09	0,17±0,09	0,19±0,09	0,18±0,09
	Dihydronaftalen	0,19±0,09	< LOD	< LOD	< LOD
	2-fenylo-4-pental	6,32±0,61	0,90±0,09	< LOD	< LOD
	3,4-butylfenol	12,24±0,89	2,80±0,72	2,60±0,57	< LOD

< LOD - stężenie poniżej progu wykrywalności

Tabela 2
Związki organiczne zidentyfikowane w wodzie oraz ich stężenia w kolejnych etapach testu - rura BTable 2
Organic compounds identified in water and their concentration in successive tests - pipe B

Wzór strukturalny	Związek organiczny	Stężenie w kolejnych etapach testu [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$]			
		I	II	III	Woda z instalacji
	Metylobenzen	19,00	7,00	3,00	6,33
	Benzen	23,33	16,33	3,33	< LOD
	Etylobenzen	4,66	1,16	0,33	1,0
	1,4-dimetylobenzen	6,33	1,63	0,6	1,43
	Styren	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	1,2-dimetylobenzen	5,66	2,00	0,6	0,13
	Propylobenzen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	1,3,5-trimetylobenzen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	1-etylo-2-metylobenzen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	1,4-dichlorobenzen	15,66	10,33	3,66	4,26
	1-etylo-4metylobenzen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	1-metylnaftalen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	1,2,3-trichlorobenzen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	BHT (butylohydroksytoluen)	11,00	8,00	4,00	6,66±2,33
	1-metylnaftalen	<LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Naftalen	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	2,4,4-trimetyloheksan	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	2,4-DTBP (2,4-di- <i>t</i> -butylofenol)	13,00	7,33	8,66	< LOD
	2,6-Bis(1,1-dimetyloetylo) -4-(1-oksopropylo)fenol	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

< LOD - stężenie poniżej progu wykrywalności

W próbkach wody będącej w kontakcie z materiałem przewodów zidentyfikowano po 19 związków organicznych (tab. 1 i 2). Przy czym w wodzie będącej w kontakcie z rurą B oznaczono ilościowo (stężenie powyżej granicy wykrywalności) 7 związków organicznych. Przedstawione w tabelach 1 i 2 wyniki wskazują, iż pomimo badania dwóch rur wykonanych z tego samego materiału (PEHD 80) do wody mogą być uwalniane różne związki organiczne. Może to wynikać z nieznacznie różnych warunków prowadzenia procesu produkcji (inna temperatura, ciśnienie) obu rur lub różnic w zawartości poszczególnych składników dodatkowych dodawanych do materiału w procesie ich wytwarzania. Z obu rur do wody zaobserwowano migrację BHT, naftalenu, styrenu i benzenu.

Przedstawione w tabelach 1 i 2 wyniki stężeń poszczególnych związków organicznych zmierzone w kolejnych etapach testu na migrację potwierdzają występowanie różnic w ich wymywaniu do wody. Spośród czterech związków organicznych wspólnych dla obu rur, w wodzie mającej kontakt z rurą B zaobserwowano stężenie styrenu i naftalenu poniżej progu detekcji, podczas gdy w wodzie mającej kontakt z rurą A stężenie styrenu osiągało wartości od $74,00 \pm 2,43 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (I moczenie) do $12,30 \pm 0,89 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (III moczenie), a w przypadku naftalenu w I i III moczeniu jego stężenie nieznacznie przekraczało wartość tła (odpowiednio o 0,03 i 0,01 $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$). Najwyższe stężenie BHT ponad tło uzyskano po I moczeniu rury A - $9,80 \pm 0,84 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$, natomiast w przypadku benzenu najwyższe jego stężenie uzyskano po I moczeniu rury B - $23,33 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. W większości przypadków najniższe stężenia uzyskiwano dla III moczenia, co wskazuje na wymycie do wody związków organicznych z wewnętrznej (granicznej) warstwy materiału.

Benzen i jego pochodne (m.in. metylobenzen, etylobenzen, 1,2-dimetylobenzen, 1,4-dimetylobenzen obecne w wodzie mającej kontakt z rurą B czy 1-etylo-2-metylobenzen obecny w wodzie mającej kontakt z rurą A) wykazują właściwości rakotwórcze i drażniące skórę i drogi oddechowe. W obu przypadkach stężenie benzenu w wodzie przekraczało wartość dopuszczalną ($1 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) określoną dla wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi [24].

Wśród pozostałych związków zidentyfikowanych w wodzie można wyróżnić produkty degradacji stabilizatorów: *t*-butylo metylofenol, 3,4-butylofenol, 2,4-di-*t*-butylofenol, które również mogą przyczyniać się do powstawania niepożądanego smaku i zapachu wody, oraz liczne węglowodory aromatyczne [3].

Tabela 3

Stężenie oraz średnie dobowe wymywanie BHT do wody mającej kontakt z rurą B

Table 3

The concentration and average daily leaching of BHT to water in contact with pipe B

Etap badań	Średnie stężenie BHT w wodzie ponad tło [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$]		Średnia zawartość BHT w wodzie [μg]	Średnie dobowe wymywanie BHT do wody [$\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$]
	O	I		
I moczenie	$6,66 \pm 2,33$	4,34	2,17	0,31
II moczenie	$6,66 \pm 2,33$	1,34	0,67	
III moczenie	$6,66 \pm 2,33$	0	0	

Dodatkowo podjęto próbę oszacowania czasu wymywania BHT z wewnętrznej warstwy materiału do wody. Na podstawie zmierzonych jego stężeń w wodzie

w kolejnych etapach testu na migrację określono wartość średniego dobowego wymywania BHT z materiału do wody (tab. 3), a następnie, przyjmując zmierzoną jego zawartość w warstwie zewnętrznej materiału, oszacowano jego czas wymywania.

Przyjmując zawartość BHT w warstwie wewnętrznej w wysokości ok. $260 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (stąd $3,27 \text{ mg}$ BHT jest w warstwie wewnętrznej rury B o długości $L = 0,25 \text{ m}$) oraz obliczone średnie dobowe jego wymywanie, czas wymywania badanego przeciwutleniacza oszacowano na $10\,548 \text{ dób}$, tj. około 29 lat. Porównując czas wymywania BHT z warstwy wewnętrznej materiału rur z danymi literaturowymi, uzyskanymi m.in. przez Hoàng i Lowe [18], widać, iż oszacowany czas wymywania (29 lat) jest prawie 1,5 raza niższy od wartości przez nich uzyskanej (dla warstwy wewnętrznej przewodu z polietylenu dużej gęstości PEHD 100 czas wymywania wynosi 42 lat dla wody o temperaturze 25°C). Ze względu na szereg uproszczeń, m.in. pominięcie migracji BHT w materiale przewodu, przyjęcie średniej dobowej wartości wymywania przeciwutleniacza, obliczony czas wymywania należy traktować jako wartość orientacyjną. Dokładne oszacowanie czasu wymywania przeciwutleniacza ze ścianki przewodu wymaga przeprowadzenia specjalistycznych badań starzeniowych w dłuższym okresie w różnych warunkach.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań oraz uzyskanych wyników można stwierdzić, iż rury wykonane z tego samego materiału (PEHD 80) mogą uwalniać do wody różne związki organiczne. Z obu rur do wody zaobserwowano migrację przeciwutleniacza butylohydroksytoluenu (BHT), naftalenu, styrenu i benzenu. Pozostałe zidentyfikowane związki są charakterystyczne dla danej rury. W obu przypadkach są to przede wszystkim produkty degradacji stabilizatorów (*t*-butylo metylofenol, 3,4-butylfenol - rura A, 2,4-di-*t*-butylfenol - rura B) oraz węglowodory aromatyczne, które, jak wskazują dane literaturowe, przyczyniają się do powstawania smaku i zapachu wody. Ilość uwalnianych związków organicznych jest również cechą indywidualną dla konkretnego przewodu. Najwyższe stężenie BHT ponad tło uzyskano po I moczeniu rury A - $9,80 \pm 0,84 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$, natomiast w przypadku benzenu najwyższe jego stężenie uzyskano po I moczeniu rury B - $23,33 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. We wszystkich próbkach testowych stężenie benzenu w wodzie przekraczało wartość dopuszczalną ($1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$) określoną dla wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi [24]. Widoczne różnice prawdopodobnie wynikają z różnych warunków prowadzenia procesu produkcji oraz różnej zawartości poszczególnych związków dodawanych do materiału na etapie jego wytwarzania. Duża różnorodność wymywanych związków wskazuje również na konieczność badania rur wykonanych z tych samych materiałów, ale pochodzących od różnych producentów.

Oszacowany na podstawie stężenia w wodzie czas wymywania BHT z wewnętrznej warstwy materiału do wody wynosi około 29 lat. Uzyskany czas jest niższy od wartości literaturowych, m.in. od czasu podanego dla rury wykonanej z PEHD 100 o średnicy 32 mm. Przyjęty sposób określania czasu wymywania jest uproszczony ze względu na liczne uogólnienia, dając zaniżone wartości, i może służyć jedynie jako przybliżona wartość szacunkowa.

Literatura

- [1] Anselme C, Nguyen K, Bruchet A, Mallevalle J. *Environ Technol Lett.* 1985;6(11):477-488. DOI: 10.1080/09593338509384366.
- [2] Brocca D, Arvin E, Mosback H. *Water Res.* 2002;36:3675-3680. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00084-2.
- [3] Skjevraak I, Due A, Gjerstad KO, Herikstad H. *Water Res.* 2003;37:1912-1920. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00576-6.
- [4] Lehtola MJ, Miettinen IT, Keina'nen MM, Kekki T, Laine O, Hirvonen A, et al. *Water Res.* 2004;38(17):3769-3779. DOI: 10.1016/j.watres.2004.06.024.
- [5] Denberg M, Arvin E, Hassager O. *J Water Supply: Res Technol AQUA.* 2007;56(6-7):435-443. DOI: 10.2166/aqua.2007.020.
- [6] Kowalska B, Kowalski D, Kwietniewski M, Musz A. Oddziaływanie materiału rur polietylenowych na jakość wody w sieci wodociągowej. W: Zimoch I, Sawiniak W, Pieczykolan B, Barbusiński K, redaktor. *Aktualne zagadnienia w uzdatnianiu i dystrybucji wody.* Vol. 2. Gliwice: Politechnika Śląska; 2011.
- [7] Widomski MK, Kowalska B, Kowalski D. Badania modelowe rozprzestrzeniania się butylohydroksytoulenu (BHT) migrującego z rury polietylenowej (PE-HD) do wody. *Ochr Środ.* 2012;3(34):33-37. <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.baztech-article-BPOB-0051-0005>.
- [8] Widomski M, Kowalska B, Kowalski D, Czerwiński J, Kwietniewski M. *Urban Water.* 2012;49-62. DOI: 10.2495/UW120051.
- [9] Musz A, Kowalska B, Widomski MK. *Gaz, Woda Technika Sanit.* 2015;1:2-6. DOI:10.15199/17.2015.1.1
- [10] Pospíšil J, Habicher WD, Pilař J, Nešpůrek S, Kuthan J, Piringer GO, et al. *Polym Degrad Stabil.* 2002;77(3):531-538. DOI: 10.1016/S0141-3910(02)00112-X.
- [11] Hassinen J, Lundback M, Ifwarson M, Gedde UW. *Polym Degrad Stabil.* 2004;84:261-267. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2011.02.009.
- [12] Heim TH, Dietrich AM. *Water Res.* 2007;41(4):757-64. DOI: 10.1016/j.watres.2006.11.028
- [13] Harper CA. *Handbook of Plastics Technologies: The Complete Guide to Properties and Performance.* New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 2006.
- [14] Laidler KJ, Meiser JH, Sanctuary BC. *Physical Chemistry.* 3rd ed. Boston: Houghton Mifflin Company, 1999.
- [15] Smith GD, Karlsson K, Gedde UW. *Polym Eng Sci.* 1992;32(10): 658-667. DOI: 10.1002/pen.760321004.
- [16] Viebke J, Hedenqvist M, Gedde UW. *Polym Eng Sci.* 1996;36(24):2896-2904. DOI: 10.1002/pen.10691.
- [17] Viebke J, Gedde UW. *Polym Eng Sci.* 1997;37(5):896-911. DOI: 10.1002/pen.11733
- [18] Hoàng EM, Lowe D. *Polym Degradat Stability.* 2008;98(8):1496-1503. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.05.008.
- [19] Montes JC, Cadoux D, Creus J, Touzain S, Gaudichet-Maurin E, Correc O. *Polym Degradat Stability.* 2012;97(2):149-157. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2011.11.007.
- [20] Kowalska B, Kowalski D, Rozej A. *J Water Supply: Res Technol AQUA.* 2011;60(3):137-146. DOI: 10.2166/aqua.2011.004.
- [21] Polska Norma PN-EN 12201-2:2012 - Systemy przewodów rurowych z tworzyw sztucznych do przesyłania wody Polietylen (PE), Część 2: Rury. <http://sklep.pkn.pl/pn-en-12201-2-2012p.html>.
- [22] Polska Norma PN-EN 12873-1:2005 Wpływ materiałów na wodę przeznaczoną do spożycia przez ludzi. Wpływ spowodowany migracją. Część 1 - Metoda badania wyrobów produkowanych fabrycznie z materiałów innych niż metalowe i cementowe. <http://sklep.pkn.pl/pn-en-12873-1-2005p.html>.
- [23] Kowalska B, Kowalski D. Zmiany jakości wody w instalacji badawczej wykonanej z polietylenu sieciowanego. *Gaz, Woda Technika Sanit.* 2012;9:369-374. <http://docplayer.pl/37366952-Zmiany-jakosci-wody-w-instalacji-badawczej-wykonanej-z-polietylenu-sieciowanego.html>.
- [24] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 2015 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U. 2015, poz. 1989). <http://isap.sejm.gov.pl/DetailsServlet?id=WDU20150001989>.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ORGANIC COMPOUNDS MIGRATING FROM HDPE PIPES TO WATER

Faculty of Environmental Engineering, Lublin University of Technology

Abstract: Water pipes made of plastics, including high density polyethylene (HDPE), as a result of their material degradation may release to water the various types of organic compounds: antioxidants, stabilizers and products of their degradation. The aim of the presented studies was to compare the organic compounds migrating into the water from the new PEHD pipes with diameter of 32 mm and wall thickness of 3.0 mm. The tested pipes were purchased directly from different manufacturers. Our laboratory measurements were performed with application of a multi-channel gas chromatograph Ultra Trace Thermo coupled with mass spectrometer Polaris Q. The conducted studies showed that the tested pipes were different from each other and contained various organic compounds. Thus, the need for testing the pipes produced of the same materials but made by the different manufacturers was underlined. The qualitative comparison of organic compounds migrating into the water confirmed the differences between the two tested materials. The migration of the antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT), benzene naphthalene and styrene was observed for both tested pipes. The preliminary analysis of the quantitative release of BHT from pipe material into the water was also included in this paper. Basing on the measured concentration of BHT in water and the measured value of the concentration of the tested antioxidant in the material, the elution time from the material into water was estimated for approximately 29 years.

Keywords: BHT, PEHD pipes, migration of organic compounds

Małgorzata NABRDALIK¹ i Ewa MOLISZEWSKA¹

WYKORZYSTANIE ANTAGONISTYCZNYCH WŁAŚCIWOŚCI *Bacillus subtilis* WOBEC *Rhizoctonia solani*

APPLICATION OF ANTAGONISTIC PROPERTIES OF *Bacillus subtilis* AGAINST *Rhizoctonia solani*

Abstrakt: Celem badań była ocena antagonistycznych właściwości, wyizolowanego z ryzosfery korzenia buraka cukrowego, szczepu *Bacillus subtilis* EM1 wobec *Rhizoctonia solani* ID105. Aktywność przeciwgrzybową określono w badaniach *in vitro* na podstawie zahamowania wzrostu grzybni patogenu oraz w doświadczeniu wazonowym, w którym określono wpływ *B. subtilis* EM1 na wzrost roślin porażonych tym patogenem. W pracy określono zdolność bakterii *B. subtilis* EM1 do biosyntezy kwasu indolilo-3-octowego (IAA). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że testowany szczep zahamowuje w 85,0% wzrost grzybni fitopatogenu, jednak nie ogranicza jego wpływu na wzrost i porażenie roślin. *B. subtilis* EM1 wykazuje zdolność do biosyntezy IAA. Największe stężenie 67,6 µg/cm³ IAA stwierdzono po 7 dniach inkubacji szczepu w obecności 2000 µg/cm³ L-tryptofanu. Badany szczep stymulował wzrost siewek buraka cukrowego.

Słowa kluczowe: *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, aktywność przeciwgrzybowa, auksyny

Wprowadzenie

Bakterie ryzosferowe promujące wzrost roślin (PGRP - plant growth-promoting rhizobacteria) stały się ważnym narzędziem w integrowanej ochronie roślin po wprowadzeniu 1 stycznia 2014 r. dyrektywy 2009/128/WE [1]. Zgodnie z ogólnymi zasadami integrowanej ochrony roślin, określonymi w załączniku III do ww. dyrektywy [1], nad chemiczne metody zwalczania organizmów szkodliwych przedkładać należy między innymi metody biologiczne, jeżeli zapewniają one ochronę przed organizmami szkodliwymi [1]. Do PGRP zaliczamy zarówno wolno żyjące bakterie glebowe bytujące w strefie korzeniowej, jak i bakterie endofityczne zasiedlające powierzchniowe tkanki korzeni, ale niewywołujące objawów chorobowych u roślin. Ich pozytywne działanie na rośliny można podzielić na bezpośrednie oraz pośrednie. Stymulacja bezpośrednia związana jest z produkcją fitohormonów (auksyn, cytokin, giberelin), zdolnością kontrolowania poziomu jonów żelaza dzięki produkcji sideroforów, wytwarzaniem kwasów organicznych oraz obniżeniem produkcji etylenu negatywnie wpływającego na rozwój roślin. Stymulacja pośrednia wzrostu roślin dotyczy procesów związanych z ochroną przed patogenami. Mechanizmy wykorzystywane w ochronie przed fitopatogenami to na przykład: indukcja odporności systemicznej, produkcja antybiotyków, egzopolisacharydów i enzymów litycznych, synteza metabolitów przeciwgrzybowych, wytwarzanie związków lotnych oraz konkurencja o niszę ekologiczną [2-6]. Jako bakterie ryzosferowe ograniczające choroby roślin wymienia się najczęściej niepatogeniczne szczepy należące do rodzaju *Bacillus* oraz *Pseudomonas* [4-6]. Bakterie te wykorzystywano w zwalczaniu fitopatogennych szczepów *Fusarium oxysporum* [7-10], *F. solani* [8, 10], *Alternaria*

¹ Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 50, email: mnabrdalik@uni.opole.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

alternata [8], *Colletotrichum falcatum* [11], *C. camelliae* [8], *C. gloeosporioides* [8, 9], *Pestalotiopsis eugeniae* [9], *Phytophthora capsici* [9], *Sclerotinia sclerotiorum* [8, 10], *Sclerospora graminicola* [5, 12], *Verticillium* sp. [13] oraz *Rhizoctonia solani* [8-10, 14, 15].

Rhizoctonia solani (Kühn) jest ważnym patogenem buraka cukrowego, powoduje szereg uszkodzeń, w tym zgorzel siewek i gnicie korzeni określane jako rizoktoniozy. Klasyfikacja patogenu oparta jest na przynależności do grup anastomozowych (AG - Anastomosis Group) od AG 1 do AG 13 i AG BI, które utworzono na podstawie zdolności łączenia się strzępek grzybni. Za najbardziej patogeniczne w stosunku do buraka cukrowego uznaje się szczepy należące do grup anastomozowych AG 2 i AG 4. Pierwsza z nich powoduje najczęściej gnicie korzeni, druga zazwyczaj przyczynia się do zgorzeli siewek [16, 17]. Ze względu na to, iż Polska zajmuje 6 miejsce w świecie i 3 miejsce w Europie w produkcji buraka cukrowego, ochrona plantacji przed tym patogenem jest niezmiernie ważna [18].

Brak możliwości chemicznej ochrony buraka przed *R. solani* skłania do poszukiwania alternatywnych metod, jak na przykład zastosowanie mikroorganizmów o dużej aktywności metabolicznej. Celem podjętych badań była ocena antagonistycznych właściwości, wyizolowanego z ryzosfery korzenia buraka cukrowego, szczepu *B. subtilis* EM1 wobec *R. solani* ID105. Aktywność przeciwrzybową analizowanego szczepu określono na podstawie: zdolności do zahamowania wzrostu grzybni patogenu, zdolności do ochrony siewek buraka cukrowego przed tym patogenem oraz zdolności do biosyntezy kwasu indolilo-3-octowego.

Materiał i metody

Materiał biologiczny

W badaniach użyto szczepu *B. subtilis* EM1 wyizolowanego, w trakcie wcześniejszych badań, z ryzosfery buraka cukrowego (*Beta vulgaris*). Bakterie były przechowywane w chłodni na skosach agarowych, a bezpośrednio przed doświadczeniem inkubowano je w bulionie odżywczym. *R. solani* ID 105 pochodził z kolekcji grzybów rodzaju *Rhizoctonia* zgromadzonej w Uniwersytecie Opolskim. Został wyizolowany z korzeni buraka cukrowego [19]. Przechowywany był na skosie PDA w chłodni, przed użyciem w doświadczeniu inkubowano go na pożywce PDA. Izolat ten został we wcześniejszych badaniach zakwalifikowany do grupy anastomozowej 2-2IIIB. Jest to grupa skupiająca patogeny m.in. korzeni buraka cukrowego. W doświadczeniu użyto otoczkowanych nasion buraka cukrowego odmiany Janosik (KHBC).

Metoda hodowlano-płytkowa

W doświadczeniu określono antagonistyczne właściwości ryzosferowego szczepu *B. subtilis* EM1 wobec fitopatogenicznego szczepu *R. solani* ID105 AG 2-2 IIIB. W hodowlach testowych na podłoże PDA wprowadzono supernatanty 48-godzinnych hodowli *B. subtilis* EM1, a następnie podłoża zaszczerpiono krążkami podłoża PDA o średnicy 8 mm przerośniętymi 7-dniową kulturą *R. solani* ID105. Kontrolę stanowiły hodowle *R. solani*, które zamiast supernatantu zawierały sterylne podłoże bulionowe.

Wszystkie hodowle płytkowe prowadzono w temperaturze 22°C, dokonując codziennie pomiaru średnicy kultury do czasu, gdy w kombinacji kontrolnej grzybnia dorosła do brzegów płytki. Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w 3 powtórzeniach, przyjmując za powtórzenie jedną szalkę z podłożem z jednym krążkiem grzybni.

Po zakończeniu hodowli wykonano preparaty mikroskopowe i dokonano charakterystyki morfologicznej *R. solani* ID105 - pomiaru średnicy strzępek [µm] oraz oceny obecności komórek monilioidalnych.

Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono *współczynnik inhibicji/stymulacji wzrostu liniowego grzybni I*:

$$I = \frac{K - B}{K} \cdot 100\%$$

gdzie: *K* - średnica kolonii grzyba w kontroli [mm], *B* - średnica kolonii grzyba w próbie badanej [mm].

Wpływ badanego szczepu EM1 na dynamikę wzrost *R. solani* ID105 określono na podstawie *indeksu tempa wzrostu (ITW)*, wyliczonego według wzoru [20]:

$$ITW = \frac{A}{D} + \frac{b_1}{d_1} + \frac{b_2}{d_2} + \dots + \frac{b_x}{d_x}$$

gdzie: *A* - średnia z pomiarów średnicy kolonii grzyba [mm], *D* - czas trwania doświadczenia [dni], *b*₁ ... *b*_{*x*} - przyrost średnicy kolonii [mm], *d*₁ ... *d*_{*x*} - liczba dni od ostatniego pomiaru.

Doświadczenie wazonowe

W warunkach doświadczenia wazonowego analizowano wpływ szczepu *B. subtilis* EM1 na wzrost buraka cukrowego w wazonach z podłożem zainfekowanym i niezainfekowanym *R. solani* ID105. W badaniach jako podłoże wykorzystano glebę ogrodową, glebę pochodzącą z pola uprawnego (piasek gliniasty) oraz perlit wymieszane w proporcjach 2 : 1 : 0,5. W wazonach o pojemności 500 cm³ wysiano po 10 sztuk otoczkowanych nasion buraka cukrowego. Doświadczenie prowadzono w warunkach laboratoryjnych, w temperaturze 22°C, z zastosowaniem sztucznego oświetlenia typu Fluora przy 12-godzinnym fotoperiodzie. Wazony podlewano wodą wodociągową tak, aby gleba była stale wilgotna. W trakcie trwania doświadczenia z wazonów sukcesywnie usuwano rośliny chore i zamierające. Po 6 tygodniach usunięto najslabsze rośliny, pozostawiając w wazonach po 6 najlepiej rozwiniętych sztuk, wtedy do gleby wprowadzono po 5 cm³ dwudniowych hodowli *B. subtilis* EM1 inkubowanych w bulionie odżywczym. Po tygodniu od inokulacji bakteriami do części wazonów wprowadzono dodatkowo po 5 cm³ inokulum *R. solani* ID105, pochodzącego z 3-tygodniowej hodowli na pożywce piaskowo-kukurydzianej.

Stopień porażenia siewek i/lub młodych roślin buraka określono w skali 4-stopniowej, w której: 0 oznacza brak objawów chorobowych, 1 - słabe objawy porażenia (pojedyncze, drobne plamy), 2 - silne objawy porażenia (50% lub więcej powierzchni korzenia objęte nekrozą), 3 - roślina zamarała z całkowicie zniszczonym korzeniem [19]. Na tej podstawie wyliczono procent porażonych roślin, a następnie obliczono *indeks porażenia korzeni (IPK)* według wzoru Townsenda i Heubergera [21]:

$$IPK = \frac{\sum(n \cdot a) \cdot 100\%}{v \cdot N}$$

gdzie: n - liczba roślin w danym stopniu porażenia, a - stopień porażenia, v - najwyższy stopień skali, N - całkowita liczba badanych roślin.

Dla roślin niewykazujących objawów chorobowych, ocenionych w skali porażenia jako 0, zmierzono długość korzenia i liści, określono świeżą i suchą masę. Wyniki przeliczono na pojedynczą roślinę.

Biosynteza kwasu indolilo-3-octowego (IAA)

Oceniono zdolność *B. subtilis* EM1 do biosyntezy kwasu indolilo-3-octowego metodą kolorymetryczną. Metoda oparta jest na reakcji pomiędzy odczynnikiem Salkowskiego a IAA i pomiarze intensywności zmiany koloru spektrofotometrycznie przy długości fali 530 nm [22].

Szczep *B. subtilis* BM1 hodowano w pożywce LB (Laurin Broth) bez L-tryptofanu oraz w pożywce LB z dodatkiem aminokwasu w stężeniach 500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ i inkubowano w temperaturze 30°C przez 168 godzin. Po inkubacji pożywkę wirowano przez 20 minut przy 10 000 obrotów na minutę w temperaturze 10°C. Następnie do 1 cm^3 supernatantu dodano 2 cm^3 odczynnika Salkowskiego i po 30 minutach przechowywania w ciemności określono ilość wytworzonego IAA [$\mu\text{g}/\text{cm}^3$]. Oznaczenia przeprowadzono w 3 powtórzeniach co 24 godziny.

W celu określenia potencjału przeciwgrzybowego szczepu *B. subtilis* EM1 wyniki biosyntezy IAA porównano z wynikami uzyskanymi w takich samych warunkach doświadczenia dla szczepu *B. subtilis* QST713, zastosowanego jako szczep referencyjny. Szczep ten wyizolowano z preparatu Serenade ASO (Bayer) - biologicznego środka ochrony roślin przed grzybami.

Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) z użyciem testu Tukeya, przyjmując wyniki za istotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Wyniki i ich omówienie

Przeprowadzone badania *in vitro* pozwoliły określić bezpośredni wpływ *B. subtilis* EM1 na dynamikę wzrostu grzybni *R. solani* ID105 (tab. 1). Wprowadzenie do podłoża metabolitów *B. subtilis* EM1 skutkowało zahamowaniem wzrostu grzybni o 85,0% i tempa jej wzrost o ponad 91,0% w stosunku do próby kontrolnej. Dzienny średni przyrost grzybni w próbie kontrolnej wynosił 8,20 mm, a w obecności metabolitów *B. subtilis* EM1 już tylko 0,55 mm. Znacznie większym tempem wzrostu charakteryzował się szczep *R. solani*, analizowany przez Elkahoui i in. [23], dla którego dzienny przyrost grzybni wynosił około 10,0 mm w próbie kontrolnej i 3,50 mm w obecności *B. subtilis*. Autorzy uzyskali zahamowania wzrostu grzybni jedynie na poziomie 44,0%. Hernández i in. [24] w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem szczepów *Bacillus* spp. uzyskali zahamowanie grzybni *R. solani* w granicach od 29,4 do 40,4%. Zbliżone wartości dla różnych szczepów

B. subtilis otrzymali Imran i in. [25]. Natomiast, znacznie wyższe wartości, porównywalne z wynikami badań własnych, zaprezentowali Kai i in. [26]. Wahyudi i in. [27] u 75,0% analizowanych ryzosferowych szczepów *Bacillus* spp. stwierdzili antagonistyczne właściwości wobec *R. solani*, które powiązali ze zdolnością do produkcji sideroforów.

Tak duże rozbieżności w uzyskanych wynikach są efektem różnych warunków prowadzenia prezentowanych doświadczeń *in vitro*, takich jak: rodzaj podłoża, rodzaj i pochodzenie szczepów, warunki hodowli. Jednak wydaje się, iż szczepy, które działają jedynie fungistatycznie i powodują zahamowanie wzrostu grzybni mniej niż w 80,0%, należy uznać za szczepy o słabych właściwościach antagonistycznych wobec fitopatogenów rodzaju *Rhizoctonia*. W badaniach własnych, pomimo znaczącego ograniczenia wzrostu *R. solani* ID105 przez testowane bakterie, zaobserwowano istotne zwiększenie średnicy strzępek grzybni o 1,11 μm w porównaniu do grzybni kontrolnej i wcześniejsze wytworzenie komórek monilioidalnych. Komórki te, łącząc się, tworzą twarde grubościennne struktury zwane sklerocjami, dzięki którym grzybnia może przetrwać niekorzystne warunki środowiska. W optymalnych warunkach środowiska sklerocja kiełkują ponownie w intensywnie rozwijającą się grzybnię. Wówczas najbardziej narażone na infekcje są młode, wolno rosnące rośliny. Badany szczep *B. subtilis* EM1 nie powoduje uszkodzenia komórek patogenu, zatem przy braku jego metabolitów w środowisku *R. solani* może z powodzeniem infekować siewki buraka cukrowego.

Wpływ *in vitro* *B. subtilis* EM1 na wzrost grzybni *R. solani* ID105

Tabela 1

The influence of *B. subtilis* EM1 on mycelial growth of *R. solani* ID105

Table 1

Próba	Średnica strzępek [μm]		Obecność komórek monilioidalnych	Współczynnik inhibicji wzrostu grzybni [%]		Indeks tempa wzrostu [-]	
	średnia	$\pm SD^*$		średnia	$\pm SD^*$	średnia	$\pm SD^*$
Kontrola <i>R. solani</i> ID105	6,92	0,90	+	0,00	0,00	92,56	0,21
<i>B. subtilis</i> EM1 + <i>R. solani</i> ID105	8,0	2,0	+	85,0	1,5	8,0	1,6

* odchylenie standardowe, * standard deviation

Powyższe stwierdzenie potwierdza przeprowadzone doświadczenie wazonowe, w którym oceniono wpływ *B. subtilis* EM1 na wzrost roślin nieinokulowanych i inokulowanych *R. solani* ID105 (tab. 2). W próbie kontrolnej, bez inokulum *B. subtilis* EM1 i *R. solani* ID105, nie stwierdzono roślin porażonych. Wzbogacenie gleby w inokulum badanych szczepów skutkowało wystąpieniem porażenia. W obecności *R. solani* ID105 dominowały rośliny z całkowicie zamartwym korzeniem, a niewielki odsetek stanowiły rośliny zdrowe. W przypadku wazonów inokulowanych kulturami *B. subtilis* EM1 odsetek porażonych roślin wynosił nieco ponad 18,0%, a wynikało to z obecności pojedynczych roślin porażonych i ocenionych wg skali na 1. Różnice pomiędzy wartościami *IPK* oraz ilością porażonych roślin w stosunku do kontroli nie były istotne statystycznie. Natomiast w wazonach, do których wprowadzono zarówno *B. subtilis* EM1, jak i *R. solani* ID105, nie stwierdzono roślin zdrowych. Dominowały rośliny zainfekowane

w skali 2 oraz 3. Stąd w tabeli 3 brak dla tych prób wyników takich parametrów, jak: długość korzenia i liści oraz świeża i sucha masa. Parametry te określono tylko dla roślin bez objawów chorobowych (tab. 3). Należy podkreślić, iż wykorzystany w doświadczeniu szczep *R. solani* ID105 nie miał istotnego wpływu na rozwój korzeni oraz liści zdrowo wyglądających rośliny. Natomiast w przypadku oddziaływania na młode rośliny buraka *B. subtilis* EM1 wpływ ten był widoczny w przypadku korzeni, które były dłuższe o 26,0% w stosunku do roślin kontrolnych (różnica istotna statystycznie) i o 15,8% w stosunku do roślin pochodzących z wazonów z glebą wzbogaconą o inokulum *R. solani* ID105 (różnica nieistotna statystycznie).

Tabela 2

Wpływ *B. subtilis* EM1 na porażenie buraka cukrowego

Table 2

The influence of *B. subtilis* EM1 of sugar beet infection

Próba	Indeks porażenia korzeni [%]		Ilość porażonych roślin [%]	
	średnia	±SD*	średnia	±SD*
Kontrola	0,00 a	0,00	0,00 a	0,00
<i>R. solani</i> ID105	62 b	15	84b	11
<i>B. subtilis</i> EM1	6,0 a	4,8	18 a	14
<i>B. subtilis</i> EM1 + <i>R. solani</i> ID105	82c	11	100 b	0,00

* odchylenie standardowe, * standard deviation

Średnie wartości oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się istotnie przy $p < 0,05$

Mean values with the same letter in the column are not significantly different at $p < 0.05$

Tabela 3

Wpływ *B. subtilis* EM1 na wzrost buraka cukrowego

Table 3

The influence of *B. subtilis* EM1 on sugar beet plants growth

Próba	Długość korzenia [cm]		Długość liścia [cm]		Świeża masa [g]		Sucha masa [g]	
	średnia	±SD*	średnia	±SD*	średnia	±SD*	średnia	±SD*
Kontrola	9,0 a	2,0	17,4 a	4,1	5,85 a	0,35	0,64 a	0,33
<i>R. solani</i> ID105	9,8 ab	2,5	16,0 a	1,5	4,28 a	0,20	0,46 b	0,23
<i>B. subtilis</i> EM1	11,4 b	2,4	18,5 a	3,9	6,14 a	0,23	0,49 cb	0,24
<i>B. subtilis</i> EM1 + <i>R. solani</i> ID105	0,00 c	0,00	0,00 b	0,00	0,00 b	0,00	0,00 d	0,00

* odchylenie standardowe, * standard deviation

Średnie wartości oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się istotnie przy $p < 0,05$

Mean values with the same letter in the column are not significantly different at $p < 0.05$

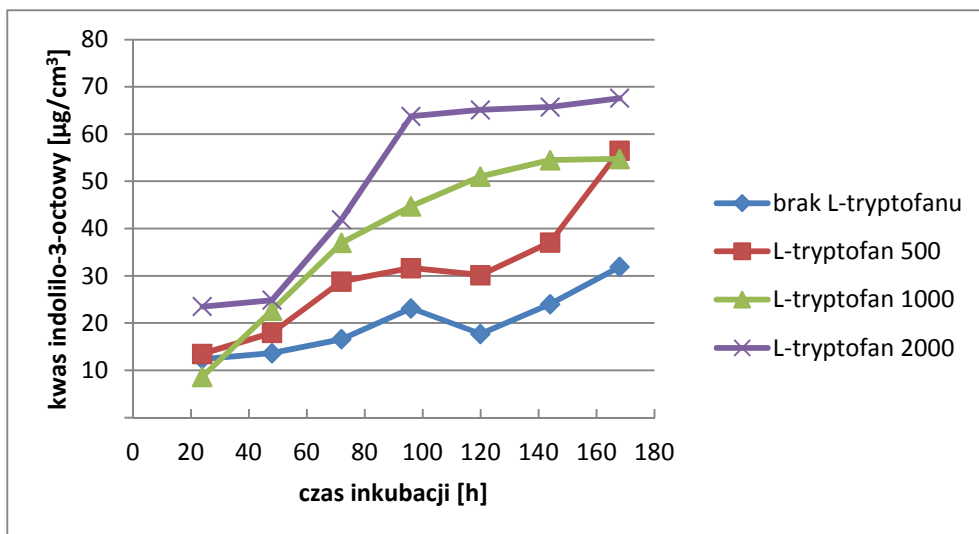
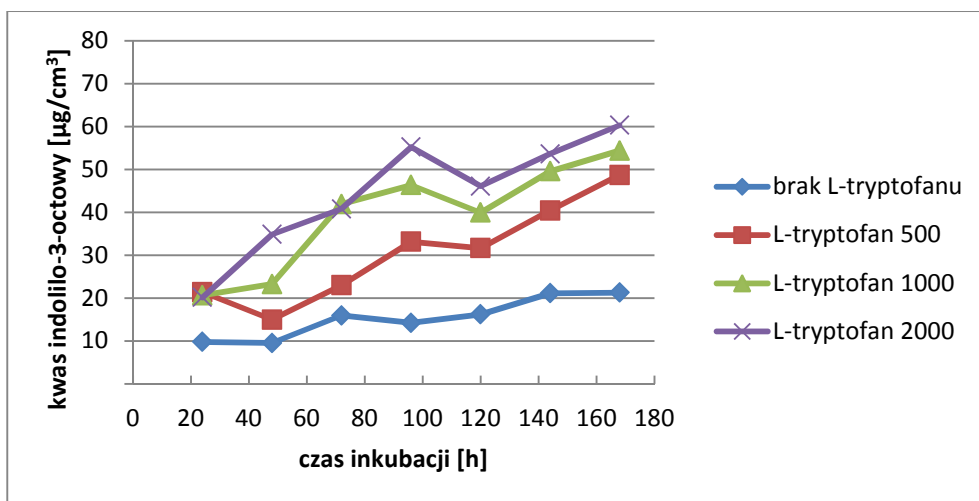
Aktywność przeciugrzybowa *B. subtilis* wynikała zarówno z indywidualnych cech szczepu antagonistycznego, jak i cech patogenu. Potwierdzają to badania Kiewnick i in. [16], którzy wykorzystali znacznie mniej wirulentny szczep *R. solani*, należący także do grupy anastomozowej AG 2-2. Procent porażonych siewek buraka cukrowego w próbie kontrolnej wynosił w tym przypadku jedynie 27,3%, a indeks porażenia 2,81%. Natomiast ilość porażonych roślin po zastosowaniu sześciu szczepów *Bacillus* spp., wobec takiego

mało wirulentnego patogenu, wynosiła już tylko od 13,5 do 20,9%. Z kolei Moliszewska [28] ilość porażonych roślin buraka cukrowego w próbach z *B. subtilis* i *R. solani* określiła na poziomie 50,0%, pomimo braku inhibicji wzrostu grzybni w doświadczeniu *in vitro*.

Wobec powyższych ustaleń nasuwa się kolejny wniosek, iż aktywność przeciwgrzybowa bakterii rodzaju *Bacillus* jest związana z ich zdolnością do produkcji substancji aktywnych biologicznie uwalnianych w określonych warunkach środowiska. Do takich związków należą między innymi antybiotyki peptydowe. Można tu wymienić przeciwgrzybicze peptydy cykliczne należące do grupy ituryn: mykosubtilina, bacillomycyna, surfaktyna, fungistatyna, subsporyna oraz peptydy liniowe, takie jak rhizoktycyna [24]. Rodzaj *Bacillus* produkuje również szereg innych metabolitów, w tym enzymy rozkładające ścianę komórkową, czy też związki lotne wspomagające mechanizmy odporności roślin, np. fitohormony z grupy auksyn [16, 29].

Kolejna część badań dotyczyła oceny zdolności *B. subtilis* EM1 do biosyntezy kwasu indolilo-3-octowego (IAA) - jednej z ważniejszych auksyn naturalnych. W badaniach uwzględniono wpływ czasu oraz stężenia L-tryptofanu, prekursora IAA, na ilość tworzonych auksyn (rys. 1). Kontrolę pozytywną stanowił *B. subtilis* QST713, wykorzystany przez firmę Bayer szczep o udokumentowanych właściwościach przeciwgrzybowych (rys. 2). Wykorzystane w doświadczeniu szczepy wytwarzały IAA na różnym poziomie zarówno w obecności L-tryptofanu, jak i przy jego braku w pożywce. Zależność pomiędzy zdolnością do biosyntezy IAA a dawką L-tryptofanu i czasem reakcji jest wprost proporcjonalna. Wraz ze wzrostem stężenia L-tryptofanu oraz upływem czasu zwiększała się ilość produkowanego IAA. Dla szczepu *B. subtilis* EM1 najmniej, 8,64 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ IAA, uzyskano po zastosowaniu 1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ L-tryptofanu po 24 godzinach inkubacji. Natomiast najwięcej, 67,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ IAA, uzyskano przy najwyższym stężeniu L-tryptofanu (rys. 1). Podobnie było w przypadku szczepu *B. subtilis* QST713, gdzie najniższe stężenie IAA (9,80 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$) otrzymano w pierwszym dniu hodowli na podłożu niezawierającym aminokwasu. Natomiast największe stężenie IAA - około 60,0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ - otrzymano po zastosowaniu najwyższej dawki L-tryptofanu po 168 godzinach (rys. 2). Wydłużenie czasu inkubacji szczepów w podłożach z L-tryptofanem do 168 godzin pozwoliło na ponad 3-krotne zwiększenie ilości tej substancji wydzielonej do pożywki.

Produkcja IAA przez szczep *B. subtilis* EM1 jest zbliżona do wartości prezentowanych przez innych badaczy. Mohite [22] uzyskał stężenie IAA na niskim poziomie 7,00 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, a zastosowanie przez niego podłoża z ekstraktem drożdżowym pozwoliło na osiągnięcie stężenia fitohormonu zbliżonego do wyników badań własnych, czyli 60,0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Ponadto, w jego badaniach podwyższenie pH środowiska z 7 do 8 spowodowało wzrost stężenia IAA do ponad 80,0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Huu Dat i in. [30] dla szczepu *B. subtilis* TIB6 uzyskali 76,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ IAA. Z kolei w badaniach Wahyudi i in. [27] spośród 118 szczepów *Bacillus* spp. aż 90 wykazywało zdolność do biosyntezy IAA w granicach od 0,81 do 86,8 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Znacznie wyższe wartości, bo 106,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ IAA, uzyskali Hussein i in. [29] już po 72 godzinach hodowli *B. subtilis*. Badania Swain i in. [31] potwierdzają, iż wraz ze wzrostem czasu inkubacji oraz stężenia L-tryptofanu, jako prekursora auksyn, szczepy *B. subtilis* zdolne są do zwiększonej biosyntezy IAA. Podobnie jak w badaniach własnych, maksymalne stężenie IAA autorzy ci stwierdzili po 8 dniach inkubacji, pod koniec fazy stacjonarnej wzrostu bakterii i przy największej zastosowanej dawce L-tryptofanu 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Rys. 1. Biosynteza kwasu indolilo-3-octowego przez *B. subtilis* EM1Fig. 1. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by *B. subtilis* EM1Rys. 2. Biosynteza kwasu indolilo-3-octowego przez *B. subtilis* QST713Fig. 2. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by *B. subtilis* QST713

Prezentowane wyniki badań dotyczące biosyntezy IAA przez różne szczepy *B. subtilis* pozwalają wnioskować, iż stężenie L-tryptofanu w pożywce jako prekursora IAA powinno wahać się w granicach od 250 do 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, a czas inkubacji hodowli to minimum 3 dni. Zdolność do metabolizmu L-tryptofanu przez różne szczepy bakterii jest zróżnicowana

w zależności od predyspozycji fizjologicznych tego szczepu i warunków prowadzenia hodowli.

Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania pozwoliły na ocenę aktywności przeciwgrzybowej, wyizolowanego z ryzosfery buraka cukrowego, szczepu *B. subtilis* EM1. W badaniach *in vitro* wykazano antagonistyczne właściwości szczepu bakterii wobec *R. solani* ID105. Właściwości te nie znalazły odzwierciedlenia w dalszej części badań - doświadczeniu wazonowym. Ilość porażonych roślin w wazonach inokulowanych *R. solani* ID105 była porównywalna z ilością zakażonych roślin w wazonach wzbogaconych dodatkowo potencjalnie antagonistycznym szczepem *B. subtilis* EM1. Natomiast indeks porażenia siewek w tym przypadku był znacznie większy, co zdyskwalifikowało badany szczep bakterii jako szczep antagonistyczny wobec *R. solani* AG 2-2IIIB.

Na podstawie dokonanych analiz stwierdzono, iż niezależnie od zastosowanego stężenia L-tryptofanu badany szczep ryzosferowy charakteryzował się zdolnością do syntezy IAA. Nawet na podłożu bez dodatku prekursora auksyn produkcja IAA była o prawie 50,0% większa w porównaniu do szczepu kontrolnego/referencyjnego. Badania potwierdzają, że IAA produkowany przez bakterie może mieć wpływ na wzrost roślin buraka. Wzbogacenie gleby hodowlą *B. subtilis* EM1 skutkowało zwiększeniem długości korzenia i liści, a co za tym idzie świeżej masy siewek buraka cukrowego.

Literatura

- [1] Directive 2009/128/EC of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009L0128&from=PL>.
- [2] Ahemad M, Kibret M. J King Saud University - Sci. 2014;26(1):1-20. DOI: 10.1016/j.jksus.2013.05.001
- [3] Gupta G, Parihar SS, Ahirwar NK, Snehi SK, Singh V. J Microb Biochem Technol. 2015;7:096-102. DOI: 10.4172/1948-5948.1000188.
- [4] Noumavo PA, Agbodjato NA, Baba-Moussa F, Adjanooun A, Baba-Moussa L. Afr J Biotechnol. 2016;15(27):1452-1463. DOI: 10.5897/AJB2016.15397.
- [5] Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moëgne-Loccoz Y, Muller D, et al. Front Plant Sci. 2013;17(4):356. DOI: 10.3389/fpls.2013.00356.
- [6] Kundan R, Pant G, Jadon N, Agrawal PK. J Biofertil Biopestici. 2015;6:155. DOI: 10.4172/2471-2728.1000155.
- [7] Dąbrowska G, Zdziechowska E. Progress Plant Protect. 2015;55(4):498-506. DOI: 10.14199/ppp-2015-083
- [8] Saha D, Purkayastha GD, Ghosh A, Isha M, Saha A. J Plant Pathol. 2012;94(1):109-118. DOI: 10.4454/jpp.fa.2012.020.
- [9] Lin HF, Chen TH, Liu SD. Afr J Microbiol Res. 2011;5(14):1723-1728. DOI: 10.5897/AJMR10.169.
- [10] Li B, Li Q, Xu Z, Zhang N, Shen Q, Zhang R. Front Microbiol. 2014;5:636. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00636.
- [11] Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA. Appl Environ Microbiol. 2005;71(9):4951-4959. DOI: 10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005.
- [12] Raj SN, Lavanya SN, Amruthesh KN, Niranjana SR, Reddy MS, Shett HS. Biol Control. 2012;60(2):90-102. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2011.10.011.
- [13] Yang P, Sun ZX, Liu SY, Lu HX, Zhou Y, Sun M. Crop Protect. 2013;47:17-23. DOI: 10.1016/j.cropro.2012.12.020.
- [14] Nabrdalik M, Grata K. Proc ECOpole. 2014;8(1):65-69. DOI: 10.2429/proc.2014.8(1)008.
- [15] Grata K, Nabrdalik M. Proc ECOpole. 2014;8(1):37-41. DOI: 10.2429/proc.2014.8(1)004.
- [16] Kiewnick S, Jacobsen BJ, Braun-Kiewnick A, Eckhoff JLA, Bergman JW. Plant Disease. 2001;85(7):718-72. DOI: 10.1094/PDIS.2001.85.7.718.

- [17] Strausbaugh CA, Eujayl IA, Panella LW. Plant Disease. 2013;9(9):1175-1180. DOI: 10.1094/PDIS-11-12-1078-RE.
- [18] Rocznik Statystyczny Rolnictwa. Warszawa: Główny Urząd Statystyczny; 2015. <http://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/roczniki-statystyczne/roczniki-statystyczne/rocznik-statystyczny-rolnictwa-2015,6,9.html>.
- [19] Moliszewska EB. Etiologia wybranych chorób korzeni buraka cukrowego. Studia i Monografie nr 412, Opole: Uniwersytet Opolski; 2009.
- [20] Burgiel Z. Wpływ niektórych herbicydów na występowanie i rozwój patogenów powodujących choroby podsuszkowe pszenicy ozimej. Cz. II. Rozwój patogenów. Acta Agraria et Silvestria, Series Agraria. 1984;28:187-196.
- [21] Townsend GR, Heuberger JW. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. Plant Dis Rep. 1943;27(17):340-343.
- [22] Mohite B. J Soil Sci Plant Nutr. 2013;13(3):638-649. DOI: 10.4067/S0718-95162013005000051.
- [23] Elkahoui S, Djébalı N, Tabbene O, Hadjbrahim A, Mnasri B, Mhamd R, et al. Afr J Biotechnol. 2012;11(18): 4196-4201. DOI: 10.5897/AJB11.3354.
- [24] Hernández CFD, Castillo FR, Gallegos GM, Rodríguez RH, Aguilar C. Biological Control of Root Pathogens by Plant- Growth Promoting Bacillus spp. In: Soloneski S, Larramendy M, editors. Weed and Pest Control - Conventional and New Challenges: InTech. 2013. DOI: 10.5772/54229.
- [25] Imran H, Darine TH, Mohamed ELG. Afr J Biotechnol. 2012;11(81):14660-14670. DOI: 10.5897/AJB10.2508.
- [26] Kai M, Effmert U, Berg G, Piechulla B. Arch Microbiol. 2007;187:351-360. DOI: 10.1007/s00203-006-0199-0.
- [27] Wahyudi A, Astuti RP, Widyawati A, Meryandini A, Nawangsih AA. J Microbiol Antimicrob. 2011;3(2):34-40. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/54530>.
- [28] Moliszewska EB. Proc ECOpole. 2011;5(2):401-405. http://tchie.uni.opole.pl/PECO11_2/PECO_2011_2p1.pdf.
- [29] Hussein KA, Kadhum NH, Yasser YK. J Contemp Med Sci. 2016;2(7):88-92. <http://www.jocms.org/index.php/jcms/article/view/82/57>.
- [30] Huu Dat TT, Kim Cuc NT, Cuong PV. Int J Develop Res. 2015;5(4):4036-4042. <http://www.journalijdr.com/sites/default/files/3180.pdf>.
- [31] Swain MR, Naskar SK, Ray RC. Pol J Microbiol. 2007;56(2):103-100.

APPLICATION OF ANTAGONISTIC PROPERTIES OF *Bacillus subtilis* AGAINST *Rhizoctonia solani*

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, University of Opole

Abstract: The aim of the research was an assessment of antagonistic properties of strain *Bacillus subtilis* EM1, isolated from the rhizosphere of sweet beetroot, against *Rhizoctonia solani* ID105. Antifungal activity was determined in *in vitro* test on the basis of the mycelial growth inhibition of the pathogen in a pot test, in which the influence of *B. subtilis* EM1 on the growth of infected plants was evaluated. The paper also determines the ability of *B. subtilis* EM1 to synthesize indole-3-acetic acid (IAA). Conducted research proved that tested strain inhibits the mycelial growth of the pathogen by 85.0%, however, it does not affect the plant's growth or the infection process. *B. subtilis* EM1 shows the ability to synthesize IAA. The highest concentration of IAA amounting 67.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ was noted after 7 days of strain incubation in the presence of 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ L-tryptophan. The strain under study stimulated the growth of sugar beetroot seedlings.

Keywords: *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, antifungal activity, auxins