

SOCIETY OF ECOLOGICAL CHEMISTRY AND ENGINEERING

**ECOLOGICAL CHEMISTRY  
AND ENGINEERING S**

**CHEMIA I INŻYNIERIA EKOLOGICZNA S**

**Vol. 16**

**No. 2**

---

**Opole 2009**

#### EDITORIAL COMMITTEE

*Witold Waclawek* (University, Opole) - Editor-in-Chief  
*Milan Kraitr* (Western Bohemian University, Plzen, CZ)  
*Jerzy Skrzypski* (University of Technology, Łódź)  
*Maria Waclawek* (University, Opole)  
*Tadeusz Majcherczyk* (University, Opole) - Secretary

#### PROGRAMMING BOARD

*Witold Waclawek* (University, Opole) - Chairman  
*Jerzy Bartnicki* (Meteorological Institute - DNMI, Oslo-Blindern, NO)  
*Mykhaylo Bratychak* (National University of Technology, Lviv, UA)  
*Bogusław Buszewski* (Nicolaus Copernicus University, Toruń)  
*Eugenija Kupcinskiene* (University of Agriculture, Kaunas, LT)  
*Bernd Markert* (International Graduate School [IH], Zittau, DE)  
*Nelson Marmioli* (University, Parma, IT)  
*Jacek Namieśnik* (University of Technology, Gdańsk)  
*Wanda Pasiuk-Bronikowska* (Institute of Physical Chemistry PAS, Warszawa)  
*Lucjan Pawłowski* (University of Technology, Lublin)  
*Krzysztof J. Rudziński* (Institute of Physical Chemistry, PAS, Warszawa)  
*Manfred Sager* (Agency for Health and Food Safety, Vienna, AT)  
*Mark R.D. Seaward* (University of Bradford, Bradford, UK)  
*Jiří Ševčík* (Charles University, Prague, CZ)  
*Piotr Tomasik* (Agricultural University, Kraków)  
*Roman Zarzycki* (University of Technology, Łódź)  
*Tadeusz Majcherczyk* (University, Opole) - Secretary

#### EDITORIAL OFFICE

Opole University, Chair of Chemical Physics  
POB 313, ul. Oleska 48, 45-951 OPOLE  
tel./fax +48 77 455 91 49  
email: waclawek@uni.opole.pl  
<http://tchie.uni.opole.pl>

#### SECRETARIES

*Agnieszka Dothańczuk-Śródka*, tel. +48 77 401 60 45, email: agna@uni.opole.pl  
*Małgorzata Rajfur*, tel. +48 77 401 60 42, email: mrajfur@o2.pl

#### SECRETARIES' OFFICE

tel. +48 77 401 60 42  
email: mrajfur@o2.pl

Copyright © by  
Society of Ecological Chemistry and Engineering

Wydawnictwo dofinansowane przez  
Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w Warszawie  
oraz Wojewódzki Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Opolu

ISSN 1898-6196

Dear Readers,

We would like to inform you, that our quarterly  
*Ecological Chemistry and Engineering S/Chemia i Inżynieria Ekologiczna S*  
starting from vol. **14(1)** 2007

has been selected by the Thomson Scientific in Philadelphia for coverage in:

**Science Citation Index Expanded**  
**Journal Citation Reports/Science Edition**

We thank very much  
all Editorial Board members and Reviewers  
for their efforts  
and also Authors for presenting valuable papers

*Editors*

Szanowni Czytelnicy,

Miło jest nam poinformować, że kwartalnik  
*Ecological Chemistry and Engineering S/Chemia i Inżynieria Ekologiczna S*  
począwszy od vol. **14(1)** 2007 został wybrany  
przez the Thomson Scientific w Filadelfii do umieszczenia w następujących bazach:

**Science Citation Index Expanded**  
**Journal Citation Reports/Science Edition**

Serdecznie dziękujemy Członkom Rady Programowej i Recenzentom  
za dokładanie starań o wysoki poziom naukowy czasopisma,  
a także Autorom za przedstawianie interesujących wyników badań

*Redakcja*



## SPIS TREŚCI

Ana Sofia CARDOSO, Sofia Alexandra FELICIANO i Maria Helena REBELO Optymalizacja i walidacja metody SPME-GC-ECD do wykrywania pestycydów chloroorganicznych w naturalnych wodach źródłanych Portugalii .....	137
Radosław KOWALSKI i Janusz WIERCINIŃSKI Zawartość rtęci w dymie i wypełnieniu wybranych marek papierosów .....	155
Elżbieta PATKOWSKA Wpływ chitozanu i Zaprawy Oxafun T na zdrowotność i zbiorowiska mikroorganizmów ryzosferowych fasoli wielokwiatowej ( <i>Phaseolus coccineus</i> L.) .....	163
Anna MUSZ, Beata KOWALSKA i Marcin K. WIDOMSKI Wybrane problemy modelowania jakości wody w sieciach wodociągowych .....	175
Alicja PUSZKAREWICZ Skuteczność usuwania związków chromu na złożach diatomitowych .....	185
Anna BANEL i Bogdan ZYGMUNT Lotne kwasy tłuszczowe na składowisku odpadów - występowanie i oznaczanie .....	193
Monika KOSIKOWSKA i Marek BIZIUK Przegląd metod oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach powietrza .....	207
Iwona PUCZYŃSKA i Jerzy SKRZYPSKI Integracja działań biologicznych i technicznych jako podstawa intensyfikacji procesów samooczyszczania się zbiorników zaporowych (na przykładzie Zbiornika Sulejowskiego) .....	221
<b>VARIA</b>	
15 <sup>th</sup> International Conference on heavy metals in the environment .....	239
Invitation for ECOpole'09 Conference .....	241
Zaproszenie na Konferencję ECOpole'09 .....	245
Guide for Authors on submission of manuscripts .....	249
Zalecenia dotyczące przygotowania manuskryptów .....	250



## CONTENTS

Ana Sofia CARDOSO, Sofia Alexandra FELICIANO and Maria Helena REBELO Optimization and validation of a SPME-GC-ECD methodology for the determination of organochlorine pesticides in natural spring waters from Portugal .....	137
Radosław KOWALSKI and Janusz WIERCINIŃSKI Mercury content in smoke and tobacco from selected cigarette brands .....	155
Elżbieta PATKOWSKA Effect of chitosan and Zaprawa Oxafun T on the healthiness and communities of rhizosphere microorganisms of runner bean ( <i>Phaseolus coccineus</i> L.) .....	163
Anna MUSZ, Beata KOWALSKA and Marcin K. WIDOMSKI Some issues concerning the problems of water quality modeling in distribution systems .....	175
Alicja PUSZKAREWICZ Effectiveness of chromium compounds removal on diatomite beds .....	185
Anna BANEL and Bogdan ZYGMUNT Volatile fatty acids in a landfill - occurrence and determination .....	193
Monika KOSIKOWSKA and Marek BIZIUK Methods of determination of pesticides residues in atmosphere - a review .....	207
Iwona PUCZYŃSKA and Jerzy SKRZYPSKI The integration of biological and technical actions as a basis of the intensification of dam reservoirs' self-purification (Sulejow Reservoir) .....	221
<b>VARIA</b>	
15 <sup>th</sup> International Conference on heavy metals in the environment .....	239
Invitation for ECOpole'09 Conference .....	241
Zaproszenie na Konferencję ECOpole'09 .....	245
Guide for Authors on submission of manuscripts .....	249
Zalecenia dotyczące przygotowania manuskryptów .....	250





Ana Sofia CARDOSO<sup>1\*</sup>, Sofia Alexandra FELICIANO<sup>1</sup> and Maria Helena REBELO<sup>1</sup>

**OPTIMIZATION AND VALIDATION  
OF A SPME-GC-ECD METHODOLOGY  
FOR THE DETERMINATION  
OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES  
IN NATURAL SPRING WATERS FROM PORTUGAL**

**OPTYMALIZACJA I WALIDACJA  
METODY SPME-GC-ECD DO WYKRYWANIA  
PESTYCYDÓW CHLOROORGANICZNYCH  
W NATURALNYCH WODACH ŹRÓDLANYCH PORTUGALII**

**Abstract:** A simple and reliable methodology for the quantification of eight known organochlorine pesticides and metabolites, using a solid-phase microextraction technique (SPME) followed by gas chromatographic analysis with electron capture detection (GC-ECD) is described herein. Several parameters are studied for the SPME procedure, using two different fibres coatings (polydimethylsiloxane and polyacrylate) and the extraction efficiency is discussed using statistic tests and considering the properties of the extracted compounds, salt concentration of the water solution and the structure of the fibre coating. After selecting the best extraction conditions, the method performance is tested in terms of linearity, limits of detection and quantification, trueness, repeatability and intermediate precision, following the recommendations of the international standard ISO/IEC 17025. The method shows good linearity for the tested concentration range, with coefficients of estimation ranging from 0.9931 to 0.9984. Limits of detection from 6.1 to 10.3 ng/dm<sup>3</sup> are obtained. Analytical recoveries, repeatability and intermediate precision are calculated in ultra-pure, bottled and tap water, with recoveries values ranging from 75.3 to 117.0%, repeatability of relative standard deviation (RSD) values from 6.4 to 17.0% and precision RSD values from 7.8 to 20.8%. The methodology is then successfully applied to fifty natural spring waters from Sintra and Odivelas municipalities in Portugal.

**Keywords:** organochlorine pesticides, spring waters, SPME-GC-ECD methodology, validation

Organochlorine pesticides (OCPs) are amongst the most important organic toxic contaminants present in water. The risk associated with their presence in the environment is related to their high toxicity and ability to bioaccumulate and biomagnify. Several

---

<sup>1</sup> Chemistry and Toxicology Laboratory, Water and Soil Unit, Environmental Health Department, National Health Institute Dr. Ricardo Jorge, Av. Padre Cruz 1649-016 Lisbon, Portugal

\* Corresponding author: email: ana.s.cardoso@insa.min-saude.pt

organochlorine pesticides are known to affect the human reproductive system [1-3] and to be endocrine disrupters [4, 5]. Their association with cancer is indubitable [6-9].

Monitoring pesticide residues in water must be performed to ensure that levels do not exceed those considered to be harmful to the environment or go beyond drinking water legislation values [10]. The Communitarian Directive 98/83/CE, was transposed to Portuguese legislation DL 306/2007, which limits the total concentration of pesticides to  $0.50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ , and the individual value to  $0.10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$  in drinking waters. In the case of aldrin, dieldrin, heptachlor and heptachlor epoxide, the individual value is  $0.030 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ .

The quantification of pesticides at ppt levels is described in EPA (Environmental Protection Agency of the United States of America) methods 508.1, 525.2, 3500B, 8000B and 8081A and in the *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [11] using solid-liquid (SPE) or liquid-liquid (LLE) extraction procedures, followed by gas chromatographic quantification. LLE is easy to implement but it is laborious, and requires large sample and solvent volumes. On the other hand, SPE offers more advantages, because it is partially or fully automated and requires less sample and solvent volume, but it is still very laborious and requires substantial investment in equipment and extraction cartridges or disks. Both these extraction methods may carry matrix co-extractives to the final sample, producing extraneous peaks.

Solid-phase microextraction (SPME) is one of the most used extraction methods, for the determination of pesticides in liquid samples at  $\text{ng}/\text{dm}^3$  and  $\text{sub-ng}/\text{dm}^3$  levels [12-22]. SPME is faster and much less labour intensive than SPE and LLE techniques, requires only small amounts of sample and no organic solvents, and provides a low background.

SPME coupled with GC technique has also been developed to determine OCPs in water samples (tap, surface and ground waters), using ECD, FID and MS detectors and different coating fibres, such as PDMS, PA, DVB-CAR-PDMS, CW-DVB, CAR-PDMS and PMPVS/OH-TSO [15, 17, 20, 23-29]. Most of these studies use PDMS or PA coatings, but only one study compares the performance of these coatings, determining a small number of validation parameters [29]. Additionally, very few studies for the determination of pesticides have been applied to natural spring waters [30, 31].

Natural springs constituted, for several centuries, the main source of water for the population. Actually, these waters are still used by several people, because it is considered that natural waters possess better quality than tap waters and that some natural waters possess therapeutic properties. A study developed by a Portuguese Regulator Institute revealed that 16.3% of people drink water from fountains or own perforations and that the water quality of 71.5% of Lisbon area fountains (where Sintra is included) is not monitored or it is just monitored occasionally.

This paper presents the optimization of a solid-phase microextraction/gas chromatography-electron capture detector (SPME-GC-ECD) methodology for the determination of eight known organochlorine pesticides and metabolites in natural spring waters: aldrin (Ald), dieldrin (Diel), heptachlor (Hept), heptachlor endo-epoxide (Hept-endo), heptachlor exo-epoxide (Hept-exo), lindane (Lin), alpha-endosulfan (Alpha-end) and beta-endosulfan (Beta-end).

In this work, the authors compare the performance of a SPME-GC-ECD methodology, using  $100 \mu\text{m}$  polydimethylsiloxane (PDMS) and  $85 \mu\text{m}$  polyacrylate (PA) fibres,

which included the study of the extraction time, salt addition, and desorption temperature and time.

With this propose, the extraction efficiency of organochlorine compounds at different extraction times and ionic strengths, were compared for the PA and PDMS fibres, using statistic tests. The equilibrium times were determined for each compound, and discussed attending to the properties of the extracted compounds such as Henry's constant values, octanol-water partition coefficients and solubilities in water, and also attending to the salt concentration of the water solution and the structure of the fibre coating.

The methodology was then applied to fifty natural springs in villages located in Sintra and Odivelas municipalities, situated in the surroundings of Lisbon. The interest in studying these villages is related to the presence of a large number of small vegetable gardens, and also with the fact natural springs are frequently used by the population.

## Experimental

### Materials

The organochlorine compounds Alpha-end (98.5%) and Beta-end (98.0%) were purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany), Ald (98.1%), Lin (99.8%), Hept-exo (98.9%) and Hept-endo (99.9%) were purchased from Riedel-de-Häen (Sintra, Portugal), Diel (98%) and Hept (99.9%) were purchased from SUPELCO (Sintra, Portugal). The internal standard (IS) used was pentachloronitrobenzene (97%) from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany).

Methanol was Suprasolv® grade from Merck KGaA (Darmstadt, Germany) and ultra-pure water produced by Milli-Q device from Millipore Corporation (Billerica, MA, USA).

### Preparation of natural spring water samples

Water samples from fifty natural springs collected in fifteen villages (Algueirão/Mem-Martins, Belas, Massamá, Queluz, São Martinho, São Pedro, Colares, Montelavar, Almargem do Bispo, Terrugem, São João das Lampas, Caneças, Ramada, Póvoa de Santo Adrião, Odivelas), from Sintra and Odivelas municipalities, were analysed.

The samples were collected in March/April of 2007 in 1 dm<sup>3</sup> amber glass bottles containing 0.05 mg of sodium sulphite, and were keep under refrigeration (4°C) and protected from light, until the extraction and subsequent analysis.

1 cm<sup>3</sup> of the water sample was transferred to a 2 cm<sup>3</sup> vial, and 10 µm<sup>3</sup> of the IS solution was added (final IS concentration 0.1807 µg/dm<sup>3</sup>). All samples were analysed in duplicates, undergoing the SPME-GC-ECD procedure.

### Chromatographic equipment and experimental conditions

The identification and quantification of the pesticides was done using a Varian (Varian BV, Herculesweg, Middelburg, The Netherlands) CP-3800 GC instrument and an ECD detector <sup>63</sup>Ni-15mCi (555 Mbq). The separation was performed with

a fused-silica capillary column, coated with 5% phenyl and 95% polydimethylsiloxane (Varian CP-Sil 8 CB: 30 m x 0.25 mm internal diameter x 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness).

The carrier and make-up gases were helium and nitrogen at constant flow of 1.0  $\text{cm}^3/\text{min}$  and 29  $\text{cm}^3/\text{min}$ , respectively. The injector and detector temperatures were 250 and 290°C, respectively. The oven temperature program was: initial temperature 30°C, then increased by 20°C/min to 45°C, held at this temperature for 1 min. After that, temperature was raised to 60°C at 2°C/min, then to 200°C at 50°C/min and finally to 230°C at 2°C/min, and held at this temperature for 4 min.

### **SPME equipment and experimental conditions**

The chromatograph was equipped with an autosampler Varian CP-8200, with a SPME system installed. A SPME procedure was used to extract and concentrate the pesticides and their metabolites. The fibres and assembly used were obtained from SUPELCO (Sintra, Portugal). The fibres were conditioned according to the instructions of the supplier.

The SPME optimization was done with 1  $\text{cm}^3$  ultra-pure water samples at a 0.2  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  concentration for all pesticides and metabolites. All experiments were performed in triplicate. After optimization of the SPME procedure, the PDMS fibre was used for all analysis and calibrations. The extraction conditions were 30 min with fibre vibration inside the solution, without salt addition and immersion of the fibre in the solution, and desorption conditions were 250°C and 5 min.

### **Analytical quantification**

The pesticides were quantified by peak area applying the internal standard method, and calculations using the software Microsoft Office Excel 2003. Calibration curves were obtained using seven level calibration solutions of ultra-pure water samples, with ten replicates for each level. The IS concentration was 0.1825  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  for all the solutions. 1  $\text{cm}^3$  of the calibration solutions were extracted and analysed using the SPME-GC-ECD methodology.

### **Limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ)**

LOD and LOQ were calculated at a nanogram per liter concentration level, using nine replicates of fortified ultra-pure water samples. These values were later experimentally confirmed, using eight replicates of ultra-pure water samples with concentrations near the LOQ of each compound. 1  $\text{cm}^3$  of these solutions were extracted and analysed using the SPME-GC-ECD methodology.

### **Trueness, repeatability and intermediate precision**

To determine the trueness, repeatability and intermediate precision of this methodology, samples with 0.2  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  pesticide concentration were prepared, by three analysts, in three different matrices, ultra-pure, tap and bottled water. Seven replicate samples were prepared in ultra-pure water and analysed by each analyst in three consecutive days, using the SPME-GC-EDC methodology. This procedure was repeated for the other two

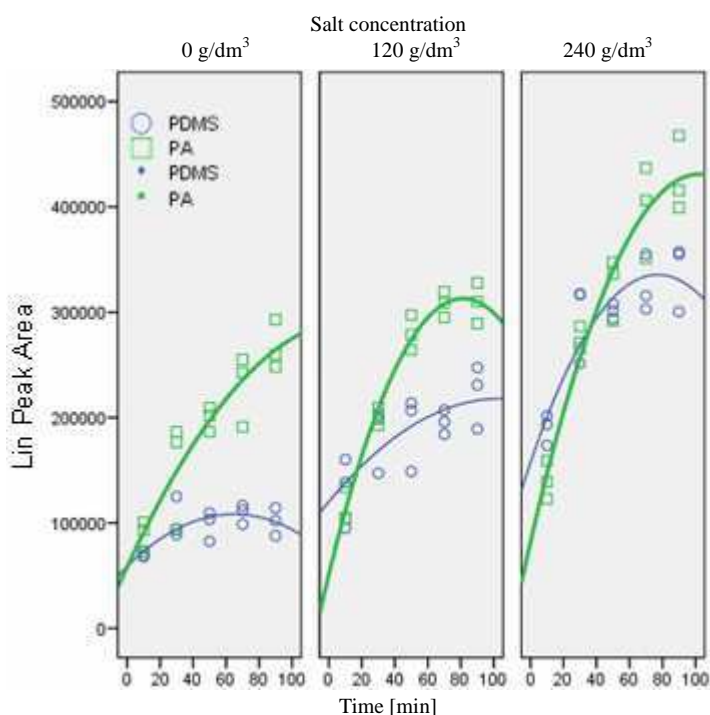
matrices. 1 cm<sup>3</sup> of these solutions were extracted and analysed using the SPME-GC-ECD methodology.

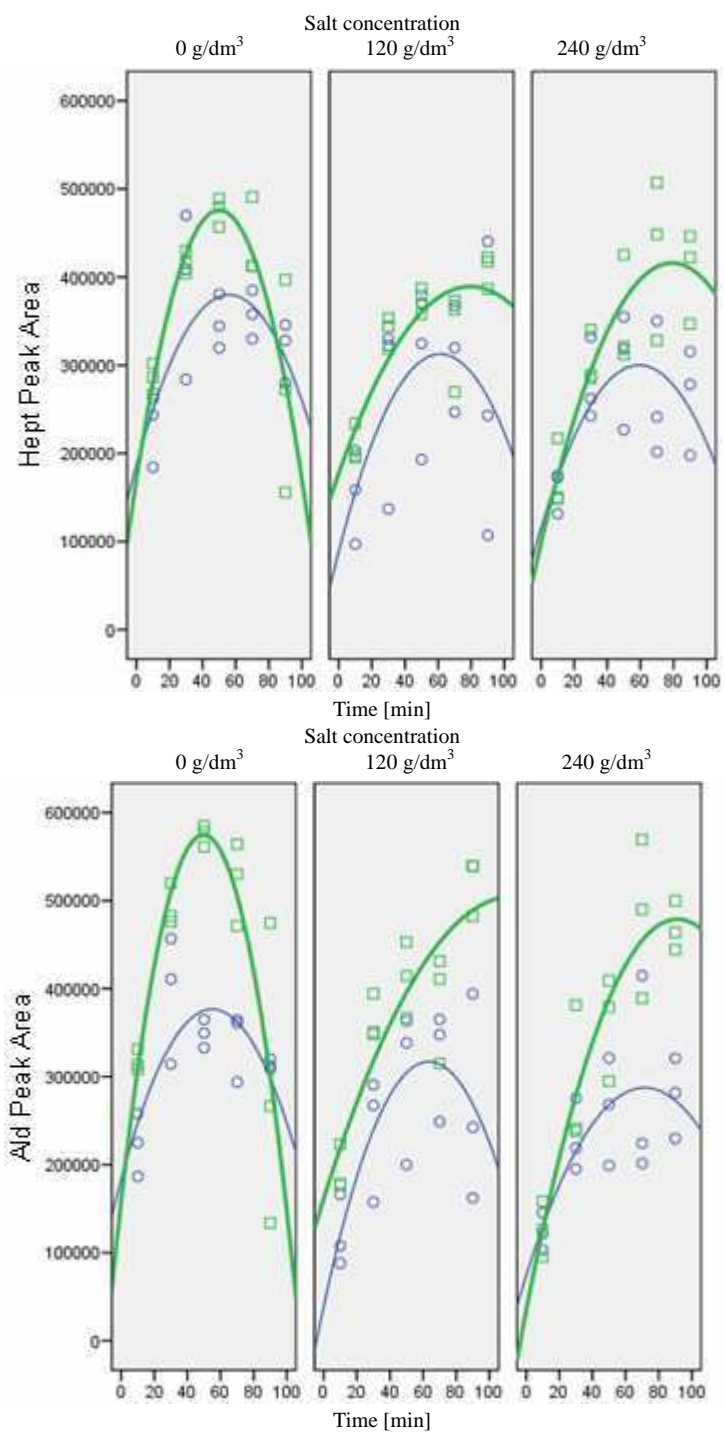
## Results and discussions

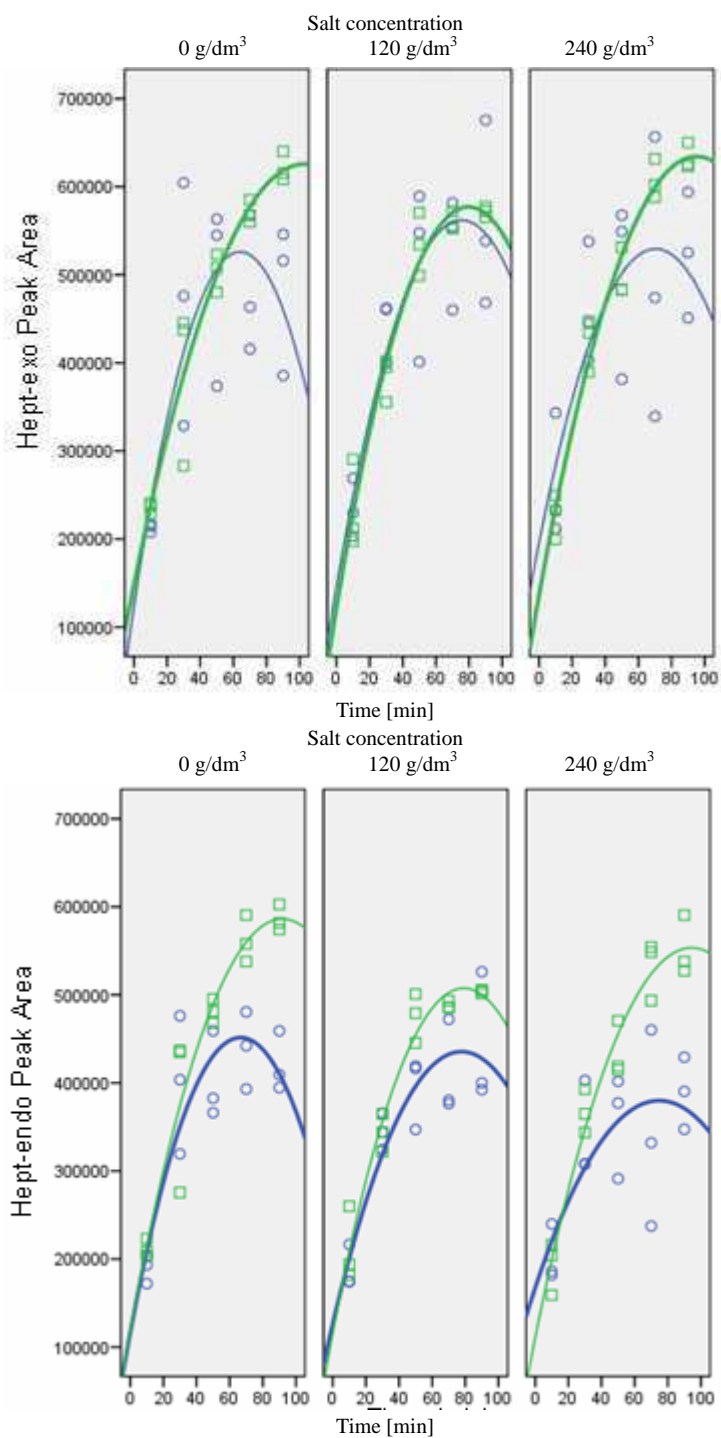
### Optimisation of the SPME procedure

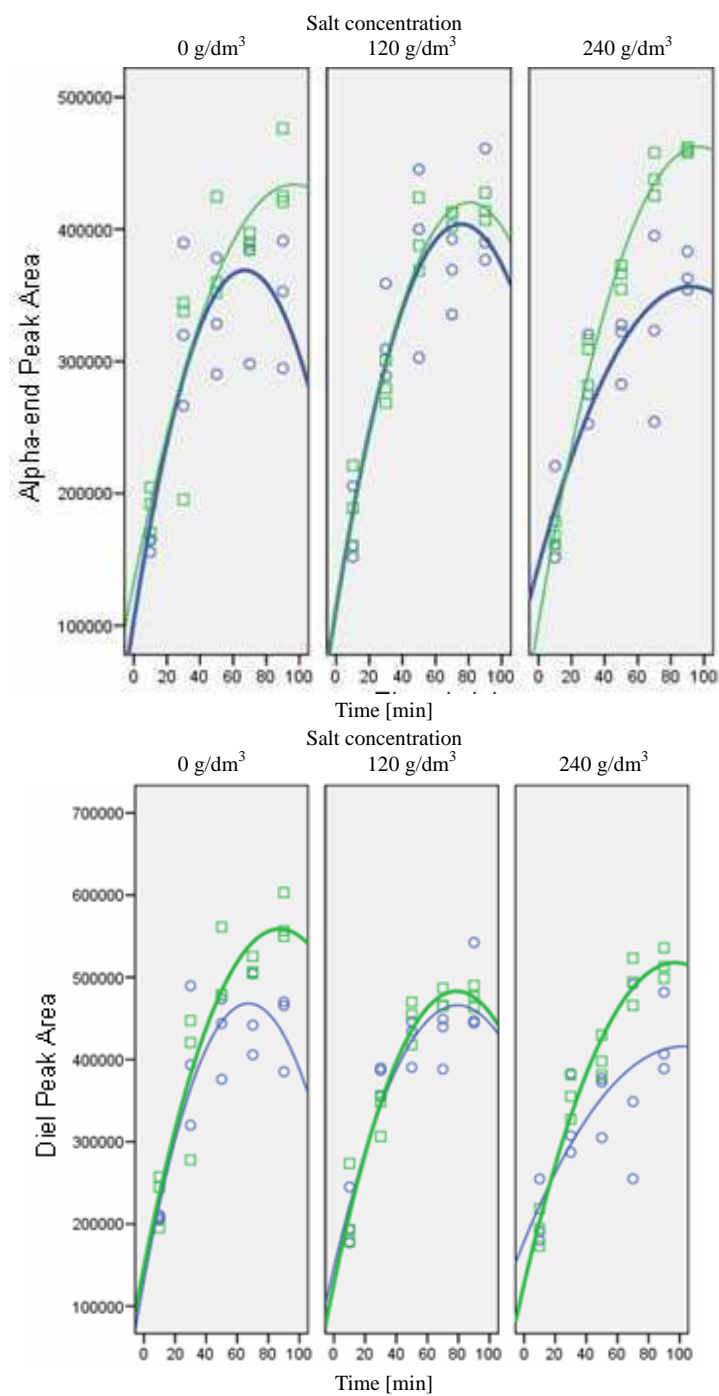
To develop a SPME procedure for the determination of organochlorine pesticides, optimization of several variables, related to the extraction and desorption steps, is required in order to achieve maximum efficiency of extraction for the compounds studied. These variables include fibre type, extraction time, ionic strength, and time and temperature of desorption.

Since SPME is a process dependent on the equilibrium involving partitioning of the analytes present in the aqueous phase into the stationary phase, the amount of the analyte extracted depends on the mass transfer through the aqueous phase and consequently depends on the extraction time [24, 25, 28] and on the nature of the stationary phase [28, 32]. The ionic strength can also influence the mechanism of mass transfer. In theory, the salt content decreases the solubility of organic compounds in water, in particular for compounds with lower hydrophobicity, thus improving the sorption by the fibre coating [17, 27, 32].











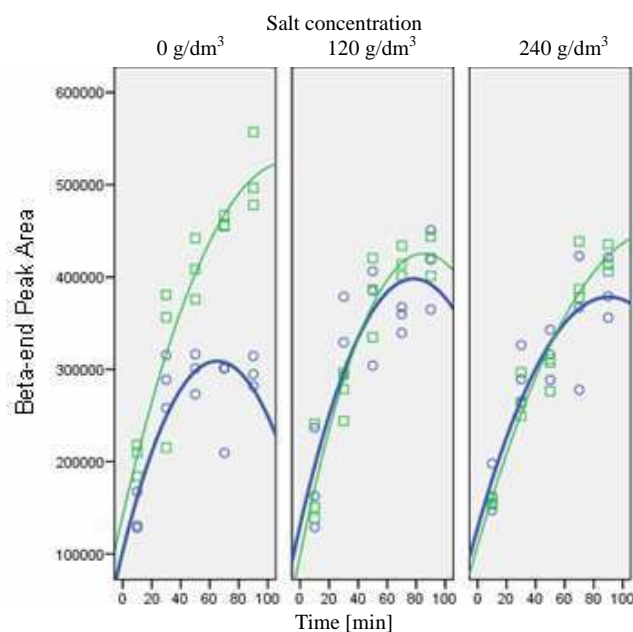


Fig. 1. Quadratic representation of GC peak area of organochlorine compounds with PDMS and PA fibres, in relation to the extraction time (10 to 90 min) at three NaCl concentrations: 0, 120, 240 g/dm<sup>3</sup> (n = 3)

Taking this into consideration, two fibres with different polarities were chosen for the SPME optimisation namely 100  $\mu\text{m}$  PDMS and 85  $\mu\text{m}$  PA. Typical extraction times ranging from 10 to 90 min and NaCl salt concentration ranging from 0 to 240 g/dm<sup>3</sup> (near solution saturation) were tested for both fibres, with continuous vibration of the fibre inside the solution to ensure a continuously fresh surface [17, 18]. The pH was not corrected since several authors refer that pH changes in the aqueous solution does not significantly affect the extraction efficiency [15, 23, 24]. The pH is not expected to affect extraction efficiency since the organochlorine compounds selected for this work are neutral and do not ionize in solution. The extraction temperature was maintained at a constant value of  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , since large temperature fluctuations may affect the rate of mass transfer and thus the equilibration time.

Figure 1 shows chromatogram peak areas of organochlorine compounds obtained with the SPME-GC-ECD procedure at different extraction times and NaCl concentrations, for the PA and PDMS fibres, with desorption conditions of 250°C and 3 minutes.

#### *Extraction time*

Applying Pearson's correlation test to peak area and extraction time, for each salt concentration, stronger linear correlations were obtained for the PA fibre comparing to the PDMS fibre (for all salt concentrations), indicating that peak area is more related to time for the PA fibre than PDMS fibre. For the PDMS fibre,  $0.549 < R < 0.854$  with  $P < 0.034$  were obtained and for the PA fibre,  $0.777 < R < 0.962$  with  $P < 0.001$  were

obtained. These conclusions can not be made to Hept and Ald at 0 g/dm<sup>3</sup> salt concentration for both fibres, because there is no evidence of linear correlation ( $R < 0.5$ ;  $P > 0.05$ ). Applying Spearman's correlation test, similar results were obtained. Considering these results it was expected to achieve longer equilibrium times with the PA fibre, for all compounds and salt concentrations, except Hept and Ald at 0 g/dm<sup>3</sup> salt concentration.

The equilibrium times obtained for each compound with PDMS and PA fibre and each salt concentration were calculated using the quadratic equations adapted to experimental points (Fig. 1). The equilibrium time corresponds to the time equivalent to 90% of the maximum peak area. The equilibrium times obtained for all the compounds using the PDMS and PA fibres (at a specific salt concentration) were compared applying the t-Student test for the equality of the means, enabling the conclusion that these times were significantly different only for 0 and 240 g/dm<sup>3</sup> salt concentrations.

Comparing the equilibrium times (t-Student test) at 0 g/dm<sup>3</sup> salt concentration,  $P = 0.025$  was obtained, indicating that the time necessary to extract all the compounds using the two fibres is significantly different. The mean equilibrium time obtained with the PDMS fibre is 38 min and with the PA fibre is 58 min. At 120 g/dm<sup>3</sup>, no significant differences were obtained ( $P = 0.071$ ), but at 240 g/dm<sup>3</sup> significant differences in the mean equilibrium times were obtained ( $P = 0.002$ ), indicating that the time necessary to extract all the compounds with the two fibres is significantly different. In this case, the mean equilibrium time obtained for the PDMS fibre is 47 min and for the PA fibre is 63 min.

The equilibrium times needed to extract simultaneously all the compounds were higher for the PA fibre than for the PDMS fibre, at 0 and 240 g/dm<sup>3</sup> salt concentrations. This difference can be justified based on the stronger intermolecular interactions, polar and non-polar, formed between the PA coating and the organochlorine compounds.

The results obtained in this work were somewhat different from the results presented by Boyd-Boland et al (1996), since the equilibrium times determined for the organochlorine compounds (except Lin) were found to be higher using the PDMS fibre than the PA fibre [29]. Nevertheless, this can be justified based on matrix differences between the two studies, given that in the study performed by Boyd-Boland et al (1996), sixty pesticides from several classes were simultaneously extracted.

#### *Peak areas*

For the comparison of the peak areas and their distributions obtained with the two fibres, t-Student and Mann-Whitney tests were applied at each salt concentration. These tests enabled the comparison of the extraction efficiency of the two fibres for each individual compound, at a known salt concentration.

Applying t-Student test for the equality of means, at 0 g/dm<sup>3</sup> salt concentration, significant results were obtained for Lin ( $P < 0.001$ ), Ald ( $P = 0.008$ ) and Beta-end ( $P = 0.002$ ), indicating that different means were achieved for these compounds using the PDMS and PA fibres. This shows that at 0 g/dm<sup>3</sup> salt concentration PA provides higher extraction efficiency than PDMS fibre for these three compounds, and for the other compounds no conclusion can be made.

Applying t-Student test for the equality of means, at 120 g/dm<sup>3</sup> salt concentration, significant results were obtained for Lin ( $P = 0.019$ ), Hept ( $P = 0.031$ ) and Ald

( $P = 0.003$ ). This shows that at  $120 \text{ g/dm}^3$  salt concentration PA provides higher extraction efficiency than PDMS fibre, for these three compounds. At  $240 \text{ g/dm}^3$  salt concentration, significant results were obtained for Hept ( $P = 0.023$ ), Ald ( $P = 0.018$ ) and Hept-endo ( $P = 0.041$ ), showing PA provides higher extraction efficiency than PDMS fibre, for these three compounds.

Applying the non parametric Mann-Whitney test to compare peak area distribution, similar results were obtained. At  $0 \text{ g/dm}^3$  salt concentration, significant results were obtained for Lin ( $P = 0.001$ ), Ald ( $P = 0.015$ ), Beta-end ( $P = 0.004$ ) and also Hept-endo ( $P = 0.029$ ). At  $120 \text{ g/dm}^3$  salt concentration, significant results were obtained for Lin ( $P = 0.026$ ), Hept ( $P = 0.033$ ) and Ald ( $P = 0.002$ ), and at  $240 \text{ g/dm}^3$  salt concentration, significant results were obtained for Hept ( $P = 0.041$ ), Ald ( $P = 0.026$ ) and Hept-endo ( $P = 0.037$ ). This statistic results show that PA provides higher extraction efficiencies than PDMS fibre for these compounds at the indicated salt concentration, and that for the other compounds no conclusion can be made.

With these results, it is not clear a preference of all the compounds or a majority of the compounds for one of the fibres, at each salt concentration.

The efficiency of extraction is related to the different affinities of the compounds for the fibre coating and for the water solution. These can be evaluated from the Henry's constant values ( $K_H$ ), octanol-water partition coefficients ( $K_{o/w}$ ) and water solubility of each compound, properties which are related to the structure and polarity of the compounds [32-34]. The large  $K_{o/w}$  values, the low solubility in water and the low  $K_H$  values of the studied compounds, should justify some preference for the less polar PDMS fibre [26, 28, 32]. But, the structure of the PA fibre coating, a hydrocarbon chain backbone (non-polar) with polar ester side chains, and also the presence of polar chlorine atoms in the extracted molecules, can also justify some affinity of this fibre to the organochlorine compounds [17, 32].

#### *Salt concentration*

For the comparison of the peak areas obtained with each fibre at two different salt concentrations, t-Student test was applied. This test enabled the comparison of the extraction efficiency of each fibre in relation to each individual compound, at two salt concentrations.

Applying t-Student test for the equality of means, to the PDMS fibre at 0 and  $120 \text{ g/dm}^3$  salt concentrations, significant results were obtained for Lin ( $P < 0.001$ ), Hept ( $P = 0.007$ ), Ald ( $P = 0.024$ ) and Beta-end ( $P = 0.025$ ). This shows that, at  $120 \text{ g/dm}^3$  salt concentration, higher extraction efficiencies were obtained for Lin and Beta-end, lower extraction efficiencies were obtained for Hept and Ald (comparing to  $0 \text{ g/dm}^3$  salt concentration), and for the other compounds no conclusion can be made. Applying the same test, at 120 and  $240 \text{ g/dm}^3$  salt concentrations, significant results were obtained only for Lin ( $P < 0.001$ ), showing that, at  $240 \text{ g/dm}^3$  salt concentration, higher extraction efficiencies are obtained for Lin (comparing to the  $120 \text{ g/dm}^3$  salt concentration experience). From these results, it can be concluded that the benefit of adding salt to raise the extraction efficiency is only obtained for Lin, at both salt concentrations, and this increase is proportional to the salt concentration. Lin is the most water-soluble compound in this study. This compound has a much higher solubility in water than the other compounds,

7.8 mg/dm<sup>3</sup> comparing to 0.18±0.53 mg/dm<sup>3</sup> at 25°C [33], therefore an increase in the concentration of NaCl has a positive effect, reducing the solubility in water and thus improving the extraction of the analyte. For Beta-end an increase of extraction efficiency is also obtained but only at 120 g/dm<sup>3</sup> salt concentration.

Applying t-Student test for the equality of means, to the PA fibre at 0 and 120 g/dm<sup>3</sup> salt concentrations, no significant results were obtained. The test was then applied to compare 0 and 240 g/dm<sup>3</sup> salt concentrations, and a significant result was obtained only for Lin ( $P < 0.001$ ), showing that the 240 g/dm<sup>3</sup> salt concentration enables higher extraction efficiencies than the 0 g/dm<sup>3</sup> salt concentration, and that the 120 g/dm<sup>3</sup> salt concentration seems to be insufficient to raise the extraction efficiency at a significant level.

Similar results were previously described by Aguilar et al [20], using an 85 µm PA fibre. In this study the authors reported that the effect of the ionic strength (180 and 360 g/dm<sup>3</sup> NaCl concentration) in the extraction efficiency of organochlorine compounds, such as alpha- and beta-hexachlorocyclohexanes (HCH), Lin, Hept, Hept-endo, Ald, Diel, endrin, DDT, DDE, DDD and Alpha- and Beta-end, was not significant. For these study the authors used a response surface methodology, to optimize the maximum recovery for all the compounds. The positive effect of salt addition on the efficiency of extraction of Lin, was also described by Brás et al [17] using a PDMS fibre.

From the results presented herein, it is unquestionable that the rate at which the extraction process reaches equilibrium, primarily dependent on the rate of mass transfer in the aqueous phase, is influenced not only by the properties of the extracted compounds, but also by the structure of the fibre coating, and, depending on the polarity of the extracted compounds, by the salt concentration of the water solution.

Despite the higher extraction efficiency obtained with the PA fibre for some compounds, the PDMS fibre was selected to extract simultaneously all compounds, in order to reduce the time of the experiments. The extraction conditions selected were 30 minutes, with fibre vibration inside the solution and without salt addition.

It is well known that analytes can be desorbed more effectively under a higher temperature in a shorter time, but the stability and the lifetime of the fibre can be affected and the analytes may decompose if the desorption temperature is too high [15]. Taking this into consideration, desorption studies were performed at temperatures of 250 and 270°C and desorption times of 3 and 5 minutes. The average peak areas obtained were compared using the t-Student test. No significant results were obtained ( $P > 0.05$ ), indicating that all conditions ensure a proper desorption of the compounds. Bearing in mind that the optimized time is obtained when all analytes are desorbed from the fibre coating with minimal carry over, and taking into account the stability and lifetime of the fibre, the conditions chosen were 250°C and 5 min. Similar conditions were reported by several authors, for the SPME desorption of organochlorine compounds using PDMS fibres [17, 25, 26, 28].

## Validation parameters of the analytical methodology

The analytical parameters evaluated to validate the SPME-GC-ECD methodology were: linearity, limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ), trueness, repeatability and intermediate precision. Table 1 shows the results obtained for the linearity studies, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), for all the compounds.

Table 1

Figures of merit of the SPME-GC-ECD methodology

Compound	Linearity range [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ] <sup>*</sup>	R <sup>2</sup>	RSD [%] (n = 10)	Spiking level [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]	LOD <sup>**</sup> [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]	LOQ <sup>***</sup> [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]
Lin	0.017÷0.26	0.9937	7.2	0.0057	0.0092	0.028
Hept	0.018÷0.35	0.9979	6.5	0.0058	0.0061	0.018
Ald	0.015÷0.30	0.9984	5.8	0.0050	0.0070	0.021
Hept-exo	0.018÷0.26	0.9968	8.2	0.0058	0.0073	0.022
Hept-endo	0.015÷0.23	0.9978	6.7	0.0051	0.0068	0.020
Alpha-end	0.015÷0.23	0.9931	12.2	0.0051	0.0103	0.031
Diel	0.016÷0.24	0.9950	10.3	0.0052	0.0074	0.022
Beta-end	0.018÷0.26	0.9958	9.4	0.0058	0.0084	0.025

<sup>\*</sup> n = 10, <sup>\*\*</sup> LOD =  $C_m + 3.3 \cdot s_c$  (n = 9), <sup>\*\*\*</sup> LOQ =  $C_m + 10 \cdot s_c$  (n = 9),  $C_m$  - average concentration obtained by the methodology,  $s_c$  - standard deviation of the concentration

The linearity of all curves was studied following two steps: 1) adjustment of the working range for a 99% confidence interval, using the F-test for homogeneity of the variances; 2) calculation of the linearity for each curve applying the International Standard ISO 8466-1.

A good linear correlation between concentration's ratio and peak areas' ratio (analyte/internal standard) was obtained for all the curves, with coefficients of estimation (R<sup>2</sup>) ranging from 0.9931 to 0.9984 and the relative standard deviation (RSD) values less than 15%.

LOD and LOQ, for each compound, were calculated applying the recommendations of Relacre Guide 13, as explained in the Experimental Section [35]. LOD obtained varied from 6.1 to 10.3 ng/dm<sup>3</sup>. These values were later confirmed experimentally, and the RSD values obtained were less than 20% for all the compounds, indicating that these limits were accurately determined.

The LOD and LOQ obtained were similar to those reported by other authors for the determination of pesticides in water samples, using SPME-GC-ECD [10, 15, 16, 23, 25, 26].

To determine the trueness, repeatability and intermediate precision of this methodology, samples were prepared at a 0.2  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  concentration level by three analysts in three different matrices, ultra-pure, tap and bottled water. The analytical recoveries [%R] were used to evaluate the trueness of the method. The repeatability was calculated as within-day RSD of analyte concentration and intermediate precision was evaluated as RSD of analyte concentration, obtained in consecutive days by three analysts, in the three matrices [36]. Table 2 shows the analytical recovery, repeatability and intermediate precision RSD values.

Analytical recoveries [%R] were acceptable in all the matrices for all the compounds, varying from 75.3 to 117.0%. Comparing the three matrices, %R values from 75.3 to 96.7% were obtained for ultra-pure water samples, %R from 84.3 to 100.0% for bottled water samples and %R from 84.7 to 117.0% for tap water samples. All these values were satisfactory because they belong to the interval  $K \pm 100$ , being K equal to 25% (the value for the trueness indicated in the Portuguese law 306/2007).

These results led us to believe that matrices effects can be neglected, although other experiences are being performed in surface and ground waters.

Table 2

Analytical recovery, repeatability and intermediate precision of the SPME-GC-ECD methodology

Compound	Analytical recovery R [%]			Repeatability RSD [%]			Intermediate precision RSD [%]		
	Ultra pure water	Bottled water	Tap water	Ultra pure water	Bottled water	Tap water	Ultra pure water	Bottled water	Tap water
Lin	96.7	92.3	110.7	6.4	15.8	17.0	7.8	18.1	17.8
Hept	90.0	84.3	84.7	10.0	12.3	14.9	13.9	17.9	15.1
Ald	82.0	86.7	77.7	12.8	15.5	16.6	13.1	15.9	17.6
Hept-exo	80.3	94.7	101.0	10.7	14.8	11.4	10.7	16.2	12.2
Hept-endo	77.7	90.7	94.3	10.0	14.0	10.4	10.2	15.0	10.5
Alpha-end	80.0	100.0	117.0	7.9	13.9	15.0	8.0	17.5	20.8
Diel	81.3	96.3	93.3	9.7	14.1	11.7	10.3	16.0	15.3
Beta-end	75.3	93.7	97.3	14.1	17.0	12.4	14.2	18.8	18.9

Repeatability and intermediate precision were shown to be satisfactory in all matrices at  $0.2 \mu\text{g}/\text{dm}^3$  concentration level, with repeatability RSD values ranging from 6.4 to 17.0% and intermediate precision RSD values ranging from 7.8 to 20.8%. These results are adequate for water quality monitoring and also very similar to those obtained by other authors for the quantification of organochlorine compounds using a SPME-GC methodology [15, 17, 24].

### Analysis of real water samples

The methodology was applied to real water samples from fifty water springs collected in fifteen villages from Sintra and Odivelas municipalities.

Table 3

Concentration of organochlorine compounds in the water springs from Sintra and Odivelas municipalities analysed by the SPME-GC-ECD methodology

Municipality	Village	Spring name	Concentration [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]			
			Lin	Ald	Alpha-end	
Sintra	Belas	Fontanário do Largo 1º Maio	0.0134	Less than LOD	Less than LOD	
		Queluz	Bica da Costa	0.0197	Less than LOD	Less than LOD
	S. Martinho	Fonte do Casal dos Afonsos	Fonte da Volta do Duche	0.0176	Less than LOD	Less than LOD
			Fonte do Largo dos Bombeiros	0.0221	Less than LOD	Less than LOD
			Fonte do Cortiça	0.0211	Less than LOD	Less than LOD
	Almargem do Bispo	Fonte da Aranha	Fonte do Cortiça	Less than LOD	0.0126	Less than LOD
			Fonte da Est. Principal de Aruil	0.0277	Less than LOD	Less than LOD
	Terrugem	Chafariz das Cebolas	Fonte da Aranha	Less than LOD	Less than LOD	0.0184
			Fonte Velha	0.0138	Less than LOD	Less than LOD
	S. João das Lampas	Fonte da Areias	Fonte Velha	0.0134	Less than LOD	0.0174
			Fonte da Areias	Less than LOD	Less than LOD	0.0165
			Fonte do Olheiro	Less than LOD	Less than LOD	0.0186
Odivelas	Ramada	Fonte de Monte Arroio	0.0103	Less than LOD	Less than LOD	
		Fontanário do Largo da Amoreira	0.0238	Less than LOD	Less than LOD	
		Fontanário da Rua Aura de Abranches	Less than LOD	Less than LOD	0.011	

Organochlorine compounds were detected below the limits proposed by the Portuguese legislation (Table 3). Nevertheless, in some villages (Belas, Queluz, São Martinho, Almagem do Bispo, Terrugem, São João das Lampas and Ramada), lindane, aldrin and alpha-endosulfan were detected at low concentrations. Since the obtained values are lower than the LOQ of these pesticides, they were later experimentally confirmed.

The occurrence of pesticides, in some of the villages, is not unusual and can be justified by the presence of numerous small familiar vegetable gardens.

## Conclusions

In this paper, a satisfactory SPME-CG-ECD methodology for the simultaneous analysis of eight known organochlorine compounds in natural spring waters, was presented. The SPME technique showed some advantages in relation to the more conventional SPE and LLE extraction techniques, proving to be a much faster, low-cost, simple and solvent-free method for extracting pesticides from water samples, with similar performance.

For the optimization of the SPME procedure, 100  $\mu\text{m}$  PDMS and 85  $\mu\text{m}$  PA fibres were used and studies of extraction time and ionic strength were performed. For both fibres, the positive effect of the salt addition was only observed for the most polar compound, lindane. The PA fibre showed higher efficiencies of extraction, for some compounds, at specific salt concentration, but higher extraction times were necessary to extract simultaneously all compounds at 0 and 240  $\text{g}/\text{dm}^3$  NaCl concentrations. All the comparisons were performed using statistic tests.

These results pointed out the importance of the structure of the fibre coating, the properties of the extracted compounds and the salt concentration, in the efficiency of extraction and in the equilibrium extraction times.

The methodology showed good sensitivity, with detection limits one order of magnitude below the legislation values for individual pesticides in drinking waters. These values allowed the determination of the proposed pesticides at the levels required by the Directive 98/83/EC, as it was performed in natural spring waters.

The results obtained in the validation studies showed that this method is appropriate for the routine analysis of the proposed organochlorine compounds in drinking waters, with adequate sensitivity, good linearity, trueness, repeatability and intermediate precision.

In the fifty natural spring samples analysed, the organochlorine compounds were detected below the legislation values. The results are encouraging but very few to ensure the quality of natural springs, pointing out the need for monitoring more pesticides in these and other natural spring waters.

## References

- [1] Carreño J., Rivas A., Granada A., Lopez-Espinosa M.J., Mariscal M., Olea N. and Olea-Serrano F.: *Exposure of young men to organochlorine pesticides in southern Spain*. Environ. Res., 2007, **103**, 55-61.
- [2] Bretveld R.W., Thomas C.M.G., Scheepers P. T.J., Zielhuis G.A. and Roeleveld N.: *Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted?* Reprod. Biol. Endocrinol., 2006, **4**, 30-43.
- [3] García A.M.: *Pesticide exposure and women's health*. Am. J. Ind. Med., 2003, **44**, 584-594.

- [4] Lemaire G., Mnif W., Mauvais P., Balaguer P. and Rahmani R.: *Activation of  $\alpha$ -estrogen and  $\beta$ -estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines*. Life Sci., 2006, **79**, 1160-1169.
- [5] Hayes T.B., Case P., Chui S., Chung D., Haefele C., Haston K., Lee M., Mai V.P., Marjua Y., Parker J. and Tsui M.: *Pesticides mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: Are we underestimating the impact?* Environ. Health Persp., 2006, **114**(11), 40-50.
- [6] Waliszewski S.M., Bermudez M.T., Infanzon R.M., Silva C.S., Carvajal O., Trujillo P., Arroyo S.G., Pietrine R.V., Saldaña V.A., Melo G., Esquivel S., Castro F., Ocampo H., Torres J. and Hayward-Jones P.M.: *Persistent organochlorine pesticide levels in breast adipose tissue in women with malignant and benign breast tumors*. B. Environ. Contam. Tox., 2005, **75**, 752-759.
- [7] De Roos A.J., Hartge P., Lubin J.H., Colt J.S., Davis S., Cerhan J.R., Severson R.K., Cozen W., Patterson D.G. Jr., Needham L.L. and Rothman N.: *Persistent organochlorine chemicals in plasma and risk of non-Hodgkin's lymphoma*. Cancer Res., 2005, **65**(23), 11214-11226.
- [8] Wolff M.S., Britton J.A., Teitelbaum S.L., Eng S., Deych E., Ireland K., Liu Z., Neugut A.I., Santella R.M. and Gammon M.D.: *Improving organochlorine biomarker models for cancer research*. Cancer Epidemiol. Biomark., 2005, **14**(9), 2224-2236.
- [9] Purdue M., Hoppin J.A., Blair A., Dosemeci M. and Alavanja M.C.R.: *Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the agricultural health study*. Int. J. Cancer., 2006, **120**, 642-649.
- [10] Graham K.N., Sarma L.P., Webster G.R.B., Gaynor J.D. and Ng H.Y.F.: *Solid-phase microextraction of the herbicide metolachlor in runoff and tile-drainage water samples*. J. Chromatogr. A, 1996, **725**, 129-136.
- [11] Eaton A.D., Clesceri L.S. and Greenberg A.E.: *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 21<sup>st</sup> Edition. APHA, AWWA, WEF, Washington DC, 2005, **6**, 100-115.
- [12] Scheyer A., Briand O., Morville S., Philippe M. and Millet M.: *Analysis of trace levels of pesticides in rainwater by SPME and GC-tandem mass spectrometry after derivatization with PFFBr*. Anal. Bioanal. Chem., 2006, **367**, 359-368.
- [13] Beceiro-González E., Concha-Graña E., Guimaraes A., Gonçalves C., Muniategui-Lorenzo S. and Alpendurada M.F.: *Optimisation and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography-mass spectrometry*. J. Chromatogr. A, 2007, **1141**, 165-173.
- [14] Campillo N., Peñalver R. and Hernández-Córdoba M.: *Pesticides analysis in herbal infusions by solid-phase microextraction and gas chromatography with atomic emission detection*. Talanta, 2007, **71**, 14177-1423.
- [15] Dong C., Zeng Z. and Yang M.: *Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethyl-phenyvinylsiloxane-coated fibre by GC-ECD*. Water Res., 2005, **39**, 4204-4210.
- [16] Gonçalves C. and Alpendurada M.F.: *Comparison of three different poly(dimethylsiloxane)-divinylbenzene fibres for the analysis of pesticide multiresidues in water samples: structure and efficiency*. J. Chromatogr. A, 2002, **963**, 19-26.
- [17] Brás I., Santos L. and Alves A.: *Monitoring organochlorine pesticides from landfill leachates by gas chromatography-electron-capture detection after solid-phase microextraction*. J. Chromatogr. A, 2000, **891**, 305-311.
- [18] Beltran J., López F.J. and Hernández F.: *Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis*. J. Chromatogr. A, 2000, **885**, 389-404.
- [19] Hernandez F., Beltran J., Lopez F.J. and Gaspar J.V.: *Use of solid-phase microextraction for the quantitative determination of herbicides in soil and water samples*. Anal. Chem., 2000, **72**, 2313-2322.
- [20] Aguilar C., Peñalver A., Pocerull E., Ferré J., Borrul F. and Marcé R.M.: *Optimization of solid-phase microextraction conditions using a response methodology to determine organochlorine pesticides in water by gas chromatography and electron-capture detection*. J. Chromatogr. A, 1999, **844**, 425-432.
- [21] Battle R., Sánchez C. and Nerín C.: *Determination of pesticides in ethanol/water mixtures used as food simulants*. Anal. Chem., 1999, **71**, 2417-2422.
- [22] Berladi R.P. and Pawliszyn J.: *The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns*. Water Pollut. Res. J. Can., 1989, **24**, 179-191.
- [23] Raposo Júnior J.L. and Ré-Poppi N.: *Determination of organochlorine pesticides in ground water samples using solid-phase microextraction by gas chromatography-electron capture detection*. Talanta, 2007, **72**, 1833-1841.



- [24] Pérez-Trujillo J.P., Frías S., Conde J.E. and Rodríguez-Delgado M.A.: *Comparison of different coatings in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in ground water*. J. Chromatogr. A, 2002, **963**, 95-105.
- [25] Boussahel R., Bouland S., Moussaoui K.M., Baudu M. and Montiel A.: *Determination of chlorinated pesticides in water by SPME/GC*. Water Res., 2002, **36**, 1909-1911.
- [26] Tomkins B.A. and Barnard A.R.: *Determination of organochlorine pesticides in ground water using a solid-phase microextraction followed by dual-column gas chromatography with electron-capture detection*. J. Chromatogr. A, 2002, **964**, 21-33.
- [27] Aguilar C., Penalver S., Pocerull E., Borrul F., Marçé R.M.: *Solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection for the determination of pesticides in aqueous samples*. J. Chromatogr. A, 1998, **795**, 105-115.
- [28] Magdic S. and Pawliszyn J.B.: *Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction*. J. Chromatogr. A, 1996, **723**, 111-122.
- [29] Boyd-Boland A.A., Magdic S. and Pawliszyn J.B.: *Simultaneous Determination of 60 Pesticides in Water Using Solid-phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. Analyst, 1996, **121**, 929-938.
- [30] Ekmekci M.: *Pesticide and nutrient contamination in the kestel polje-kirkgoz karst springs, Southern Turkey*. Environ. Geol., 2005, **49**(1), 19-29.
- [31] Karasali H., Hourdakias A., Anagnostopoulos H. and Doulia D.: *Pesticides residues in thermal mineral water in Greece*. J. Environ. Sci. Health B, **B37**(5), 465-474.
- [32] Dugay J., Miège C. and Hennion M.-C.: *Effect of the various parameters governing solid-phase microextraction for the trace-determination of pesticides in water*. J. Chromatogr. A, 1998, **795**, 27-42.
- [33] LaGrega M.D., Buckingham P.L. and Evans J.C.: *Hazardous Waste Management*, 2<sup>nd</sup> Edition. McGraw-Hill Higher Education, New York 2001.
- [34] Louch D., Motlagh S. and Pawliszyn J.: *Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibers*. Anal. Chem., 1992, **64**(10), 1187-1199.
- [35] Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química. Guia Relacre 13, Relacre, 2000.
- [36] IUPAC. *Harmonized Guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories*. Pure Appl. Chem., 1995, **67**(4), 649-666.

**OPTIMALIZACJA I WALIDACJA  
METODY SPME-GC-ECD DO WYKRYWANIA  
PESTYCYDÓW CHLOROORGANICZNYCH  
W NATURALNYCH WODACH ŹRÓDLANYCH PORTUGALII**

**Abstrakt:** Opisano prostą i wiarygodną metodę ilościowego oznaczania 8 powszechnie używanych pestycydów chloroorganicznych i ich metabolitów. Do analizy stosowano technikę mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME), a następnie chromatografię gazową z detektorem wychwytu elektronów (GC-ECD). Metodą SPME było badanych kilka parametrów z użyciem dwóch różnych włókien (polidimetylosiloksanu i poliakrylanu). Wydajność ekstrakcji badano za pomocą testów statystycznych i biorąc pod uwagę właściwości ekstrahowanych substancji, stężenie soli w badanych roztworach wodnych i strukturę powierzchni włókien. Po wybraniu najlepszych warunków ekstrakcji omawiana metoda była sprawdzana zgodnie z zaleceniami normy międzynarodowej ISO/IEC 17025. Przedstawiana procedura była z sukcesem wykorzystana do analizy 50 wód źródłanych z 15 miejscowości powiatów Sintra i Odivelas w Portugalii.

**Słowa kluczowe:** pestycydy chloroorganiczne, wody źródlane, metodologia SPME-GC-ECD, walidacja



Radosław KOWALSKI<sup>1\*</sup> and Janusz WIERCINSKI<sup>1</sup>

## MERCURY CONTENT IN SMOKE AND TOBACCO FROM SELECTED CIGARETTE BRANDS

### ZAWARTOŚĆ RTĘCI W DYMIE I WYPEŁNIENIU WYBRANYCH MAREK PAPIEROSÓW

**Abstract:** The study aimed at evaluating the total mercury content in tobacco and smoke released from selected cigarette brands. "Mechanical lips" were applied for determining the mercury concentration in cigarette smoke, and its level was calculated by balancing it in tobacco, ash, and cigarette filter. Analyses were made using mercury analyser AMA-254. The study material consisted of selected-brands cigarettes grouped according to tar and nicotine substances contents declared by a producer: 3 brands (L1, L2, and L3) filled with low-tar and low-nicotine tobacco (4 and 0.3 mg/cigarette); 5 brands (M1, M2, M3, M4, and M5) characterized by medium tar and medium nicotine contents (6÷8 and 0.5÷0.6 mg/cigarette), and two remaining brands (S1, S2) with high-tar and high-nicotine levels (12 and 1.0 mg/cigarette). Mercury contents in tobacco from tested cigarette brands ranged from 2.95 to 10.2 ng Hg per a single cigarette. Almost all mercury contained was released to the smoke (from 86.7 to 100%). Cigarette filters made of cellulose acetate appeared to be insufficient barrier for volatile mercury. In some cases, release of mercury from the filter into the smoke was observed. The element content in the filter was higher after than before smoking the cigarette for most brands; however, these were similar values to the metal content before smoking out. Applied filter filled with activated charcoal (single cigarette brand) contained the same amount of mercury before and after smoking the cigarette. Considering 20 smoked cigarettes as daily mean value for an individual person, it can be stated that it is a serious mercury source which supplies the smoker with a dose of 60÷200 ng of the toxic element into his/her lungs every day.

**Keywords:** mercury, cigarette, smoke, tobacco, non-flame atomic spectrometry absorption

The results of a variety of studies on environmental contamination with heavy metals and their accumulation in human organism revealed an association between elevated mercury concentrations in people's hair and their smoking behaviour or staying in cigarette smoke atmosphere [1-3]. The influence of smoking on increase of daily mercury dose introduced into a smoker's organism was also observed about 30 years ago [4]. In consequence, a study aiming at evaluating the total mercury content in tobacco and fumes from some cigarettes was undertaken.

<sup>1</sup> Department of Analysis and Evaluation of Food Quality, Central Apparatus Laboratory, University of Life Sciences in Lublin, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, tel. 081 445 66 57

\* Corresponding author: email: radoslaw.kowalski@up.lublin.pl

## Materials and methods

### Cigarettes

The study material consisted of selected-brands cigarettes grouped according to tar and nicotine substances contents declared by a producer: 3 brands (L1, L2, and L3) filled with low-tar and low-nicotine tobacco (4 and 0.3 mg/cigarette, respectively); 5 brands (M1, M2, M3, M4, and M5) characterized by medium tar and medium nicotine contents (6÷8 and 0.5÷0.6 mg/cigarette), and two remaining brands (S1, S2) with high-tar and high-nicotine levels (12 and 1.0 mg/cigarette). Every brand was represented by 5 packages (à 20 cigarettes) purchased at the same time.

### Preparation of material for mercury determination

Cigarettes of each brand were divided into two parts that were stored within a closed desiccator to prevent the material from drying. One part of each sample was subjected to determinations of total mercury content in tobacco, and the other was smoked in „mechanical lips” with subsequent determination of mercury content in ash and filter. Mercury amounts were calculated by means of balancing, taking into account that portion of the element that was released in the smoke. The „mechanical lips” device was made of water scrubber and a syringe pump 335 A (Unipan, Poland). The operating principle of the “mechanical lips” is presented in Figure 1.

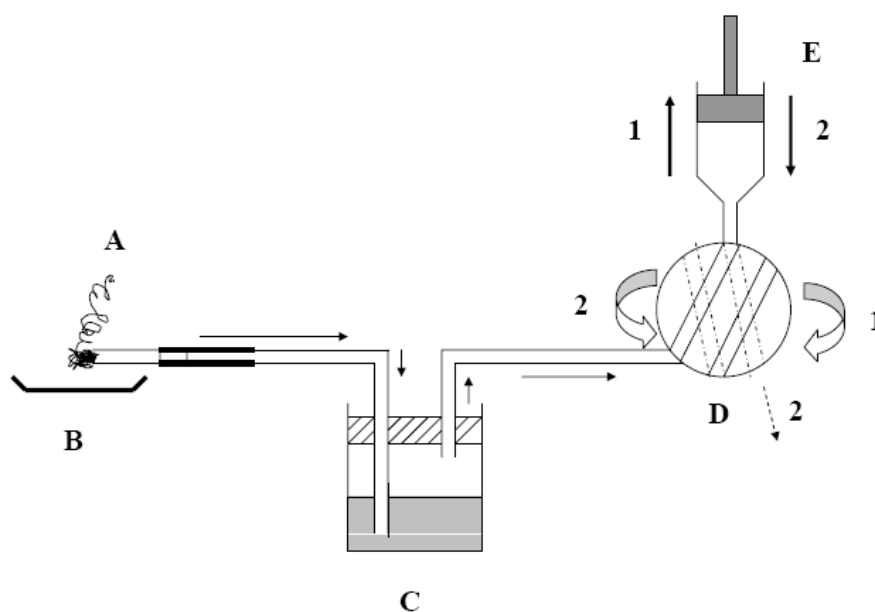


Fig. 1. Principles of operation of the „mechanical lips”. Explanations: A - cigarette, B - sample boat for ash accumulation, C - water scrubber, D - balancing pump valve, E - pump syringe, 1 - movement of the valve and piston at air suction, 2 - movement of the valve and piston releasing sucked-in air

### Determination of mercury content

Total mercury determination was carried out using mercury analyser AMA-254 (Altech, Czech Republic) [3], taking the 100 mg samples cut together with the paper using a scalpel. Achieved results were converted to the mercury content in a tobacco weight unit and to the filling of a single cigarette (taking into account its presence in the filter), and then the amount of the element released into the atmosphere in smoke was calculated. Drying, grinding, and averaging of tobacco samples were left out because any additional stage could contaminate vessels, drier or staff clothes with mercury, which could result in larger errors.

### Calibration

The analyser was calibrated applying NIST-traceable Hg standard solution (Accu Trace Single Element Standard; AccuStandard Inc., New Haven, CT, USA). Determination uncertainty was estimated using about 10 g of cigarette tobacco previously dried and ground in a mortar to get a fine dust with subsequent averaging of sample; determination precision was evaluated by comparison with the analysis of certified referential materials (CRM): Mixture of Polish Herbs (INCT - MPH-2) and Tea Leaves (INCT - TL-1) prepared by Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Warsaw (Table 1).

Table 1  
Assessment of the accuracy and precision of the method using two standard reference materials: INCT-MPH-2 and INCT-TL-1, (Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Warsaw, Poland)

INCT-MPH-2 [ng/g], n = 10		INCT-TL-1 [ng/g], n = 10	
certified value	determined value	certified value	determined value
17.60 ± 1.60	16.70 ± 0.50	4.92 ± 0.74	5.27 ± 0.43

### Statistical analysis

The significance of differences in mercury contents in tobacco of particular cigarette brands was statistically assessed applying Duncan tests and SAS software (SAS Version 9.1, SAS Inst., Cary, N.C., USA).

### Results and discussion

Results for total mercury are presented in Table 2 and in Figures 2-4. Table 2 presents the total mercury content [ng/g] in cigarette filling (tobacco), in filters before and after smoking the cigarette, as well as in the ash. Figure 2 indicates results of absolute total mercury level [ng] for tobacco in a single cigarette of particular brands. Those results confirm numerical data in Table 2 referring to lower mercury content in L1 and M3 brands tobacco, and higher in M4 and S1 brands. Observed greater differences between mercury content per cigarette for L1, L2 and M3 brands result from the different weights of tobacco fillings. Figure 3 presents absolute mercury content in cigarette fumes [ng] calculated per a single cigarette. Results in Figure 3 are consistent with those from Figure 2, because in practice all mercury from the tobacco is released with the fumes during smoking. Figure 4 presents results [ng] for mercury determination in filters before and after cigarette smoking - for the tested brands.

Table 2  
Mean content of total mercury in tested cigarettes tobacco, in the filter before smoking, as well as ash and filter after smoking out the cigarette. Explanations: \* charcoal filter, \*\* no filter. Values designated with the same letters (a, b, c) within column do not significantly differ at 5% error (Duncan's test). Values designated with the same letters (A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>) within line do not significantly differ at 5% error (Duncan's test)

Cigarette brand	Mean mercury content [ng/g]			
	Before smoking out		After smoking out	
	tobacco	filter	ash	filter
L1	6.74±0.67cdA <sub>1</sub>	0.61±0.14dA <sub>2</sub>	0.02±0.00eB <sub>1</sub>	3.14±0.39aB <sub>2</sub>
L2	9.89±1.84aA <sub>1</sub>	3.61±0.42aA <sub>2</sub>	0.19±0.02aB <sub>1</sub>	0.32±0.08dB <sub>2</sub>
L3	8.27±1.01bA <sub>1</sub>	0.50±0.09dA <sub>2</sub>	0.05±0.00dB <sub>1</sub>	0.54±0.08dA <sub>2</sub>
M1	9.46±1.29aA <sub>1</sub>	0.46±0.11dA <sub>2</sub>	0.13±0.01bB <sub>1</sub>	0.54±0.08dA <sub>2</sub>
M2	8.18±1.10bA <sub>1</sub>	1.94±0.15bA <sub>2</sub>	0.05±0.01dB <sub>1</sub>	0.44±0.07dB <sub>2</sub>
M3	6.48±1.29dA <sub>1</sub>	0.37±0.25dA <sub>2</sub>	0.14±0.02bB <sub>1</sub>	1.27±0.12cB <sub>2</sub>
M4	10.35±0.76aA <sub>1</sub>	1.72±0.13bcA <sub>2</sub>	0.10±0.01cB <sub>1</sub>	1.76±0.14*cA <sub>2</sub>
M5	7.60±1.10bA <sub>1</sub>	1.12±0.32cdA <sub>2</sub>	0.04±0.01deB <sub>1</sub>	2.59±0.42bB <sub>2</sub>
S1	10.56±0.72aA <sub>1</sub>	**	0.14±0.02bB <sub>1</sub>	**
S2	9.59±0.66aA <sub>1</sub>	0.39±0.08dA <sub>2</sub>	0.12±0.02bcB <sub>1</sub>	0.51±0.11dA <sub>2</sub>

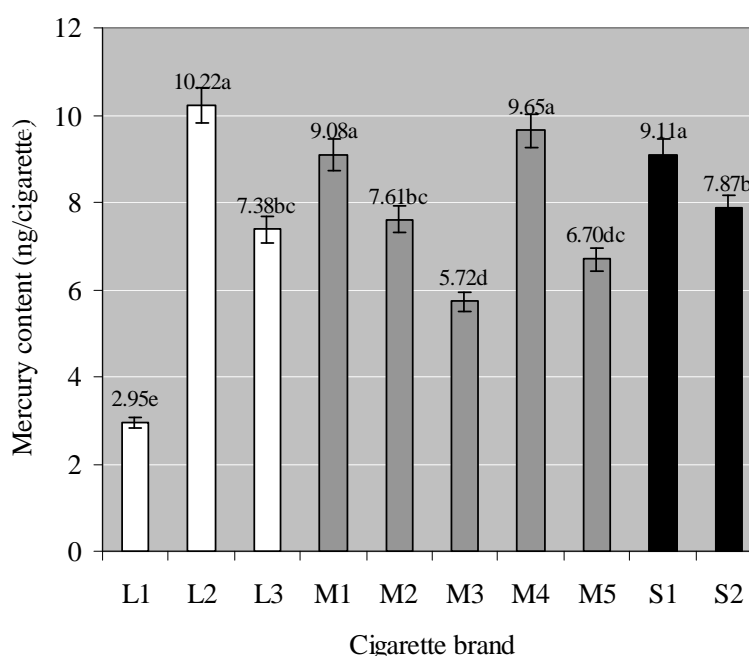


Fig. 2. Absolute mercury content in tobacco of single cigarettes [ng]. Explanations: Values designated with the same letters (a, b, c...) do not significantly differ at 5% error (Duncan's test)

Analysis of achieved results revealed lower mercury levels in only one tested cigarette brand containing low-tar and low-nicotine tobacco (L1) and a single brand (M3) containing medium levels of tarry substances and nicotine (6.74 and 6.48 ng/g, respec-

tively). However, the highest mercury content was found in a brand with medium amounts of tar and nicotine (M4) and one with higher contents of these substances (S1) (10.3 and 10.6 ng/g). In the other cigarette brands - regardless of the content of tar and nicotine - mercury level did not significantly differ ranging from 7.60 to 9.89 ng/g of the filling. Such results seem to indicate the lack of any dependence between tar substances and nicotine contents in cigarette tobacco vs mercury levels determined in them. Eight of the tested brands had filters made of cellulose acetate, one (S1) had no filter, and another one (M4) was equipped with charcoal filter. Analysis of these filters (9 cigarette brands) - before their burning - revealed that they contained mercury at levels from 0.03 to 0.72 ng, ie about 1-2 orders lower than in tobacco. Most of the filters did not retain mercury during smoking. The charcoal filter had the same property. Only in the case of 4 brands (L1, L3, M3, and M5) mean retention of 0.30, 0.23, 0.18, and 0.35 ng of mercury was recorded (vs 2.95, 7.38, 5.72, and 6.70 ng before smoking), which was 10.2, 3.12, 3.15, and 5.22% of released mercury, respectively.

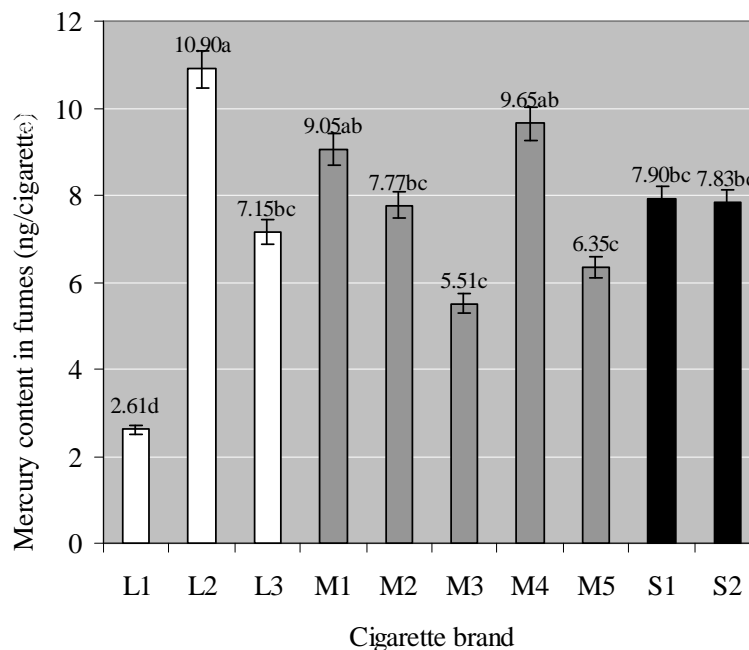


Fig. 3. Absolute mercury content in smokes of single cigarettes [ng]. Explanations: Values designated with the same letters (a, b, c...) do not significantly differ at 5% error (Duncan's test)

Worldwide literature is not abundant in works on mercury occurrence in tobacco. Only few publications [4-9] describe issues attributed to methodology of mercury determination in tobacco and cigarette smokes. Those researches mention such techniques as: atomic absorption spectroscopy using - after sample digestion - cold vapours technique (CV-AAS) [5, 9], photodiode detection and high-performance liquid chromatography with separation of heavy metal chelates with tetra-(4-aminophenyl)-porphyrin on re-

versed phase RP-HPLC [7], as well as inflammable technique GF-AAS [10]. Similarly small number of studies give results of mercury content determinations in tobacco products and cigarette smoke [4, 5, 11-13]. Results referring to mercury amounts in cigarette smoke found by Chang et al [5] ranged from 5.0 to  $7.4 \pm 0.4$  ng/cigarette, and for smoke of referential cigarettes: from  $1.7 \pm 0.2$  ng to  $7.4 \pm 0.4$  ng/cigarette, while results published for cigarette smoke by Canadian Report [11] mention values from 11.5 to 16.6 ng/cigarette.

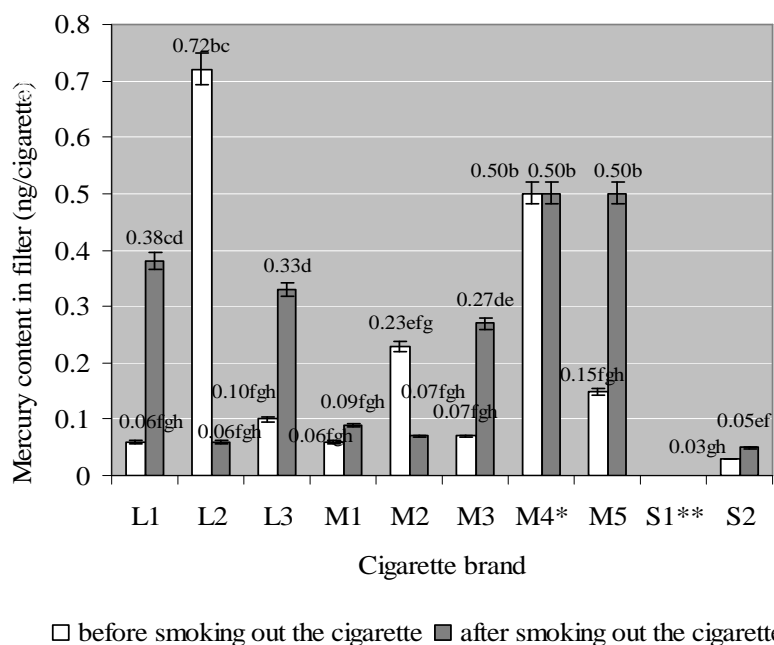


Fig. 4. Absolute mercury content in filter before and after smoking the cigarette [ng]. Explanations: \* charcoal filter, \*\* no filter, Values designated with the same letters (a, b, c...) do not significantly differ at 5% error (Duncan's test)

The results obtained in this study for smoke of tested cigarette brands are almost in the middle of those ranges, amounting to 2.61 ng (in the case of only one brand), whereas for other ones the range of values is  $5.51 \div 10.9$  ng/cigarette. According to Suzuki et al [4], mercury contents in tobacco of Japanese and foreign cigarettes oscillate around 60 and 30 ng/cigarette, respectively. Cigarettes tested in the present study are characterized by mercury amounts at the level of  $2.95 \pm 0.2$  ng (L1), the other brands within range of  $5.72 \pm 0.31$  ng to  $10.2 \pm 0.70$  ng per single cigarette.

Considering 20 smoked cigarettes as daily mean value for an individual person, it can be declared that it is a serious mercury source which supplies a smoker with the dose of  $60 \div 200$  ng of the toxic element into his/her lungs every day.

They are not high levels for human organism that is able to secrete such doses even at complete metal absorption in the course of intoxication.



However, the mercury is absorbed by an organism via the respiratory tract. Mercury introduced in this way is retained in the organism in 80%. Diffusion absorption of the element into the semi-liquid layer of the respiratory tract, namely lungs, occurs with subsequent dissolution in ependyma and enters into the blood where it is oxidized in red cells. This process is not complete and some amounts of elemental mercury that remains in blood penetrate through brain-cortex and placenta barrier, which causes mercury deposition in embryo brain and other tissues. The ratio of mercury contained in red cells to that in blood plasma is about 2 [10, 14].

According to the American Environmental Protection Agency [15], for medium-weight adult human organism, daily dose of mercury that does not invoke apparent health disturbances may reach up to 21 µg. However, it is well known that cigarettes are not the only source of the element, toxic for human organism, and may be crucial for the reduction of the organism abilities to secrete absorbed mercury rates.

## References

- [1] Zaborowska W., Wierciński J. and Buliński R.: *Zawartość rtęci całkowitej we włosach dzieci i młodzieży z wybranego terenu wiejskiego*. Proceedings, XVII Zjazd Naukowy PTFarm, Kraków, Poland, 10-13 September 1998, P-173.
- [2] Zaborowska W. and Wierciński J.: *Levels of total mercury in scalp hair of children and youth from the selected rural area of Lublin district*. Roczn. PZH, 1999, **50**, 49-55.
- [3] Kowalski R. and Wierciński J.: *Determination of total mercury concentration in hair of Lubartów - area citizens (Lublin Region. Poland)*. Polish J. Environ. Stud., 2007, **16**(1), 75-79.
- [4] Suzuki T., Shushido S. and Urushiyama K.: *Mercury in cigarettes*. Tohoku J. Exp. Med., 1976, **119**(4), 353-356.
- [5] Chang M.J., McDaniel R.L., Naworal J.D. and Self D.A.: *A rapid method for the determination of mercury in mainstream cigarette smoke by two-stage amalgamation cold vapor atomic absorption spectrometry*. J. Anal. At. Spectrom., 2002, **17**, 710-715.
- [6] Hu Q., Yang G., Ma J. and Liu J.: *Simultaneous determination of tin, nickel, cadmium and mercury in cigarette material by solid phase extraction and HPLC*. Bull. Korean Chem. Soc., 2003, **24**(10), 1433-1436.
- [7] Yang G., Li Z., Shi H. and Wang J.: *Study on the determination of heavy-metal ions in tobacco and tobacco additives by microwave digestion and HPLC with PAD detection*. J. Anal. Chem., 2005, **60**(5), 480-485.
- [8] Zhangyu C., Yang G-Y., Shuhua, W., Ling L. and Qingde S.: *Simultaneous determination of tin, nickel, lead and mercury in tobacco and tobacco additives by microwave digestion and RP-HPLC followed by on-line column enrichment*. J. Chin. Chem. Soc., 2004, **51**(1), 71-77.
- [9] Shi W.W., Gan W.E. and Su Q.D.: *Determination of cadmium and mercury in tobacco leaves samples by CV AAS*. Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi, 2005, **25**(7), 1135-1138.
- [10] Tsalev D.L. and Zaprianov Z.K.: *Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice*. CRC Press, Inc., Boca Raton 1983.
- [11] Mercury and the Environment (Canada). Available: <http://www.ec.gc.ca/MERCURY/EN/> [accessed 10 October 2007].
- [12] Arista Laboratories Europe: UK Smoke Constituents Study-Part 11: Determination of Metals Yields in Cigarette Smoke by ICP-MS & CVAAS. Available: <http://www.the-tma.org.uk/benchmark/benchmarkresources/part11.pdf> [accessed March 2003].
- [13] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Mercury. 1999. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry Available: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf> [accessed 10 October 2007].
- [14] Weiner R. and Ross M.: *Occupational health monitoring practices of registered mercury-using workplaces within Gauteng*. South Afr. Med. J., 1996, **86**(8), 943-946.
- [15] U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). <http://www.epa.gov/mercury/> [accessed 10 October 2007].

## ZAWARTOŚĆ RTĘCI W DYMIE I WYPEŁNIENIU WYBRANYCH MAREK PAPIEROSÓW

**Abstrakt:** Podjęto badania mające na celu określenie zawartości rtęci całkowitej w wypełnieniu papierosów (tytoniu), a następnie w dymie uwalnianym z papierosów. Przy oznaczeniu pierwiastka w dymie zastosowano „sztuczne usta” (wykonane z pompy strzykawkowej 335A (Unipan), a zawartość rtęci obliczano przez zbilansowanie jej poziomu w tytoniu, popiele i filtrze papierosa. Oznaczanie prowadzono z użyciem analizatora rtęci AMA-254. Materiał badawczy stanowiły papierosy wybranych marek pogrupowane według zawartości substancji smolistych i nikotyny podawanych przez producenta. Grupę pierwszą reprezentowały 3 marki (L1, L2 i L3) wypełnione tytoniem o małej zawartości substancji smolistych i nikotyny w porównaniu z pozostałymi (odpowiednio: 4 i 0,3 mg/papieros). Grupa druga obejmowała 5 marek papierosów (M1, M2, M3, M4 i M5) charakteryzujących się średnią zawartością substancji smolistych i nikotyny (odpowiednio: 6-8 i 0,5-0,6 mg/papieros). Grupę trzecią stanowiły papierosy dwu marek (S1, S2) o największej zawartości substancji smolistych i nikotyny (odpowiednio: 12 i 1,0 mg/papieros). Zawartość rtęci całkowitej w tytoniu przebadanych papierosów wahała się w granicach od 2,95 do 10,2 ng Hg na pojedynczy papieros. Prawie cała zawarta w nim rtęć przechodziła do dymu papierosa (od 86,7 do 100%). Zastosowane w papierosach filtry z octanu celulozy okazały się być niewystarczającą barierą dla par tego pierwiastka. W niektórych przypadkach zauważono nawet uwalnianie się do dymu rtęci zawartej w filtrze papierosa. W większości badanych papierosów zawartość tego pierwiastka w filtrach po spaleniu tytoniu była większa niż przed, ale były to wartości zbliżone do zawartości metalu w filtrze przed spalaniem. Zastosowany filtr z węglem aktywnym (jeden gatunek papierosów) zawierał przed i po spaleniu tę samą ilość rtęci. Przyjmując 20 szt. jako średnią dobową ilość wypalanych papierosów przez osobnika, można stwierdzić, że stanowią one dość znaczne źródło rtęci, dostarczające dzienną dawkę palaczowi do płuc w przedziale 60-200 ng tego toksycznego metalu.

**Słowa kluczowe:** rtęć, papierosy, dym papierosowy, tytoń, bezpłomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa

Elżbieta PATKOWSKA<sup>1</sup>

**EFFECT OF CHITOSAN AND ZAPRAWA OXAFUN T  
ON THE HEALTHINESS AND COMMUNITIES  
OF RHIZOSPHERE MICROORGANISMS  
OF RUNNER BEAN (*Phaseolus coccineus* L.)**

**WPŁYW CHITOZANU I ZAPRAWY OXAFUN T NA ZDROWOTNOŚĆ  
I ZBIOROWISKA MIKROORGANIZMÓW RYZOSFEROWYCH  
FASOLI WIELOKWIATOWEJ (*Phaseolus coccineus* L.)**

**Abstract:** Studies are presented concerning the impact of pre-sowing seed dressing with biopreparation Biochikol 020 PC and a chemical preparation Zaprawa Oxafun T on the healthiness of *Phaseolus coccineus* and on the formation of microorganisms in the rhizosphere of this plant. The protective effect of the preparations was high since significantly more plants grew from the dressed seeds, with a smaller proportion of plants with disease symptoms as compared with the seeds that were not dressed (control). However, slightly higher effectiveness in the protection of runner bean was found out after the application of the biopreparation. The following fungi were mainly isolated from the infected parts and the rhizosphere of *Phaseolus coccineus*: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp., *Gliocladium* spp., *Penicillium* spp., *Phoma* spp., *Pythium irregulare*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Trichoderma* spp. Both Biochikol 020 PC and Zaprawa Oxafun T had a positive effect on the communities of bacteria and fungi in the rhizosphere of runner bean. The total population of bacteria, the populations of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. in 1 g of d.m. of the soil after the application of these preparations were significantly greater than in the control. A reverse relation occurred in the case of fungi population. The most of antagonistic bacteria (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.) and fungi (*Gliocladium* sp., *Trichoderma* sp.) in bean rhizosphere were obtained while dressing the seeds with Biochikol 020 PC.

**Keywords:** *Phaseolus coccineus* L., chitosan, Zaprawa Oxafun T, healthiness, rhizosphere microorganisms

*Phaseolus coccineus* L. is a commonly cultivated plant in Poland. A big threat for this species is posed by various plant pathogens, especially *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *phaseoli* Kend. Snyd., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn and *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary [1, 2]. These fungi infect bean throughout its vegetation period and, besides, they have the ability to live in the soil.

<sup>1</sup> Department of Phytopathology, University of Life Science in Lublin, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, email: elzbieta.patkowska@up.lublin.pl

Different interactions between microorganisms on the one hand, and between plants and microorganisms on the other take place in the soil environment. Soil microorganisms have a stimulating or an inhibiting effect on the growth and development of plants [3-6]. The greatest biological activity is characteristic of the rhizosphere soil [6-8]. The formation of microorganism communities in the rhizosphere is extremely important because they affect the healthiness and hence the yielding of plants [5, 9]. The composition of microorganism communities in the root zone is formed under the effect of secondary metabolites exudated by these microorganisms and under the effect of compounds that appear from the decomposition of hulling root cells [6-9].

An important role in limiting the occurrence of soil-borne fungi is played by antagonistic bacteria *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* spp. [4, 5, 10-12] as well as fungi *Gliocladium* spp., *Penicillium* spp. and *Trichoderma* spp. [4, 5, 13, 14] since they exudate antibiotics and siderophores with fungistatic or fungicidal properties [13-18]. The enumerated microorganisms are distinguished by a big ability to inhibit the development of pathogens through competition for nutritious elements and space, through antibiosis, the production of lytic enzymes, HCN production and decomposition of toxins [11, 14, 19-21].

Biological protection of different plant species from pathogenic factors consists, for example, in replacing pesticides with biopreparations based on antagonistic microorganisms, plant extracts or organic compounds [22-27]. In recent years a lot of attention has been devoted to the protective effect of biopreparation Biochikol 020 PC [22, 26-28], whose active substance is an organic compound - chitosan. It can shape microorganism communities in the soil, directly acting on pathogenic factors and inducing plants' resistance to certain plant pathogens [22, 26, 28]. That is the reason why in practice it is possible to limit the use of chemical preparations and partly replace them with, for example, Biochikol 020 PC. This biopreparation can be used to dress the bulbs, seeds and to water or spray plants [5, 26, 28, 29].

The present studies were undertaken because of considerable profits resulting from the use of biological preparations in the protection of plants. Their purpose was to determine the effect of biopreparation Biochikol 020 PC and fungicide Zaprawa Oxafun T on plants' healthiness and on the formation of microorganism communities in the rhizosphere of *Phaseolus coccineus* L.

## Material and methods

### Field experiment

Field studies were conducted at the Experimental Farm of Czesławice near Nałęczów in the years 2006-2008 on the field of a four-years' monoculture of runner bean. The experiment was set up in a scheme of random blocks in four replications on grey brown podzolic soil formed from loess formations, which constituted the second complex of agricultural suitability (good wheat complex). The area of each of the four plots in a repetition was 21 m<sup>2</sup>. 100 bean seeds were sown onto each plot, which included four rows. The spacing between the rows was 60 cm.

Before the sowing, the seeds of 'Westa' cv. runner bean were dressed with 2.5% Biochikol 020 PC (containing 1.88% of active substance - chitosan) and the chemical

preparation Zaprawa Oxafun T (active substance: carboxin 37.5% + tiuram 37.5%) in the quantity of  $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  seeds [34]. The seeds that were not dressed constituted the control. Each experimental combination included 4 plots (4 repetitions).

### **Mycological analysis of plants**

In each year of studies, the number of the grown plants and their healthiness was established four weeks after seed sowing and at anthesis according to a five-degree scale developed by Pięta [30]. The infection index was calculated according to the formula used by Sadowski and Rzekanowski [31]. Plants with the symptoms of necrosis on the roots and the stem base were taken for a laboratory mycological analysis, which was conducted according to the method described by Pięta et al [32]. This analysis was used to determine the qualitative and quantitative composition of fungi colonizing the underground parts of *Phaseolus coccineus*.

### **Analysis of microbial community**

Samples of the rhizosphere soil of runner bean were taken from particular experimental combinations in the phase of seedlings (after four weeks) and at anthesis (eight weeks after seed sowing). A microbiological analysis was conducted in the laboratory according to the method described by Patkowska [5] and Martyniuk et al [4]. The manner of sampling the soil was in accordance with the method described by Martyniuk et al [4]. Four whole plants were dug out from each plot of particular experimental combination (ie 16 plants from each combination). The soil directly adhering to the bean roots (rhizosphere soil) was shaken off onto sterile Petri dishes. In sterile laboratory conditions, the soil samples from the same experimental combination were mixed, then weighed in the amount of 10 g and prepared for further analyses (4 repetitions for each experimental combination).

Soil solutions with the dilutions ranging from  $10^{-1}$  to  $10^{-7}$  were prepared from particular samples of 10 g of the soil in laboratory conditions. The total bacteria population was established on the medium Nutrient Agar, using the solutions of  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  and  $10^{-7}$ . In the case of *Bacillus* spp. bacteria, the medium of Tryptic Soy Agar and the dilutions of  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-6}$  were used, while for *Pseudomonas* spp. the medium Pseudomonas Agar F and the dilutions of  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  and  $10^{-4}$  were used. The total fungi population in each sample was determined on Martin's medium [33], using the dilutions of  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  and  $10^{-4}$ . The populations of bacteria and fungi colonies were calculated per 1 g of the soil dry mass.

The obtained isolates of fungi *Gliocladium* spp. and *Trichoderma* spp. (all isolates) and bacteria *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. (400 isolates each) were used to determine their antagonistic effect towards the following fungi pathogenic towards runner bean: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* (unpublished results of pathogenicity tests). The interaction between these microorganisms was established according to the methods described by Martyniuk et al [4] and Mańka and Mańka [34]. They took into consideration the degree of growth inhibition of plant pathogen colonies and the size of the inhibition zone with the common growth of those microorganisms. Laboratory tests determined the number of isolates of antagonistic bacteria and

fungi occurring in the rhizosphere soil of the studied plant cultivated in particular experimental combinations.

Results concerning the number, healthiness of plants and population of microorganisms occurring in the rhizosphere of runner bean were statistically analyzed using variance analysis. The significance of differences between the means was established using Tukey's confidence intervals [35]. Statistical calculations were carried out using Statistica program, version 7.1.

## Results and discussion

In particular years of studies, very similar results concerning the population and healthiness of *Phaseolus coccineus* were obtained, hence Table 1 provides only their mean values. The protective effect of Biochikol 020 PC and Zaprawa Oxafun T was high because significantly more seedlings (mean 82 and 80, respectively) grew from the seeds dressed with those preparations as compared with the control, ie from the seeds that were not dressed (mean 65 seedlings). Seedlings with inhibited growth and yellowing leaves occurred on all plots. In the period of anthesis of runner bean, only slight losses of plants and a small increase of the proportion of infected plants with clear disease symptoms on the stem base and the roots were observed (Tab. 1). The mean proportion of infected seedlings and older plants was the highest in the control and it was 4.83 and 6.08%, respectively. Biochikol 020 PC proved to be more effective than Zaprawa Oxafun T. The mean proportion of infected plants grown from the seeds that were not dressed with the biopreparation was smaller (1.50% in the phase of seedlings and 1.92% at anthesis) as compared with the situation after using a fungicide (2.12% and 3%, respectively). Besides, runner bean plants grown from the seeds dressed with Biochikol 020 PC or Zaprawa Oxafun T were distinguished by a smaller value of the infection index (from 2.04 to 5.82) as compared with plants grown in the control (from 17.38 to 25.69) (Tab. 1).

Number and healthiness of runner bean plants (mean from 2006-2008)

Table 1

Experimental combination	Seedlings			Plants at anthesis		
	a	b	c	a	b	c
Biochikol 020 PC	82 <sup>b*</sup>	1.50 <sup>a</sup>	2.04 <sup>a</sup>	81 <sup>b</sup>	1.92 <sup>a</sup>	2.54 <sup>a</sup>
Zaprawa Oxafun T	80 <sup>b</sup>	2.12 <sup>a</sup>	4.90 <sup>a</sup>	78 <sup>b</sup>	3.00 <sup>b</sup>	5.82 <sup>a</sup>
Control	65 <sup>b</sup>	4.83 <sup>b</sup>	17.38 <sup>b</sup>	60 <sup>a</sup>	6.08 <sup>c</sup>	25.69 <sup>b</sup>

a - number of runner bean plants; b - mean participation of infected runner bean plants (%); c - disease index; \* mean in columns differ significantly ( $p \leq 0.05$ ), if they are not marked with the same letter

The positive effect of Biochikol 020 PC and Zaprawa Oxafun T on plants' emergences and healthiness was also found out in earlier studies on *Pisum sativum* L. and *Glycine max* (L.) Merrill [5, 27, 36]. Besides, the preparations that were used effectively protected plants from infection by soil-borne pathogenic fungi. According to Pięta et al [32], introducing fungicides into the soil on the surface of the dressed seeds considerably reduced plants' infection by pathogenic fungi. As reported by Goroszkiewicz and Filoda [37], Zaprawa Oxafun T was also effective in protecting the seeds of yellow lupine from infection by *Fusarium* spp. and *Colletotrichum gleosporioides*.

Table 2

Fungi isolated from infected of runner bean plants (total from 2006-2008)

Fungus species	Number of isolates						Total
	Seedlings			Plants at anthesis			
	Biochikol 020 PC	Zaprawa Oxafun T	Control	Biochikol 020 PC	Zaprawa Oxafun T	Control	
<i>Acremonium murorum</i> (Corda) W. Gams	-	-	-	1	3	-	4
<i>Acremonium roseum</i> (Oud.) W. Gams	-	1	3	-	1	5	10
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keisler	10	18	35	12	25	33	133
<i>Aspergillus flavus</i> Link	2	4	6	-	1	4	17
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	-	-	-	5	25	33	63
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres) de Vries	2	9	9	3	7	9	39
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehr. ex. Schl.	-	-	3	-	2	5	10
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.	4	13	15	8	20	29	89
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	3	8	18	-	-	-	29
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. f. sp. <i>phaseoli</i> Kend. Snyder	18	40	70	24	47	97	296
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	12	24	52	18	25	56	187
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman, Abbott	10	2	3	16	1	6	38
<i>Gliocladium fimbriatum</i> Gilman et Abbott	8	1	-	10	3	2	24
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	6	2	1	8	-	-	17
<i>Hemicola grisea</i> Domsch	-	-	3	-	7	7	17
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	-	3	6	-	-	4	13
<i>Penicillium canescens</i> Scopp.	2	-	4	3	-	-	9
<i>Penicillium expansum</i> Link ex S.F. Gray	1	5	5	-	-	3	14
<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge	10	8	7	8	-	1	34
<i>Penicillium nigricans</i> (Bain.) Thom	-	2	-	6	7	3	18
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	-	3	2	-	-	-	5
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx var. <i>cyclopium</i> (West.) Samson, Stolk et Hadlok	3	-	-	2	11	5	21
<i>Phoma eupyrena</i> Sacc.	-	7	11	-	-	-	18
<i>Phoma exigua</i> Desm	4	10	15	6	12	29	76
<i>Pythium irregulare</i> Buisman	6	21	25	-	-	-	52
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	10	25	47	12	26	60	180
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	-	-	2	-	-	9	11
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	-	-	-	4	13	40	57
<i>Stemphylium radicinum</i> Meier, Drechs., Eddy, Neergaard	-	-	6	-	-	-	6
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	4	2	1	6	1	-	14
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bon.) Bain	6	-	-	8	3	-	17
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	10	3	1	6	5	2	27
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	3	-	1	10	3	1	18
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex S.F. Gray	10	5	2	15	8	4	44
Total	144	216	353	191	256	447	1607

The species composition of fungi isolated from the infected seedlings and older plants as a result of mycological analysis was similar. However, differences occurred in

the quantitative composition of the isolated fungi (Tab. 2). Totally, 1607 fungi isolates belonging to 18 genera were isolated from the infected roots and the stem base. The fewest fungi were isolated after using Biochikol 020 PC, slightly more after seed dressing with Zaprawa Oxafun T, and the most from control plants. Despite the pre-sowing seed dressing, the following fungi considered to be pathogenic were obtained from the plants of *P. coccineus*: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Phoma* spp., *Fusarium* spp., *Pythium irregulare*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fusarium* spp. was represented by *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* and *F. solani*. The most frequently isolated species was *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, and its proportion was 18.42% of all the isolated fungi. Within saprotrophic fungi, *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Epicoccum* spp., *Gliocladium* spp., *Penicillium* spp. and *Trichoderma* spp. mainly occurred. The enumerated saprotrophic fungi were isolated more frequently after using the biopreparation or fungicide as compared with the isolations from control plants (Tab. 2).

The microbiological analysis of the rhizosphere soil of runner bean showed that both in the phase of seedlings and at anthesis the population of bacteria in 1 g of the soil d.m. in the combinations with Biochikol 020 PC or Zaprawa Oxafun T was significantly greater than in the control combination (Fig. 1).

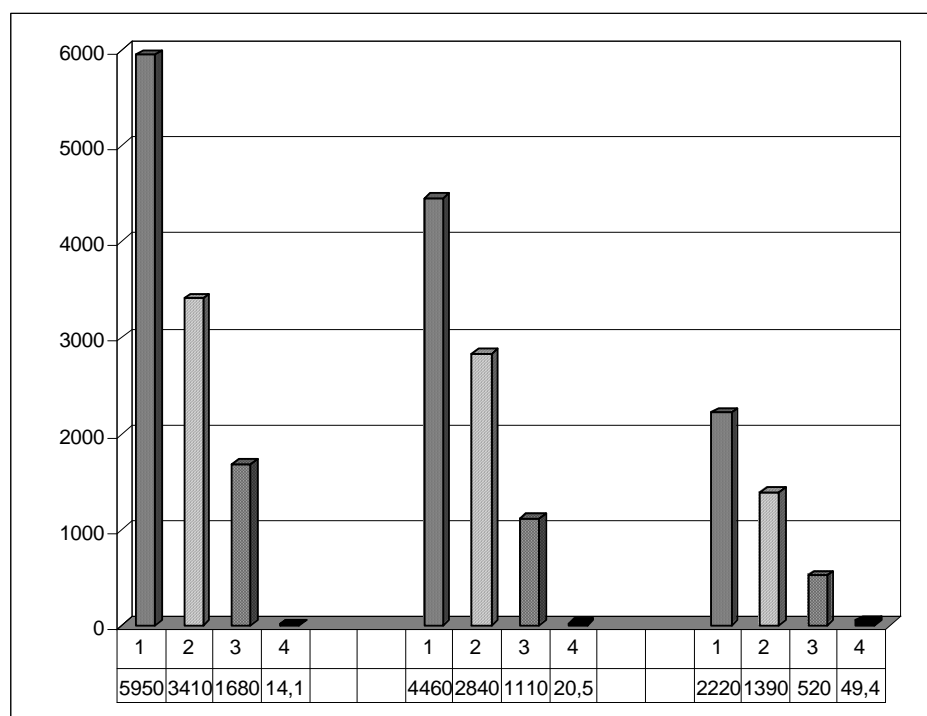


Fig. 1. Number of bacteria and fungi in the rhizosphere runner bean plants (mean from 2006-2008).  
 1 - total number of bacteria; 2 - number of *Bacillus* spp.; 3 - number of *Pseudomonas* spp.;  
 4 - total number of fungi; \* mean differ significantly ( $p < 0.05$ ) if they are not marked with the same letter



A reverse relation occurred in the case of fungi population. Introducing Biochikol 020 PC decreased the fungi population more than three times ( $10.30 \times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d.m.}$  of soil) in the rhizosphere of bean seedlings, while the use of Zaprawa Oxafun T decreased it twice ( $18.40 \times 10^3 \text{ cfu}$ ) as compared with the control combination ( $35.60 \times 10^3 \text{ cfu}$ ). At anthesis, the population of fungi in the rhizosphere soil of the studied plant sampled from the combination with the biopreparation or the fungicide was smaller ( $14.10 \times 10^3$  and  $20.50 \times 10^3 \text{ cfu}$ , respectively) than in the control ( $49.40 \times 10^3 \text{ cfu}$ ). The total population of bacteria in 1 g of the soil d.m. ranged, on average, from  $1.96 \times 10^6$  to  $4.16 \times 10^6 \text{ cfu}$  (in the phase of seedlings) and from  $2.22 \times 10^6$  to  $5.95 \times 10^6 \text{ cfu}$  (at anthesis). The fewest total bacteria were found in the control combination, while the most after using Biochikol 020 PC. The population of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. in the rhizosphere soil of bean seedlings grown from the seeds dressed with Biochikol 020 PC or Zaprawa Oxafun T was,  $2.64 \times 10^6$  and  $1.12 \times 10^6 \text{ cfu}$ , and  $1.43 \times 10^6$  and  $0.84 \times 10^6 \text{ cfu}$ , respectively. Likewise, at anthesis, the population of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. in the rhizosphere of runner bean after seed dressing with the biopreparation or the chemical preparation was larger than in the control (Fig. 1).

The fact that the number of bacteria cfu increased and the number of cfu of soil-borne fungi in the soil rhizosphere of runner bean decreased as compared with the control can be explained by the effect of Zaprawa Oxafun T, made on the basis of a two-element active substance [32, 36] and chitosan contained in Biochikol 020 PC [5, 26, 29]. A similar relation in the formation of rhizosphere microorganisms communities was found after introducing the enumerated preparations into the environment of the cultivated soil [5]. Besides, the smaller population of fungi in the soil could have been caused by the composition of the root exudates of the studied plant. This fact is also explained in numerous items of literature concerning the role of compounds exudated by the roots of different cultivated plants [7, 8, 18]. Moreover, it can be supposed that biopreparations introduced into the soil had a positive effect on the composition of microorganisms communities in the rhizosphere of bean because, as reported by Martyniuk et al [4], certain proportions occur between the populations of microorganisms in the soil. With numerous occurrence of bacteria, the development of fungi is weakened, and vice versa.

The species composition of fungi isolated from the rhizosphere of bean growing in the studied combination varied (Tab. 3). Totally, 1383 isolates of fungi belonging to 25 species were obtained. Both in the phase of seedlings and at anthesis, the most of fungi colonies were obtained from the rhizosphere soil of runner bean in the control combination, ie without any seed dressing (292 and 332 isolates, respectively). A little fewer were obtained in the combination with Zaprawa Oxafun T (188 and 238 isolates, respectively), and the fewest after the application of Biochikol 020 PC (139 and 194 isolates, respectively) (Tab. 3). The most frequently isolated species turned out to be *Fusarium oxysporum*, and its proportion was 12.58% of all fungi isolated from the rhizosphere. Besides, the following fungi considered to be pathogenic were isolated: *A. alternata*, *B. cinerea*, *F. culmorum*, *F. solani*, *R. solani* and *S. sclerotiorum*. Those fungi were isolated much more frequently from the rhizosphere of control plants as compared with those that grew on plots after the application of Biochikol 020 PC. Among saprotrophic fungi, *Gliocladium* spp. and *Trichoderma* spp. dominated in the rhizosphere of *Phaseolus coccineus*, and they were more numerous in the combinations with Biochikol 020 PC or Zaprawa Oxafun T as compared with the control (Tab. 3).

Table 3

Fungi isolated from rhizosphere of runner bean (total from 2006-2008)

Fungus species	Number of isolates						Total
	Seedlings			Plants at anthesis			
	Biochikol 020 PC	Zaprawa Oxafun T	Control	Biochikol 020 PC	Zaprawa Oxafun T	Control	
<i>Acremonium murorum</i> (Corda) W. Gams	5	10	15	7	12	18	67
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	8	12	14	10	15	25	84
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	3	6	10	4	8	12	43
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud.	7	5	3	9	6	4	34
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	5	9	16	6	11	19	66
<i>Cylindrocarpon decumbens</i> Corda	4	16	48	5	19	30	122
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehr. ex. Schl.	5	8	15	6	10	16	60
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl.	14	26	44	12	29	49	174
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	8	19	40	7	16	32	122
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman et Abbott	8	5	3	10	4	2	32
<i>Gliocladium fimbriatum</i> Gilman et Abbott	2	1	1	9	4	3	20
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	4	2	-	10	8	2	26
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	8	11	15	8	14	18	74
<i>Penicillium canescens</i> Scopp.	5	4	6	6	10	8	39
<i>Penicillium frequentans</i> Westling	2	5	7	2	1	-	17
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	5	4	7	-	2	4	22
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx var. <i>verrucosum</i> Samson et al	-	2	2	6	9	2	22
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	7	18	27	10	15	36	113
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	7	8	10	6	10	15	56
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	-	-	-	6	12	30	48
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	8	6	5	10	5	3	37
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bon.) Bain	5	2	-	8	3	1	19
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	9	4	3	14	6	2	38
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	4	2	-	10	4	1	21
<i>Trichoderma viride</i> (Link ex Pers.) Rifai	6	3	1	12	5	-	27
Total	139	188	292	194	238	332	1383

Within *Gliocladium* spp., such species as *G. catenulatum*, *G. fimbriatum* and *G. roseum* occurred. On the other hand, genus *Trichoderma* was represented by *T. aureoviride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii* and *T. viride*. The total proportion of *Gliocladium* spp. and *Trichoderma* spp. within all the fungi isolated from the rhizosphere of runner bean was, 5.64% and 10.27%, respectively.

A similar effect of the preparations applied in the experiment on the qualitative composition of microorganisms in the rhizosphere of other leguminous plants was established in earlier studies [2, 5, 27, 29]. Besides, the obtained results confirmed the information on the effectiveness of Biochikol 020 PC against soil-borne plant pathogens [2, 26, 28, 29]. Chitosan present in Biochikol 020 PC, as an elicitor of resistance, through its contact with the plants increases the activity of genes which set in motion the formation of biochemical compounds with fungistatic or fungicidal effect [26, 38].

Table 4  
Number of antagonistic bacteria and fungi isolated from runner bean rhizosphere (total from 2006-2008)

Bacteria and fungi	Number of isolates						Total
	Seedlings			Plants at anthesis			
	Biochikol 020 PC	Zaprawa Oxafun T	Control	Biochikol 020 PC	Zaprawa Oxafun T	Control	
<i>Bacillus</i> sp.	12	6	2	19	8	3	50
<i>Pseudomonas</i> sp.	15	7	3	25	10	5	65
Total bacteria	27	13	5	44	18	8	115
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman, Abbott	6	4	1	10	3	1	25
<i>Gliocladium fimbriatum</i> Gilman et Abbott	2	1	-	8	3	2	16
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	4	1	-	8	5	1	19
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	8	6	5	10	5	3	37
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bon.) Bain	5	2	-	8	3	1	19
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	9	4	3	14	6	2	38
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	4	2	-	10	4	1	21
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex S.F. Gray	6	3	1	12	5	-	27
Total fungi	44	23	10	80	34	11	202
Total bacteria and fungi	71	36	15	124	52	19	317

Laboratory tests showed that about twice as many antagonistic fungi as antagonistic bacteria occurred in the rhizosphere soil of bean growing in particular experimental combinations (Tab. 4). Totally, 202 isolates of antagonistic *Gliocladium* spp. and *Trichoderma* spp. and 115 isolates of antagonistic *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. were obtained from all experimental combinations. The fewest antagonistic bacteria and fungi were obtained from the rhizosphere of seedlings and older plants of bean grown from the seeds that were not dressed (5 and 8, and 10 and 11 isolates, respectively), and a little more after the application of Zaprawa Oxafun T (13 and 18, and 23 and 24 isolates, respectively). The most of the studied antagonistic microorganisms were obtained dressing the seeds with Biochikol 020 PC (Tab. 4). It can be assumed that abundant occurrence of antagonists can reduce the growth and development of plant pathogens. This fact is confirmed in literature [3, 8, 12, 19, 36].

## Conclusions

1. Pre-sowing seed dressing with Biochikol 020 PC and Zaprawa Oxafun T considerably improved the emergences and healthiness of *P. coccineus* plants.
2. The biopreparation and the fungicide increased the population of bacteria and decreased the population of fungi in the rhizosphere of bean.
3. The most of antagonistic microorganisms in the rhizosphere of *P. coccineus* were obtained dressing the seeds with Biochikol 020 PC.

## References

- [1] Patkowska E., Pięta D. and Pastucha A.: *Diseases threatening plants of runner bean (Phaseolus coccineus L.) cultivated in South-East Poland*. Agronomijas vestis. Latvian J. Agronom., 2004, **7**, 140-144.
- [2] Patkowska E., Pięta D. and Pastucha A.: *Biological control of runner bean (Phaseolus coccineus L.) against soil-borne pathogenic fungi*. Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives. Monograph, M.M. Jaworska (ed.). Polish Chitin Society, Łódź, 2007, **XII**, 185-195.
- [3] Barabasz W.: *Microorganisms as indicators of soil healthiness*. Mat. of the Second National Conference on „Biological methods of estimating the state of the natural environment”, Paradyż. AR Szczecin, 2004, pp. 84 (in Polish).
- [4] Martyniuk S., Masiak D., Stachyra A. and Myśków W.: *Populations of the root zone microorganisms of various grasses and their antagonism towards Gaeumannomyces graminis var. tritici*. Pr. IUNG, Pamięt. Puław., 1991, **98**, 139-144 (in Polish).
- [5] Patkowska E.: *The effect of biopreparations on the formation of rhizosphere microorganism populations of soybean (Glycine max (L.) Merrill)*. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus, 2005, **4**(2), 89-99.
- [6] Badura L.: *Do we know all conditions of the microorganisms' functions in land eco-systems*. Probl. Biol. Sci., 2004, **53**(¾), 373-379 (in Polish).
- [7] Diaz De Villegas M.E., Villa P. and Frias A.: *Evaluation of the siderophores production by Pseudomonas aeruginosa PSS*. Revista Latinoamericana de Microbiologia, 2002, (**44**¾), 112-117.
- [8] Liljeroth E., Baath E., Mariasson I. and Ludborg T.: *Root exudation and rhizosphere bacterial abundance of barley (Hordeum vulgare L.) in relation to nitrogen fertilization and root growth*. Plant Soil, 1990, **127**, 81-89.
- [9] Lewosz J.: *Using antagonistic microorganisms towards plant pathogens in plant protection*. Mat. from XLII Session of the Scientific Session of IOR. Poznań 2002, pp. 36 (in Polish).
- [10] Hou Xing Wei, Boyetchko S.M., Brick M., Olson D., Ross A and Hegedus D.: *Characterization of the anti-fungal activity of a Bacillus spp. associated with sclerotia from Sclerotinia sclerotiorum*. Appl. Microbiol. Biotech., 2006, **72**(4), 644-653.
- [11] Srivastava R. and Shalini R.: *Antifungal activity of Pseudomonas fluorescens against different plant pathogenic fungi*. EJEFChe, 2008, **7**(4), 2789-2796.
- [12] Pięta D. and Kęsik T.: *The effect of conservation tillage on microorganism communities in the soil under onion cultivation*. EJPAU, Horticulture, 2007, **10**(1), <http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue1/art.-21.html>
- [13] Mc Quilken M.P., Gemmel J. and Lahdenperä M.L.: *Gliocladium catenulatum as a potential biological control agent of damping-off in bedding plants*. J. Phytopathol., 2001, **149**, 171-178.
- [14] Eziashi E.L., Uma N.U., Adekunle A.A. and Airede C.E.: *Effect of metabolites produced by Trichoderma species against Ceratocystis paradoxa in culture medium*. Afric. J. Biotech., 2006, **5**(9), 703-706.
- [15] Fiddman P.J., O'Neill T.M. and Rossall S.: *Screening of bacteria for the suppression of Botrytis cinerea and Rhizoctonia solani on lettuce (Lectuca sativa) using leaf disc bioassays*. Ann. Appl. Biol., 2000, **137**(3), 223-235.
- [16] Goel A.K., Sindhu S.S. and Dadarwal K.R.: *Pigment diverse mutant of Pseudomonas sp. inhibition of fungal growth and stimulation of growth of Cicer arietinum*. Biol. Plant., 2000, **43**(4), 563-569.
- [17] Manwar A.V., Vaiganker P.D., Bhonge L.S. and Chincholkar S.B.: *In vitro suppression of plant pathogens by siderophores of fluorescent Pseudomonas*. Indian J. Microbiol., 2000, **40**(2), 109-112.

- [18] Yeole R.D. and Dube H.C.: *Siderophore-mediated antibiosis of rhizobacterial fluorescent pseudomonads against certain soil-borne fungal plant pathogens*. J. Mycol. & Plant Pathol., 2000, **30**(3), 335-338.
- [19] Chitarra G.S., Breeuwer P., Nout M.J.R., Van Aelst A.C., Ranbouts F.M. and Abee T.: *An antifungal compound produced by Bacillus subtilis YM 10-20 inhibits germination of Penicillium roquefortii conidiospores*. J. Appl. Microbiol., 2003, **94**, 159-166.
- [20] Misko A.L. and Germida J.J.: *Taxonomic and functional diversity of Pseudomonas isolated from roots of field-grown canola*. FEMS Microbiol. Ecol., 2002, **42**, 399-407.
- [21] Velazhahan R., Samiyappan R. and Vidhyasekaran P.: *Relationship between antagonistic activities of Pseudomonas fluorescens isolates against Rhizoctonia solani and their production of lytic enzyme*. J. Plant Dis. Protect., 1999, **106**, 244-250.
- [22] Borkowski J., Felczyńska A. and Stepowski J.: *Effect of different compounds Biochikol 020 PC, calcium nitrate, Tyanit and Pomonit on the healthiness and the yield of chinese cabbage*. Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives. Monograph, M.M. Jaworska (ed.). Polish Chitin Society, Łódź 2006, **XI**, 201-207.
- [23] Le Floch G., Rey P., Benizri E., Benhamou N., Tirilly Y. and Floch G.: *Impact of auxin-compounds produced by the antagonistic fungus Pythium oligandrum or the minor pathogen Pythium group F on plant growth*. Plant Soil, 2003, **257**(2), 459-470.
- [24] Orlikowski L.B.: *Effect of grapefruit extract on development of Phytophthora cryptogea and control of foot rot of gerbera*. J. Plant Protect. Res., 2001, **41**, 288-294.
- [25] Orlikowski L.B. and Jaworska-Marosz A.: *Influence of Pythium oligandrum on population of Fusarium oxysporum f. sp. dianthi and development of Fusarium wilt of carnation*. Plant Protect. Sci., 2002, **38** (Special Issue 1), 209-211.
- [26] Orlikowski L.B. and Skrzypczak C.: *Biocides in the control of soil-borne and leaf pathogens*. Hortic. Veget. Grow., 2003, **22**, 426-433.
- [27] Patkowska E.: *The use of bioreparations in the control of soybean endangered by pathogenic soil-borne fungi*. EJPau, Hort., 2006, 9(1), <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue1/art.-19.html>
- [28] Kurzawińska H. and Mazur S.: *The effect of chitosan and Pythium oligandrum used in protection of potato tubers against late blight and soft rot*. Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives. Monograph, M.M. Jaworska (ed.). Polish Chitin Society, Łódź 2008, **XIII**, 117-123.
- [29] Patkowska E.: *The application of chitosan, Pythium oligandrum and grapefruit extract in the protection of common bean (Phaseolus vulgaris L.) from soil-borne phytopathogens*. Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives. Monograph, M.M. Jaworska (ed.). Polish Chitin Society, Łódź 2008, **XIII**, 133-140.
- [30] Pięta D.: *Healthiness and yielding of different cultivars of bean (Phaseolus vulgaris L.) depending on the rotation*. Biul. Inst. Hodow. Aklimat. Rośl., 1992, **181/182**, 261-267 (in Polish).
- [31] Sadowski Cz. and Rzekanowski S.: *The effect of irrigation on the yielding and healthiness of rye on very light soil*. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 1989, **133**, 363-370 (in Polish).
- [32] Pięta D., Pastucha A. and Patkowska E.: *The efficiency of microbiological dressing of soybean seed (Glycine max (L.) Merrill) against root and stem base disease*. Ann. Agric. Sci., Plant Protect., 1998, **95**(½), 103-109.
- [33] Martin J.P.: *Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi*. Soil Sci., 1950, **38**, 215-220.
- [34] Mańka K. and Mańka M.: *A new method for evaluating interaction between soil inhibiting fungi and plant pathogen*. Bull. OILB/SROP, 1992, **XV**, 73-77.
- [35] Oktaba W.: *Methods of mathematical statistics in experimentation*. PWN, Warszawa 1987, 450 pp. (in Polish).
- [36] Patkowska E.: *The effect of Oxafun T on the healthiness of pea (Pisum sativum L.) and on the formation of communities of rhizosphere microorganisms of this plant*. Ecol. Chem. Eng., 2005, **12**(4), 441-450.
- [37] Horoskiwiecz J. and Filoda G.: *The effect of seed dressing on the healthiness of yellow lupine*. Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Roślin, 2001, **41**(2), 718-721 (in Polish).
- [38] Pospieszny H.: *Certain aspects of using chitosan in plant protection*. Prog. Plant Protect., 1997, **37**(1), 306-310 (in Polish).

## WPLYW CHITOZANU I ZAPRAWY OXAFUN T NA ZDROWOTNOŚĆ I ZBIOROWISKA MIKROORGANIZMÓW RYZOSFEROWYCH FASOLI WIELOKWIATOWEJ (*Phaseolus coccineus* L.)

**Abstrakt:** Przedstawiono badania dotyczące przedsięwzięcia zaprawiania nasion biopreparatem Biochikol 020 PC i preparatem chemicznym Zaprawa Oxafun T na zdrowotność *Phaseolus coccineus* oraz na kształtowanie się mikroorganizmów w ryzosferze tej rośliny. Efektywność ochronnego działania preparatów była duża, bowiem z nasion zaprawionych wyrosło znacznie więcej roślin, z mniejszym udziałem roślin mających objawy chorobowe aniżeli z nasion niezaprawionych (kontroli). Nieco większą skuteczność w ochronie fasoli stwierdzono jednak po zastosowaniu biopreparatu. Z porażonych organów oraz ryzosfery *P. coccineus* izolowano głównie takie grzyby, jak: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp., *Gliocladium* spp., *Penicillium* spp., *Phoma* spp., *Pythium irregulare*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Trichoderma* spp. Zarówno Biochikol 020 PC, jak i Zaprawa Oxafun T wpłynęły korzystnie na zbiorowiska bakterii i grzybów w ryzosferze fasoli. Ogólna liczebność bakterii, liczebność *Bacillus* spp. i *Pseudomonas* spp. w 1 g s.m. gleby po zastosowaniu tych preparatów była znacznie większa aniżeli w kombinacji kontrolnej. Odwrotna zależność wystąpiła w przypadku liczebności grzybów. Najwięcej antagonistycznych bakterii (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.) oraz grzybów (*Gliocladium* sp., *Trichoderma* sp.) w ryzosferze fasoli uzyskano, zaprawiając nasiona Biochikolem 020 PC.

**Słowa kluczowe:** *Phaseolus coccineus* L., chitozan, Zaprawa Oxafun T, zdrowotność, mikroorganizmy ryzosferowe

Anna MUSZ<sup>1\*</sup>, Beata KOWALSKA<sup>1</sup> and Marcin K. WIDOMSKI<sup>1</sup>

## SOME ISSUES CONCERNING THE PROBLEMS OF WATER QUALITY MODELING IN DISTRIBUTION SYSTEMS

### WYBRANE PROBLEMY MODELOWANIA JAKOŚCI WODY W SIECIACH WODOCIĄGOWYCH

**Abstract:** Some issues concerning the most popular practical problems encountered during modeling the water quality in water distribution systems were presented. The mathematical basis of water quality modeling, commonly understood as chlorine distribution modeling, covering the governing equations, initial and boundary conditions description as well as required and necessary simplifications, were discussed. Then, the most popular computer models of water quality in distribution systems used in environmental engineering practice, such as: input-output (I/O) model, inverse chlorine decay model and forward simulation, were introduced. The modeling assumptions, model structure and limitations, advantages and disadvantages of given models were also discussed.

**Keywords:** water quality modeling, water distribution system, chlorine decay

### Introduction (Mathematical preliminaries)

Water quality modeling in distributions systems concerns the prediction of water pollution with the use of mathematical simulation techniques. The formation of a water quality numerical model requires gathering of formulas and parameters determining the position and momentum of pollutants in the water body (ie of water supply systems) [1, 2]. But in practice, modeling of water quality encounters many practical problems caused by the complexity of the phenomenon, mutual interaction of considered effects and complication of their mathematical description. Thus, modeling of water quality may be considered a difficult task.

The governing equations for the single-phase heterogeneous mixture covers widely presented laws of mass conservation, momentum conservation and conservation of energy. The movement equations (mass and momentum conservation) after assumption of fluid density, diffusion and viscosity coefficients constancy take the form of well known Navier-Stokes equations [3].

---

<sup>1</sup> Faculty of Environmental Engineering, Lublin University of Technology, ul. Nadbystrzycka 40B, 20-618 Lublin, tel. 081 538 43 22

\* Corresponding author: email: A.Musz@wis.pol.lublin.pl

The process of diffusion in fluids is described by Fick's laws. The steady state diffusion is described by the first Fick's law and Fick's second law (Equation 1) is used when non-steady or continually changing state diffusion is considered [4, 5]:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_{Mi} \nabla^2 c_i \quad (1)$$

where  $c_i$  = concentration in dimensions of studied substance [ $\text{g m}^{-3}$ ,  $\text{mol m}^{-3}$ ];  $t$  = time [s];  $D_{Mi}$  = diffusion coefficient [ $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ].

When diffusion and advection appear at the same place and time in the mixture body, the stream of pollutant may be represented by diffusion-advection equation [5-7]:

$$\frac{Dc_i}{Dt} = D_{Mi} \nabla^2 c_i \quad (2)$$

where  $Dc_i/Dt$  means material (substantive) derivative of  $c_i$ .

In some situations the concentration of pollutants may be alerted by sources or sinks of the pollutant. The chemical, biological and physical reactions may be responsible for the sink and sources appearance - in this case the diffusion-advection equation is written as:

$$\frac{Dc_i}{Dt} = D_{Mi} \nabla^2 c_i + R_i \quad (3)$$

where  $R_i$  = total source-sink term for  $i$  substance.

The total source-sink term in the diffusion-advection equation describes the three dimensional course of chemical, biological or physical reactions of  $i$  substance occurring in the mixture body - usually the combined effect of bulk and wall reactions. The processes determining the value of source-sink term in the environmental engineering may cover: disinfectants decay, water oxidization, organic matter mineralisation, photosynthesis, nitrification, gravitational separation, gain and decrement of bacteria number, adsorption, oxygen consumption and others. The intensity of source-sink factors may also expressly vary in different parts of a studied system - the transit long segments with steady value of  $R_i$  and relatively short parts of spatially varied value distribution and discharge rate, usually regarded as a point discharge sources, may be observed. Moreover, the intensity of chemical reaction course varies also in time, so time is another very important factor in the description of pollutants movement in the water body. Thus, the kinetics of processes comprises the problems of chemical, biological or physical reactions duration and their inequality in time.

Generally, the reaction kinetics for the decay process of selected substance may be written as follows:

$$\frac{dc_i}{dt} = -k_i c_i^n \quad (4)$$

where  $n$  is a power to which the concentration term is raised (usually 0÷2);  $k_i$  = reaction rate constant.

The unit of reaction rate constant depends on the global rate of reaction ie zero rate [ $\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$ ], first-rate [ $\text{s}^{-1}$ ], second-rate [ $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$ ]. We may notice that for the unlimited order  $n$  the constant unit is [ $\text{mol}^{1-n} \text{dm}^{3n-3} \text{s}^{-1}$ ]. The reaction rate constant repre-



sents variable reactions occurring in selected systems ie bulk reaction ( $k_b$ ), wall reaction ( $k_w$ ) and mass transfer ( $k_f$ ).

We may see that to prepare the water quality model in selected system, the governing equations and their parameters along with the source-sink term to the diffusion-advection equation are required. In this case the reaction kinetics and reaction rate constants appropriate to the studied phenomenon becomes necessary.

The next steps in the water quality mathematical model development are geometrical characteristics of a selected system, information about its physical properties and finally assignment of initial and boundary conditions. Description of initial conditions required to numerical modeling of water quality is rather easy - the knowledge about the governing equations parameters in every considered point of the system at the first time step ( $t = 0$ ) of simulation is required. Boundary conditions usually are presented as the mathematical formulas which have to be met by the governing equations of the prepared simulation on the limits of the studied system. Generally, four different types of constant or time dependant boundary conditions are used in modeling: Dirichlet, Neuman, Hankel and mixed condition. In case of modeling, the quality of water transmitted through the pipes system, the rate of chemical, biological and physical reactions occurring on the pipe wall and their influence on the water quality may be controlled by the boundary conditions, usually Neuman or mixed type. The actual knowledge of constant or time dependent source-sink term for the diffusion-advection equation is necessary. Thus, the proper description of reaction kinetics, its order and reaction rate constant ( $k_w$ ) to assign the boundary conditions for pollutants transport in water is required.

The scheme of water quality computer modeling system is shown in Figure 1.

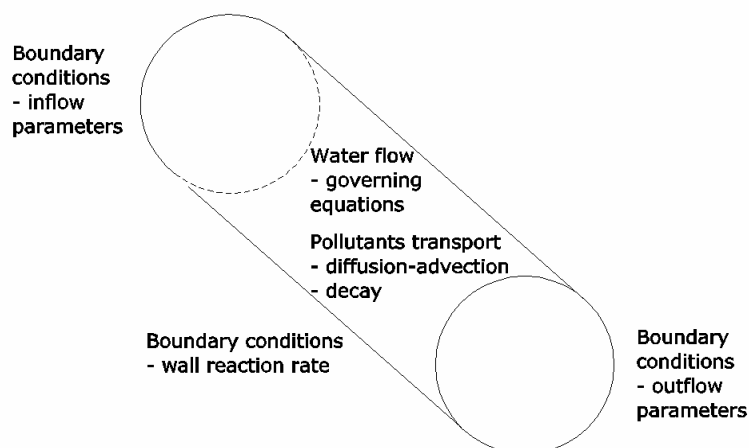


Fig. 1. Scheme of water quality computer modeling system

The presented above abbreviated bases of water quality modeling show the high complexity of the studied problem. The numerical methods (finite difference method and finite element method) for producing approximate solutions to ongoing processes are obvious and necessary.

## Water quality modeling in drinking-water distribution systems

The quality of water delivered to the customers depends on its initial chemical and physical composition, the proper choice of purification technology, technical condition of water storage tanks and the pipe network as well as hydraulic conditions and exploitation manner of the water supply system.

The water quality is determined by: oxygen decay, disinfectant decay, the formation of disinfection by-products (trihalomethanes, THMs), change of color, smell and turbidity. The disinfectant content, usually residual chlorine is one of the most popular parameters certifying the quality of transported water. Maintenance of residual chlorine minimal concentration inside the whole water distribution system protects water against microorganism development and deterioration of its quality parameters.

Chlorine propagation inside the water distribution system may be studied with the use of mathematical models comprehensively describing the variable hydraulic conditions and reflecting individual factors influencing the disinfectant decay. Modeling of water quality in this case may be understood as the monitoring of water quality parameters increase or decrease.

Simulation of residual chlorine concentration in selected water supply network nodes makes gathering the knowledge about transported water quality possible and helps in considering the network segments/parts in which water quality deterioration occurs.

Chlorine added to water during the process of disinfection reacts with organic and non-organic matter. Thus, the residual chlorine decay in time, regardless of the other factors influencing its decay, is observed [8-11]. The decrease of chlorine concentration below the minimal level may cause secondary development of microorganisms. Otherwise, excessive chlorine dose added to water during disinfection process may cause formation of dangerous disinfection by-products.

The water quality models, including the most popular chlorine decay models, are based on four basic assumptions [12]:

- distribution network consisting of sources, pipes and nodes,
- fixed flow directions in pipes,
- all hydraulic parameters known,
- chlorine concentration in all outer sources known.

The algorithms used to simulate the behavior of chlorine in a water distribution system are based either on steady-state or on dynamic approaches. More accurate are the dynamic models, which simulate changes in the spatial distribution of contaminants throughout the piping system under a time dependent customer demand. The dynamic models can be classified as Eulerian- and Lagrangian-based method. Both models are based on one-dimensional flow, quasi-steady network hydraulics, instantaneous and complete nodal mixing, ideal plug flow with negligible longitudinal dispersion and a single contaminant with one or multiple sources and first order kinetic decay function that occurs at bulk flow and the pipe wall. In Eulerian-based method [13], the pipes are divided into a number of equally sized segments, and these segments move between fix points in the pipe. Lagrangian-base (event- and time-driven) methods divide the pipes into variable segments.

The models described in literature [8-10, 14, 15] are based on one dimensional advection-diffusion equation:

$$\frac{\partial c_{i,t}}{\partial t} + u_i \frac{\partial c_{i,t}}{\partial x} + D_x \frac{\partial^2 c_{i,t}}{\partial x^2} + R(c_{i,t}) = 0 \quad (5)$$

where  $c_{i,t}$  = cross-sectional average chlorine concentration in pipe  $i$  as a function of distance  $x$  and time  $t$  [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ];  $u_i$  = flow velocity in pipe  $i$  [ $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ];  $t$  = time [s];  $D_x$  = diffusion coefficient in direction  $x$  [ $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ];  $R(c_{i,t})$  = the reaction rate expression/term (as a function of concentration).

The modeling research presented by Al-Omari et al [16] showed that in turbulent flow diffusional transport does not considerably affect the calculation results and may be neglected. Then, equation (5) may be written as:

$$\frac{\partial c_{i,t}}{\partial t} = -u_i \frac{\partial c_{i,t}}{\partial x} - R(c_{i,t}) \quad (6)$$

The source term in equation (6)  $R(c_{i,t})$ , describes the intensity of bulk and wall reactions occurring between chlorine and organic and non-organic substance. The total first-order bulk and wall reactions are usually assumed in chlorine decay modeling [17, 18]:

$$R(c_{i,t}) = -k_0 c_{i,t} \quad (7)$$

where  $k_0$  = first-order reaction rate [ $\text{d}^{-1}$ ].

The chlorine decay reaction rate in this case is proportional to the chlorine concentration in the first power.

The chlorine consumption effecting wall reactions covers the decay constant, mass transport and known relation of the pipe area to its volume [19, 20]. Then, the overall decay rate constant may be presented as [17, 18]:

$$k_0 = k_b + \frac{k_w k_f}{r_h (k_w + k_f)} \quad (8)$$

where  $r_h$  is the hydraulic radius [m].

In Table 1 the examples of different reaction rate expressions, which can also be used in numerical modeling are presented [21, 22].

The value  $C_L$  indicates that the chlorine will decay to a minimum limiting level and no further in order to insufficient organic matter.

As mentioned above, dynamic models are based on the assumption of complete and instantaneous mixing of fluids in water distribution system nodes. Concentration at a branching node equals the weighted average of the downstream concentrations of all pipes that join at that node. Thus, the chlorine concentration may be described as [22]:

$$Cnc_{j,t_j} = \frac{\sum_{i=1}^{N_{inpj}} Q_i c_{i,t} + Q_E C_E}{\sum_{i=1}^{N_{inpj}} Q_i + Q_E}, \quad j = 1, \dots, N_{jn} \quad (9)$$

where  $N_{inpj}$  = is the number of incoming pipes at node  $j$ ;  $N_{jn}$  = the total number of nodes in the network;  $Q_i$  = rate of discharge in pipe  $i$ ,  $Q_E$  = the external source flow into at node  $j$  [ $\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ ];  $C_E$  = the external source concentration into at node  $j$  [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ].

The greatest problem in municipal water quality modeling is collecting the necessary input data to the model, especially bulk decay ( $k_b$ ) and wall demand ( $k_w$ ) coefficient as well as their calibration. In modeling, practice the assumption of known  $k_w$  for all pipes,

resulting from difficulties in field research, is popular. The real values of  $k_w$  are then obtained during the calibration process.

Table 1

The examples of different reaction rate expressions

Reaction		Equation
1	First-order bulk and wall reactions	$R(c_{i,t}) = -k_{b,li}c_{i,t} - \frac{k_{w,li}k_{fi}}{r_{hi}(k_{w,li} + k_{fi})}c_{i,t}$
2	First-order bulk and zero-order wall reactions	$R(c_{i,t}) = -k_{b,li}c_{i,t} - \text{Min}\left(\frac{k_{fi}c_{i,t}}{r_{hi}}, \frac{k_{w,0i}}{r_{hi}}\right)$
3	Second-order bulk reaction with respect to chlorine only and first-order wall reaction	$R(c_{i,t}) = -k_{b,2i}c_{i,t}^2 - \frac{k_{w,li}k_{fi}}{r_{hi}(k_{w,li} + k_{fi})}c_{i,t}$
4	Second-order bulk reaction with respect to chlorine only and zero-order wall reaction	$R(c_{i,t}) = -k_{b,2i}c_{i,t}(c_{i,t} - C_L) - \frac{k_{w,0i}k_{fi}}{r_{hi}(k_{w,li} + k_{fi})}c_{i,t}$
5	Two component second-order bulk decay and first order wall reactions	$R(c_{i,t}) = -k_{b,2i}c_{i,t}(c_{i,t} - C_L) - \frac{k_{w,li}k_{fi}}{r_{hi}(k_{w,li} + k_{fi})}c_{i,t}$
6	Two component second-order bulk and zero-order wall reactions	$R(c_{i,t}) = -k_{b,2i}c_{i,t}(c_{i,t} - C_L) - \text{Min}\left(\frac{k_{w,0i}}{r_{hi}}, \frac{k_{fi}}{r_{hi}}c_{i,t}\right)$

where:  $r_{hi}$  = the hydraulic radius [m];  $k_{w,li}$  = the first order wall reaction parameter [ $\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ];  $k_{b,li}$  = the first order bulk decay parameter [ $\text{d}^{-1}$ ];  $k_{fi}$  = the mass transfer coefficient [ $\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ];  $k_{w,0i}$  = the zero-order wall reaction parameter [ $\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ];  $k_{b,2i}$  = the second-order bulk decay parameter [ $\text{dm}^3\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ];  $C_L$  = the limiting concentration of chlorine [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]

Thus, in order to obtain the reliable results the simultaneous calibration of used and calculated coefficients has to be ensured by the water quality models.

Several models that determine chlorine concentrations throughout a water distribution system have been described in literature [13, 23-25]. But the changes in water quality that take place in the network are still very difficult to study by the use of mathematical models due to the complexities arising out of varying hydraulic conditions and non-applicability of universal chlorine reaction kinetics. Nowadays, three types of numerical models are popular to calculate the changes of chlorine concentration in water distribution systems:

- input-output model I/O [26, 27],
- inverse chlorine decay model [16, 22, 25],
- forward simulation [10, 13, 28].

Input-output model and inverse model are the developed forms of the forward simulation model. The auto-calibration of unknown chlorine decay/demand coefficients is possible in these models. The calibration in the forward model is realized by trial-and-error method [10] or weighted-least-squares method based on Gauss-Newton minimization technique [22].

Input-output model (I/O) developed by Zierolf et al [26] is used to track chlorine propagation in a distribution system and to calibrate the wall demand coefficient in a system without water storage tanks. This numerical model identifies all pipes covering flow paths between upstream and downstream sampling points and determines  $k_w$  for

these pipes. Shang et al [27] enhanced the basic I/O model with particle backtrack algorithm (PBA) which made including water storage tanks and multiple water sources possible. In the I/O model using a particle backtrack algorithm, the output concentrations is modeled as a variable depending on input concentrations, network hydraulics and physical characteristics of the pipe network. Under the assumption of first-order chlorine decay reaction, the I/O model has the following form

$$C_0(T_0) = \sum_{j=1}^N \gamma_j c_{ij} (T_0 - t_j) \quad (10)$$

where:  $C_0$  = output chlorine concentration [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ],  $N$  = number of flow path between inputs and output,  $T_0$  = output time [s],  $c_{ij}$  = chlorine input concentration for path  $j$  [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ],  $\gamma_j$  = unitless impact coefficient of path  $j$  (sensitivity of output concentration to path input concentration).

Under the assumption of first order chlorine decay, the modeled chlorine output can be expressed explicitly in terms of only these wall demand coefficients that affect the output concentration, and therefore the sensitivity of the modeled chlorine concentration to wall demand coefficients can be calculated efficiently [27]. But uncertainty in parameter estimate depends strongly on the design of output measurement location.

The inverse chlorine decay model was developed by Islam et al [25]. In this model, chlorine decay coefficients for each pipe in the network are known, chlorine concentrations at some of the nodes are known by specification, while chlorine concentration at the source is unknown. It is desired to determine the unknown source concentration, so that the specified and the calculated concentrations match. This model, according to the number of equations and unknown variables, solves three cases:

1. even-determined case - the number of unknown variables equals the number of governing equations,
2. over-determined case - the number of equations is more than the number of unknowns,
3. under-determined case - the number of the unknowns is higher than the number of available equations.

The inverse model gives accurate results for the even and the over-determined cases for both: source concentration and chlorine decay coefficient [16], but for the under-determined case, the results are not satisfactory in some instances.

The forward model of water quality, which tracks changes in chlorine concentration depending on time and localization, consists of the hydraulic model and elements describing chlorine transport along the pipe system. Chlorine propagation along the pipe network in this model is described by the simplified transport equation (2) and calculated numerically by Lagrangian time-driven method [29]. The predicted chlorine concentrations are depend on chlorine and reagents reactions parameters described as overall, bulk and wall. Chlorine distribution in water stream is described by first-order kinetics model. All necessary input parameters needed for this model are either an overall first-order reaction parameter or bulk reaction parameter along with the wall reaction parameters depending upon the type of reaction rate expressions, described by equations (7)-(9) presented in Table 1. The decay parameters are determined experimentally by the bottle

test, wall and overall reaction parameters are obtained by the calibration of data gathered in the field.

The forward model provides a good tool to calibrate the water quality model, it can estimate the parameters efficiently involved in overall first order, first and zero-order wall reaction kinetics [22]. This model shows good correspondence of results and measured values in fixed hydraulic conditions and for turbulent flows ( $Re > 10000$ ). The quality of correspondence increases with the distance between nodes and the water source. The source chlorine concentration is calculated by a trial-and-error procedure. But the same trial-and-error procedure used for model calibration appears to be complicated and time-consuming.

## Summary and conclusions

The changes in water quality that take place throughout the distribution system are still very difficult to simulate by mathematical models due to the complexities arising out of varying hydraulic conditions and non-applicability of universal chlorine reaction kinetics.

The first necessary required step in creation of any water quality models is a properly calibrated hydraulic model. The proper realization of the hydraulic model and its calibration determine the correct assessment of water network hydraulic conditions and changes of selected pollutants concentration inside the water distribution system. The fundamental difficulties during the hydraulic model calibration are: the proper setting of measurement points, real values of water flow and pressure measurement and assumption of maximum difference between simulated and measured values.

Varied nature of chlorine's reactivity makes it difficult to predict chlorine levels throughout a water system. Water quality models can only be reliable when the mechanisms of chlorine dissipation within the water system are properly defined. The predicted chlorine concentrations within the network are governed by reaction parameters, that is overall, bulk and wall coefficients. Bulk chlorine decay coefficient can be determined by the laboratory bottle test. But the wall demand coefficient depends on pipe characteristics such as material, age, degree of corrosion which can differ significantly in the system. Uncertainty in wall demand coefficient estimates are also caused by chlorine measurements error.

The available water quality models have many disadvantages preventing the proper assessment of water quality in the whole system of water distribution or limiting their usage only to small networks as well as simulating changes in fixed hydraulic conditions. These limitations force continuous research the aim of which is the creation of new models or upgrading the already existing ones to allow the analysis of water quality in every distribution system, in spite of its structure or hydraulic conditions.

## Acknowledgment

This work was supported by State Committee for Scientific Research (NN 523 494234).

## References

- [1] Currie I.G.: *Fundamental Mechanics of Fluids*. McGraw-Hill, New York 1993.
- [2] Zienkiewicz O.C., Taylor R.L. and Zhu J.Z.: *The Finite Element Method: Its Basis and Fundamentals*. 6<sup>th</sup> edition. Elsevier, 2005.
- [3] Temam R.: *The Navier-Stokes Equation*. North-Holland, Dordrecht 1977.
- [4] Crank J.: *The mathematics of diffusion*. Oxford, Clarendon Press 1975.
- [5] Sawicki J.M.: *Migracja zanieczyszczeń*. Wyd. Polit. Gdańskiej, Gdańsk 2003.
- [6] Taylor G.I.: *The dispersion of matter in turbulent flow through a pipe*. Proc. Royal Soc. London 1954.
- [7] Soo L.: *Fluid dynamics of multiphase systems*. Blaisdell Publ. Comp., London 1966.
- [8] Males R.M., Clark R.M., Wehrman P.J. and Gates W.E.: *Algorithm for mixing problems in water systems*. J. Hydraul. Eng., 1985, **111**(2), 206-219.
- [9] Rossman L.A., Clark R.M. and Grayman W.M.: *Modeling chlorine residuals in drinking water distribution systems*. J. Environ. Eng. ASCE, 1994, **120**(4), 803-820.
- [10] Clark R.M., Rossman L.A. and Wymer L.J.: *Modeling distribution system water quality: regulatory implications*. J. Water Resour. Plan. Manage., ASCE, 1995, **121**(6), 423-428.
- [11] Boccelli D.L., Tryby M.E., Uber J.G. and Summers R.S.: *A reactive species model for chlorine decay and THM formation under rechlorination conditions*. Water Res., 2003, **37**(11), 2654-2666.
- [12] Langowski R. and Brdys M.A.: *Monitoring of chlorine concentration in drinking water distribution systems using an interval estimator*. Int. J. Appl. Math. Comput. Sci., 2007, **17**(2), 199-216.
- [13] Rossman L.A., Boulos P.F. and Altman T.: *Discrete volume element method for network water - quality models*. J. Water Resour. Plan. Manage., ASCE, 1993, **119**(5), 505-517.
- [14] James A.: *An introduction to water quality modeling*. Wiley, West Sussex, U.K. 1993.
- [15] Park K. and Kuo A.Y.: *A multi-step computations scheme: Decoupling kinetic processes from physical transport in water quality models*. Water Res., 1999, **30**(10), 2255-2264.
- [16] Al-Omari A.S., Hanif Chaudhry M. and Fellow A.: *Unsteady-state inverse chlorine modeling in pipe networks*. J. Hydraul. Eng., 2001, **127**(8), 669-677.
- [17] Walski T.M., Chase D.C. and Savic D.A.: *Water Distribution Modeling*. Heastad Press, Waterbury, Conn. 2001.
- [18] Rossman L.A.: *EPANET 2Users Manual*. Risk Reduction Engineering Laboratory. US Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH 2000.
- [19] Hallam N.B., West J., Forster C.J. and Spencer I.: *The decay of chlorine associated with the pipe wall in distribution systems*. Water Res., 2002, **36**(14), 3479-3488.
- [20] Vikesland P.J., Ozekin K. and Valentine R.: *Monochloramine decay in model and distribution system waters*. Water Res., 2001, **35**(7), 1766-1776.
- [21] Mutoti G.I., Dietz J.D., Arevalo J. and Taylor J.S.: *Combined chlorine dissipation: pipe material, water quality, and hydraulic effects*. J. Amer. Water Works Associat., 2007, **99**(10), 96-106.
- [22] Munavalli G.R. and Mohan Kumar M.S.: *Water quality parameter estimation in a distribution system under dynamic state*. Water Res., 2005, **39**, 4287-4298.
- [23] Murphy S.B.: *Modeling chlorine concentrations in municipal water system*. MS thesis, Dept. of Civ. Engrg. Montana State Univ., Bozeman, Mont. 1985.
- [24] Musa M.: *Modeling of chlorine concentration in water supply networks*. MS thesis, Dept. of Civ. Engrg., Washington State Univ., Pullman, Wash. 1991.
- [25] Islam M.R., Chaudhry M.H. and Clark R.M.: *Inverse modeling of chlorine concentration in pipe networks under dynamic conditions*. J. Environ. Eng., ASCE, 1997, **123**(10), 1033-1044.
- [26] Zierolf M.L., Polycarpou M.M. and Uber J.G.: *Development and auto-calibration of an input-output model of chlorine transport in drinking water distribution systems*. IEEE Trans. Control Syst. Technol., 1998, **6**(4), 543-553.
- [27] Shang F., Uber J.G. and Polycarpou M.M.: *Particle backtracking algorithm for water distribution system analysis*. J. Environ. Eng., 2002, **128**(5), 441-450.
- [28] Ozdemir O.N., and Ger A.M., 1999. *Unsteady 2-D chlorine transport in water supply pipes*. Water Res. **33**(17), 3637-3645.
- [29] Liou C.P. and Kroon J.R.: *Modeling the propagation of waterborne substances in water distribution networks*. J. Amer. Water Works Associat., 1987, **79**(11), 54-58.

## WYBRANE PROBLEMY MODELOWANIA JAKOŚCI WODY W SIECIACH WODOCIĄGOWYCH

**Abstrakt:** Przedstawiono wybrane zagadnienia dotyczące najczęściej pojawiających się problemów w modelowaniu jakości wody wodociągowej. Zaprezentowano podstawy matematyczne modelowania numerycznego jakości wody, często pojmowanego jako modelowanie rozkładu chloru, obejmujące równania stanu, warunki brzegowe i początkowe. Przedstawiono także najczęściej stosowane uproszczenia w opisie matematycznym opisywanego zjawiska. Następnie w pracy omówiono najpopularniejsze modele jakości wody stosowane w inżynierii środowiska: model wejście-wyjście (I/O), model odwrócony oraz model postępujący. Zaprezentowano także założenia modelowe, struktury omawianych modeli, ich zalety oraz wady i ograniczenia.

**Słowa kluczowe:** modelowanie jakości wody, sieć wodociągowa, rozkład chloru



Alicja PUSZKAREWICZ<sup>1</sup>

## EFFECTIVENESS OF CHROMIUM COMPOUNDS REMOVAL ON DIATOMITE BEDS

### SKUTECZNOŚĆ USUWANIA ZWIĄZKÓW CHROMU NA ZŁOŻACH DIATOMITOWYCH

**Abstract:** Determination of effect of chromium(VI) compounds removal from water in sorption and coagulation processes using Carpathian diatomite was studied in laboratory scale. The research was carried out in dynamic conditions by filtration method, on diatomite bed with grains of 0.75÷1.2 mm, with optimal speed of filtration 4 m/h, and chromium concentration in raw water solution  $C_0 = 1 \text{ mg/dm}^3$ . Efficiency of chromium compounds sorption in result of filtration on diatomite beds, was small (removal of Cr(VI) amounted merely to 25%). The realization of surface coagulation with application of reagents: coagulant  $\text{FeCl}_3$  and powdery diatomite as aid of chromium sorption, was a lot more effective. For dose of reagents: 50 mg  $\text{FeCl}_3/\text{dm}^3$ , 0.5 g/dm<sup>3</sup> powdery diatomite and for correction of reaction pH to 9.0, the best results were obtained. Final concentration of chromium in treated water has amounted to 0.282 mg/dm<sup>3</sup>, that is 72% of chromium reduction was achieved.

**Keywords:** chromium compounds, sorption, filtration, diatomite bed

The degradation of the natural environment in Poland became a direct cause of reduction of drinking water resources as well as dramatic worsening of their quality. Chromium compounds belong to impurities which contribute to reducing of drinking water quality. Compounds of Cr(VI), which appear in water, constitute a very serious technological and engineering problem, which frequently requires radical changes in the entire water conditioning process and/or system, in order to achieve their removal [1].

Industrial wastewaters are the basic source of chromium compounds in water environment. Chromium release to natural environment takes place mainly as a result of direct discharge of untreated wastewaters, incorrect production processes and incorrect storage of chromium-containing impurities/wastes. Major loads of chromium compounds are discharged from metal plating (galvanizing) factory, plants producing paints and lacquers and tanneries [1, 2].

Compared with chromium(III), chromium(VI) is considered to be more bioavailable because of its higher solubility, strong oxidizing properties and permeability through cell

---

<sup>1</sup> Faculty of Civil and Environmental Engineering, Rzeszów University of Technology, ul. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, email: apuszk@prz.edu.pl

membranes. Besides, chromium(VI) compounds have toxic, mutagenic and carcinogenic effects on specific organisms [3, 4].

Observations show that more and more frequently their maximum concentrations are exceeded several times, and therefore, it became particularly important to look for effective and economical methods of their removal. Processes of coagulation and sorption proved to be more effective than others, and they are implemented more and more often [5-7]. In sorption process, the applied sorbent is the most important element [8, 9]. It should be inexpensive, easily available and ecological. Diatomite materials may be counted among such sorbents [10, 11].

This paper concentrates on determining the effectiveness of chromium removal when using diatomite beds.

## Methods of study

The study was conducted on aqueous model solution. It was prepared on the base of tap water of pH 7.0÷7.2, to which chromium compounds were added as potassium dichromate,  $K_2Cr_2O_7$ . The initial concentration of chromium in water was  $C_0 = 1 \text{ mg/dm}^3$ .

For testing, we used granular diatomite of granulation within 0.75÷1.2 mm, dried at 105°C, from opencast mining field in Jawornik Ruski, located in northern part of Leszczawka deposit (Podkarpackie province) [12].

Physicochemical properties of diatomite are presented in Table 1.

Table 1

Physical and chemical properties of diatomite

Parameter	Value	Parameter	Value
SiO <sub>3</sub>	68÷73%	Specific density	2.10÷2.25 g/cm <sup>3</sup>
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9÷12%	Bulk density (depending of graining)	0.4÷0.9 Mg/m <sup>3</sup>
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4÷6%	Compression strength	25÷60 MPa
Porosity	25÷35%	Thermal conductivity	0.25÷0.30 kcal/m·h·°C
Absorption	20÷30%	Roasting losses (900°C)	7÷10%

Tests were conducted on laboratory filter of diameter 0.035 m, filled with diatomite bed up to the height of 0.7 m, with gravitational flow. Diatomite mass of the filter was 0.4 kg.

Sorption capacity at the bed breakthrough point was determined from the relationship:

$$P = V \cdot (C_0 - C_k) / M \quad (1)$$

where: P - bed sorption capacity [mg/kg], V - volume of conditioned water [dm<sup>3</sup>], C<sub>0</sub>, C<sub>k</sub> - initial and final concentrations of chromium compounds [mg/dm<sup>3</sup>], M - bed mass [kg].

Fresh diatomite bed was used for each series of tests. The study consisted of three parts:

- 1<sup>st</sup> part - determination of the optimum rate of filtration,
- 2<sup>nd</sup> part - filtration of tested water through diatomite bed,

- 3<sup>rd</sup> part - surface coagulation on diatomite bed with the following reagents: sorbent of powdery diatomite and coagulant of ferric chloride ( $\text{FeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ).  
The third part consisted of the following test series:
  - defining optimum dose of powdery diatomite and coagulant in batch test,
  - surface coagulation with optimum dose of coagulant,  $\text{FeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,
  - surface coagulation with optimum dose of coagulant,  $\text{FeCl}_3$ , and pH correction to pH 9.0,
  - surface coagulation with coagulant, and powdery diatomite,
  - surface coagulation with coagulant, powdery diatomite and pH correction to pH 9.0.
 After each filtering of  $5 \text{ dm}^3$  of water a check determination of chromium compounds Cr(VI) in conditioned water was carried out.

## Discussion of results

Initial study (**series I**) had as the objective to determine optimum rate of filtration. Tested water was passed through diatomite bed at following rates: 2, 4, 6, 8 m/h. After each  $10 \text{ dm}^3$  a sample of conditioned water was analyzed. The rates of filtration are given in Table 2.

Table 2

Choice of the optimum filtration speed

Speed of filtration [m/h]	Concentration of chromium in effluent [mg Cr/dm <sup>3</sup> ]
8	0.941
6	0.834
<b>4</b>	<b>0.720</b>
2	0.696

The filtration rate of 4 m/h was adopted as optimum for following tests. The lower velocity as 2 m/h had only slight positive effect on the effectiveness of chromium removal. The determined retention time for  $v = 4 \text{ m/h}$  was 0.086 h (5.2 min).

During the filtration of conditioned water through the diatomite bed in the **second part of the study**, the mean concentration of chromium compounds in filtrate was  $C_k = 0.74 \text{ mg/dm}^3$ . A clear growth of chromium concentration (to  $0.83 \text{ mg/dm}^3$ ), assumed as the bed breakthrough point, occurred after filtering  $95 \text{ dm}^3$  of water. The effectiveness of sorption of chromium compounds in filtration on diatomite beds was low (the chromium removal was merely 25%). The bed sorption capacity, calculated from the formula (1), was  $P_1 = 60 \text{ mg/kg}$ .

In order to improve the effectiveness of removal of chromium compounds, the **3<sup>rd</sup> part of the study** was carried out while introducing in the process the following filtration reagents: coagulant,  $\text{FeCl}_3$ , and powdery diatomite as adsorbent. In Table 3 the results data on selecting optimum powdery diatomite are presented.

When analyzing the obtained results, it may be noticed that differences in chromium concentration within diatomite dose range of  $0.5 \div 5.0$  are small. Moreover, during filtration with doses of 2 and  $5 \text{ g/dm}^3$  was noticed, that filtration rate dropped because of bed clogging. On the basis of obtained results, the optimum dose of powdery diatomite,  $0.5 \text{ g/dm}^3$ , enabling approx. 41% reduction of chromium, was selected and applied in the subsequent part of the research.

Table 3

Choice of the best of the powder diatomite dose

Dose of powder diatomite [g/dm <sup>3</sup> ]	Concentration of chromium in effluence [mg Cr/dm <sup>3</sup> ]
0.1	0.816
0.5	0.593
1.0	0.520
2.0	0.515
5.0	0.478

The selection of the most favorable dose of coagulant covered the following doses of FeCl<sub>3</sub>: 20; 30; 50; 80; 100 mg/dm<sup>3</sup>. The vessel method was applied. The time of rapid mixing was 0.5 minute, while the slow mixing time was 15 min see test results in Figure 1.

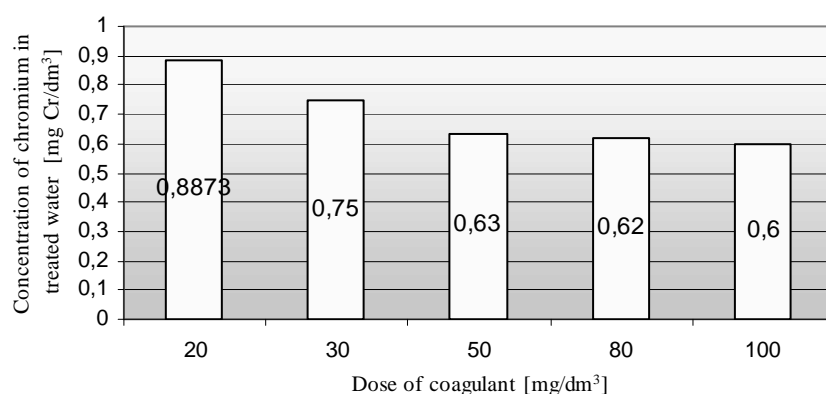


Fig. 1. Choice of the optimum coagulation dose

On the basis of obtained results, the dose of 50 mg/dm<sup>3</sup> of coagulant, enabling approx. 41% reduction of chromium, the dose of 50 mg/dm<sup>3</sup> of coagulant, was selected as optimal and applied in the subsequent part of the study as it enabled obtaining chromium concentration of 0.63 mg/dm<sup>3</sup>, ie the reduction of chromium compounds in conditioned water by 37%.

The results from consecutive series of studies (2-5), realized as coagulation, are presented in Table 4.

The 2<sup>nd</sup> series of filtration, with ferric chloride coagulant at the optimum dose, resulted in removal of chromium compounds by 61%. Their concentration in the effluent remained at  $C_k = 0.39$  mg/dm<sup>3</sup> for approx. 32 hours, when 120 dm<sup>3</sup> of water was filtered. The bed sorption capacity was calculated as  $P_2 = 183$  mg/kg.

In order to increase the effectiveness of coagulation with iron(III) salts, the water reaction was corrected to pH 9.0 in the subsequent series of studies. During the flow of 150 dm<sup>3</sup> of tested water, the chromium concentration in the effluent oscillated at  $C_k = 0.36$  mg/dm<sup>3</sup>. Its dynamic growth happened after that time. For the bed breakthrough point assumed at that moment, the calculated sorption capacity was  $P_3 = 240$  mg/kg.

Table 4

Results of surface coagulation after passing through the diatomite bed

No. of series, used reagents	Concentration of chromium in effluence [mg Cr/dm <sup>3</sup> ]	Removal of chromium [%]
<b>II</b> coagulant dose FeCl <sub>3</sub> 50 mg/dm <sup>3</sup>	0.39	61
<b>III</b> reaction correction to pH 9.0, dose FeCl <sub>3</sub> 50 mg/dm <sup>3</sup>	0.36	64
<b>IV</b> diatomite dose 0.5 g/dm <sup>3</sup> , dose FeCl <sub>3</sub> 50 mg/dm <sup>3</sup>	0.31	69
<b>V</b> reaction correction to pH 9.0, diatomite dose 0.5 g/dm <sup>3</sup> , dose FeCl <sub>3</sub> 50 mg/dm <sup>3</sup>	0.28	72

In order to reduce further the concentration of chromium in water, powdery diatomite was introduced in optimum dose (0.5 g/dm<sup>3</sup>) to support surface coagulation in the subsequent series of study. The filtration lasted till the moment of bed colmating (flow rate drop to 2.5 m/h). Water amount of 160 dm<sup>3</sup> was passed, and the chromium concentration in the effluent remained at the level of 0.31 mg/dm<sup>3</sup> all through the filtration period. The bed sorption capacity was  $P_4 = 276$  mg/kg.

As the water reaction raising to pH 9 contributed to reduction of chromium in the effluent and it extended the filtration cycle, the final series of filtration was carried out with water pH correction with the basic coagulant and powdery diatomite. The bed sorption capacity achieved in this series of the study was  $P_5 = 290$  mg/kg and chromium concentration in the effluent till the bed breakthrough point remained at the level of 0.28 mg/dm<sup>3</sup>.

Comparison of bed sorption capacities obtained in all filtration cycles, was presented in Figure 2.

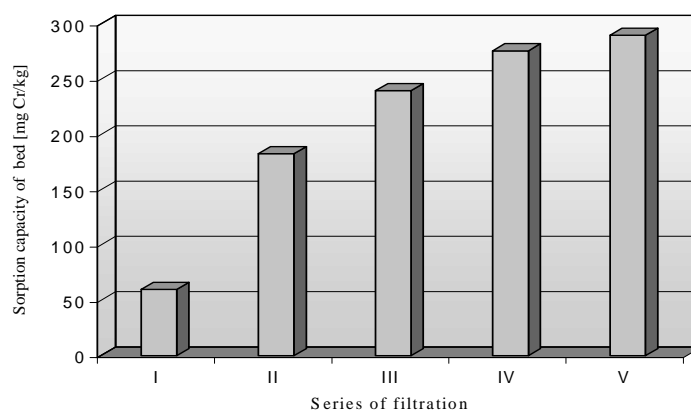


Fig. 2. Sorption capacity of filtration bed: I - filtration through diatomite bed, II - filtration through diatomite bed with coagulation FeCl<sub>3</sub>, III - correction of reaction to pH 9 and filtration with coagulation FeCl<sub>3</sub>, IV - filtration with coagulation - FeCl<sub>3</sub> + powder diatomite, V - correction of reaction to pH 9, filtration with reagents: coagulation FeCl<sub>3</sub> + powder diatomite

The analysis of obtained bed sorption capacities indicates that the filtration through diatomite bed only was least effective. It lasted for the shortest time until the breakthrough point, the obtained chromium concentration in the effluent was the highest (reduction by just 25%) and therefore the lowest bed sorption capacity was obtained.

Application of surface coagulation, caused a significant rise in the effectiveness of chromium compounds removal from conditioned water. The iron hydroxides, precipitated during hydrolysis, were effective in raising of bed sorption capacity, thus achieving lower chromium concentrations in the effluent during filtration, longer filtration time, and several times higher sorption capacities. In order to achieve the lowest solubility of the products of hydrolysis of the applied coagulant, the pH of the water was corrected to 9 during filtration in the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> series of the study. It also contributed significantly to raising the numbers of chromate ions removed from water. Introducing of powdery diatomite as the coagulation supporting agent in the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> series of the study also contributed to growing effectiveness chromium compounds removal. A by-product from diatomite fractioning, the powdery diatomite exhibits sorptive properties in relation to chromate ions [13]. Moreover, it contributes to raising of specific surface of generated flocculants, their better sedimentation in the bed and thus to raising the bed sorption capacity. The drawback to the use of that sorbent in the process of surface coagulation, may well be the too rapid silting up of the filtration bed (it depends to a great extent on its dose as well as on bed porosity). The best results from all filtration cycles were achieved with the use of coagulant,  $\text{FeCl}_3$  at the dose of  $50 \text{ mg/dm}^3$ , diatomite -  $0.5 \text{ g/dm}^3$ , as well as with raised pH of conditioned water.

## Conclusions

- Removal of chromate ions in the filtration process on diatomite bed showed low effectiveness (the achieved removal Cr(VI) was merely 25%).
- Application of surface coagulation with the use of ferric chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) as coagulant decreased chromium concentration in the effluent by approx. 60%, extending the filtration cycle and considerable (fourfold) rise of sorption capacity of diatomite bed.
- Introducing diatomite powder to filtration as the agent supporting the surface coagulation process, contributed to raising of the effectiveness of chromate ion removal from water.
- The best results were obtained when using: coagulant dose of  $50 \text{ mg FeCl}_3/\text{dm}^3$ , powdery diatomite in a quantity  $0.5 \text{ g/dm}^3$ , as well as correction of pH to 9.0. The final concentrations of chromium in conditioned water was  $C_k = 0.28 \text{ mg/dm}^3$  (which is tantamount to 72% reduction of chromium), the bed sorption capacity reached the value of  $P_5 = 290 \text{ mg Cr/kg}$ .

## References

- [1] Barabasz W., Chmiel M.J., Galus A. and Pasmionka I.: *Ecotoxicology of chromium*. Ecol. Chem. Eng., 1998, 5(8-9), 665-669.
- [2] Szalińska E.: *Przemiany chromu w środowisku wodnym zanieczyszczonym ściekami garbarskimi*. Monografia - Zesz. Nauk. Polit. Krakow. nr 283, Ser. Inż. Środow., Kraków 2002.

- [3] Gupta V. K, Mohan D., Kharma S. and Park K.T.: *Removal of chromium VI from electroplating industry wastewater using bagasse fly ash - a sugar industry waste material*. Environmentalist 1999, **19**, 129-136.
- [4] Kabata-Pendias A. and Pendias H.: *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. WN PWN, Warszawa 1999.
- [5] Ozkan A. and Yekeler M.: *Coagulation and flocculation characteristics of celestite with different inorganic salts and polymers*. Chem. Eng. Process., 2004, **43**(7), 873-879.
- [6] Alutndogan H.S.: *Cr(VI) removal from aqueous solution by iron(III) hydroxide-loaded sugar beet pulp*. Proc. Biochem., 2005, **40**(3-4), 1443-1452.
- [7] Verma A., Chakraborty S. and Basu J.K.: *Adsorption study of hexavalent chromium using tamarind hull-based adsorbents*. Sep. Purificat. Technol., 2006, **50**, 336-341.
- [8] Krishna B.S. Murty D.S.R and Prakash B.S.J.: *Thermodynamics of chromium(VI) anionic species sorption onto surfactant-modified montmorillonite clay*. J. Colloid Interface Sci., 2000, **229**, 230-236.
- [9] Mohan D. and Pittman C.U.: *Activated carbons and low-cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water: A Review*. J. Hazard. Mater., 2006, **B137**, 762-811.
- [10] Dantas T.N., Dantas Neto A.A. and De A. Moura M.C.P.: *Removal of chromium from aqueous by diatomite treated with microemulsion*. Water Res., 2001, **35**(9), 2219-2224.
- [11] Puzskarewicz A. and Kaleta J.: *Experience in removing petroleum derivatives from aqueous solutions onto adsorptive diatomite and clinoptilolite beds*. Environ. Protect. Eng., 2004, **30**, 23-33.
- [12] Informator Wyroby diatomitowe. Specjalistyczne Przedsiębiorstwo Górnicze „Górtch” Sp. z o.o., Kraków, 2004.
- [13] Puzskarewicz A.: *Określenie przydatności diatomitów karpacckich do usuwania jonów chromianowych z roztworów wodnych*. VII Międzynarodowa Konferencja „Water Supply and Water Quality”, Zakopane. Wyd. PZITS, Poznań 2006, 705-715.

### SKUTECZNOŚĆ USUWANIA ZWIĄZKÓW CHROMU NA ZŁOŻACH DIATOMITOWYCH

**Abstrakt:** Przedstawiono badania laboratoryjne, których celem było określenie efektów usuwania związków chromu(VI) z wody w procesach sorpcji i koagulacji przy użyciu diatomitów (ziem okrzemkowych) karpacckich. Przeprowadzono je w warunkach dynamicznych metodą filtracji na złożu diatomitowym o granulacji 0,75÷1,2 mm, z optymalną prędkością filtracji 4 m/h, dla stężenia chromu w uzdatnianej wodzie  $C_0 = 1 \text{ mg/dm}^3$ . Skuteczność sorpcji związków chromu w wyniku filtracji na złożach diatomitowych była niewielka (uzyskana redukcja chromu wyniosła zaledwie 25%). Dużo bardziej efektywne okazało się przeprowadzenie koagulacji kontaktowej z zastosowaniem reagentów: koagulantu  $\text{FeCl}_3$  oraz diatomitu pylistego jako środka wspomagającego sorpcję chromu. Najlepsze rezultaty uzyskano dla dawki koagulantu 50 mg  $\text{FeCl}_3/\text{dm}^3$ , diatomitu pylistego w ilości 0,5 g/ $\text{dm}^3$  oraz o odczynie pH do wartości 9,0. Uzyskane stężenie końcowe chromu w uzdatnianej wodzie wyniosło 0,282 mg/ $\text{dm}^3$ , co stanowiło 72% redukcję chromu.

**Słowa kluczowe:** związki chromu, sorpcja, filtracja, złożo diatomitowe





Anna BANEL<sup>1\*</sup> i Bogdan ZYGMUNT<sup>1</sup>

## LOTNE KWASY TŁUSZCZOWE NA SKŁADOWISKU ODPADÓW - WYSTĘPOWANIE I OZNACZANIE

### VOLATILE FATTY ACIDS IN A LANDFILL - OCCURRENCE AND DETERMINATION

**Abstrakt:** Lotne kwasy tłuszczowe (LKT) powstają podczas biodegradacji materii organicznej i dlatego są także obecne na składowiskach odpadów, gdzie odgrywają kluczową rolę w przetwarzaniu materii organicznej w metan. Optymalizacja tego procesu wymaga znajomości i kontroli stężenia LKT, a ponieważ mają one również negatywny wpływ na środowisko, ich zawartość powinna być monitorowana w odciekach surowych i oczyszczonych oraz ich odbieralnikach (woda powierzchniowa, gleba, powietrze). W próbkach o tak szerokiej gamie matryc najodpowiedniejszą techniką oznaczania LKT wydaje się być chromatografia gazowa, pod warunkiem, że próbka jest właściwie przygotowana do analizy. Polega to najczęściej na izolacji i wzbogacaniu przed wprowadzeniem do chromatografu gazowego, chociaż bezpośrednie dozowanie próbek wodnych może też być stosowane, jeżeli stężenia są odpowiednio duże.

**Słowa kluczowe:** lotne kwasy tłuszczowe, chromatografia gazowa, składowisko odpadów komunalnych, odcieki

### Wprowadzenie

W ciągu ostatniej dekady polepszająca się stopa życiowa, związana głównie ze stałym rozwojem przemysłu i handlu w wielu krajach na świecie, przyczyniła się do szybszego wzrostu ilości odpadów miejskich i przemysłowych [1]. Skala problemu stała się na tyle duża, iż na całym świecie wielu naukowców zajmuje się tym zagadnieniem. Obecnie można znaleźć wiele prac dotyczących odpowiedniego składowania odpadów, ich „obróbki” i zabezpieczenia środowiska przed ich szkodliwym oddziaływaniem. W pierwszych latach XXI wieku na składowiskach nadal zdeponowano ponad 95% wytwarzanych odpadów stałych [2-5]. Niestety ciągle ten sposób stanowi główny element systemu gospodarki odpadami. Magazynowane odpady mogą powodować pogorszenie jakości wód podziemnych i powierzchniowych oraz przyczyniać się do emisji odorów na

<sup>1</sup> Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, tel. 058 347 21 10, fax 058 347 17 83, email: zygmuntb@chem.pg.gda.pl

\* Autor do korespondencji: email: banelka@wp.pl

skutek procesów fermentacyjnych [6]. W trakcie składowania odpady stałe ulegają rozkładowi w wyniku zachodzących procesów fizykochemicznych i biologicznych [5]. Powstają wówczas znaczne ilości niebezpiecznych odcieków oraz gazu składowiskowego (biogazu). W pierwszym etapie mikrobiologicznej degradacji materii organicznej powstają głównie monokarboksylowe kwasy tłuszczowe (LKT [*Volatile Fatty Acids* - VFAs]). Występują one w znacznych ilościach na składowiskach odpadów w formie rozpuszczonej w wodzie. Ich powstawanie powoduje wzrost stężenia ogólnego węgla organicznego w odcieku oraz zwiększone wartości chemicznego i biologicznego zapotrzebowania na tlen [7]. LKT to krótkołańcuchowe alkilowe kwasy monokarboksylowe, zawierające od 2 do 8 atomów węgla w molekuale. Z uwagi na swoją prostą budowę chemiczną stanowią źródło łatwo przyswajalnego węgla dla mikroorganizmów, dzięki czemu odgrywają kluczową rolę w biologicznych procesach oczyszczania ścieków. LKT mogą również wpływać na trwałość pozostałości po spalaniu odpadów. Poprzez obniżenie pH zwiększają ruchliwość metali ciężkich oraz radionuklidów. Dlatego szczególnie ważne jest monitorowanie LKT, zwłaszcza kwasu octowego w glebie, gdzie składowane są odpady zawierające pierwiastki radioaktywne, np. pluton [8]. Ponadto LKT, powstające w wyniku biodegradacji, wraz z niektórymi związkami chemicznymi (głównie lotne aminy i związki siarki) są odpowiedzialne za nieprzyjemny zapach (odory) w okolicy oczyszczalni ścieków i składowisk odpadów [9, 10].

Zarządy składowisk odpadów stają zatem przed poważnym zadaniem rozpoznania i śledzenia wpływu stwierdzonych lub potencjalnych ognisk zanieczyszczeń oraz przeciwdziałania ich ujemnym skutkom. W związku z zaistniałym problemem niezbędne stało się wprowadzenie międzynarodowych regulacji prawnych dotyczących m.in. dopuszczalnego poziomu zanieczyszczeń na składowiskach odpadów. Aby zapobiegać ewentualnemu pogorszeniu jakości wód powierzchniowych i podziemnych, na bieżąco nakładane są ścisłe wymagania środowiskowe na składowiska odpadów [1].

### **Właściwości fizykochemiczne lotnych kwasów tłuszczowych**

Lotne kwasy tłuszczowe stanowią grupę związków o podobnych właściwościach fizykochemicznych. W środowisku najczęściej występują w postaci estrów, soli lub amidów.

Znajomość właściwości fizykochemicznych LKT pozwala przewidzieć zachowanie się tych związków w środowisku, a także opracować sposób postępowania na etapie ich oznaczania. Ujemny logarytm ze stałej dysocjacji -  $pK_a$  pozwala określić, jaka część związku występuje w formie zdysocjowanej i niezdisocjowanej, a tym samym mówi nam o mocy kwasu. Gdy wartość  $pK_a$  jest porównywalna z pH roztworu, to stężenie zdysocjowanej formy związku równe jest stężeniu formy niezdisocjowanej, zwiększenie pH roztworu o dwie jednostki w stosunku do  $pK_a$  powoduje wzrost udziału formy zdysocjowanej do 99% i odwrotnie - zmniejszenie pH roztworu o dwie jednostki poniżej  $pK_a$  powoduje spadek zdysocjowanej formy do 1% [11, 12].

Zmniejszenie pH roztworu wodnego (próbki) wykorzystuje się na etapie ekstrakcji, np. ekstrakcji ciecz-ciecz, mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej i mikroekstrakcji do pojedynczej kropli itp. LKT w formie zdysocjowanej są w większości dobrze rozpuszczalne w wodzie, natomiast słabo w rozpuszczalnikach organicznych niemieszających się

z wodą. Poprzez zakwaszenie środowiska dysocjacja zostaje cofnięta, co ułatwia przeniesienie niezdisocjowanych molekuł do fazy organicznej.

W tabeli 1 przedstawiono nomenklaturę, budowę chemiczną oraz wybrane właściwości fizykochemiczne lotnych kwasów tłuszczowych.

Tabela 1

Nomenklatura, budowa chemiczna oraz właściwości fizykochemiczne lotnych kwasów tłuszczowych [13-16]

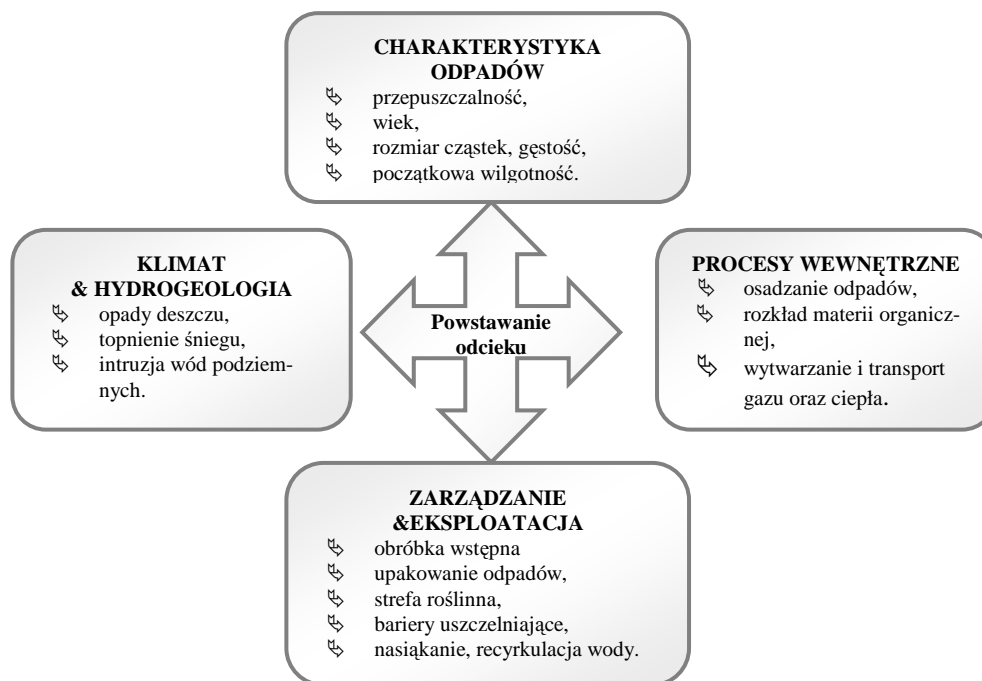
Lotne kwasy tłuszczowe		Wzór chemiczny	Temp. wrzenia [°C]	Rozpuszczalność w wodzie [g/dm <sup>3</sup> ]	pK <sub>a</sub>	M [g/mol]	Zapach
Nazwa systematyczna	Nazwa zwyczajowa						
Kwas etanowy	<i>octowy</i>	CH <sub>3</sub> COOH	117	duża	4,75	60,1	ostry zapach octu
Kwas propionowy	<i>propanowy</i>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COOH	141	duża	4,87	74,1	ostry, zjełczały, drażniący
Kwas izobutanowy	<i>izomasłowy</i>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCOOH	154	210	4,85	88,1	stęchła woń
Kwas butanowy	<i>masłowy</i>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> COOH	164	średnia	4,81	88,1	zjełczanego masła, potu
Kwas izopentanowy	<i>izowalerianowy</i>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> COOH	177	25	4,78	102,1	zjełczanego tłuszczu, sera pleśniowego
Kwas pentanowy	<i>walerianowy</i>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> COOH	186	40	4,82	102,1	potu, waleriany
Kwas heksanowy	<i>kapronowy</i>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> COOH	206	10	4,88	116,2	ostry, cierpki
Kwas heptanowy	<i>enantowy</i>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> COOH	223	2,6	4,89	130,2	-
Kwas oktanowy	<i>kaprylowy</i>	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> COOH	235	0,7	4,89	144,2	chlewni swińskiej

## Charakterystyka i procesy zachodzące na składowisku odpadów

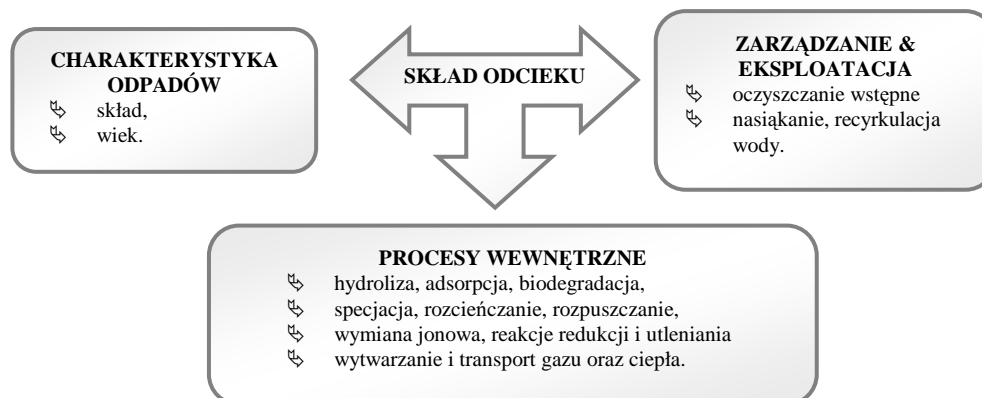
Na przełomie ostatnich lat w projektowaniu, budowaniu oraz eksploatacji składowisk dąży się przede wszystkim do minimalizowania zagrożeń i zanieczyszczenia środowiska [17]. Jednym z poważniejszych problemów składowania odpadów jest możliwość migracji powstających odcieków, czyli wód zanieczyszczonych, poza teren składowiska, powodujących np. zanieczyszczenie wód podziemnych. Zanieczyszczenie to w głównej mierze zależy od składu odpadów i ilości zgromadzonych zanieczyszczeń, budowy składowiska odpadów itp. i tym samym od ilości oraz składu chemicznego odcieku, który może przedostawać się bezpośrednio do środowiska. Na rysunkach 1 i 2 przedstawiono czynniki wpływające na powstanie i skład odcieków [18].

Odciek powstaje przede wszystkim w wyniku przenikania wody, pochodzącej z opadów atmosferycznych oraz z naturalnej zawartości wilgoci i biochemicznych przemian materii organicznej znajdującej się w odpadach [1]. Wody odciekowe zawierają produkty rozkładu materii organicznej, aniony nieorganiczne; metale ciężkie: chrom, kadm, ołów, rtęć, nikiel i arsen; substancje chloroorganiczne i wiele innych groźnych zanieczyszczeń. Przepływ odcieku jest ściśle połączony z opadami, infiltracją i intruzją wód podziemnych. Wody powierzchniowe i podziemne mogą bardzo łatwo ulec zanie-

czyszczeniu w wyniku migracji odcieku na źle zlokalizowanym i źle zabezpieczonym składowisku. Zanieczyszczenie to może być utrzymywane przez wiele lat, a substancje toksyczne mogą być pobierane przez rośliny lub mogą migrować, powodując zanieczyszczenie zasobów wód w pobliżu składowiska.



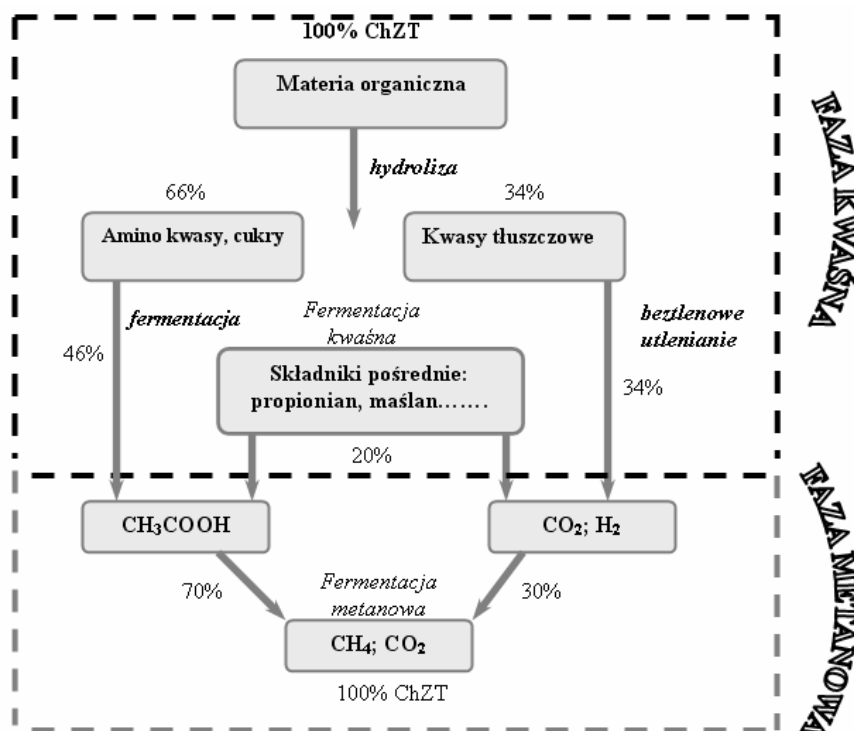
Rys. 1. Czynniki wpływające na powstawanie odcieków na składowiskach odpadów [18]



Rys. 2. Czynniki wpływające na skład odcieków [18]

Zastosowanie odpowiednich barier (np. geomembran) w celu uszczelnienia dna składowiska umożliwia kontrolę przepływu wód dopływających oraz ogranicza groźbę zanieczyszczenia wód podziemnych [1]. Również klimat znacząco wpływa na powstanie odcieku poprzez opady atmosferyczne i odparowanie. Silne mrozy lub wysokie temperatury mogą być przyczyną przeciekania odcieków do wód podziemnych [19]. Na wielu składowiskach odpadów na bieżąco, ze stacji meteorologicznych, zbiera się dane odnośnie do objętości i intensywności odpadów, temperatury powietrza, kierunku i siły przeważającego wiatru, wilgotności powietrza itp. Właściwy sposób składowania odpadów zapewnia odpowiedni transport wody (wilgoci) w złożu. Z kolei dzięki recyrkulacji odcieku możliwa jest optymalizacja procesów zachodzących w składowisku. Nadmierne zagęszczenie złoża odpadów utrudnia lub wręcz uniemożliwia w nim ruch cieczy [1, 17, 20].

Na jakość odcieku wpływają takie czynniki, jak: wiek, opady atmosferyczne, sezonowe wahania pogody, rodzaj i skład odpadów. Wiek składowiska silnie wpływa na skład chemiczny odcieku. Rysunek 3 przedstawia schemat beztlenowego rozkładu materii organicznej występującej na składowisku odpadów miejskich.



Rys. 3. Bilans ChZT w organicznej frakcji miejskiego składowiska [1]

„Młode” składowisko odpadów zawiera duże ilości łatwo biodegradowalnej materii organicznej. Szybka fermentacja beztlenowa na takim składowisku powoduje przetwarzanie produktów hydrolizy do prostych kwasów tłuszczowych [21]. Fermentacja kwaśna

jest dodatkowo przyspieszana przez dużą wilgotność powietrza oraz dużą zawartość wody w stałych odpadach [22]. Początkowa faza procesów na składowisku odpadów jest nazywana **fazą kwaśną (acidogenną)**, która prowadzi do uwolnienia dużych ilości LKT (do 95% zawartości substancji organicznych) [23]. W efekcie powstawania kwasów maleje pH składowiska, co powoduje uwalnianie metali [5]. W fazie tej obserwuje się intensywny wzrost bakterii octowych oraz gwałtowne zużycie substratów organicznych i związków biogenych [20]. Obserwowany jest także szybki wzrost obciążenia odcieków organicznych związkami węgla, co przyczynia się do wzrostu wskaźnika ChZT [17].

Podczas dojrzewiania składowiska odpadów następuje **faza metanowa (metanogenna)**. W fazie tej odczyn odpadów ulega ustabilizowaniu w związku z wykorzystaniem przez bakterie LKT jako źródła węgla [24]. Po osiągnięciu obojętnego odczynu następuje przejście do właściwej fazy rozkładu, która charakteryzuje się złożonymi oddziaływaniami między drobnoustrojami. Bakterie octowe przekształcają dalej krótkołańcuchowe kwasy karboksylowe do octanów, wodorowęglanów i wodoru [17]. W tej fazie produkowany jest metan przy udziale różnych bakterii metanowych. Obserwuje się gwałtowny wzrost produkcji biogazu przy jednoczesnym spadku stężenia organicznych związków węgla. Wraz ze zużyciem rozpuszczalnych substratów (kwasów karboksylowych) szybkość produkcji metanu powoli maleje. Kwasy karboksylowe są zużywane równie szybko, jak są wytwarzane [2]. Następuje też powolna humifikacja związków organicznych zawartych w odpadach [25].

Obecny stan wiedzy na temat przemian zachodzących wewnątrz składowiska pochodzi głównie z obserwacji i badań produktów końcowych, takich jak metan, ditlenek węgla i lotne kwasy tłuszczowe. W literaturze spotyka się kilka alternatywnych podziałów faz rozkładu materii na składowisku. W tabeli 2 przedstawiono charakterystykę składowiska odpadów ze względu na wiek [25]. W polskiej literaturze spotyka się podział stabilizacji składowisk na pięć faz: fazę wstępną (tlenową), fazę przejściową (kwaśną), fazę produkcji kwasów (fazę metanową niestabilną), fazę produkcji metanu (fazę metanową stabilną), fazę dojrzewiania (fazę końcową) [17, 26]. W odciekach „młodych” składowisk lotne kwasy tłuszczowe stanowią prawie 80% wszystkich składników organicznych. Bogacki podaje [27], że stężenie kwasów tłuszczowych w odciekach „świeżych” odpadów wynosiło 5688 mg/dm<sup>3</sup>, natomiast ze „starych” odpadów zaledwie 5 mg/dm<sup>3</sup>.

Tabela 2

Charakterystyka składowiska odpadów ze względu na wiek [25]

Składowisko odpadów	Młode	Średnie	Stare
Wiek [lata]	<5	5÷10	>10
pH	6,5	6,5÷7,5	>7,5
ChZT [mg/dm <sup>3</sup> ]	>10 000	4000÷10 000	<4000
BZT <sub>5</sub> /ChZT	>0,3	0,1÷0,3	<0,1
Związki organiczne	80% LKT	5÷30% LKT + kwasy humusowe i kwasy fulwowe	kwasy humusowe i kwasy fulwowe
Metale ciężkie	małe-średnie	-	małe
Biodegradowalność	znacząca	średnia	mała

Charakterystyka odcieków pochodzących ze składowisk odpadów jest zazwyczaj opisywana za pomocą takich parametrów, jak: chemiczne ChZT i biologiczne BZT<sub>5</sub>

zapotrzebowanie na tlen, pH, zawiesina ogólna, azot amonowy, azot ogólny Kjeldahla, metale ciężkie. Rozporządzenie Ministra Budownictwa z dnia 14 lipca 2006 roku w sprawie sposobu realizacji obowiązków dostawców ścieków przemysłowych oraz warunków wprowadzania ścieków do urządzeń kanalizacyjnych (DzU Nr 136, poz. 963 i 964) oraz Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 lipca 2006 roku w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (DzU Nr 137, poz. 984) podają dopuszczalne wartości wskaźników zanieczyszczenia wód odciekowych. Ocieki pochodzące z „młodych” składowisk charakteryzują się dużymi wskaźnikami zanieczyszczeń w porównaniu z oczyszczonymi ściekami komunalnymi. Dlatego niedopuszczalne jest bezpośrednie odprowadzanie odcieków do naturalnych zbiorników wód [19].

## Regulacje prawne

Na przestrzeni ostatnich dwu stuleci problem wytwarzania i składowania odpadów nabierał coraz większego znaczenia. Podjęto wiele działań uświadamiających o potrzebie ochrony środowiska przed odpadami, celowości selektywnej ich zbiórki, a także dążenia do minimalizacji ich wytwarzania i składowania. W celu poprawy gospodarki odpadami komunalnymi wprowadzono wiele regulacji prawnych, by wyjść naprzeciw potrzebom związanym z ochroną środowiska, ochroną zasobów naturalnych oraz potrzebom społecznym. W Polsce zasadniczymi aktami prawnymi odnoszącym się do problematyki odpadów jest ustawa z 27 kwietnia 2001 (DzU Nr 62, poz. 628 z późn. zm.) oraz Prawo ochrony środowiska (DzU Nr 62, poz. 627) - ramowa regulacja odnosząca się do zagadnień ochrony środowiska we wszystkich niemal jego aspektach. Nowe regulacje prawne w zakresie gospodarki odpadami są zgodne z ustawodawstwem Unii Europejskiej (UE) w zakresie, w jakim odwołują się do ogólnych rozwiązań dotyczących gospodarki odpadami [19]. W 1999 roku Rada UE opracowała dyrektywę dotyczącą składowania odpadów. Określa ona wymagania dla składowisk odpadów w zakresie ich położenia, kontroli oraz ochrony wód i gleby. Bezpośrednim celem, wynikającym z powyższego postanowienia, jest zapobieganie lub minimalizacja negatywnych oddziaływań składowiska na wody gruntowe, powierzchniowe oraz inne elementy środowiska na skutek infiltracji odcieków przedostających się do gruntu ze składowiska [28]. W tym celu w aneksie dyrektywy zostały ustalone wymagania dotyczące zastosowania uszczelnień dna składowiska oraz budowy skarp i grubości warstwy podłoża uzależnionej od rozciągłości warstwy, jej miąższości i współczynnika filtracji. Ponadto w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 24.03.2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań dotyczących lokalizacji, budowy, eksploatacji i zamknięcia, jakim powinny odpowiadać poszczególne typy składowisk odpadów (DzU Nr 61, poz. 549), opisano niezbędność systemu drenażu wód odciekowych oraz wydzielonego zbiornika do gromadzenia odcieków przy braku odprowadzania odcieków bezpośrednio do kanalizacji. Dla składowisk przyjmujących odpady komunalne wymagany jest dodatkowo monitoring parametrów wskaźnikowych (np. zawartość ogólnego węgla organicznego, zawartości metali ciężkich, sumy stężeń wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA [PAH])) dla wód powierzchniowych i odciekowych, o których jest mowa w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2002 r. Minimalna częstotliwość badań wód po-

wierzchniowych, odciekowych oraz podziemnych w poszczególnych fazach jego eksploatacji została przedstawiona w tabeli 3 [29].

Tabela 3

Częstotliwość badań wód powierzchniowych, odciekowych i podziemnych w poszczególnych fazach eksploatacji składowiska odpadów [29]

Parametr	Częstotliwość pomiarów w poszczególnych fazach		
	przedeksploatacyjna	eksploatacyjna	poeksploatacyjna
<b>Wody powierzchniowe</b>			
<b>Natężenie przepływu</b>	jednorazowo	co 3 miesiące	co 6 miesięcy
<b>Skład</b>	jednorazowo	co 3 miesiące	co 6 miesięcy
<b>Wody odciekowe</b>			
<b>Objętość</b>	brak	co 1 miesiąc	co 6 miesięcy
<b>Skład</b>	brak	co 3 miesiące	co 6 miesięcy
<b>Wody podziemne</b>			
<b>Poziom</b>	jednorazowo	co 3 miesiące	co 6 miesięcy
<b>Skład</b>	jednorazowo	co 3 miesiące	co 6 miesięcy

Przedstawione powyżej ustawy i dyrektywy stanowią zaledwie podstawę wszystkich regulacji prawnych, tworzących system gospodarki odpadami. Zawarte w ustawach różne uregulowania sprzyjają nie tylko efektywniejszemu zapobieganiu wytwarzania odpadów, ale także wymuszają ograniczenia negatywnego wpływu na środowisko. Jednocześnie dynamiczny postęp technologiczny w zagospodarowaniu i unieszkodliwianiu odpadów pociąga ze sobą nieustanną potrzebę zmiany obowiązujących regulacji prawnych.

### **Metodyki i wyniki oznaczeń LKT w różnych mediach składowiska odpadów**

Wiele placówek badawczo-naukowych pracuje nad poznaniem zjawisk, zachodzących podczas składowania odpadów, oraz opracowaniem metod, pozwalających na przyspieszenie stabilizacji składowisk oraz recyrkulacji odcieków [30]. Na podstawie tych informacji oraz przeprowadzonych badań można ocenić stopień zagrożenia wpływem składowiska odpadów na stan środowiska. Pomiarzy te głównie dotyczą składu odcieku oraz stanu wód podziemnych, powierzchniowych, atmosfery oraz gruntu. W literaturze wiele uwagi poświęca się modelom, symulującym prace składowiska (np. odpowiednim bioreaktorom). Szczegółowe oznaczanie lotnych kwasów tłuszczowych, na każdym etapie składowania, umożliwia lepsze zrozumienie biochemicznych procesów zachodzących w składowiskach. Mimo dużego zainteresowania tematyką obecności kwasów na składowiskach niewiele uwagi poświęca się samej metodyce oznaczania tych analitów. Liczne publikacje przedstawiają głównie wpływ lotnych kwasów tłuszczowych na efektywność procesów, zachodzących podczas składowania odpadów. Mało uwagi poświęca się metodyce przygotowania próbek odcieków oraz parametrom oznaczeń końcowych. Poza tym w większości prac szacowano jedynie sumaryczne ilości LKT bez określania stężenia poszczególnych kwasów. Uzyskane wyniki mogą być pomocne w wyborze dokładniejszej techniki analitycznej, pozwalającej oznaczać poszczególne kwasy.

Metodyki, korzystające z miareczkowania, zazwyczaj poprzedzane są etapem izolacji analitów z matrycy pierwotnej za pomocą destylacji, pozwalają określać jedynie sumaryczną zawartość LKT. Techniki te charakteryzują się małą dokładnością i selektyw-



nością oraz wysoką granicą oznaczalności [31, 32]. Sponza i Agdag [33] wykorzystali technikę miareczkowania do oznaczania LKT w bioreaktorze, imitującym warunki panujące na składowisku. Badali oni wpływ recyrkulacji odcieku na proces beztlenowego oczyszczania odpadów domowych. Gdy dominującą fazą w reaktorze była faza kwaśna, uzyskiwali największe wartości stężenia LKT. Na podstawie przeprowadzonych badań Sponza i Agdag zauważyli, że większe wartości stężeń kwasów występowały przy intensywniejszej recyrkulacji oraz większym udziale biodegradowalnych odpadów. Bohdziewicz i współprac. [34] w celu oznaczenia stężenia LKT obecnych w odcieku „starego” składowiska zastosowali technikę destylacyjną połączoną z miareczkowaniem (Buchi 323 - Distillation Unit). Uzyskali oni sumaryczną zawartość LKT w próbce odcieku rzędu od 500 do 900 mg  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{dm}^3$ . Twierdzą, iż oczyszczanie odcieku ze składowisk odpadów jest trudniejsze niż oczyszczanie ścieków miejskich. Dlatego w celu usunięcia zanieczyszczeń z odcieku proponują połączenie kilku pojedynczych operacji oczyszczania: procesu biologicznego, chemicznego utleniania siarczanem żelaza(III) i technik membranowych (ultrafiltracji lub odwróconej osmozy).

Najbardziej odpowiednimi technikami oznaczania LKT są techniki chromatograficzne, gdyż umożliwiają identyfikację i ilościowe oznaczenie poszczególnych lotnych kwasów tłuszczowych. Przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii jonowej (IC) Manning i Bewsher [35] oznaczali zawartość kwasów organicznych w próbce odcieków z miejskiego składowiska odpadów. W celu wyeliminowania wpływu węglanu na wyniki oznaczeń LKT oraz ich soli do badanych próbek dodawano kwasu oktanosulfonowego (eluentu). Następnie próbkę mieszano przy użyciu ultradźwięków i rozcieńczano do dalszej analizy. W odciekach stężenia octanów i propanianów osiągały odpowiednio wartości nawet 10000 i 3000  $\text{mg}/\text{dm}^3$ ; dlatego też niezbędne było rozcieńczenie próbki przed wprowadzeniem do układu chromatograficznego. Na „starym” składowisku zawartość kwasów organicznych i ich soli była dużo mniejsza niż na „nowym”. W tabeli 4 przedstawiono wartości stężeń LKT i ich soli w odciekach składowisk klasyfikowanych ze względu na wiek, oznaczonych za pomocą chromatografii jonowej. Granica oznaczalności badanych kwasów i ich soli w odciekach wynosiła 5  $\text{mg}/\text{dm}^3$ .

Tabela 4

Wartości stężeń anionów LKT w odciekach oznaczonych za pomocą IC [35]

LKT / (reszta kwasowa)	Stężenie [ $\text{mg}/\text{dm}^3$ ]		
	Składowisko odpadów		
	Młode	Średnie	Stare
<b>Octan</b>	6940	670	0
<b>Propionian</b>	2810	200	0
<b>Izomaślan</b>	320	0	0
<b>Maślan</b>	3380	5	0
<b>Izowalerian</b>	280	5	0
<b>Walerian</b>	1460	5	0

Wraz ze wzrostem długości łańcucha alkilowego zauważalnie spadała zawartość kwasów w odciekach (tab. 5).

Zastosowanie chromatografii jonowej wymaga często skomplikowanej procedury oczyszczania próbki, aby zmniejszyć interferencje oraz osiągnąć odpowiednio niską granicę oznaczalności. Dlatego w licznych publikacjach naukowych jako przydatne na-

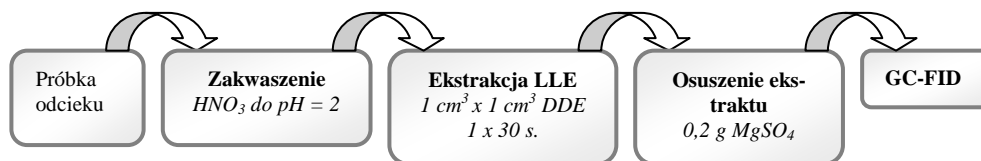
rzędzie do oznaczania lotnych kwasów tłuszczowych zarówno w próbkach wodnych, jak i gazowych, pochodzących ze składowiska odpadów, stosowano chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID). Technika GC-FID umożliwia identyfikację i ilościowe oznaczenie poszczególnych kwasów tłuszczowych. Manni i Caron [8] zaprezentowali metodykę oznaczania wolnych LKT w odciekach, polegającą na ekstrakcji ciecz-ciecz (LLE) na etapie przygotowania próbek oraz GC-FID na etapie oznaczeń końcowych. Eter dietylowy (DDE) został zastosowany jako ekstrahent. Stosowano jednokrotną ekstrakcję w czasie 30 s. W procesie ekstrakcji do fazy eterowej przechodziło 28,6% kwasu octowego i 64,3% kwasu propionowego. Schemat blokowy oznaczania LKT w próbkach odcieków wg Manniego i Carona [8] został przedstawiony na rysunku 4.

Tabela 5

Minimalne, maksymalne i średnie wartości stężeń LKT w próbkach odcieków [35]

LKT	Stężenie [mg/dm <sup>3</sup> ]		
	Minimalne	Maksymalne	Średnie
LKT (jako C)	<2	3672	540
Kwas butanowy	n.w.	562	69,5
Kwas heksanowy	n.w.	197	25,8
Kwas izobutanowy	n.w.	237	22,4
Kwas izoheksanowy	n.w.	9,4	1,2
Kwas izopentanowy	n.w.	234	34,5
Kwas octowy	n.w.	1321	219
Kwas pentanowy	n.w.	302	36,7
Kwas propionowy	n.w.	1371	131

\*n.w. - nie wykryto



Rys. 4. Schemat blokowy oznaczania LKT w próbkach odcieków [8]

Z wykorzystaniem tej metodyki kwas octowy oznaczano w próbce modelowej na poziomie 1369 mg/dm<sup>3</sup> z ok. 5% precyzją oraz 3% dokładnością [8]. W tabeli 6 zostały porównane wartości stężeń LKT oznaczanych tą metodyką w próbce modelowej z wartościami oczekiwanymi.

Tabela 6

Porównanie wartości stężeń LKT oznaczanych techniką LLE-GC-FID w próbce modelowej z wartościami oczekiwanymi [8]

Anality	C2	C3	iC4	C4	iC5	C5	iC6	C6	C7
Stężenie uzyskane [mg/dm <sup>3</sup> ]	1442	160,7	226,3	220,5	290,7	290,1	379,1	381,9	446,4
Wartość wyjściowa stężenia [mg/dm <sup>3</sup> ]	1369	180,2	240,2	240,2	300,3	300,3	360,3	360,3	420,4

Manni i Caron nie badali rzeczywistych próbek ze składowiska. Przedstawione przez nich wyniki są jedynie wartościami stężeń LKT w próbkach modelowych uzyskane z wykorzystaniem techniki LLE-GC-FID.

Według El-Fadel i współprac. [18], stężenie całkowitej zawartości lotnych kwasów w odcieku pochodzącym ze składowiska odpadów miejskich może wynosić od 0 do 19 000 mg CH<sub>3</sub>COOH/dm<sup>3</sup>.

Stosowanie tradycyjnego (tlenowego) procesu unieszkodliwiania odcieków wiąże się z dużymi nakładami finansowymi (energetycznymi). Korzystniejszą alternatywą eliminacji części biodegradowalnej z odcieków jest zastosowanie reaktora [36]. Stosowanie bioreaktorów przyspiesza degradację odpadów miejskich oraz zwiększa produkcję metanu [37].

Głównym celem badań Garcia i współprac. [38] było opracowanie skutecznego sposobu usuwania organicznych zanieczyszczeń zawartych w odciekach z miejskiego składowiska odpadów oraz porównanie w dwóch różnych temperaturach (17 i 35°C) procesu beztlenowego oczyszczania odcieków w modelowym reaktorze (UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*). Reaktor UASB jest szczególnym rodzajem reaktora do prowadzenia fermentacji metanowej ścieków. Wykorzystuje się w nim podatność zanieczyszczeń organicznych na rozkład w warunkach beztlenowych. Składa się on z dwóch części - przepływowej i sedymentacyjno-rozdzielczej. Procesy fermentacyjne zachodzą w dwóch zasadniczych etapach. Pierwszy etap obejmuje szybkie fazy hydrolizy acidolitycznej i octanogennej, natomiast druga faza - metanizacji. LKT były oznaczane za pomocą techniki GC-FID. Próbkę cieśla przed wprowadzeniem do chromatografu gazowego została zakwaszona kwasem fosforowym(V) do pH = 2. Odcieki okazały się być biodegradowalne w 96,3%. Stosunek zawartości propionianów do octanów wahał się w zakresie od 0,42 do 0,85. Stwierdzono, że frakcja organiczna, powstająca na „młodym” składowisku, była łatwiej biodegradowalna w reaktorze UASB w wyższej temperaturze. Głównym problemem oczyszczania odcieków w bioreaktorze były zmiany składu odcieków, wynikające z opadów deszczu oraz zmian składu miejskich odpadów.

Tabela 7

Wartości stężeń LKT w kolumnach reakcyjnych zasilanych wodą oraz odciekiem po obróbce tlenowej i beztlenowej [37]

Stężenie [mgC/dm <sup>3</sup> ]			
Kwas	Woda wodociągowa 40 dzień	Odciek po obróbce tlenowej 24 dzień	Odciek po obróbce beztlenowej 10 dzień
octowy	800	1200	1600
propionowy	240	800	-
masłowy	-	800	1530

He i współprac. [37] porównywali zawartość LKT oznaczanych za pomocą techniki GC-FID, w kolumnach reaktorów symulujących składowisko, zasilanych wodą wodociągową, odciekiem po obróbce tlenowej oraz odciekiem po obróbce beztlenowej. Najszybciej powstającym LKT był kwas octowy, a następnie kwas masłowy i propionowy. Kolumna zasilana wodą wodociągową największe stężenia kwasów osiągała dopiero

w ok. 40 dniu procesu, natomiast kolumna z odciekami po obróbce beztlenowej już w dziesiątym dniu. W tabeli 7 zostały przedstawione maksymalne wartości stężeń kwasów karboksylowych, znajdujących się w kolumnach reakcyjnych wypełnionych wodą wodociągową, odciekami pochodzącym z obróbki tlenowej lub beztlenowej.

Przez pierwsze 70 dni we wszystkich kolumnach największe wartości stężeń osiągały kolejno kwasy: octowy, masłowy i propionowy. Po tym okresie najszybciej spadało do zera stężenie kwasu octowego, a najwolniej kwasu propionowego.

Jak wskazują uzyskane dane, zasilanie różnymi roztworami kolumn reakcyjnych wpływa na szybkość procesu hydrolizy oraz na skład produktów fermentacji.

Ejlertsson i współprac. [4], korzystając z modelowego reaktora symulującego prace składowiska, przedstawili wpływ obecności organicznych zanieczyszczeń w odpadach miejskich na procesy degradacyjne. Do oznaczania LKT wykorzystali technikę GC-FID. W fazie początkowej (pierwsze 100 dni) ciekłe próbki zawierały znaczne ilości LKT. Dominującym kwasem był kwas octowy, którego stężenie osiągnęło wartość aż  $1202 \text{ mg/dm}^3$ . Po okresie 200 dni stężenie kwasów spadło do wartości poniżej granicy oznaczalności ( $3 \text{ mg/dm}^3$ ).

Natomiast Jianguo i współprac. [39] badali zachowanie się LKT w bioreaktorze wypełnionym recyrkulowanym i nierecyrkulowanym odciekami. W obydwu reaktorach następował wzrost stężenia LKT w fazie kwaśnej, który mieścił się w granicach  $11,85\text{--}9313,00 \text{ mgC/dm}^3$ . Sumaryczna zawartość LKT-C w odcieku pochodzącym z miejskiego składowiska była rzędu  $126\text{--}5860 \text{ mg/dm}^3$ .

Lotne kwasy tłuszczowe są dobrym wskaźnikiem procesu rozkładu odpadów. Na podstawie składu i stężenia LKT w próbkach ciekłych, gazowych i stałych można śledzić przebieg procesu degradacji na składowiskach odpadów.

Davoli i współprac. [6] badali natężenie emisji związków odorowych z miejskiego składowiska odpadów za pomocą techniki GC-MS. Ze względu na poziom stężeń organicznych zanieczyszczeń (rzędu  $\text{ng/dm}^3$ ), w tym LKT, przeprowadzono etap izolacji i wzbogacania analitów za pomocą mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). Ze względu na silne właściwości hydrofilowe analizowanych polarnych analitów, w szczególności LKT, wybrano włókno mieszane PDMS-DVB/CAR. Gazowe próbki były pobierane bezpośrednio ze składowiska oraz jego okolic w różnych miesiącach roku. W gazach pochodzących z „świeżych” odpadów zawartość kwasu masłowego wynosiła  $0,03 \text{ }\mu\text{g/dm}^3$ . Natomiast procentowy udział LKT w emisji z okolic składowiska odpadów przeliczony na kwas masłowy wynosił 0,10%. Na wejściu do skrubera stężenia kwasów octowego, masłowego, heksanowego wynosiło odpowiednio: 2,60; 1,05 oraz  $1,38 \text{ }\mu\text{g/dm}^3$ . Kwasy: masłowy i heksanowy zostały ilościowo usunięte w skruberze, natomiast stężenie kwasu octowego w gazie opuszczającym skruber wynosiło  $1,19 \text{ }\mu\text{g/dm}^3$  [6].

Dincer i współprac. [40] oznaczali LKT emitowane ze składowiska odpadów medycznych w maju i we wrześniu za pomocą techniki GC-MS sprzężonej z termiczną desorpcją. Średnia temperatura w maju w tym rejonie wynosi  $19^\circ\text{C}$ , a we wrześniu  $25^\circ\text{C}$ . W maju dominującymi kwasami w mogilnikach tego składowiska były kwasy octowy i izomasłowy, których średnie wartości stężeń wynosiły odpowiednio 22,4 i  $3,56 \text{ }\mu\text{g/m}^3$ . Natomiast we wrześniu stężenie kwasu octowego było mniejsze. Gazy nad składowiskiem odpadów zawierały większe stężenia LKT w maju niż we wrześniu. Przykładowo stężenie kwasu izowalerianowego w maju wynosiło  $2,34 \text{ }\mu\text{g/m}^3$ , a we wrześniu

0,20  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Mniejsze wartości stężeń LKT obserwowane we wrznięciu mogły być spowodowane mniejszą szybkością degradacji wynikającą z chemicznego usuwania odorów albo sorpcji LKT na materii o charakterze zasadowym [40].

W przypadku braku właściwych zabezpieczeń na składowisku odpadów odcieki mogą infiltrować przez podłoże i powodować nie tylko zanieczyszczenie wód powierzchniowych, ale także gleby, lotnymi kwasami tłuszczowymi.

Hrapovic i Rowe [7] w celu oznaczenia LKT w gliniastej glebie składowiska odpadów zastosowali SPME na etapie izolacji i wzbogacenia próbki oraz technikę GC-FID na etapie oznaczeń końcowych. Kwasy octowy, propionowy i masłowy były ekstrahowane przy użyciu włókna PDMS-CAR (*Polidimetylosiloksan-Carboxen*). Granica oznaczalności dla kwasu octowego wynosiła  $3 \div 10 \text{ mg}/\text{dm}^3$ . Kwas izowalerianowy był stosowany jako wzorzec wewnętrzny. Wyniki badań ukazują, że kwasy octowy, propionowy i masłowy poddawane są rozkładowi przez mikroorganizmy znajdujące się w glebie. W górnej warstwie gleby, znajdującej się najbliższej składowanych odpadów, zauważalna była wzmoczona aktywność mikrobiologiczna. Stężenie LKT w próbce gliny w przeliczeniu na rozpuszczalny węgiel organiczny wynosiło  $2400 \text{ mg}/\text{dm}^3$ .

## Podsumowanie

Składowanie odpadów pomimo zastosowania nawet najlepszych zabezpieczeń będzie zawsze elementem systemu gospodarowania odpadami uciążliwym dla środowiska. Zachodzące w fazie kwaśnej procesy biodegradacji organicznych składników odpadów mogą prowadzić do zanieczyszczenia lotnymi kwasami tłuszczowymi odcieków, a następnie wód powierzchniowych i podziemnych oraz gleby i powietrza w rejonie składowiska. Stopień zanieczyszczenia, a tym samym jakość tych elementów środowiska wymaga pomiaru zawartości LKT. Procesy biochemiczne prowadzące do konwersji materii organicznej do metanu zależą od stężenia LKT, na co wskazują badania nad pracą bioreaktora w skali laboratoryjnej. Te badania również wymagają dostępności metodyk oznaczania nie tylko sumy, ale także zawartości poszczególnych LKT. Dużą rolę w oznaczaniu indywidualnych LKT w różnych próbkach pobieranych na składowiskach odpadów spełnia chromatografia gazowa i jest ona coraz szerzej stosowana. Ze względu na różnorodność i złożoność matryc oraz często konieczność oznaczania małych stężeń próbki muszą być na ogół w szczególny sposób przygotowywane. Próbki wodne mogą być także bezpośrednio dozowane do chromatografu gazowego, jeżeli stężenie jest wystarczająco duże, układ chromatograficzny nie jest wrażliwy na wodę, a materia w nich zawarta zostanie oddzielona od próbki.

## Literatura

- [1] Renou S., Givaudan J.G., Poulain S., Dirassouyan F. i Moulin P.: J. Hazard. Mater., 2008, **150**, 468-493.
- [2] Kjeldsen P., Barlaz M.A., Rooker A.P., Baun A. i Christensen T.H.: Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., 2002, **32**, 297-336.
- [3] Siegart I. i Banks C.: Process Biochem., 2005, **40**, 3412-3418.
- [4] Ejlertsson J., Karlsson A., Lagerkvist A., Hjertberg T. i Svensson B.H.: Adv. Environ. Res., 2003, **7**, 949-960.
- [5] Bozkurt S., Moreno L. i Neretnieks I.: Sci. Total. Environ., 2000, **250**, 101-121.
- [6] Davoli E., Gangai M.L., Morselli L. i Tonelli D.: Chemosphere, 2003, **51**, 357-368.
- [7] Hrapovic L. i Rowe R.K.: J. Contam. Hydrol., 2002, **56**, 221-242.

- [8] Manni G. i Caron F.: *J. Chromatogr. A*, 1995, **690**, 237-242.
- [9] Abalos M., Bayona J.M. i Pawliszyn J.: *J. Chromatogr. A*, 2000, **873**, 107-115.
- [10] Światłowska J., Zaborowska A. i Zygmunt B.: *Analityka*, 2006, **2**, 4-6.
- [11] Wells J.M. i Zhou You L.: *J. Chromatogr. A*, 2000, **885**, 237-250.
- [12] Howard P.H.: *Handbook of Fate and Exposure Data for Organic Chemicals*, Volume III Pesticides, Lewis Publishers, USA, 1991.
- [13] Kai P. i Schafer A.: Identification of Key Odour Components in Pig House Air using Hyphenated Gas Chromatography Olfactometry, *Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development*. Manuscript BC 04 006. Vol. VI, December, 2004.
- [14] Poradnik fizykochemiczny, praca zbiorowa. WNT, Warszawa 1974.
- [15] Pan L., Adams M. i Pawliszyn J.: *Anal. Chem.*, 1995, **67**, 4396-4403.
- [16] Wardencki W., Curyło J. i Namieśnik J.: *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2007, **70**, 275-288.
- [17] Kozłowska B., *Ochrona Środowiska - wybrane zagadnienia*. Wyd. Polit. Łódzkiej, Łódź 2001.
- [18] El-Fadel M., Bou-Zeid E., Chahine W. i Alayli B.: *Waste Manage.*, 2002, **22**, 269-282.
- [19] [http://www.mos.gov.pl/odpady/wydawanie\\_decyzji/zabezpieczenie.pdf](http://www.mos.gov.pl/odpady/wydawanie_decyzji/zabezpieczenie.pdf)
- [20] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2002 r. w sprawie zakresu, czasu, sposobu oraz warunków prowadzenia monitoringu składowisk odpadów (DzU Nr 220, poz. 1858).
- [21] Welander U., Henryson T. i Welander T.: *Water Res.*, 1997, **31**, 2351-2355.
- [22] Wang F., Smith D.W. i El-Din M.G.: *J. Environ. Eng. Sci.*, 2003, **2**, 413-427.
- [23] Harsem J.: *Water Res.*, 1983, **17**, 699-705.
- [24] Barlaz M.A., Schaefer D.M. i Ham R.K.: *Appl. Environ. Microb.*, 1989, **35**, 55-65.
- [25] Chian E.S.K. i DeWalle F.B.: *J. Environ. Eng. Div.*, 1976, **102**, 411-431.
- [26] Żygadło M.: *Gospodarka odpadami komunalnymi*. Wyd. Polit. Świętokrzyskiej, Kielce 1998.
- [27] Bogacki A.: *Eko-problemy*, 1993, **23**, 14-16.
- [28] Dyrektywa Rady 99/31/UE z dnia 26 kwietnia 1999 r. w sprawie składowania odpadów.
- [29] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2002 r. w sprawie zakresu, czasu, sposobu oraz warunków prowadzenia monitoringu składowisk odpadów (DzU Nr 220, poz. 1858).
- [30] Kaczorek K. i Ledakowicz S.: *Biotechnologia*, 2005, **2**, 69-87.
- [31] Lahav O. i Loewenthal R.E.: *Water SA*, 2000, **26**, 389-392.
- [32] Kryłow M. i Lach A.: *Mat. Seminarium P.K. Metody oznaczania wskaźników zanieczyszczeń organicznych*. Kraków 1998.
- [33] Sponza D.T. i Agdag O.N.: *Process Biochem.*, 2004, **39**, 2157-2165.
- [34] Bohdziewicz J. i Kwarciak A.: *Desalination*, 2008, **222**, 128-134.
- [35] Manning D.A.C. i Bewsher A.: *J. Chromatogr. A*, 1997, **770**, 203-210.
- [36] Gladchenko M. i Kalyuzhnyi S.: *Inż. Ochr. Środow.*, 2003, **6**, 107-119.
- [37] He P.-J., Shao L.-M., Qu X., Li G.-J. i Lee D.-J.: *Chemosphere*, 2005, **59**, 837-844.
- [38] Garcia H., Rico J.L. i Garcia P.A.: *Bioresour. Technol.*, 1996, **58**, 273-277.
- [39] Jianguo J., Guodong Y., Zhou D., Yunfeng H., Zhonglin H., Xiangming F., Shengyong Z. i Chaoping Z.: *Waste Manag.*, 2007, **27**, 893-901.
- [40] Dincer F., Odabasi M. i Muezzinoglu A.: *J. Chromatogr. A*, 2006, **1122**, 222-229.

## VOLATILE FATTY ACIDS IN A LANDFILL - OCCURRENCE AND DETERMINATION

**Abstract:** Volatile fatty acids (VFAs) are formed in the process of biodegradation of organic matter and therefore they are commonly present in municipal solid waste landfills, where they play a crucial role in converting organic matter to methane. Optimization of this process needs the knowledge and control of VFA content. Since VFAs also have a negative effect on the environment quality their content should be measured also in raw and treated leachate surface and groundwater and air in the area of the landfill. The most appropriate technique to determine individual VFAs is gas chromatography. The samples must be properly prepared before they can be introduced into GC for analysis. The sample preparation is generally based on VFA isolation, often accompanied by enrichment; though aqueous samples, after suspended matter removal, can also be injected to some GC systems.

**Keywords:** volatile fatty acids, gas chromatography, municipal landfill, leachates

Monika KOSIKOWSKA<sup>1\*</sup> i Marek BIZIUK<sup>1</sup>

## PRZEGLĄD METOD OZNACZANIA POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW W PRÓBKACH POWIETRZA

### METHODS OF DETERMINATION OF PESTICIDES RESIDUES IN ATMOSPHERE - A REVIEW

**Abstrakt:** Pesticyny to liczna i chemicznie zróżnicowana grupa związków. Są one powszechnie używane na całym świecie do niszczenia i unieszkodliwiania organizmów niebezpiecznych dla ludzi i produktów. Do ochrony produktów i upraw stosuje się pestycyny, które w różny sposób trafiają do atmosfery. Oznaczanie zawartości pestycydów w powietrzu jest niezmiernie ważne, gdyż transport atmosferyczny jest jednym z podstawowych źródeł zanieczyszczenia środowiska pestycydami, w tym terenów nawet bardzo odległych od miejsc, w których je zastosowano. Analiza próbek powietrza jest o wiele bardziej kłopotliwa niż np. próbek wody czy gleby. W powietrzu stężenie pestycydów jest znacznie mniejsze. Do analizy próbek powietrza niezbędne jest zastosowanie aparatury oddzielającej powietrze od cząstek stałych. Etapy analizy oznaczania pestycydów w powietrzu to: izolacja, wzbogacenie, oczyszczenie i oznaczenia końcowe.

**Słowa kluczowe:** pestycyny, atmosfera, pył zawieszony, przygotowanie próbek, ekstrakcja, oczyszczanie, techniki oznaczeń końcowych

## Wprowadzenie

Pesticyny należą do wielu różnych grup związków chemicznych. Są one bardzo powszechnie stosowane ze względu na ich rozległy zakres działania. Umożliwiają one kontrolę ilości i jakości żywności poprzez niszczenie chwastów i szkodników oraz pomagają ograniczyć wiele chorób ludzi przenoszonych przez insekty lub gryzonie [1].

Pesticyny są związkami o średniej lotności. Ich aktywność może być klasyfikowana w rozmaity sposób:

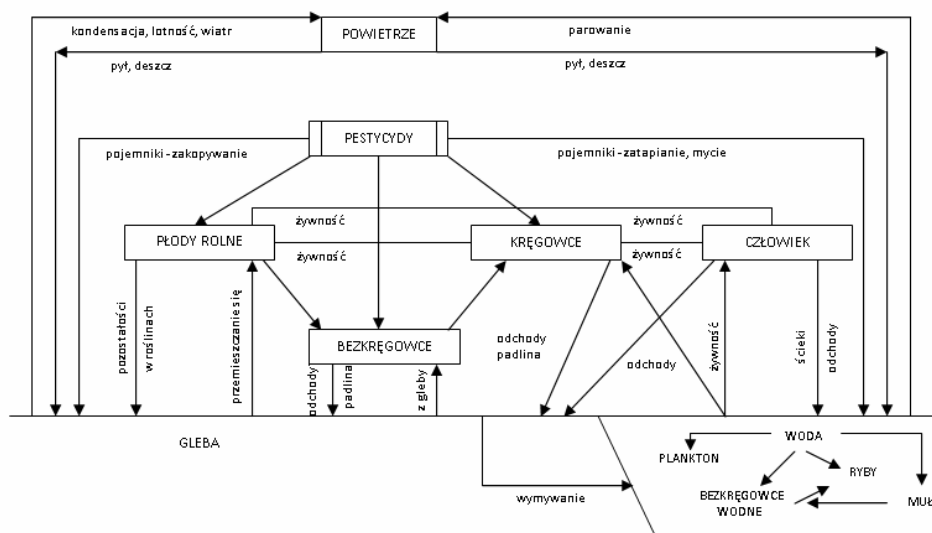
- w zależności od struktury chemicznej:
  - pestycyny nieorganiczne,
  - pestycyny organiczne;
- w zależności od typu organizmów, na które działają:
  - zoocydy (insektocydy, rodentocydy, bakteriocydy, larwicydy itd.),

<sup>1</sup> Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, fax 058 347 17 83, tel. 058 347 26 94, email: biziuk@chem.pg.gda.pl

\* Autor do korespondencji: email: monika@kosikowski.pl

- herbicydy,
- fungicydy,
- w przypadku roślin (regulatory wzrostu, synergetyki, desykanty, defloranty);
- w zależności od grupy chemicznej:
  - chloroorganiczne,
  - fosforoorganiczne,
  - pochodne kwasu karbaminowego (uretany),
  - pochodne kwasów fenoksykarboksylowych,
  - pochodne triazynowe.

Szerokie wykorzystywanie pestycydów wpływa na rosnące zanieczyszczenie nie tylko wody i gleby, ale również powietrza (rys. 1). Jest to wywołane unoszeniem się pestycydów podczas aplikacji (rozpylania) oraz emisją poaplikacyjną. Podczas rozpylania pestycydów 30÷50% rozpylanej ilości przedostaje się do atmosfery. Efekt ten wywołany jest przez lotność pestycydów. Pod terminem emisja poaplikacyjna kryją się takie zjawiska, jak: erozja wietrzna gleby i parowanie pestycydów z powierzchni gleby lub roślin. Pestycydy w atmosferze, w zależności od ich trwałości, mogą być niszczone, transportowane na duże odległości i osadzone. Po aplikacji pestycydy występują w atmosferze w fazie gazowej, zaadsorbowane na cząstkach stałych lub są rozpuszczone w parze wodnej.



Rys. 1. Obieg pestycydów w środowisku [1]

Oznaczanie zawartości pestycydów w powietrzu jest niezmiernie ważne, gdyż transport atmosferyczny jest jednym z podstawowych źródeł zanieczyszczenia środowiska pestycydami, w tym terenów nawet bardzo odległych od miejsc, w których je zastosowano.

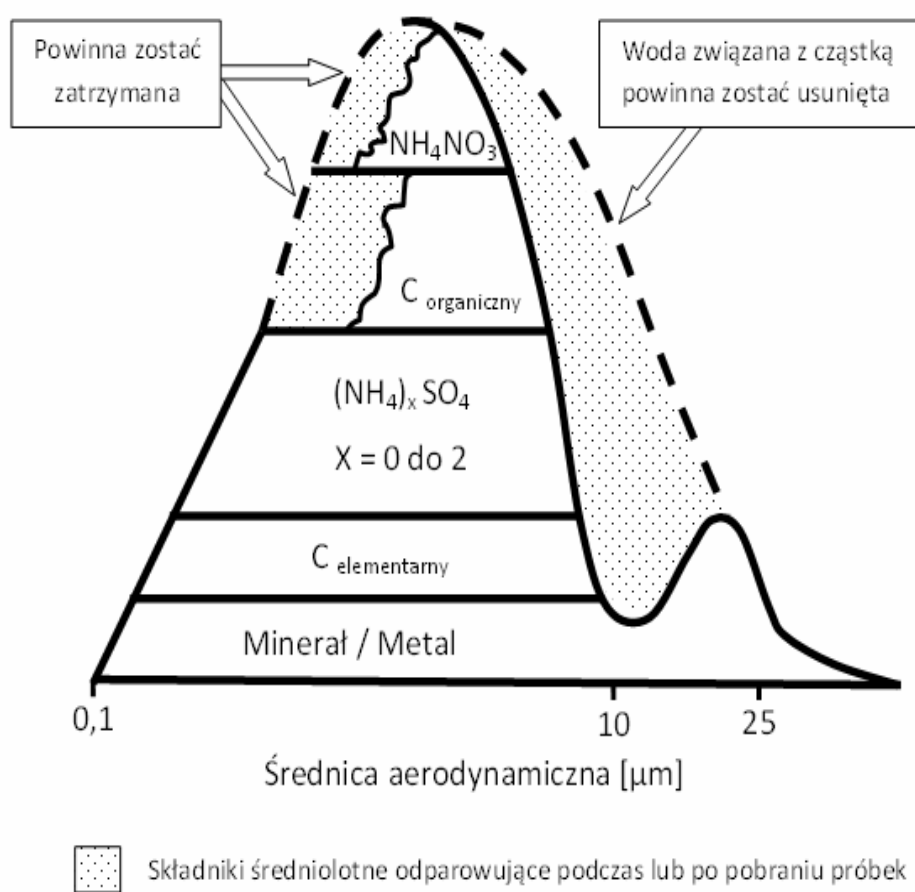
Pestycydy charakteryzują się różnymi właściwościami fizycznymi i chemicznymi oraz małą zawartością w próbkach środowiskowych. Dlatego do oznaczania pestycydów



w środowisku wymagana jest specjalna procedura analityczna, która umożliwi wykrywanie jednocześnie dużej liczby związków. W wielu przypadkach podczas oznaczania pestycydów konieczna jest izolacja związków ze złożonej matrycy oraz ich wzbogacanie przed oznaczeniem końcowym.

Analiza próbek powietrza jest bardziej skomplikowana niż próbek wody czy gleby. Do badania próbek powietrza potrzebne są urządzenia, które odseparowują fazę gazową od cząstek stałych (pyłu, kurzu). Urządzenia te przepuszczają przez siebie duże objętości powietrza i wzbogacają pestycydy na stałych sorbentach, przy czym w fazie gazowej występują niewielkie zawartości pestycydów. Oznaczanie pestycydów w powietrzu najczęściej przeprowadza się w opadach atmosferycznych lub w pyłach.

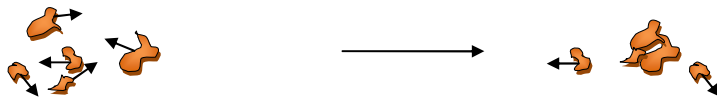
Pył PM (*Particulate Matter*) jest jednym z potencjalnych zagrożeń zdrowia wywołanych zanieczyszczeniem powietrza (rys. 2). Cząstki zawarte w powietrzu dostają się do niego poprzez emisję pierwotną lub w wyniku emisji wtórnej (różne reakcje zachodzące podczas transportu gazów oraz lotnych związków organicznych na odległość) [2].



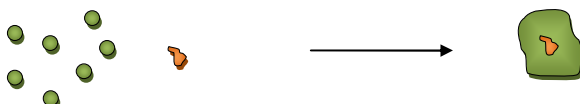
Rys. 2. Główne składniki średniolotne i nielotne w  $\text{PM}_{2,5}$  [3]

**Procesy formowania się pyłu to:**

- koagulacja: cząstki zderzają się ze sobą, tworząc większe ziarna



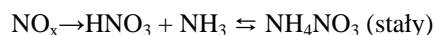
- kondensacja: gazy kondensują się na małej cząstce stałej i tworzą ciekłą kroplę



- procesy chmura/mgła: gazy rozpuszczają się w kropli wody i reagują chemicznie; cząstki stałe powstają, gdy woda odparuje



- reakcje chemiczne: gazy reagują ze sobą, tworząc cząstki (przy odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności względnej)



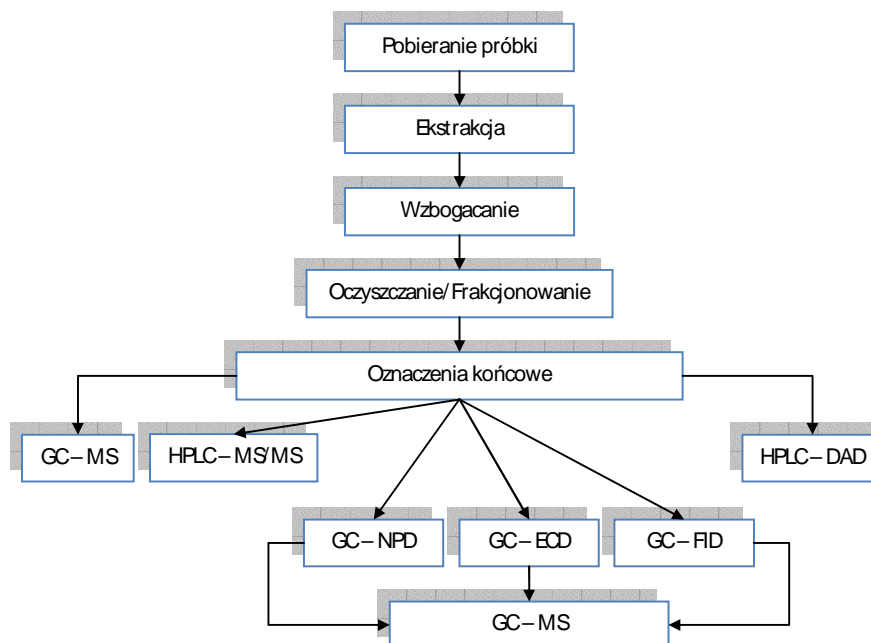
Atmosferyczny pył zawieszony składa się z mieszaniny stałych cząstek, które są wprowadzane do atmosfery ze źródeł antropogenicznych i przyrodniczych i posiada różne rodzaje właściwości morfologicznych, fizycznych oraz chemicznych w różnych obszarach występowania. PM zawiera jony nieorganiczne, związki metaliczne, węgiel i związki organiczne. Frakcja organiczna jest bardzo złożona i zawiera setki związków organicznych. Pierwotne cząstki są emitowane bezpośrednio przez źródło. Wtórne cząstki są formowane z gazów poprzez reakcję chemiczną w atmosferze. Bierze w tym udział tlen atmosferyczny, para wodna, ozon, rodniki, takie jak wodorotlenowy i azotanowy, oraz zanieczyszczenia: ditlenek siarki, tlenki azotu, gazy organiczne pochodzące ze źródeł naturalnych i antropogenicznych.

**Metody przygotowania próbek środowiskowych**

Pestycydy w atmosferze mogą być oznaczane w dwóch rodzajach próbek:

- w próbkach pyłów atmosferycznych,
- w próbkach powietrza.

Schemat oznaczania pestycydów w atmosferze przedstawia rysunek 3.



Rys. 3. Schemat oznaczania pestycydów w powietrzu

### Metody pobierania i wstępnego przygotowania próbek pyłów i fazy gazowej

Konwencjonalne metody pobierania próbek gazowych, w których oznaczane są pestycydy, polegają na przepuszczeniu określonej objętości powietrza przez stały sorbent. Do tego celu potrzebne są pompy i przepływomierze. Drogie pompy i konieczność częstego kalibrowania przepływomierzy stwarzają duże trudności przy pobieraniu próbek gazowych w sposób profesjonalny. Anality zatrzymane na sorbentach wymagają chemicznej desorpcji z zastosowaniem drogich i potencjalnie toksycznych rozpuszczalników (oprócz techniki desorpcji termicznej). Czas pobierania próbki jest uwarunkowany czułością metody i objętością przebiecia stosowanych sorbentów przez oznaczane anality. By pobierać próbki bez konieczności wykorzystywania toksycznych rozpuszczalników i drogich pomp, potrzebny jest wielozadaniowy próbnik powietrza bez używania zasilania [4].

Uniwersalne i tanie pasywne pobieranie próbek powietrza zostało opracowane jako przeciwieństwo do konwencjonalnego aktywnego pobierania próbek. Pasywne pobieranie wykorzystuje swobodny przepływ analitów ze środowiska pobierania do medium, które pobiera. Różne metody pasywnego pobierania są wykonywane przy użyciu: półprzepuszczalnych membran SPMD [5], dysków z pianki poliuretanowej, żywic lub cienkiej warstwy etylen/octan winylu jako medium do pobierania.

W celu określenia zawartości pestycydów w próbce powietrza i pyłu do pobierania stosuje się najczęściej próbniki o dużej objętości zaopatrzone w różnego rodzaju filtry oraz adsorbenty i pojemniki (tab. 1). Najczęściej stosowanymi filtrami są filtry szklane o różnych średnicach (30 cm, 10 cm, 90 mm, 25 mm) oraz filtry kwarcowe o średnicach 102 i 150 mm. Do pobierania próbek gazowych stosuje się adsorbenty (XAD-2, XAD-4, Carbopack, Carbotrap, Carboxen, Tenax TA, Chromosorb, żel krzemionkowy), osadzone na wspomnianych powyżej filtrach, lub pojemniki wykonane z pianki poliuretanowej, stali nierdzewnej lub szkła. Stosowane są także impaktory kaskadowe (impingery, absorbery) z cykloheksanem. Żywica XAD jest najczęściej używana ze względu na dobre właściwości sorpcyjne w stosunku do dużej grupy związków, łatwość czyszczenia i możliwość używania jej wielokrotnie.

Każde urządzenie do pobierania musi być odpowiednio przygotowane. Początkowo filtry wraz z żywicą oraz pojemniki oczyszcza się w aparacie Soxhleta rozpuszczalnikami i ich mieszaninami. Używane rozpuszczalniki to: heksan, dichlorometan, aceton, eter dietylowy i eter petrochemiczny.

Następnym etapem jest suszenie w suszarce i magazynowanie filtrów w polietylenowych torebkach, a żywicy w polietylenowych butelkach.

W przypadku samych filtrów stosuje się prażenie w wysokiej temperaturze w celu wyeliminowania związków organicznych oraz kondycjonowanie, ważenie i przechowywanie w polietylenowych torebkach lub folii aluminiowej.

Po pobieraniu (przed analizą), trwającym tyle czasu, by próbka była reprezentatywna, filtry i żywice pakuje się w czyste polietylenowe torebki i butelki, szklane słoiki z teflonową przykrywką, folię aluminiową i przechowuje w ciemności w temperaturze najczęściej  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Tabela 1

Zestawienie metod pobierania próbek

Próbka	Metoda pobierania	Literatura
Pył zawieszony	próbnik o dużej objętości filtry kwarcowe i szklane	[6, 7]
Pył i faza gazowa	próbnik o dużej objętości filtry szklane pokryte żywicą XAD-2	[8-15]
Pył i faza gazowa	próbnik o dużej objętości filtry szklane i kwarcowe pojemnik PUF/XAD-2/PUF	[16-19]
Pył i faza gazowa	próbnik o dużej objętości filtry szklane i pojemniki z żelazem krzemionkowym	[20]
Faza gazowa	ekrany ze stali nierdzewnej pokryte XAD-4	[21]
Faza gazowa	pojemnik ze stali nierdzewnej i różne adsorbenty: Carbopack, Carbotrap, Carboxen, Tenax TA, Chromosorb, XAD-4	[22]
Faza gazowa	próbnik powietrza z pompą próbnik automatyczny Explorer impaktor z cykloheksanem rurki szklane wypełnione adsorbentami podłączone do pompy	[23]
Faza gazowa	SPME - PDMS włókno	[4]
Faza gazowa	membrany półprzepuszczalne SPMD ze średniej gęstości polietylenu LDP wypełnione trioleiną	[5]

Inną metodą pobierania próbek atmosfery jest zastosowanie mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). Jest to metoda bezropuszczalnikowa, wygodna w użyciu w warunkach polowych, prosta w obsłudze i w optymalnych warunkach niewymagająca używania pomp. W metodzie tej zredukowana została liczba zabiegów, jakim poddawana jest próbka, gdyż łączy ona izolację analitów z matrycy, wzbogacenie próbki oraz dozowanie do kolumny chromatograficznej w jeden etap. Metoda ta polega na podziale analitów między fazę stałą (sorbent) i matrycę próbki [1, 4].

Frakcje pyłu  $PM_{10}$  i  $PM_{2,5}$  (respirabilne frakcje pyłu zawieszonego z aerodynamicznym zakresem średnic odpowiednio mniejszych niż 10 i 2,5  $\mu m$ ) w przeciwieństwie do całkowitej ilości pyłu zawieszonego (*TSP - Total Suspended Particulate*) są uznawane za wskaźniki zanieczyszczenia powietrza ze względu na ich oddziaływanie zdrowotne, gdyż te małe cząstki są w stanie przedostać się do płuc i mieć wpływ na zdrowie i życie człowieka [3].

### Metody ekstrakcji analitów z sorbentów i filtrów

W dalszej kolejności po pobraniu próbki, a przed etapem oznaczenia końcowego należy wyekstrahować wzbogacone anality ze stałych sorbentów bądź z filtrów. W tym celu stosuje się następujące techniki ekstrakcji:

- **techniki rozpuszczalnikowe (tab. 2):**

- ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w aparacie Soxhleta lub z użyciem aparatu Soxtec,
- przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (ASE, znana również jako PFE lub PLE),
- ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana wytrząsaniem (LE),
- ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana ultradźwiękami (UE).

Techniki rozpuszczalnikowe są bardziej dokładne, ale generalnie długotrwałe i podwyższają granicę wykrywalności z powodu strat wywołanych na różnych etapach przygotowania (ekstrakcja, oczyszczanie, wzbogacanie);

- **techniki bezropuszczalnikowe:**

- desorpcja termiczna w strumieniu gazu obojętnego.

Najczęściej używaną metodą ekstrakcji jest ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w aparacie Soxhleta. Zaletą tej metody jest prosta aparatura. Jest to metoda mniej pracochłonna niż ekstrakcja przez wytrząsanie czy wspomagana ultradźwiękami. Wadą metody jest długi czas trwania ekstrakcji [1].

Tabela 2

Zestawienie rozpuszczalników używanych do ekstrakcji

Próbka	Rozpuszczalnik	Literatura
Pył zawieszony	eter naftowy	[24-26]
Pył zawieszony	aceton	[6, 27-29]
Pył zawieszony/Powietrze	heksan/aceton	[16]
Pył zawieszony	heksan/dichlorometan	[8-13, 15, 30]
Pył zawieszony/Powietrze	dichlorometan/eter petrochemiczny (eter dietylowy, MTBE)	[14, 17, 19, 23]
Pył zawieszony/Powietrze	heksan/benzen	[18]
Pył zawieszony	dichlorometan	[7]
Powietrze	octan etylu	[21]

Unowocześnioną odmianą ekstrakcji rozpuszczalnikiem w aparacie Soxhleta jest ekstrakcja z użyciem aparatu Soxtec. Pozwala ona zmniejszyć ilość używanego rozpuszczalnika i ograniczyć czas trwania ekstrakcji.

Coraz częściej stosowaną metodą ekstrakcji jest przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika. Technika ta pozwala zwiększyć szybkość ekstrakcji i zmniejszyć zużycie rozpuszczalnika [6, 31]. Metodę tę cechuje także możliwość automatyzacji, prostota obsługi i duża powtarzalność.

Technika ekstrakcji przyspieszonej (ASE) przy użyciu rozpuszczalników w wysokiej temperaturze oraz ciśnieniu znacznie zwiększa wydajność procesu ekstrakcji. Podwyższona temperatura przyspiesza kinetykę ekstrakcji, a zwiększone ciśnienie utrzymuje rozpuszczalniki poniżej temperatury wrzenia, umożliwiając szybką i bezpieczną ekstrakcję. W ASE stosuje się te same rozpuszczalniki co w tradycyjnych metodach ekstrakcji, jednak znacznie bardziej wydajnie, zatem zużycie rozpuszczalnika na jedną próbkę jest znacznie mniejsze.

Inną metodą ekstrakcji stosowaną do ekstrakcji pestycydów z próbki jest ekstrakcja rozpuszczalnikiem wspomagana wytrząsaniem. Ekstrakcja ta wykorzystuje zjawisko podziału analitów pomiędzy ciecz (dobry rozpuszczalnik) i ciało stałe (matryca bądź adsorbent). Proces zazwyczaj prowadzi się w kilku etapach, gdyż jednokrotne stosowanie jest mało wydajne. Zaletą tej metody jest prostota aparatury i wykonania.

Kolejną metodą rozpuszczalnikowej ekstrakcji jest ekstrakcja z użyciem rozpuszczalnika wspomagana ultradźwiękami, inaczej sonifikacja.

Podobnie jak ekstrakcja wspomagana wytrząsaniem ta metoda także wymaga prowadzenia procesu w sposób wielostopniowy, gdyż wydajność pierwszego stopnia ekstrakcji jest zbyt mała. Również kwestia prostoty aparatury i obsługi jest podobna. Sonifikacja oraz ekstrakcja wspomagana wytrząsaniem są metodami bardziej pracochłonnymi w porównaniu do ekstrakcji w aparacie Soxhleta czy ASE.

Do metod bezroztwarzalnikowych ekstrakcji analitów z sorbentów należy metoda desorpcji termicznej (czyli użycie temperatury jako czynnika ekstrahującego). Wykorzystując desorpcję termiczną (tab. 3), nie ma konieczności przeprowadzania tylu etapów przygotowania próbki. Ponadto obniżona zostaje granica wykrywalności i nie trzeba uwzględniać piku pochodzącego od rozpuszczalnika. Jest to metoda, w której istnieje możliwość jej automatyzacji [22].

Tabela 3

Zestawienie metod ekstrakcji z sorbentu

Próbka	Metoda ekstrakcji	Literatura
Pył PM <sub>2,5</sub>	ASE	[6, 7]
Pył i faza gazowa	w aparacie Soxhleta	[8-19]
Faza gazowa	wspomagana wytrząsaniem	[21]
Faza gazowa	wspomagana ultradźwiękami	[23]
Faza gazowa	desorpcja termiczna	[22]

### Wzbogacanie ekstraktów

Kolejnym etapem w procesie przygotowania próbki jest odparowanie (i/lub wymiana) rozpuszczalnika. Najczęściej stosowaną metodą jest odparowanie rozpuszczalnika w wyparce próżniowej. Jest to metoda szybka i prosta w wykonaniu. Inną metodą jest

odparowanie rozpuszczalnika w strumieniu gazu, najczęściej azotu. Obie te metody charakteryzują się prostotą wykonania. Metody te stosuje się albo osobno, albo w połączeniu.

#### Oczyszczanie ekstraktów (tab. 4)

Proces oczyszczania ekstraktów obejmuje frakcjonowanie ekstraktu, które można przeprowadzić różnymi metodami:

- chromatografia kolumnowa (NP i RP LC), w tym HPLC

W zależności od układu faz (czy jest to układ faz normalnych czy odwróconych) stosuje się odpowiednie rozpuszczalniki i fazy stacjonarne. W układzie faz odwróconych RP nie można dozować do kolumny rozpuszczalnika niepolarnego, który jest stosowany w większości metod ekstrakcyjnych. Rozwiązaniem tego problemu jest zmiana rozpuszczalnika przed analizą chromatograficzną. Gdy do ekstrakcji zostanie użyty rozpuszczalnik polarny, to RP można uznać również jako metodę oczyszczania ekstraktu.

HPLC oferuje nowe rozwiązania do oznaczania pestycydów. Jest metodą dokładniejszą, bardziej powtarzalną i szybciej frakcjonującą niż klasyczna chromatografia kolumnowa, chociaż detektory stosowane w HPLC nie dostarczają wymaganej selektywności i granicy wykrywalności dla wielu zastosowań w analizie śladowej.

Tabela 4

Zestawienie metod oczyszczania/frakcjonowania ekstraktu

Próbka	Technika oczyszczania/ frakcjonowania	Literatura
Pył zawieszony	filtr propylenowy	[6]
Pył i faza gazowa	ekstrakty oczyszczono za pomocą HPLC (układ faz normalnych) i podzielono na 3 frakcje: 1 - pestycydy chloroorganiczne, 2 - pestycydy fosforoorganiczne, 3 - karbaminiany	[8]
Pył i faza gazowa	oczyszczanie ekstraktu w kolumnach zawierających żel krzemionkowy i Florisil	[16]
Pył i faza gazowa	oczyszczanie ekstraktu w kolumnie z tlenkiem glinu/kwasem krzemowym elucja - dichlorometan ekstrakt podzielono na 2 frakcje za pomocą chromatografii kolumnowej	[17]
Faza gazowa	ekstrakt oczyszczany w kolumnie z Florisilem i bezwodnym azotanem sodu, elucja - aceton/heksan (1:9)	[19]
Pył i faza gazowa	frakcjonowanie ekstraktów HPLC w kolumnie z żelazem krzemionkowym, elucja - heksan/MTBE	[14]
Pył	oczyszczanie ekstraktu w kolumnie chromatograficznej pakowanej Florisilem, elucja - heksan, a następnie heksan/dichlorometan	[7]
Pył i faza gazowa	oczyszczanie i frakcjonowanie techniką HPLC w kolumnie krzemionkowej (otrzymano 3 frakcje)	[15]
Faza gazowa	oczyszczanie i frakcjonowanie ekstraktu techniką HPLC gradientowo w układzie faz normalnych, elucja - heksan/MTBE (zebrano 4 frakcje)	[21]
Faza gazowa	oczyszczanie ekstraktu za pomocą chromatografii żelowej z chlorkiem metylenu jako fazą ruchomą	[5]

- chromatografia adsorpcyjna

Tę metodę stosuje się zarówno do oczyszczania, jak i frakcjonowania ekstraktów. Najczęściej ekstrakty frakcjonuje się w taki sposób, aby rozdzielić pestycydy pod względem struktury chemicznej, np. na pestycydy chloroorganiczne, fosforoorganiczne

i karbaminiany. Do rozdzielania poszczególnych grup pestycydów stosuje się najczęściej kolumny pakowane krzemionką lub Florisilem. Z rozpuszczalników używanych do elucji stosuje się: aceton, heksan, MTBE i dichlorometan.

- przefiltrowanie ekstraktu przez filtr,
- chromatografia żelowa (GPC).

Chromatografia żelowa jest techniką, której mechanizm korzysta z wykluczania. Można wykorzystać tę metodę do usuwania związków makromolekularnych. Najczęściej wykorzystuje się kolumny wypełnione kopolimerem styrenu i diwinylobenzenu. Metoda ta nie nadaje się do operacji frakcjonowania próbki ze względu na to, że nie możemy rozdzielić grup związków o zbliżonej masie molekularnej.

### Derywatywacja pestycydów

Derywatywacja to proces przekształcania związków w pochodne. Dzięki derywatacji można uzyskać lepszą selektywność, wyższy stopień wzbogacenia analitów, lepsze rozdzielanie składników analizowanej próbki w kolumnie oraz polepszenie czułości i selektywności detekcji. Derywatywacja pozwala również oznaczyć większą liczbę związków w próbce. Wynika to z tego, że nie zawsze izolacja analitów z matrycy połączona ze wzbogacaniem jest skuteczna bez zmiany struktury chemicznej analitów bądź matrycy [1].

W przypadku oznaczania pestycydów, wykorzystując do rozdzielania technikę chromatografii gazowej, najczęściej przeprowadza się derywatywację za pomocą bromku pentafluorobenzylowego (PFBB) [10, 12, 13].

### Etap oznaczeń końcowych

Istnieje wiele możliwości przeprowadzenia oznaczeń końcowych pestycydów w próbkach powietrza (pyły i faza gazowa). Wybór odpowiedniej metody oznaczeń zależy przede wszystkim od badanej grupy związków. Podczas analiz ważne jest, by używać detektorów specyficznych dla danej grupy związków (tab. 5). Analizę ilościową przeprowadza się, wykorzystując metodę dodatku wzorca (dodanie wzorca wewnętrznego do próbki wykonuje się przed ekstrakcją).

Tabela 5

Zestawienie metod oznaczeń końcowych

Próbka	Metody oznaczeń końcowych	Literatura
Pył	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RP HPLC - MS/MS</li> </ul>	[6]
Pył i faza gazowa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 frakcja - (pestycydy chloroorganiczne) - analiza GC-ECD z dozownikiem <i>on-column</i></li> <li>• 2 i 3 frakcja - (pestycydy fosforoorganiczne i karbaminiany) - analiza RP HPLC UV-DAD</li> </ul>	[8, 14, 15, 20]
Pył i faza gazowa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pestycydy chloroorganiczne - analiza GC-ECD</li> <li>• pestycydy fosforoorganiczne i herbicydy - analiza GC-MS</li> </ul>	[16]
Pył i faza gazowa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GC-MS z dozownikiem Split/splitless</li> </ul>	[9, 11-13, 16, 18-20, 22, 23, 32]
Pył i faza gazowa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GC-ECD</li> </ul>	[10, 33]
Pył i faza gazowa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GC</li> <li>• detektory ECD, FID, NPD</li> </ul>	[21, 33]



Do najbardziej popularnych technik stosowanych do oznaczeń końcowych należą:

- kapilarna chromatografia gazowa  
Podczas stosowania kapilarnej chromatografii cieczowej istnieje możliwość wyboru typu pracy dozownika. Dozownik taki może pracować z podziałem strumienia gazu nośnego (*split*) lub bez podziału strumienia (*splitless*). Do oznaczania pestycydów w próbkach środowiskowych używa się zarówno trybu *splitless*, jak i *split*. Innym dozownikiem używanym w chromatografii gazowej przy oznaczaniu pestycydów jest dozownik z bezpośrednim dozowaniem do kolumny chromatograficznej (*on-column*).
- wysokosprawna chromatografia cieczowa, najczęściej w układzie faz odwróconych. Natomiast najczęściej używane detektory to:
- spektrometr mas (MS) lub tandem MS/MS  
Detektor ten jest obecnie najpowszechniej używany do oznaczeń końcowych zarówno w chromatografii gazowej, jak i cieczowej. Jest przydatny zwłaszcza w przypadku, gdy analizowane są zawartości śladowe w skomplikowanych matrycach. Detektor MS jest detektorem uniwersalnym i selektywnym w zależności od potrzeb. Stosowane metody jonizacji to jonizacja jonami (EI), jonizacja chemiczna (CI) lub elektrorozpylanie (ESI);
- detektor wychwytu elektronów (ECD)  
Zasada pracy tego detektora polega na wychwytywaniu elektronów powstających z promieniotwórczego niklu umieszczonego w celce detektora przez molekuły elektrofilowe. Molekuły te przekształcają się w jony ujemne i łączą się z jonami dodatnimi pochodzącymi od gazu nośnego. Połączenie to wywołuje zmniejszenie natężenia prądu jonizacji. Detektor ECD jest detektorem bardzo specyficznym i w przypadku oznaczeń pestycydów stosowany jest do oznaczania pestycydów chloroorganicznych.
- detektor termojonowy (NPD);  
Ten typ detektora jest czuły na związki azoto- i fosforoorganiczne;
- detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID);
- detektor UV-DAD (w chromatografii cieczowej).

### Wykaz skrótów i akronimów

Skrót/ akronim	Termin angielski	Termin polski
PM	<i>Particulate Matter</i>	pył
TSP	<i>Total Suspended Particulate</i>	całkowita zawartość pyłu zawieszonego
ASE	<i>Accelerated Solvent Extraction</i>	przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
PFE	<i>Pressurized Fluid Extraction</i>	przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i>	przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
LE	<i>Liquid Extraction</i>	ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (wspomagana wytrząsaniem)
UE	<i>Ultrasonic Extraction</i>	ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomaganą ultradźwiękami

MTBE	<i>Methyl Tert-Butyl Ether</i>	eter metylowo- <i>tert</i> -butylowy
NP	<i>Normal Phase</i>	układ faz normalnych
RP	<i>Reversed Phase</i>	układ faz odwróconych
LC	<i>Liquid Chromatography</i>	chromatografia cieczowa
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>	wysokosprawna chromatografia cieczowa
PFBB	<i>Pentafluorobenzylbromide</i>	bromek pentafluorobenzylowy
MS	<i>Mass Spectrometry</i>	spektrometria mas
EI	<i>Electron Ionisation</i>	jonizacja jonami
CI	<i>Chemical Ionisation</i>	jonizacja chemiczna
ESI	<i>Electrospray</i>	elektrozpylanie
ECD	<i>Electron Capture Detector</i>	detektor wychwytu elektronów
NPD	<i>Nitrogen Phosphor Detector</i>	detektor termojonowy
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>	detektor płomieniowo-jonizacyjny
UV	<i>Ultra-violet</i>	promieniowanie w zakresie ultrafioletowym
DAD	<i>Diode Array Detector</i>	detektor z matrycą fotodiodową
GC	<i>Gas Chromatography</i>	chromatografia gazowa
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i>	mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej
PUF	<i>Polyurethane Foam</i>	pianka poliuretanowa
PDMS	<i>Polydimethylsiloxane</i>	polidimetylosiloksan
SPMD	<i>Semipermeable Membrane Device</i>	urządzenie z membraną półprzepuszczalną
LDP	<i>Low-density Polyethylene</i>	polietylen o niskiej gęstości

## Literatura

- [1] Biziuk M. (red.): Pestycydy, występowanie, oznaczanie i unieszkodliwianie, WNT, Warszawa 2001.
- [2] Szomańska K., Kołakowski T., Sarafin M. i Waszczyk T.: Raport ARMAAG, ARMAAG, 2003.
- [3] Wilson W.E., Chow J.C., Claiborn C., Fusheng W., Engelbrecht J. i Watson J.G.: *Chemosphere*, 2002, **49**, 1009-1043.
- [4] Wang J., Tuduri L., Mercury M., Millet M., Briand O. i Montury M.: *Environ. Pollut.*, 2009, **157**, 365-370.
- [5] Esteve-Turillas F.A., Pastor A. i de la Guardia M.: *Anal. Chim. Acta*, 2008, **626**, 21-21.
- [6] Coscolla C., Yusa V., Marti P. i Pastor A.: *J. Chromatogr. A*, 2008, **1200**, 100-107.
- [7] Wu S., Tao S., Zhang Z., Lan T. i Zuo Q.: *Atmos. Environ.*, 2005, **39**, 7420-7432.
- [8] Sanusi A., Millet M., Mirabel P. i Wortham H.: *Atmos. Environ.*, 1999, **33**, 4941-4951.
- [9] Sauret N., Wortham H., Putaud J. i Mirabel P.: *Atmos. Environ.*, 2008, **42**, 544-553.
- [10] Scheyer A., Morville S., Mirabel P. i Millet M.: *Atmos. Environ.*, 2008, **42**, 7695-7705.
- [11] Sauret N., Millet M., Herckes P., Mirabel P. i Wortham H.: *Environ. Pollut.*, 2000, **110**, 243-252.
- [12] Scheyer A., Morville S., Mirabel P. i Millet M.: *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **381**, 1226-1233.
- [13] Scheyer A., Morville S., Mirabel P. i Millet M.: *Atmos. Environ.*, 2007, **41**, 3604-3618.
- [14] Millet M., Wortham H., Sanusi A. i Mirabel P.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1996, **31**, 543-556.
- [15] Sanusi A., Millet M., Mirabel P. i Wortham H.: *Sci. Total Environ.*, 2000, **263**, 263-277.
- [16] Sadiki M. i Poissant L.: *Atmos. Environ.*, 2008, **42**, 8288-8299.
- [17] Sofuoglu A., Cetin E., Bozacioglu S.S., Sener G.D. i Odabasi M.: *Atmos. Environ.*, 2004, **38**, 4483-4493.
- [18] Batterman S.A., Chernyak S.M., Gounden Y., Matooanne M. i Naidoo R.N.: *Sci. Total Environ.*, 2008, **397**, 119-130.
- [19] Qiu X., Zhu T., Li J., Pan H., Li Q., Miao G. i Gong J.: *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 1368-1374.

- [20] Kazos E.A., Stalikas C.D., Nanos C.G. i Konidari C.N.: *Chemosphere*, 2007, **68**, 2104-2110.
- [21] Seiber J.N., Glotfelty D.E., Lucas A.D., McChesney M.M., Sagebiel J.C. i Wehner T.A.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1990, **19**, 583-592.
- [22] Clement M., Arzel B., Le Bot B., Seux R. i Millet M.: *Chemosphere*, 2000, **40**, 49-56.
- [23] Briand O., Bertrand F., Seux R. i Millet M.: *Sci. Total Environ.*, 2002, **288**, 199-213.
- [24] Gioia S., Offenbergh J.H., Gigliotti C.L., Totten L.A., Du S. i Eisenreich S.J.: *Atmos. Environ.*, 2005, **39**, 2309-2322.
- [25] Alegria H., Bidleman T.F. i Figueroa M.S.: *Environ. Pollut.*, 2006, **140**, 483.
- [26] Motelay-Massei A., Harner T., Shoeib M., Diamond M., Stern G. i Rosenberg B.: *Environ. Sci. Technol.*, 2005, **39**, 5763-5773.
- [27] Waite D.T., Bailey P., Sproull J.F., Quiring D.V., Chau D.F., Bailey J. i Cessna A.J.: *Chemosphere*, 2005, **58**, 693.
- [28] Cessna A.J., Waite D.T., Kerr L.A. i Grover R.: *Chemosphere*, 2000, **40**, 795.
- [29] Waite D.T., Cessna A.J., Grover R., Kerr L.A. i Snihura J.: *J. Environ. Qual.*, 2002, **31**, 129.
- [30] Scheyer A., Graeff C., Morville S., Mirabel P. i Millet M.: *Chemosphere*, 2005, **58**, 1517-1524.
- [31] Yusa V., Quintas G., Pardo O., Pastor A. i de la Guardia M.: *Talanta*, 2006, **69**, 807-815.
- [32] Chernyak S.M. i in.: *Environ. Toxicol. Chem.*, 2005, **24**, 1632-1641.
- [33] Gil Y. i Sinfort C.: *Atmos. Environ.*, 2005, **39**, 5183-5193.
- [34] Amin M.K., Womac A.R., Bui Q.D., Mueller T.C. i Mulrooney J.E.: *Transactions of the ASAE*, 1999, **42**, 593-600.
- [35] Xu D., Dan M., Song Y., Chai Z. i Zhuang G.: *Atmos. Environ.*, 2005, **39**, 4119-4128.
- [36] Yao Y., Tuduri L., Harner T., Blanchard P., Waite D., Poissant L., Murphy C., Belzer W., Aulagnier F., Li Y. i Sverko E.: *Atmos. Environ.* 2006, **40**, 4339-4351.
- [37] Harrad S. i Mao H.: *Atmos. Environ.*, 2004, **38**, 1437-1445.
- [38] Van Den Berg F., Kubiak R., Benjey W.G., Majewski M.S., Yates S.R., Reeves G.L., Smelt J.H. i Van Der Linden A.M.A.: *Water, Air Soil Pollut.*, 1999, **115**, 195-218.
- [39] Wang X., Li X., Cheng H., Xu X., Zhuang G. i Zhao C.: *J. Hazardous Mat.*, 2008, **155**, 350-357.
- [40] Yeo H., Choi M. i Sunwoo Y.: *Atmos. Environ.*, 2004, **38**, 4779-4788.
- [41] Gouin T., Shoeib M. i Harner T.: *Atmos. Environ.*, 2008, **42**, 8096-8104.
- [42] Bossi R., Skov H., Vorkamp H., Christensen J., Rastogi S.C., Egelov A. i Petersen D.: *Atmos. Environ.* 2008, **42**, 7293-7303.
- [43] Baraud L., Tessier D., Aaron J., Quisefit J. i Pinart J.: *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, **377**, 1148-1152.
- [44] Alegria H.A., Wong F., Jantunen L. M., Bidleman T.F., Figueroa M.S., Bouchot G.G., Moreno V.C., Waliszewski S.M. i Infanzon R.: *Atmos. Environ.*, 2008, **42**, 8810-8818.
- [45] Foreman W.T., Majewski M.S., Goolsby D.A., Wiebe F.W. i Coupe R.H.: *Sci. Total Environ.*, 2000, **248**, 213-216.
- [46] Venier M. i Hites R.A.: *Atmos. Environ.*, 2007, **41**, 768-775.
- [47] Castro J., Perez R.A., Miguel E., Sanchez-Brunete C. i Tadeo J.L.: *J. Chromatogr. A*, 2007, **947**, 119-127.
- [48] Coupe R.H., Manning M.A., Foreman W.T., Goolsby D.A. i Majewski M.S.: *Sci. Total Environ.*, 2000, **248**, 227-240.
- [49] Bidleman T.F., Alegria H., Ngabe B. i Green C.: *Atmos. Environ.*, 1998, **32**, 1849-1856.
- [50] Harner T., Pozo K., Gouin T., Macdonald A., Hung H., Cainey J. i Peters A.: *Environ. Pollut.*, 2006, **144**, 445-452.
- [51] Chaemfa C., Barber J.L., Gocht T., Harner T., Holoubek I., Klanova J. i Jones K.C.: *Environ. Pollut.*, 2008, **156**, 1290-1297.
- [52] Aulagnier F., Poissant L., Brunet D., Beauvais C., Pilote M., Deblois C. i Dassylva N.: *Sci. Total Environ.*, 2008, **394**, 338-348.
- [53] Sofuoglu A., Odabasi M., Tasdemir Y., Khalili N.R. i Holsen T.M.: *Atmos. Environ.*, 2001, **35**, 6503-6510.
- [54] Galarneau E., Harner T., Shoeib M., Kozma M. i Lane D.: *Atmos. Environ.*, 2006, **40**, 5734-5740.
- [55] Kołakowski T., Sarafin M., Waszczyk T. i Kachniarz E.: *Raport ARMAAG, ARMAAG*, 2002.
- [56] Bielawska M., Kołakowski T., Sarafin M. i Waszczyk T.: *Raport ARMAAG, ARMAAG*, 2005.

## METHODS OF DETERMINATION OF PESTICIDES RESIDUES IN ATMOSPHERE - A REVIEW

**Abstract:** Pesticides as a large group of different chemical compounds are used worldwide to control pest in agricultural production. Additionally pesticides enter the atmosphere through many different processes. Determination of pesticides content in the atmosphere is extremely important, because atmospheric transport is one of the pollution pathways, by which pesticides are transported and deposited in the areas far from their sources. Concentration level of pesticides is considerably lower in the atmosphere than in water or soil. Therefore, the analysis of atmospheric samples is much more complicated. In the case of atmospheric samples, it is necessary to apply an appropriate equipment to separate particulate matter from the air. The analytical method should consist of such steps as: sampling with isolation and preconcentration, extraction, extracts purification and final determination of the analytes under investigation.

**Keywords:** pesticides, atmosphere, PM, preparation of samples, extraction, purification, techniques of final determination

Iwona PUCZYŃSKA<sup>1</sup> i Jerzy SKRZYPSKI<sup>1\*</sup>

**INTEGRACJA DZIAŁAŃ BIOLOGICZNYCH I TECHNICZNYCH  
JAKO PODSTAWA INTENSYFIKACJI  
PROCESÓW SAMOCZYSZCZANIA SIĘ  
ZBIORNIKÓW ZAPOROWYCH  
(NA PRZYKŁADZIE ZBIORNIKA SULEJOWSKIEGO)**

**THE INTEGRATION OF BIOLOGICAL AND TECHNICAL ACTIONS  
AS A BASIS OF THE INTENSIFICATION  
OF DAM RESERVOIRS' SELF-PURIFICATION (SULEJOW RESERVOIR)**

**Abstrakt:** Retencjonowanie wód w zbiornikach zaporowych jest podstawowym sposobem poprawy bilansu wody. Obszarem przedstawianych badań był Zbiornik Sulejowski (22 km<sup>2</sup>, śr. głębokość 3,3 m). Próbki bentosu pobierane były raz w miesiącu (od kwietnia do listopada), wzdłuż zbiornika, na pięciu stanowiskach pomiarowych. Określono ich skład systematyczny, liczebność i biomasę. Dominującymi grupami systematycznymi na każdym stanowisku były larwy muchówek (głównie *Chironomidae*) oraz larwy skąposzczetów (*Oligochaeta*). Część rzeczna zbiornika była siedliskiem, gdzie panowały lepsze warunki biotyczne i abiotyczne dla rozwoju bentosu. Fauna denna, akumulując pierwiastki biogenne, może być czynnikiem kształtującym ich szlaki w zbiornikach zaporowych i przyczyniającym się do poprawy jakości wód.

**Słowa kluczowe:** różnorodność biologiczna, fauna denna, biogeny, biomasa, antropopresja

Gospodarowanie zasobami wód śródlądowych jest ważnym elementem decydującym o realizacji zrównoważonego rozwoju poszczególnych regionów, krajów i kontynentów. Ilość i jakość zasobów wodnych są regionalnie zróżnicowane, determinując możliwości rozwoju cywilizacyjnego [1]. Polska jest przykładem kraju, który nie posiada dostatecznych zasobów wody. Jednocześnie, istniejące zasoby są w dużym stopniu zdegradowane, jako efekt antropopresji i słabo funkcjonującej gospodarki wodnej. Główne przyczyny degradacji zasobów wód w Polsce to odprowadzanie do wód powierzchniowych niedostatecznie oczyszczonych ścieków (komunalnych, przemysłowych, rolniczych, z hodowli zwierząt), zrzuty „niezorganizowane” ze źródeł lokalnych (gospodarczych, komunal-

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Środowiska, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 213, 90-924 Łódź

\* Autor do korespondencji: email: skrzypsk@wipos.p.lodz.pl

nych, substancji biogenych i gnojowicy z zagród wiejskich bez kanalizacji), zrzuty zasolonych wód kopalnianych oraz spływy powierzchniowe wód z terenów rolniczych (pestycydy, nawozy sztuczne) i depozycja kwasotwórczych zanieczyszczeń powietrza. Nakładają się na to (po części spowodowane zmianami klimatu) deficyty wody, stepowanie, susze, a okresowo powodzie.

Pomimo realizacji wielu programów i inwestycji Polska ma relatywnie bardzo duży udział w degradowaniu Bałtyku w porównaniu z innymi krajami nadbałtyckimi (tab. 1). Główne przyczyny to niedorozwój systemów gospodarki ściekowej, gospodarki odpadami (spływy powierzchniowe wód ze źle urządzonych składowisk i nielegalnych wysypisk odpadów) oraz błędna polityka i praktyka rolna, ujawniające się na przykład w braku opasek sanitarnych wokół zbiorników wodnych.

Tabela 1

Odływ substancji organicznych i biogenych rzekami do Morza Bałtyckiego w tys. Mg/rok

Rodzaje zanieczyszczeń	1996	1998	2001	2004	2005
<b>BZT<sub>5</sub></b>	232,9	269,1	223,6	160,6	174,5
<b>ChZT</b>	1594,4	2198,1	1907,2	1248,1	1086,9
<b>Azot ogólny</b>	202,7	260,5	191,3	102,6	133,6
<b>Fosfor ogólny</b>	13,2	15,5	12,7	9,0	8,2

Zabudowa wiejska jest rozproszona, co utrudnia i opóźnia budowę efektywnych systemów gospodarki ściekowej i odpadowej. Duży udział gleb piaszczystych ułatwia infiltrację zanieczyszczeń do płytkich wód gruntowych. Poziom edukacji ekologicznej jest jeszcze niski, zwłaszcza na terenach wiejskich.

Spadek zużycia wody na potrzeby gospodarki narodowej i ludności prawie o jedną trzecią w ciągu 25 lat (tab. 2), spowodowany m.in. wzrostem kosztów wody, przyczynił się do spadku ilości ścieków przemysłowych i komunalnych odprowadzanych do wód lub do ziemi również blisko o jedną trzecią (tab. 3).

Tabela 2

Pobór wody (w hektometrach sześciennych) na potrzeby gospodarki narodowej i ludności

Rok	1980	1990	1995	2000	2003	2004	2005
ogółem	14183,6	14247,7	12065,5	11048,5	11069,9	10990,0	10940,3

Tabela 3

Ścieki przemysłowe i komunalne (w hektometrach sześciennych) odprowadzane do wód lub do ziemi

Rok	1980	1990	1995	2000	2003	2004	2005
ogółem	12010,5	11368	9980,9	9160,7	9220,1	9119,7	8981,5

Pomimo wzrostu liczby oczyszczalni w Polsce oczyszczanie ścieków jest nadal niepełne. Z oczyszczalni ścieków ogółem korzysta 85% ludności wsi i miast, wciąż jednak z oczyszczalni ścieków z podwyższonym usuwaniem biogenów korzysta tylko 55,9% ludności miast. Nadal nie oczyszcza się całej ilości ścieków wymagających oczyszczenia (tab. 4), chociaż nastąpiła w ostatnim 25-leciu znaczna poprawa.

Tabela 4

Ścieki przemysłowe i komunalne (w hektometrach sześciennych) odprowadzane do wód lub do ziemi

Rok	1980	1990	1995	2000	2003	2004	2005
Ścieki wymagające oczyszczenia	4681,3	4114,7	3019,6	2501,5	2175,8	2134,9	2115,1
oczyszczane	2703,6	2772,1	2319,4	2200,2	1964,8	1943,1	1929,4
nieoczyszczane	1977,7	1342,6	700,2	301,3	211,0	191,8	185,7

W ostatnim dziesięcioleciu ładunki zanieczyszczeń w ściekach komunalnych odprowadzanych po oczyszczeniu do wód lub do ziemi znacznie zmalały, nadal jednak wskaźnik BZT<sub>5</sub> w odprowadzanych ściekach wynosi 2,7 tys. Mg/rok (dwukrotny spadek od 1995 r.), ChZT - 101,5 tys. Mg /rok (spadek z wartości 194,2 tys. Mg /rok), zawiesina - 36,1 tys. Mg /rok (spadek z wartości 78,1 tys. Mg /rok). Rocznie odprowadzanych jest 28,2 tys. Mg azotu ogólnego (w 1995 r. wartość ta wynosiła 30,2 tys. Mg /rok, nie zmniejszyła się ona znacznie), 2,7 tys. Mg fosforu ogólnego (6,9 tys. Mg w 1995 r.) [2].

Poważną wadą systemu zarządzania zasobami wodnymi w Polsce jest niedostateczna retencja zarówno zbiornikowa, jak i leśna. W tej sytuacji istniejące sztuczne zbiorniki wodne mogą odgrywać znaczącą rolę w ograniczaniu barier rozwoju regionów. Retencjonowanie wód w zbiornikach zaporowych przyczynia się do dużej poprawy bilansu zasobów wody. Jednakże, stan zasobów wody w tych zbiornikach nie jest zadowalający lub wręcz zły. Jest on pochodną antropopresji, ale także specyfiki funkcjonowania sztucznych zbiorników wodnych i ich podatności na degradację. Szansą na poprawę sytuacji jest wdrożenie zasad gospodarowania zasobami wodnymi określonymi w Ramowej Dyrektywie Wodnej UNEP. Ekologiczny charakter sztucznych zbiorników wodnych kształtują cechy pośrednie między rzekami i wodami stojącymi. Ze względu na swe usytuowanie w kontinuum rzeczonym stanowią obszar sedymentacji materii organicznej, mineralnej i zanieczyszczeń. Stąd duże tempo ich degradacji. Zwiększone zasilanie pierwiastkami biogennymi (głównie azotem i fosforem) przyspiesza naturalny proces eutrofizacji [3-6].

Zaawansowane efekty degradacji ekosystemów wodnych można i trzeba niwelować. Zgodnie z teorią ekohydrologii skuteczna strategia działania składa się z dwóch komponentów: eliminacji zagrożeń i zwiększania szans [1]. Eliminacja zagrożeń odbywa się zazwyczaj poprzez realizację kosztownych rozwiązań technicznych. Inwestycje te nie rozwiązują wszystkich problemów. Dalszą poprawę sytuacji ekologicznej można osiągnąć poprzez ingerencję w procesy funkcjonowania ekosystemu. Ingerencja taka musi być poprzedzona kompleksowym rozpoznaniem czynników i uwarunkowań determinujących przebieg procesów ekologicznych w danym ekosystemie. Poznanie kolejnego komponentu Zbiornika Sulejowskiego, jakim jest bentos, umożliwi całościowe spojrzenie na ten ekosystem, a w efekcie zastosowanie biologicznych metod optymalizacji funkcjonowania tego ekosystemu.

## Kontinuum, dyskontinuum i zjawiska im towarzyszące

Ekosystem rzeki to zintegrowana funkcjonalnie całość, której właściwości determinowane są czasoprzestrzennym kontinuum, wzdłuż którego gradientowym zmianom ulegają warunki fizyczne, chemiczne, a w efekcie żyzność i produktywność biocenozy. W konsekwencji znajduje to odzwierciedlenie w strukturze i dynamice zespołów roślin

i zwierząt, a także w ekologicznych mechanizmach regulujących obieg materii organicznej – spiralna cyrkulacja nutrientów [7]. Utworzenie zbiornika zaporowego zmienia dotychczasowy przepływ energii i krążenia materii, zaburza spiralny obieg, kształtuje nowy obraz procesów fizycznych, chemicznych, struktury i jakości komponentów żywych i nieożywionych. Materia wchodzi w inne cykle niż naturalne. Zburzone zostaje wtedy czasoprzestrzenne continuum rzeki.

Zbiorniki wypłukują i utwardzają dno rzeki. Sezonowo redukują ilość płynącej wody w odcinkach rzek poniżej tak, że woda nie jest w stanie rozmyć zalegających osadów organicznych i poruszyć nieorganicznego podłoża, przyczyniając się do tworzenia jednorodnego substratu na dnie rzeki. Tego rodzaju siedlisko sprzyja zasiedlaniu i rozwojowi dużych, ale mało zróżnicowanych taksonomicznie populacji *Oligochaeta*, *Chironomidae*, *Mollusca* [8]. W licznych zbiornikach wodnych (także w Zbiorniku Sulejowskim) rozpoznano już zachodzące procesy biologiczne, chemiczne i fizyczne. Określono także skład gatunkowy, biomasę i liczebność fitoplanktonu, zooplanktonu i ryb oraz udział w nich pierwiastków biogennych. W Zbiorniku Sulejowskim nie określono natomiast składu gatunkowego, biomasy i liczebności fauny dennej, a także nie zbadano uwarunkowań kształtujących te parametry.

W przeprowadzonych badaniach skoncentrowano się na określeniu: przestrzennej i sezonowej zmienności liczebności i biomasy bentosu, wpływu struktury i składu osadów oraz czynników hydrologicznych na liczebność i biomasę bentosu oraz wydajności akumulacji pierwiastków biogennych przez faunę denną.

## Obszar badań

Badania przeprowadzono na Zbiorniku Sulejowskim, powstałym w 1973 roku, przez budowę tamy na Pilicy. Jest to typowy płytki zbiornik nizinny (śr. głęb. 3,3 m). Położony jest w obrębie niecki tomaszowskiej, w dolinie Pilicy, między dwoma przełomami rzeki (w Sulejowie i Smardzewicach). Zbiornik ma kształt rynnowy. Powierzchnia zbiornika wynosi 22 km<sup>2</sup>, długość linii brzegowej 54 km. Czas retencji wynosi 30 dni. W zbiorniku brak jest stratyfikacji termicznej. Główna oś zbiornika przebiega z południowego zachodu na północny wschód. Przebieg ten jest zbliżony do kierunku wiatrów najczęściej tam notowanych. Wiatry te powodują znaczne falowanie i mieszanie wody. Konsekwencją jest ciągła przebudowa strefy litoralu i linii brzegowej akwenu.

Cała zlewnia Zbiornika Sulejowskiego ma charakter rolno-leśny. Wokół zbiornika nie wykonano jeszcze pełnej opaski sanitarnej, co ułatwia zrzuty ścieków i spływy powierzchniowe do zbiornika. Wody zbiornika charakteryzuje duże natlenienie wraz z przesyconiami w okresie zakwitów. Podczas silnego rozwoju fitoplanktonu w zbiorniku następuje alkalizacja. W efekcie, powyżej zapory dochodzi do odwapnienia wody, czego skutkiem wtórnym jest uwalnianie biogenów z osadów dennych, co okresowo przyczynia się do masowego rozwoju glonów, przede wszystkim sinic [9].

Badania bilansu wody i biogenów prowadzone od stycznia do listopada 2003 r. pokazały, że do Zbiornika Sulejowskiego wpłynęło 580 mln m<sup>3</sup> wody, a wypłynęło 515 mln m<sup>3</sup>. Retencja wody wynosiła 65 mln m<sup>3</sup>. W badanym okresie w zbiorniku zostało zretencjonowane ok. 48 Mg fosforu ogólnego, 183 Mg azotu całkowitego. Od lutego do października 2003 r. zostało zretencjonowane 155 Mg rozpuszczonego węgla organicznego [10].



## **Materiały i metody**

### **Miejsce, częstotliwość, metoda pobierania i przechowywania próbek bentosu**

Próbki osadów dennych do oceny biomasy i zagęszczenia bentosu pobierane były na pięciu stanowiskach usytuowanych wzdłuż podłużnej osi zbiornika, różniących się warunkami hydrobiologicznymi (Cofka, Zarzęcin, Bronisławów, Tresta, Zapora), w okresie od kwietnia do listopada 2004 roku, raz w miesiącu w terminach: 24.04, 20.05, 27.06, 23.07, 20.08, 24.09, 16.10, 14.11 pobierano trzy próbki wierzchniej 10-centymetrowej warstwy osadu dennego. Wykorzystywano czerpak Kajaka z pleksiglasową tubą o średnicy 9,2 cm (66,5 cm<sup>3</sup>). Pobrany materiał umieszczano w szczelnie zamkniętych, plastikowych pojemnikach (1 dm<sup>3</sup>) i transportowano do laboratorium. Łącznie pobrano 120 próbek. Ze stanowisk pobierano również próbki wody (z powierzchni i dna), mierzono pH i konduktywność. Liczebność i biomasę z pobranych próbek przeliczano na m<sup>2</sup> powierzchni dna.

### **Analiza próbek bentosu**

Próbka świeżego osadu przepłukiwana była przez sito bentosowe o średnicy oczek 0,5 mm. Pozostały na sicie materiał, pozbawiony już drobnych zanieczyszczeń, przenoszono małymi porcjami do kувety z czystą wodą i przeglądano makroskopowo przy silnym oświetleniu.

### **Pomiar liczebności i biomasy**

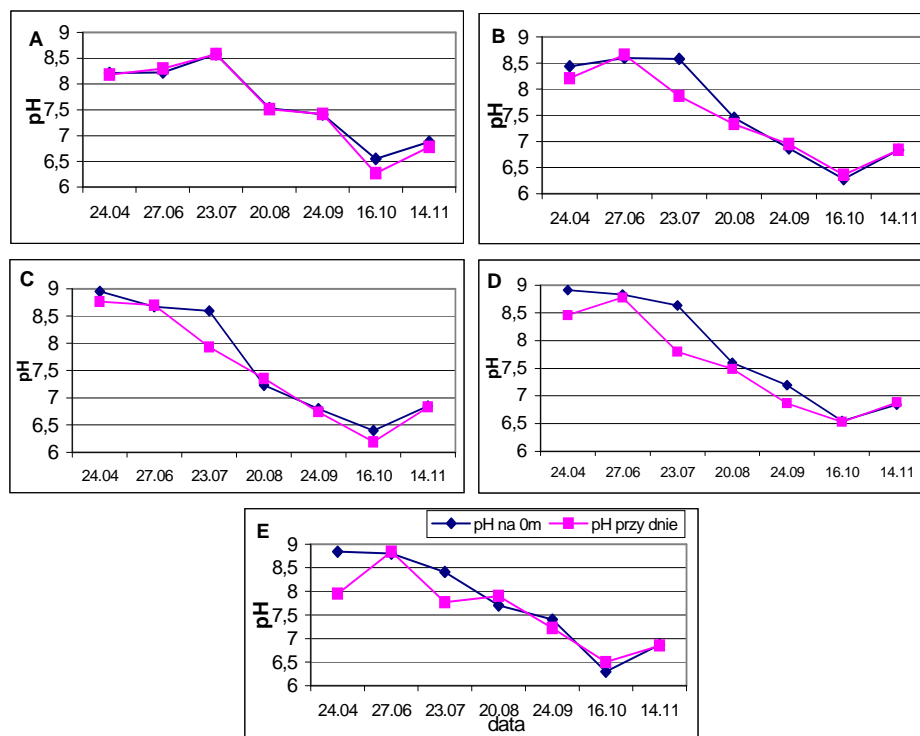
Organizmy zliczane były w trakcie oznaczania. Dokonywano pomiaru mokrej biomasy bentosu wraz z pojemnikiem (biomasa mokra) na wadze elektronicznej (z dokładnością do 0,01 mg). Następnie wkładano próbki do cieplarki. Suszono je w temperaturze 60°C przez 24÷48 h. Po tym czasie wyjmowano i ważono ponownie (biomasa sucha). Wykonywano obliczenia suchej masy bentosu, gdyż określenie świeżej masy jest mniej dokładne ze względu na różnice uwodnienia różnych grup fauny, a nawet tego samego gatunku w różnych stadiach rozwojowych i różnych środowiskach [11]. Z otrzymanych wyników obliczono zagęszczenie i biomasę organizmów w przeliczeniu na m<sup>2</sup>.

## **Wyniki**

### **Zróźnicowanie przestrzenne i sezonowe warunków fizycznych w Zbiorniku Sulejowskim**

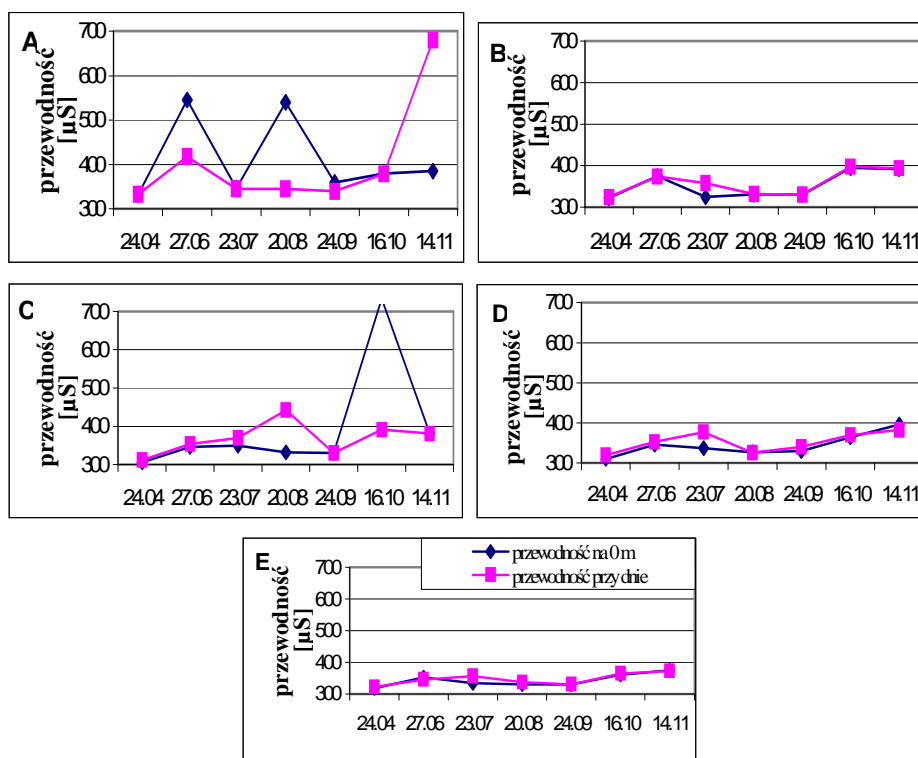
**pH** Wartości pH (rys. 1) w okresie badawczym zawierały się w przedziale 6,28÷8,95 (średnia 7,68) dla wód powierzchniowych i 6,19÷8,84 (średnia 7,53) dla wód przydennych. Wartość ta malała od kwietnia do listopada. Największy spadek pH wystąpił w październiku. Fosfor wykazuje duże powinowactwo do Ca, Fe i Al. Im więcej jonów tych pierwiastków w wodzie, tym intensywniejsza sedimentacja fosforu. Zależy to jednak od natlenienia i stężenia jonów wodorowych. W środowisku kwaśnym połączenia fosforu z wapniem są luźne. Jeśli dodatkowo występuje małe stężenie tlenu w wodzie (potencjał redoks wynosi 0,2÷0,3 mV), żelazo ulega redukcji z Fe<sup>3+</sup> do Fe<sup>2+</sup>. Połączenie fosforu z formą zredukowaną żelaza stanowi łatwo rozpuszczalny kompleks. Fosfor

może łatwo przechodzić do wody w takich warunkach. Przy pH wody 5,25 dochodzi do całkowitego ustania fotosyntezy w roślinach. Niewielki spadek pH powoduje problemy z oddychaniem u ryb, wartość poniżej 5,5 może oznaczać śmierć dla niektórych skorupiaków i zooplanktonu. Przy małym pH wzrasta rozpuszczalność metali, spośród których większość może być toksyczna.



Rys. 1. Zmiany pH w wodzie powierzchniowej i przydennej na stanowiskach: A) Cofka, B) Zarzęcin, C) Bronisławów, D) Tresta, E) Zapora

**Konduktyność (przewodność elektrolityczna)** O wartości konduktynośći danego roztworu decyduje liczba wolnych kationów i anionów obecnych w tym roztworze. Jony te pochodzą głównie z substancji nieorganicznych rozpuszczonych w wodzie, pochłoniętych gazów oraz w pewnym niewielkim stopniu z substancji organicznych. Wskaźnik ten jest miarą zawartości w wodzie rozpuszczalnych nieorganicznych substancji naturalnych i nieorganicznych zanieczyszczeń. Konduktyność (rys. 2) w monitorowanym okresie wahała się między 306÷733  $\mu\text{S}$  (369,9) w wodach powierzchniowych i 312÷680  $\mu\text{S}$  (366,5) w przydennych. Wartości te były bardzo zbliżone, jedynie na stanowisku Cofka wartości konduktynośći wody wiosną i latem w strefie powierzchniowej były znacznie większe niż w przydennej.

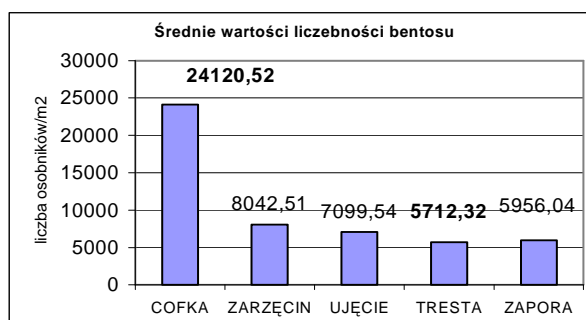


Rys. 2. Zmiany konduktywności w wodzie powierzchniowej i przydennej na stanowiskach: A) Cofka, B) Zarzęcin, C) Bronisławów, D) Tresta, E) Zapor

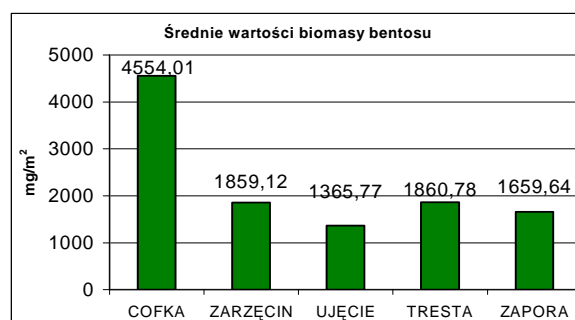
### Bentos Zbiornika Sulejowskiego

Największe wartości liczebności i biomasy bentosu w Zbiorniku Sulejowskim obserwowane były na stanowisku Cofka, najmniejsze na stanowisku Zapor (rys. rys. 3 i 4).

### Przestrzenna zmienność liczebności i biomasy fauny dennej



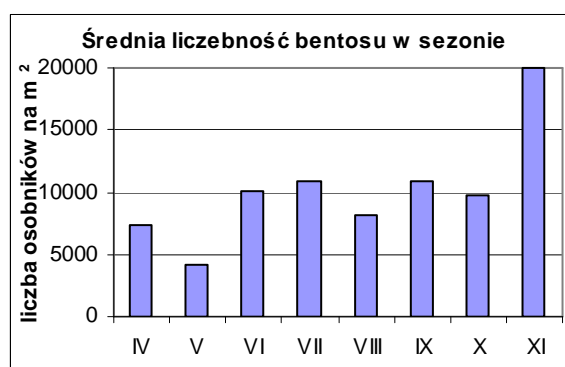
Rys. 3. Średnie wartości liczebności fauny dennej w Zbiorniku Sulejowskim



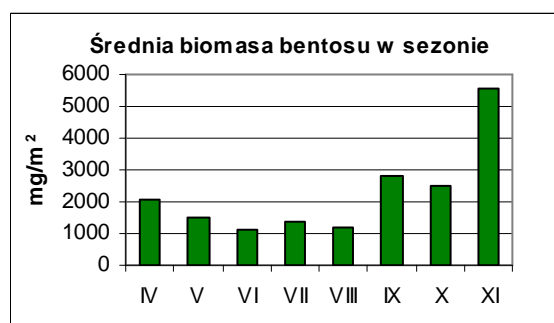
Rys. 4. Średnie wartości biomasy fauny dennej w Zbiorniku Sulejowskim

### Sezonowa zmienność liczebności i biomasy fauny dennej

Najmniejsze średnie wartości liczebności bentosu odnotowano wiosną (4107,79 osobników/m<sup>2</sup> w maju), nieco większe latem (10 925,91 osobników/m<sup>2</sup> w lipcu), największe jesienią (19 990 osobników/m<sup>2</sup> w listopadzie) (rys. rys. 5 i 6).



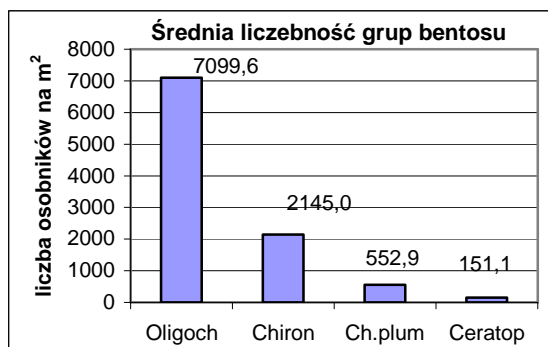
Rys. 5. Średnia liczebność fauny dennej na wszystkich stanowiskach pomiarowych w poszczególnych miesiącach



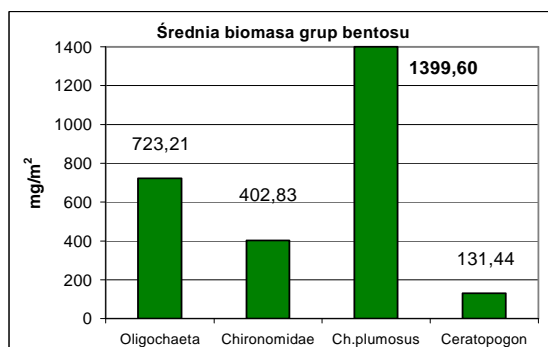
Rys. 6. Średnia biomasa fauny dennej na wszystkich stanowiskach pomiarowych w poszczególnych miesiącach

### Zróżnicowanie liczebności i biomasy różnych grup bentosu

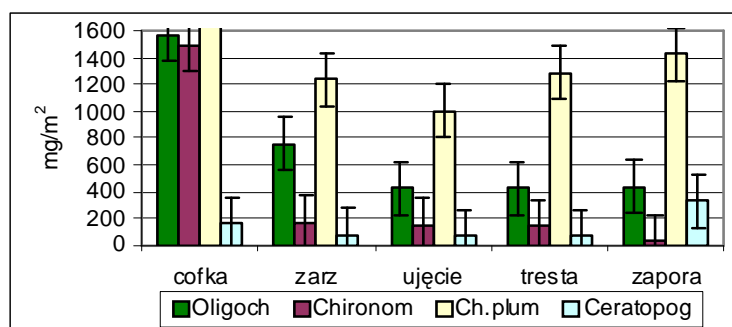
Największe znaczenie pod względem liczebności i biomasy odgrywają: skąposzczety (*Oligochaeta*), muchówki (*Chironomidae*, *Ceratopogonidae*), małże (*Bivalvia*), ślimaki (*Gastropoda*) (rys. 7 i 8).



Rys. 7. Średnia liczebność grup bentosu na wszystkich stanowiskach pomiarowych



Rys. 8. Średnia biomasa grup bentosu na wszystkich stanowiskach pomiarowych



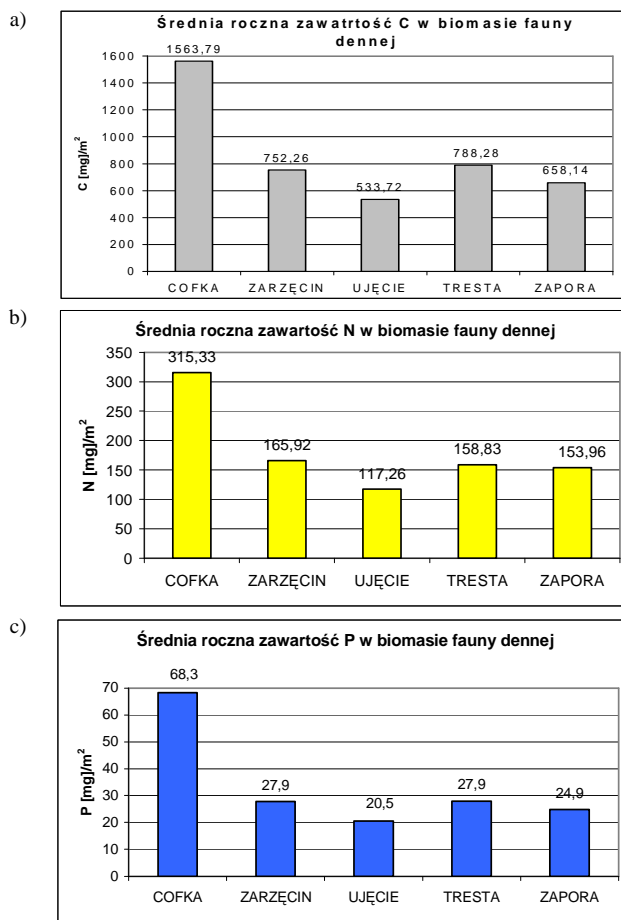
Rys. 9. Średnie biomasy grup bentosu na poszczególnych stanowiskach

Wykres przedstawiający średnią biomasę grup na stanowiskach (rys. 9) pokazuje, że najwyższe średnie biomasy *Chironomus plumosus*, *Oligochaeta* i reszty rodzaju *Chironomidae* zanotowano w Cofce. Na Zaporze wystąpiła najmniejsza biomasa *Chironomidae*, największa zaś *Ceratopogonidae*.

### Akumulacja pierwiastków biogenych w faunie dennej Zbiornika Sulejowskiego

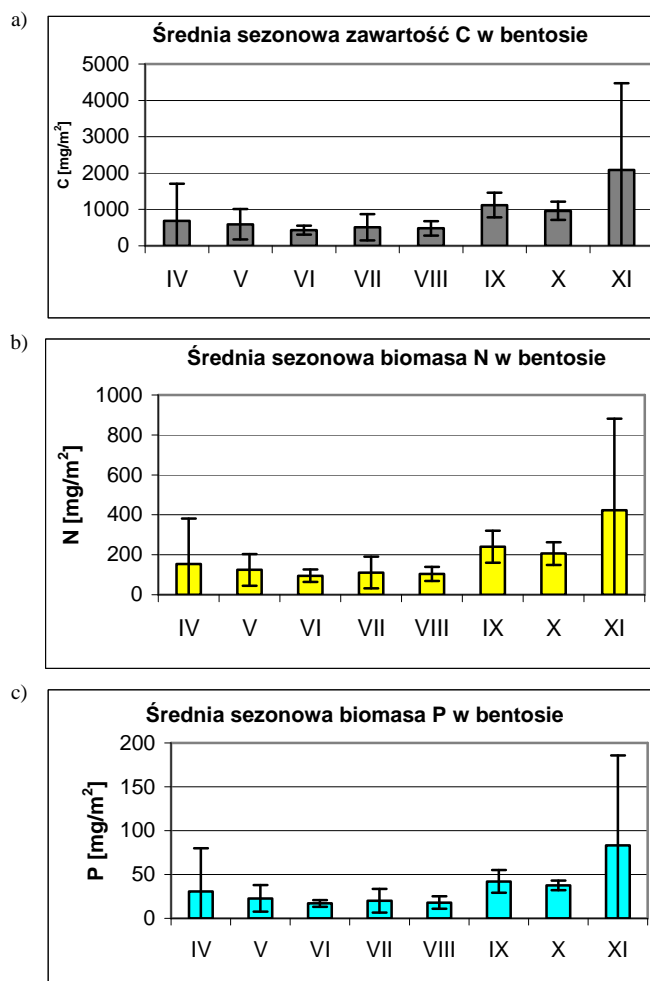
W Zbiorniku Sulejowskim w faunie dennej oznaczono zawartości pierwiastków organicznych (~9,0% N, ~40% C, ~7% P w bezkręgowcach). Wyniki przedstawiono na rysunkach 10 i 11. Wartości uzyskane w omawianych badaniach są zbliżone do wartości podawanych w literaturze w odniesieniu do innych sztucznych zbiorników i jezior w Polsce [11].

### Przestrzenna akumulacja biogenów w faunie dennej



Rys. 10. Średnia roczna zawartość [mg/m<sup>2</sup>]: a) węgla (C), b) azotu (N) c) fosforu (P) w bentosie na poszczególnych stanowiskach

### Sezonowa akumulacja biogenów w faunie dennej



Rys. 11. Średnia sezonowa zawartość: a) C, b) N, c) P w bentosie na m<sup>2</sup>

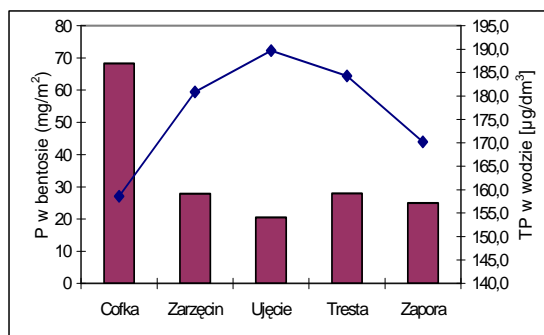
### Omówienie wyników i ich analiza

Prowadzone od lat badania Zbiornika Sulejowskiego pozwoliły w dużym stopniu poznać zachodzące w nim procesy biologiczne, fizyczne i chemiczne. Określono skład gatunkowy, biomasę i liczebność fitoplanktonu, zooplanktonu i ryb oraz udział w nich pierwiastków biogenych. Zbadano również dopływ zewnętrzny nutrientów do zbiornika [12]. Brakującym ogniwem i komponentem piramidy troficznej były parametry dotyczące bentosu. Przeprowadzone badania miały uzupełnić lukę w całościowym spojrzeniu na ten utworzony przez człowieka ekosystem.

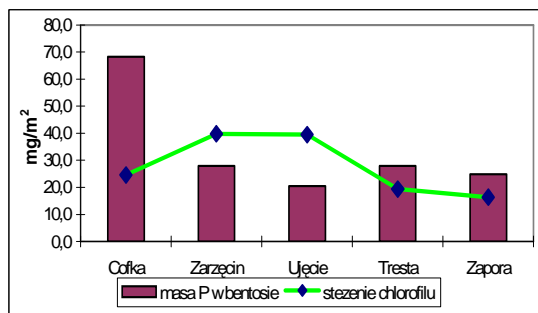
Procesy kształtowania się fauny dennej w Zbiorniku Sulejowskim są uwarunkowane wieloma czynnikami abiotycznymi (skład osadów, stężenie tlenu, pH, konduktywność)

oraz biotycznymi (liczebność i biomasa fitoplanktonu, zooplanktonu i ryb). Badania wykazały, że fauna denna jest zróżnicowana w odniesieniu zarówno do liczebności osobników, jak i ilości biomasy. Z punktu widzenia zróżnicowania przestrzennego największa liczebność oraz biomasa hydrobiontów została zarejestrowana na stanowisku Cofka (maksymalna zawartość materii organicznej 4,77%, min. 0,55%, śr. 2,12%) [13]. Rzeczny charakter stanowiska sprawia, że panujące tu warunki są najlepsze dla rozwoju bentosu (mniejsze deficyty tlenowe). Najmniejsza liczebność i biomasa odnotowana została na stanowiskach typowo jeziornych - Tresta i Zapora.

W aspekcie zróżnicowania sezonowego na wszystkich stanowiskach maksymalne wartości liczebności i biomasy fauny dennej odnotowano jesienią (październik, listopad). Wiosną, po przerwie zimowej, następuje wzrost ilości biomasy, ale liczebność osobników jest mniejsza, gdyż są to osobniki relatywnie duże. W okresie letnim następuje spadek ilości biomasy, ale wzrasta liczba osobników. Zmiany sezonowe są uwarunkowane licznymi czynnikami, np. latem spadek ilości biomasy wynika (po części) z wylotu zimowej generacji muchówek, a także z intensywnego żerowania ryb bentosożernych (jazgarz, okoń). W lipcu spadek biomasy fauny dennej może być częściowo powodowany przez młody narybek, który najpierw wyżera zooplankton, a następnie żeruje na bentosie. Zmniejszenie biomasy w okresie letnim jest także konsekwencją pomoru larw muchówek w warunkach bardzo intensywnego rozwoju kolonii sinic, które w tej postaci nie mogą stanowić pokarmu dla bentosu.



Rys. 12. Zależność zawartości fosforu (P) w wodzie od zawartości fosforu (P) w bentosie



Rys. 13. Zależność zawartości chlorofilu w wodzie od zawartości fosforu (P) w bentosie



Bentos może być czynnikiem kształtującym szlaki biogenów w zbiorniku. Badania wykazały, że największą zawartość fosforu w biomase fauny dennej notuje się na stanowiskach, gdzie zawartość tego pierwiastka w wodzie jest najmniejsza (rys. 12). Stężenia chlorofilu w wodzie w dużym stopniu są zależne od zawartości fosforu w bentosie (rys. 13). Kreowanie siedlisk dogodnych dla fauny dennej i kumulowanie w niej pierwiastków biogennych może powodować obniżenie zakwitów sinicowych w zbiorniku, a co za tym idzie - poprawę jakości wód.

Przedstawione wyniki rozpoznania roli bentosu w ekosystemie Zbiornika Sulejowskiego umożliwią podjęcie działań technicznych w zakresie kształtowania warunków sprzyjających samooczyszczaniu się wód poprzez kumulację zanieczyszczeń w organizmach fauny dennej. Podstawowym kierunkiem tych działań musi być realizacja budowy opaski sanitarnej wokół Zbiornika Sulejowskiego. Spowoduje to zmniejszenie zanieczyszczenia wód w zbiorniku, a co za tym idzie - poprawę warunków życia całej bioceozie, w tym także organizmów bentosowych.

## Wnioski

1. W skład fauny dennej Zbiornika Sulejowskiego wchodzi głównie *Oligochaeta* i larwy *Chironomidae*, mniejszy odsetek ogólnej liczebności stanowią *Ceratopogonidae* i *Mollusca* (*Gastropoda* i *Bivalvia*).
2. Liczebność i biomasa bentosu w Zbiorniku Sulejowskim są zróżnicowane przestrzennie.
3. Największe średnie wartości liczebności występują w rejonie Cofki (24120,52 osob./m<sup>2</sup>), a najmniejsze w rejonie Tresty (5712,32 osob./m<sup>2</sup>) i Zapory (5956,04 osob./m<sup>2</sup>).
4. Największe średnie wartości biomasy odnotowano na stanowisku Cofka (4554,00 mg/m<sup>2</sup>), najmniejsze na stanowisku Ujęcie (1365,77 mg/m<sup>2</sup>) i Zapora (1659,64 mg/m<sup>2</sup>).
5. Liczebność i biomasa podlegały zróżnicowaniu sezonowemu. Najmniejsze średnie wartości liczebności bentosu odnotowano wiosną (4107,79 osob./m<sup>2</sup> w maju), nieco większe latem (10925,91 osob./m<sup>2</sup> w lipcu), największe jesienią (19990 osob./m<sup>2</sup> w listopadzie).
6. Sezonowe zmiany ilości biomasy fauny dennej cechują się występowaniem jesiennego maksimum i letniego minimum. Najmniejszą średnią wartość odnotowano w czerwcu (1135,25 mg/m<sup>2</sup>), nieco większą w lipcu (1343,76 mg/m<sup>2</sup>), największą w listopadzie (5544,32 mg/m<sup>2</sup>).
7. Rozwój sinic, obniżenie liczebności zooplanktonu, żerowanie ryb bentosożernych, podwyższona temperatura, zmniejszone stężenie tlenu w wodzie przydennej były prawdopodobnie czynnikami decydującymi o letnim zmniejszeniu liczebności i biomasy bentosu w Zbiorniku Sulejowskim.
8. Średnia zawartość pierwiastków biogennych w bentosie wynosi około 9% dla azotu, 40% dla węgla i 7% dla fosforu. Można wnioskować, że wartości te oznaczają górną granicę chłonności tych pierwiastków przez bentos, gdyż w innych pomiarach nie wystąpiły wartości większe od zaprezentowanych.
9. W rzecznej części zbiornika, gdzie panują warunki sprzyjające rozwojowi fauny dennej, fosfor był akumulowany głównie w organizmach tej fauny, powodując

- spadek stężeń fosforu w wodzie i utrudniając zarazem rozwój sinic. Wraz z biegiem zbiornika stężenie fosforu w wodzie i w fitoplanktonie zwiększało się. Ze spostrzeżeń tych wynika, że działania naprawcze w sztucznych zbiornikach powinny koncentrować się na kształtowaniu warunków sprzyjających rozwojowi fauny dennej.
10. Dobrym wskaźnikiem stanu ekologicznego zbiornika jest stosunek liczebności *Oligochaeta* do *Chironomidae* (czyli większa wartość wskaźnika, tym gorsze warunki). W przeprowadzonych badaniach okazało się, że największą wartość tego wskaźnika odnotowano na stanowiskach Ujęcie (3,44) i Tresta (3,25), o czym decyduje bliskość zapory oraz spływu powierzchniowe z pól. Najmniejszą wartość wskaźnika odnotowano natomiast w pobliżu cofki zbiornika, na stanowisku Zarzęcin (0,75).
  11. Gospodarka wodna wymaga dobrej organizacji i prawidłowego zarządzania. Specyficzne uwarunkowania geograficzne i społeczne nie mogą być pomijane w programowaniu oraz realizacji zadań w zakresie ochrony zasobów wody w Polsce.
  12. Szansą na poprawę sytuacji jest wdrożenie zasad gospodarowania zasobami wodnymi określonymi w Ramowej Dyrektywie Wodnej, UNEP. Ekologiczny charakter sztucznych zbiorników wodnych kształtują cechy pośrednie między rzekami i wodami stojącymi.

## Literatura

- [1] Guidelines for the Integrated Management of the Watershed-phytotechnology and Ecohydrology UNEP Division of Technology, Industry and Economics, edited by M. Zalewski, 2002.
- [2] Budna E. i in.: Ochrona środowiska 2006, Główny Urząd Statystyczny, Warszawa 2006.
- [3] Kaczmarek Z.: Water Resource Management in Poland on the Edge of XXI Century (Gospodarka Wodna w Polsce u progu XXI wieku). Monographies of Komitet Inżynierii Środowiska Polskiej Akademii Nauk, Lublin 2005, **32**, 27-40.
- [4] Przedwojski B. (red.): Exploitation and Impact of Big Plain Water Reservoirs on the Case of Jeziorsko Reservoir (Eksploracja i oddziaływanie dużych zbiorników nizinnych na przykładzie zbiornika wodnego Jeziorsko). Wyd. Akademii Rolniczej w Poznaniu, Poznań 1999.
- [5] Imbierowicz M., Skrzypski J. i Zbiciński I.: *Assesment of conflicts on the artificial water reservoir Jeziorsko in the rural without a centralised wastewater treatment plant*, [In:] Leal W. et al (ed.), Baltic River Basin-Management Handbook. TuTech Innovation GmbH, Hamburg, Germany 2007, 83-100.
- [6] Skrzypski J. i in.: Environmental Protection Plan for Lodz Voivodship (Program ochrony środowiska dla województwa łódzkiego). Opracowanie dla Zarządu Województwa Łódzkiego. Łódź, Poland, 2003.
- [7] Allan J.D.: Ekologia wód płynących. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1998.
- [8] Armitage P.D.: Environmental changes induced by stream. [w:] A. Lillehamer, S.J. Saltveit, (red.). Regulated rivers. Universitetsforlaget, Oslo, Norwegia, 1984, 139-165.
- [9] Galicka W.: Limnologiczna charakterystyka zbiornika zaporowego na Pilicy w latach 1881-1993, monografia, Wyd. Uniwer.Łódzkiego, Łódź 1996.
- [10] Ligocka I.: Czynniki kształtujące bilans biogenów Zbiornika Sulejowskiego. Praca magisterska, Katedra Ekologii Stosowanej, Uniwersytet Łódzki, Łódź 2003.
- [11] Kajak Z.: Hydrobiologia - Limnologia. Ekosystemy wód śródlądowych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2001.
- [12] Zalewski M. i Wiśniewski R.: Zastosowanie biotechnologii ekosystemalnych do poprawy jakości wód. Zeszyty Naukowe Komitetu Naukowego przy Prezydium PAN „Człowiek i Środowisko” 18, Instytut Ekologii PAN, Ofic. Wyd., Warszawa 1997.
- [13] Zajac Z.: Charakterystyka dynamiki fosforu i materii organicznej oraz aktywności metabolicznej osadów dennych nizinnego zbiornika zaporowego. Praca magisterska. Katedra Ekologii Stosowanej, Uniwer. Łódzki, Łódź 2003.

**THE INTEGRATION OF BIOLOGICAL AND TECHNICAL ACTIONS  
AS A BASIS OF THE INTENSIFICATION  
OF DAM RESERVOIRS' SELF-PURIFICATION (SULEJOW RESERVOIR)**

**Abstract:** This is assessment of bottom fauna in shallow Sulejów dam reservoir (22 km<sup>2</sup>, 3.3 m deep). Five main systematic groups were found in each of five site of reservoir. The samples were taken every months (from April to November). The dominant groups were assessed: Diptera larvae (mainly *Chironomidae*) and subdominant group, *Oligochaeta*. In general, benthos is richer in terms of number and diversity in fluvial sites. Biotic and abiotic agents have the impact on number and biomass of bottom fauna. Benthos can have role in creating of biogens' trails.

**Keywords:** biodiversity, dam reservoir, benthos, biogens, biomass, antropopresion



**VARIA**





# 15<sup>th</sup> ICHMET



## 15<sup>th</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON HEAVY METALS IN THE ENVIRONMENT

SEPTEMBER 19-23, 2010  
GDAŃSK, POLAND

ORGANIZED BY  
CHEMICAL FACULTY, GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY (GUT)  
TOGETHER WITH  
COMMITTEE ON ANALYTICAL CHEMISTRY  
OF THE POLISH ACADEMY OF SCIENCES (PAS)

15<sup>th</sup> ICHMET- is a continuation of a series of highly successful conferences that have been held in major cities of the world since 1975. These conferences typically draw 500-1000 participants from countries in many parts of the world. Well over 5000 scientists have taken part in this series of conferences including most leaders in the field. Apart from the city's natural beauty, Gdańsk is logical choice for the 15<sup>th</sup> Conference to highlight the outstanding work that is being done on heavy metals in Central Europe. The venue for the meeting will be the Gdansk University of Technology (GUT) which features many tourist attractions.

The Conference will include a number of invited lectures treating frontier topics prepared by specialist with international reputation, oral presentation and poster sessions. ICHMET welcomes contributions on all aspects of any heavy metal in the environment. All presentation will be connected with such topics as:

- Risk assessment and risk management pertaining to toxic metals in the environment
- Susceptibility and protection of children from toxic metals in their environment
- Measurement and exposure assessment
- Biomarkers of exposure and effects of heavy metals
- Gene-environment-metal interactions
- Trend tracking/analysis of heavy metal data - spatial and temporal
- Risk communication pertaining to heavy metals
- Life cycle analysis for metalliferous consumer products
- Soil quality criteria
- Remediation technologies
- Control strategies for heavy metal emissions and deposition
- Metal mixtures – mechanistic and epidemiological studies
- Nutrient-metal interactions
- Advancements in analytical tools (procedures and measurement devices)
- Toxicology of heavy metals, from cellular and genomic to ecosystem levels

- Heavy metals in foods
- Impact of global change on heavy metal cycle

For further information on the conference, please contact:

Professor Jacek Namieśnik (Conference Chairman)  
Gdansk University of Technology, Chemical Faculty  
Department of Analytical Chemistry  
G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk (Poland)  
email: [chemanal@pg.gda.pl](mailto:chemanal@pg.gda.pl)  
homepage: <http://www.pg.gda.pl/chem/ichmet/>



## INVITATION FOR ECOPOLE'09 CONFERENCE

### CHEMICAL SUBSTANCES IN ENVIRONMENT



We have the honour to invite you to take part in the 18th annual Central European Conference ECOpole'09, which will be held in **14-17 X 2009** (Thursday-Saturday) on Wilhelms Hill at Uroczysko in Piechowice, PL.

The Conference Programme includes oral presentations and posters and will be divided into four sections - SI, SII, SIII and SIV:

- SI Chemical Pollution of Natural Environment and its Monitoring
- SII Environment Friendly Production and Use of Energy
- SIII Forum of Young Scientists and Environmental Education in Chemistry
- SIV Impact of Environment Pollution on Food and Human Health

On the first day the debates of sections SI and SII will take place. The second day will be started with an ecological excursion. Afterwards the plenary Session with lectures on **environmental education** as well as **grants within the EU Programmes** and presentation of **EU Centres of Excellence** will be held. Then the **Forum of Young Scientists** - the presentation (lectures and posters) of young scientists work will take place.

The main topic of the third day is the influence of environment quality on the **human health**.

During the Conference an exhibition of publications concerned with conference topics will be also organised.

The Conference language is English.

Contributions to the Conference will be published as:

- abstracts on the CD-ROM (0.5 page of A4 paper sheet format)
- extended Abstracts (4-6 pages) in the semi-annual *Proceedings of ECOpole*
- full papers will be published in successive issues of the *Ecological Chemistry and Engineering/Chemia i Inżynieria Ekologiczna* (Ecol. Chem. Eng.). The journals has got sizeable circulation (350 copies).

Additional information one could find on the Conference website:

[ecopole.uni.opole.pl](http://ecopole.uni.opole.pl)

The deadline for sending the Abstracts is **15.07.2009** and for the Extended Abstracts: **1.10.2009**. The actualised list (and the Abstracts) of the Conference contributions accepted for presentation by the Scientific Board, one will find (starting from 15.07.2009) on the Conference website.

The papers must be prepared according to the Guide for Authors on Submission of Manuscripts to the Journal.

The Conference fee is 300 € (covering hotel, meals and transportation during the Conference). It could be reduced (to 170 €) for young people actively participating in the Forum of Young Scientists. But the colleague has to deliver earlier the Extended Abstract (4-6 pages) of his/her contribution (deadline is on 15.08.2009), and a recommendation of his/her Professor.

Fees transferred after 15.09.2009 are 10% higher.

Conference participants are asked to fill in and send the Registration form.

At the Reception Desk each participant will obtain a CD-ROM with abstracts of the Conference contributions as well as Conference Programme (the Programme will be also published on the Conference website).

Further information is available from:

Dr hab. Maria Waclawek prof. UO

University of Opole

email: Maria.Waclawek@uni.opole.pl

and mrajfur@o2.pl

tel. +48 77 401 60 42

fax/tel. +48 77 455 91 49

#### **Conference series**

1. 1992 Monitoring'92 Opole
2. 1993 Monitoring'93 Turawa
3. 1994 Monitoring'94 Pokrzywna
4. 1995 EKO-Opole'95 Turawa
5. 1996 EKO-Opole'96 Kędzierzyn-Koźle
6. 1997 EKO-Opole'97 Duszniki Zdrój
7. 1998 CEC ECOpole'98 Kędzierzyn-Koźle
8. 1999 CEC ECOpole'99 Duszniki Zdrój
9. 2000 CEC ECOpole 2000 Duszniki Zdrój
10. 2001 CEC ECOpole'01 Duszniki Zdrój
11. 2002 CEC ECOpole'02 Duszniki Zdrój
12. 2003 CEC ECOpole'03 Duszniki Zdrój
13. 2004 CEC ECOpole'04 Duszniki Zdrój
14. 2005 CEC ECOpole'05 Duszniki Zdrój
15. 2006 CEC ECOpole'06 Duszniki Zdrój
16. 2007 CEC ECOpole'07 Duszniki Zdrój
17. 2008 CEC ECOpole'08 Piechowice

## REGISTRATION FORM for the ECOpole'09 CONFERENCE

Surname and First Name .....

Scientific Title/Position .....

Affiliation .....

Address .....

Tel./fax ....., email .....

Title of presentation .....

.....

## KIND OF PRESENTATION

	YES	NO
Oral		
Poster		
Taking part in discussion		

## ACCOMMODATION

14/15 X		15/16 X		16/17 X	
Yes	No	Yes	No	Yeas	No

## MEALS

Date	Breakfast	Lunch	Dinner
14 X	---	---	
15 X			
16 X			
17 X			---

✂



**ZAPRASZAMY  
DO UDZIAŁU W ŚRODKOWOEUROPEJSKIEJ KONFERENCJI  
ECOPOLE'09  
W DNIACH 14-17 X 2009**

**SUBSTANCJE CHEMICZNE W ŚRODOWISKU PRZYRODNICZYM**



Będzie to osiemnasta z rzędu konferencja poświęcona badaniom podstawowym oraz działaniom praktycznym dotycząca różnych aspektów ochrony środowiska przyrodniczego. Odbędzie się ona w ośrodku „Uroczysko” na Wzgórzu Wilhelma w Piechowicach. Doroczne konferencje ECOpole mają charakter międzynarodowy i za takie są uznane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Obrady konferencji ECOpole'09 będą zgrupowane w czterech Sekcjach SI-SIV:

- **SI Chemiczne substancje w środowisku przyrodniczym oraz ich monitoring**
- **SII Odnawialne źródła energii i jej oszczędne pozyskiwanie oraz użytkowanie**
- **SIII Forum Młodych (FM) i Edukacja prośrodowiskowa w chemii**
- **SIV Wpływ zanieczyszczeń środowiska oraz żywności na zdrowie ludzi**

Materiały konferencyjne będą opublikowane w postaci:

- abstraktów (0,5 strony formatu A4) na CD-ROM-ie;
- rozszerzonych streszczeń o objętości 4-6 stron w półroczniku *Proceedings of ECOpole*;
- artykułów: w abstraktowanych czasopismach: *Ecological Chemistry and Engineering/Chemia i Inżynieria Ekologiczna*. (Ecol. Chem. Eng.) oraz (niektórych) w półroczniku *Chemia-Dydaktyka-Ekologia-Metrologia*.

**Termin nadsyłania angielskiego i polskiego streszczenia o objętości 0,5-1,0 strony (wersja cyfrowa + wydruk) planowanych wystąpień upływa 15 lipca 2009 r.** Lista prac zakwalifikowanych przez Radę Naukową Konferencji do prezentacji będzie sukcesywnie publikowana od 15 lipca 2009 r. na stronie internetowej konferencji

ecopole.uni.opole.pl

Aby praca (dotyczy to także streszczenia, które powinno mieć tytuł w języku polskim i angielskim, słowa kluczowe w obydwu językach) przedstawiona w czasie konferencji mogła być opublikowana, jej tekst winien być przygotowany zgodnie z wymaganiami stawianymi artykułom drukowanym w czasopiśmie *Ecological Chemistry and Engineering*, które jest dostępne w wielu bibliotekach naukowych w Polsce i zagranicą. Są one takie same dla prac drukowanych w półroczniku *Chemia-Dydaktyka-Ekologia-Metrologia*. Zalecenia te są również umieszczone na stronie internetowej konferencji.

Koszt uczestnictwa w całej konferencji wynosi 1000 zł i pokrywa opłatę za udział, koszt noclegów i wyżywienia oraz rocznej prenumeraty *Ecol. Chem. Eng.* (razem blisko 2000 ss.) łącznie z materiałami konferencji. Jest możliwość udziału tylko w jednym wybranym przez siebie dniu, wówczas opłata wyniesie 650 zł i będzie upoważniała do uzyskania wszystkich materiałów konferencyjnych, jednego noclegu i trzech posiłków (śniadanie, obiad, kolacja), natomiast osoby zainteresowane udziałem w dwóch dniach, tj. w pierwszym i drugim lub drugim i trzecim, winny wnieść opłatę w wysokości 800 zł. Opłata dla magistrantów i doktorantów oraz młodych doktorów biorących aktywny udział w Forum Młodych może być zmniejszona do 600 zł przy zachowaniu takich samych świadczeń. Osoby te winny dodatkowo dostarczyć: rozszerzone streszczenia (4-6 stron) swoich wystąpień (**do 15.08.2009 r.**). Jest także wymagana opinia opiekuna naukowego. Sprawy te będą rozpatrywane indywidualnie przez Radę Naukową oraz Komitet Organizacyjny Konferencji. Członkowie Towarzystwa Chemii i Inżynierii Ekologicznej i Polskiego Towarzystwa Chemicznego (z opłaconymi na bieżąco składkami) mają prawo do obniżonej opłaty konferencyjnej o 25 zł. Opłaty wnoszone po 15 września 2009 r. są większe o 10% od kwot podanych powyżej. Wszystkie wpłaty powinny być dokonane na konto w Banku Śląskim:

**BSK O/Opole Nr 65 1050 1504 1000 0005 0044 3825**

i mieć dopisek ECOpole'09 oraz nazwisko uczestnika konferencji. Prosimy również o zgłoszenie uczestnictwa w konferencji poprzez wypełnienie formularza zgłoszeniowego.

Po konferencji zostaną wydane 4-6-stronicowe rozszerzone streszczenia wystąpień w półroczniku *Proceedings of ECOpole*. Artykuły te winny być przesłane do **1 października 2009 r.** Wszystkie nadsyłane prace podlegają zwykłej procedurze recenzyjnej. Wszystkie streszczenia oraz program konferencji zostaną wydane na CD-ROM-ie, który otrzyma każdy z uczestników podczas rejestracji. Program będzie także umieszczony na stronie internetowej konferencji.

Za Komitet Organizacyjny  
dr hab. inż. Maria Waclawek prof. UO  
Wszelkie uwagi i zapytania można kierować na adres:  
Maria.Waclawek@uni.opole.pl  
lub mrajfur@o2.pl  
tel. 077 401 60 42  
tel. 077 455 91 49  
fax 077 401 60 51

---

Kalendarium dotychczasowych konferencji tej serii:

1. 1992 Monitoring'92 Opole
2. 1993 Monitoring'93 Turawa
3. 1994 Monitoring'94 Pokrzywna
4. 1995 EKO-Opole'95 Turawa
5. 1996 EKO-Opole'96 Kędzierzyn-Koźle
6. 1997 EKO-Opole'97 Duszniki Zdrój
7. 1998 ŚEK ECOpole'98 Kędzierzyn-Koźle
8. 1999 ŚEK ECOpole'99 Duszniki Zdrój
9. 2000 ŚEK ECOpole 2000 Duszniki Zdrój
10. 2001 ŚEK ECOpole'01 Duszniki Zdrój
11. 2002 ŚEK ECOpole'02 Duszniki Zdrój
12. 2003 ŚEK ECOpole'03 Duszniki Zdrój
13. 2004 ŚEK ECOpole'04 Duszniki Zdrój
14. 2005 ŚEK ECOpole'05 Duszniki Zdrój
15. 2006 ŚEK ECOpole'06 Duszniki Zdrój
16. 2007 ŚEK ECOpole'07 Duszniki Zdrój
17. 2008 ŚEK ECOpole'08 Piechowice

**ZGŁASZAM UCZESTNICTWO W KONFERENCJI ECOpole'09**  
(prosimy o wypełnienie zgłoszenia drukowanymi literami)

Nazwisko i imię .....

Tytuł (stopień) naukowy/stanowisko .....

Miejsce pracy .....

Adres .....

tel./fax ....., email .....

Dane instytucji (nazwa, adres, NIP), dla której ma być wystawiona faktura:

.....  
.....  
.....

**RODZAJ PRZEWIDYWANEGO WYSTĄPIENIA**

TAK      NIE

Referat		
Poster		
Głos w dyskusji		

**TYTUŁ WYSTĄPIENIA** .....

.....

**ZAMAWIAM NOCLEG**

14/15 X		15/16 X		16/17 X	
TAK	NIE	TAK	NIE	TAK	NIE

**ZAMAWIAM POSIŁKI**

Data	Śniadanie	Obiad	Kolacja
14 X	---	---	
15 X			
16 X			
17 X			---

✂



## GUIDE FOR AUTHORS ON SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

A digital version of the Manuscript addressed:

Professor Witold Waclawek  
Editor-in-chief  
*Ecological Chemistry and Engineering* (Ecol. Chem. Eng.)  
Uniwersytet Opolski  
ul. Oleska 48, 45-951 Opole, Poland  
tel. +48 77 452 71 34, fax +48 77 455 91 49  
email: [waclawek@uni.opole.pl](mailto:waclawek@uni.opole.pl)

should be sent by email to the Editorial Office Secretariat - [mrjfur@o2.pl](mailto:mrjfur@o2.pl)

The Editor assumes, that an author submitting a paper for publication has been authorised to do that. It is understood the paper submitted to be original and unpublished work, and is not being considered for publication by another journal. After printing, the copyright of the paper is transferred to *Towarzystwo Chemii i Inżynierii Ekologicznej* (*Society for Ecological Chemistry and Engineering*). In preparation of the manuscript please follow the general outline of papers published in the most recent issues of *Ecol. Chem. Eng.*, a sample copy can be sent, if requested. Papers submitted are supposed to be written in English language and should include a summary and keywords, if possible also in Polish language. If not then the Polish summary and keywords will be provided by the Editorial Office. All authors are requested to inform of their current addresses, phone and fax numbers and their email addresses.

It is urged to follow the units recommended by the *Système Internationale d'Unites* (SI). Graph axis labels and table captions must include the quantity units.

Symbols recommended by the International Union of Pure and Applied Chemistry (Pure and Appl. Chem. 1979, **51**, 1-41) are to be followed. Graphics (drawings, plots) should also be supplied in the form of digital vector - type files, *eg* CorelDraw, Grapher for Windows or at least in a bitmap format (TIF, JPG, PCX, BMP). In the case of any query please feel free to contact with the Editorial Office. Footnotes, tables and graphs should be prepared as separate files. References cited chronologically should follow the examples given below:

[1] Kowalski J. and Malinowski A.: Polish J. Chem., 1990, **40**(3), 2080-2085.

[2] Nowak S.: Chemia nieorganiczna. WNT, Warszawa 1990.

Journal titles should preferably follow the Chem. Abst. Service recommended abbreviations. Receipt of a paper submitted for publication will be acknowledged by email. If no acknowledgement has been received, please check it with the Editorial Office by email, fax, letter or phone.

## ZALECENIA DOTYCZĄCE PRZYGOTOWANIA MANUSKRYPTÓW

Praca przeznaczona do druku w czasopismach *Ecological Chemistry and Engineering S/Chemia i Inżynieria Ekologiczna S (Ecol. Chem. Eng. S)* powinna być przesłana na adres Redakcji:

Profesor Witold Waclawek  
Redakcja  
*Ecological Chemistry and Engineering/Chemia i Inżynieria Ekologiczna*  
Uniwersytet Opolski  
ul. Oleska 48, 45-951 Opole  
tel. 77 452 71 34, fax 77 455 91 49  
email: [waclawek@uni.opole.pl](mailto:waclawek@uni.opole.pl)

w postaci cyfrowej w formacie Microsoft Word (ver. XP dla Windows) emailem ([mrajfur@o2.pl](mailto:mrajfur@o2.pl)) lub na dyskietce.

Redakcja przyjmuje, że autor, przysyłając artykułu do druku, w ten sposób oświadcza, że jest upoważniony do tego, oraz zapewnia, że artykuł ten jest oryginalny i nie był wcześniej drukowany gdzie indziej i nie jest wysłany do druku gdzie indziej oraz że po jego wydrukowaniu copyright do tego artykułu uzyskuje Towarzystwo Chemii i Inżynierii Ekologicznej. W przygotowaniu manuskryptu należy przede wszystkim wzorować się na postaci artykułów w możliwie najnowszych zeszytach *Ecol. Chem. Eng.* Prace przesyłane do publikacji winny być napisane w języku angielskim lub polskim oraz zaopatrzone w streszczenia oraz słowa kluczowe w obydwu tych językach. Zalecamy, aby artykuł zawierał adresy i emaile oraz numery telefonów i faksów wszystkich autorów danej pracy, szczególnie głównego autora, którego nazwisko wyróżniamy gwiazdką.

Usilnie prosimy o stosowanie układu jednostek SI. Zwracamy uwagę, że osie wykresów oraz główki tabel powinny bezwzględnie zawierać jednostki stosownej wielkości. W przypadku artykułów pisanych po polsku podpisy tabel i rysunków powinny być podane w językach polskim i angielskim.

Polecamy symbolikę zalecaną przez PTChem (Symbole i terminologia wielkości i jednostek stosowanych w chemii fizycznej, Ossolineum, Wrocław 1989; Pure Appl. Chem., 1979, **51**, 1-41).

Materiał graficzny (rysunki, wykresy), obok wersji na papierze, powinien również być dostarczony w postaci cyfrowych plików wektorowych, np. za pomocą programów: CorelDraw wersja 9.0, Grafer dla Windows lub przynajmniej bitowe (TIF, JPG, PCX, BMP).

Przypisy i tabele, podobnie jak rysunki, zapisujemy jako osobne pliki.

Literaturę prosimy zamieszczać wg poniższych przykładów:

[1] Kowalski J. i Malinowski A.: *Polish J. Chem.*, 1990, **40**(3), 2080-2085.

[2] Nowak S.: *Chemia nieorganiczna*. WNT, Warszawa 1990.

Tytuły czasopism należy skracać zgodnie z zasadami przyjętymi przez amerykańską *Chemical Abstracts Service*, a w przypadku polskich publikacji niepodawanych przez CAS należy stosować skrót zgodnie z zaleceniami Biblioteki Narodowej. Autor może, jeżeli uważa to za wskazane, podawać też tytuł cytowanych artykułów z czasopism (który będzie składany kursywą) oraz numer zeszytu danego woluminu (w nawiasie, po numerze woluminu).

Redakcja potwierdza emailem otrzymanie artykułu do druku. W przypadku braku potwierdzenia prosimy o interwencję: emailem, faksem, listem lub telefonicznie.

PRZYGOTOWANIE DO DRUKU

*Zdzisława Tasarz  
Lucyna Żyła  
Aleksander Zaremba*

PROJEKT OKŁADKI

*Marian Wojewoda*

---

Druk: „Drukarnia Smolarski”, Józef Smolarski  
ul. Ozimska 182, 45-310 Opole  
Objętość: ark. wyd. 10,7, ark. druk. 8,0

