POLITECHNIKA WROCŁAWSKA

WYDZIAŁ CHEMICZNY

KATEDRA ZAAWANSOWANYCH TECHNOLOGII MATERIAŁOWYCH

ROZPRAWA DOKTORSKA

Nowe formulacje specjalistycznych nawozów mineralno-organicznych zgodnie z wytycznymi dla gospodarki o obiegu zamkniętym

Mgr inż. Grzegorz Izydorczyk

Promotor:

Prof. dr hab. inż. Katarzyna Chojnacka

Politechnika Wrocławska

Wrocław, 2021

Dziękuję Pani prof. dr hab. inż. Katarzynie Chojnackiej
za możliwość realizacji tej pracy, merytoryczne fundamenty,
cenne rady, poświęcony czas i życzliwość.

Serdeczne podziękowania składam również kochanej
rodzinie, całemu zespołowi ChemForAgro oraz
przyjaciołom za wyrozumiałość, wiarę w mój sukces i wparcie.

Praca zrealizowana w ramach:

Biostrateg II (BIOSTRATEG2/298205/9/NCBR/2016) „Rośliny uprawne oraz produkty naturalne jako źródła substancji biologicznie aktywnych przeznaczonych do produkcji preparatów kosmetycznych, farmaceutycznych i suplementów diet”

oraz

„Opracowanie wstępnych formulacji produktu: opracowanie technologii wytwarzania bionawozów fosforowych na bazie odnawialnych surowców fosforowych (metodą solubilizacji mikrobiologicznej” – zlecenie wykonane dla Grupa Azoty ZAK S.A. jako podwykonawca w ramach projektu finansowanego przez NCBiR POIR Działanie 1.2: Sektorowe programy B+R
Projekt: „Nowe formulacje specjalistycznych nawozów organiczno-mineralnych”

Część analityczną niniejszej pracy wykonano w akredytowanym przez Polskie Centrum Akredytacji Laboratorium Chemicznym Analiz Wielopierwiastkowych (Certyfikat Akredytacji nr AB 696), działającym w ramach Katedry Zaawansowanych Technologii Materiałowych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej.

Spis treści

1. Wstęp 9

1.1 Gospodarka o obiegu zamkniętym – możliwości implementacji w sektorze nawozowym 11

1.2 Nawozy 14

1.3 Nawozy w rolnictwie ekologicznym 15

1.4 Rola składników nawozowych w żywieniu rośliny 17

1.5 Surowce odnawialne potencjalnie użyteczne w technologii nawozów zgodnie z założeniami gospodarki o obiegu zamkniętym 18

1.5.1 Odpadowa biomasa roślinna i sposoby jej zagospodarowania 18

1.5.2 Odpadowa biomasa zwierzęca 20

1.5.3 Odpady fosforowe 22

1.5.4 Popioły 22

1.6 Technologie waloryzacji surowców odnawialnych na nawozy 23

1.6.1 Biosorpcja 23

1.6.2 Hydroliza 24

1.6.3 Solubilizacja 24

2. Cel pracy 25

3. Materiały i metody 27

3.1 Materiały 27

3.1.1 Odpadowa biomasa lucerny i nawłoci 27

3.1.2 Surowce odpadowe zawierające fosfor 27

3.1.3 Mikroorganizmy 28

3.1.4 Pożywka hodowlana 28

3.1.10 Pozostałe odczynniki wykorzystane w pracy doktorskiej. 28

3.2 Metody 29

3.2.1 Biosorpcja 29

3.2.2 Solubilizacja mikrobiologiczna 30

3.2.3 Wzrost komórek 31

3.2.4 Hydroliza kwasowa 31

3.2.5 Analiza składu nawozów i biomasy 32

3.2.6 Analiza zawartości aminokwasów 33

3.2.7 Oceny zawartości mikroorganizmów 33

3.2.8 Ocena stabilności nawozów płynnych 33

3.2.9 Ocena biodostępności składników pokarmowych w testach ekstrakcyjnych 33

3.2.10 Wstępna ocena skuteczności nawozów w testach *in vivo* – testy kiełkowania 34

3.2.11 Testy wazonowe 35

3.2.12 Ocena biometryczna kiełków i rozsady 35
3.2.13 Wyznaczenie współczynnika biodostępności fosforu TFP 36
3.2.14 Ocena skuteczności nawozów w badaniach polowych 36
3.2.15 Ocena właściwości piekarniczych ziarna pszenicy 36
3.2.16 Analiza statystyczna danych 38
4. Wyniki i ich dyskusja 39
4.1. Technologia nawozów mikroelementowych bazujących na biomasie lucerny 39
4.1.1. Wzbogacanie biomasy 39
4.1.2. Biodostępność mikroelementów 40
4.1.3. Testy kiełkowania 42
4.1.4. Badania polowe 45
4.1.4.1 Schemat doświadczenia 45
4.1.4.2. Warunki glebowe 46
4.1.4.3. Stan odżywienia rośliny w czasie wegetacji 47
4.1.4.4. Plony 50
4.1.4.5. Jakość ziarna kukurydzy 51
4.2 Technologia nawozów fosforowych metodą solubilizacji mikrobiologicznej 54
4.2.1 Analiza składu surowców 54
4.2.2 Solubilizacja mikrobiologiczna 56
4.2.3 Właściwości fizykochemiczne bionawozu fosforowego 65
4.2.4 Testy kiełkowania 66
4.2.5 Testy wazonowe 75
4.2.6 Biodostępność fosforu 77
4.3 Technologia nawozów wieloskładnikowych metodą hydrolizy kwasowej 78
4.3.1 Właściwości fizykochemiczne nawozu 78
4.3.2 Zawartość aminokwasów 80
4.3.3 Czystość mikrobiologiczna 82
4.3.4 Badania polowe 83
4.3.5 Analiza ziarna 86
5. Badanie stanu techniki 91
5.1 Technologia nawozów mikroelementowych bazujących na biomasie lucerny 91
5.1.1 Czystość patentowa 91
5.1.2 Surowce w świetle obowiązującego prawa 92
5.1.3 Opis koncepcji technologicznej 93
5.1.4 Bilans materiałowy 95
5.1.5 Oszacowanie kosztów wytwarzania 96

5.1.6. Możliwość komercjalizacji w świetle obowiązującego prawa 98
5.2 Technologia nawozów fosforowych metodą solubilizacji mikrobiologicznej 99
5.2.1 Czystość patentowa 99
5.2.2 Surowce w świetle obowiązującego prawa 99
5.2.3 Opis koncepcji technologicznej 100
5.2.4 Bilans materiałowy 102
5.2.5 Oszacowanie kosztów wytwarzania 102
5.2.6 Możliwość komercjalizacji w świetle obowiązującego prawa 103
5.3 Technologia nawozów wieloskładnikowych metodą hydrolizy kwasowej 103
5.3.1 Czystość patentowa 103
5.3.2 Surowce w świetle obowiązującego prawa 104
5.3.3 Opis koncepcji technologicznej 105
5.3.4 Bilans materiałowy 107
5.3.5 Oszacowanie kosztów wytwarzania 108
5.3.6 Możliwość komercjalizacji w świetle obowiązującego prawa 110
6. Podsumowanie 112
7. Wnioski 116
8. Bibliografia 117
9. Spis symboli i skrótów 130
10. Spis rysunków 131
11. Spis tabel 133
12. Dorobek naukowy 134

1. Wstęp

Gospodarka o obiegu zamkniętym oraz zrównoważony rozwój to dwa podstawowe systemy gospodarcze współczesnego świata. Ich nadrzędnym celem jest zracjonalizowanie wykorzystania surowców naturalnych poprzez implementację recyklingu materiałowego i przetwarzania odpadów w produkty użyteczne. Działania te są przede wszystkim skierowane na poprawę stanu środowiska naturalnego i redukcję ilości odpadów poprzez ich zawrót w pętlę różnych procesów technologicznych. To z kolei ogranicza wykorzystanie naturalnych złóż (minerałów, wody, paliw kopalnych), dzięki czemu nie zmniejsza się szans przyszłych pokoleń na zaspokojenie potrzeb i prawidłowy rozwój (Schroeder i in., 2019).

Recykling materiałowy w myśl gospodarki cyrkularnej jest stosowany również w sektorze nawozowym, który jest ważną gałęzią polskiej gospodarki. Stały wzrost liczby ludności, powoduje większe zapotrzebowanie na żywność. Z kolei wzrost urbanizacji i wykorzystania terenów użytecznych rolniczo, jak i spadek jakości gleb, zmusza producentów rolnych do intensyfikacji rolnictwa celem zaspokojenia popytu na produkty rolne. Najczęściej odbywa się to poprzez bardziej intensywne nawożenie, które wpływa na plonowanie roślin. Potwierdza się zatem bliska relacja pomiędzy wytwarzaniem nawozów a produkcją żywności, która wymuszona dodatnim przyrostem naturalnym w skali świata, będzie wymagać stałego wzrostu zużycia nawozów.

Produkcja, ale przede wszystkim stosowanie nawozów sztucznych wywiera duży wpływ na stan środowiska naturalnego. Z jednej strony wynika to z zastosowanej technologii, bazującej na wyczerpywalnych źródłach surowców naturalnych, w tym przede wszystkich minerałów fosforonośnych (fosforyty, apatyty) oraz produkcji odpadów – m.in. zalegającym na hałdach fosfogipsie. Nawozy sztuczne stanowią również duże zagrożenie dla środowiska, co wynika z ich nieprawidłowego stosowania (Prashar i Shah, 2016). Jest to skutek braku świadomości rolników, którzy w celu zwiększenia plonowania upraw, stosują zwiększone dawki nawozów. Niekorzystne warunki pogodowe, rodzaj uprawy, jakość gleby, jak i biodostępność składników odżywczych w stosowanych nawozach są czynnikami determinującymi ogromne straty pierwiastków biogennych, pogorszenie jakości gleby (zmiany pH, spadek zawartości próchnicy), a nawet możliwości wystąpienia suszy fizjologicznej (Lin i in., 2019). Straty pierwiastków nawozowych są rezultatem akumulacji pierwiastków w glebie w formie niedostępnej dla roślin (szczególnie w przypadku fosforu), działania mikroorganizmów (szczególnie bakterii odpowiedzialnych za procesy nitryfikacji i denitryfikacji generujących straty azotu w postaci amoniaku i tlenków azotu) (Li i in., 2017) oraz spływowi

powierzchniowemu, jak również wymywaniu do głębszych partii profilu glebowego (Silveira i in., 2019). Dane literaturowe pokazują, że stratom ulec może nawet 80% azotu, 50% fosforu, a także ponad 60% potasu (Santamaría Vanegas i in., 2019). Najbardziej niekorzystnym efektem strat pierwiastków, głównie w wyniku spływu powierzchniowego, jest eutrofizacja wód, prowadząca do zakwitu zbiorników wodnych w wyniku zbyt dużego dopływu biogenów.

W związku z narastającym problemem dużych strat pierwiastków nawozowych, podjęto szeroki zakres działań, mających na celu zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska w wyniku działalności rolniczej, a zwłaszcza wód powierzchniowych. Przykładem może być Dyrektywa Azotanowa, określająca m.in. wymagane zabiegi agrotechniczne, maksymalne dawki nawozów azotowych oraz terminy ich stosowania (Dyrektywa Rady 91/676/EWG z dnia 12 grudnia 1991 r.). W myśl ograniczenia strat pierwiastków biogennych, powstały nowoczesne nawozy o spowolnionym lub kontrolowanym uwalnianiu składników odżywczych. Nawozy te, dzięki mechanizmom uwalniania pierwiastków w czasie, dostarczają składników odżywczych w każdej fazie BBCH wzrostu rośliny (Mikula i in., 2020). Na przestrzeni lat rozwinął się również trend stosowania nawozów dolistnych o wysokiej przyswajalności, które rozpylone w postaci mgły lub drobnych kropli zostają pobrane przez roślinę z wyższą wydajnością (Sultana i in., 2016).

Wysokie straty środowiskowe oraz materiałowe wynikające ze stosowania nawozów mineralnych, jak również wdrożenie założeń gospodarki o obiegu zamkniętym, zmusza do poszukiwania nowych rozwiązań w sektorze nawozowym. Naprzeciw temu wychodzi możliwość wykorzystania odnawialnej bazy surowcowej, w tym surowców odpadowych z sektora rolno-spożywczego, które poddane różnym procesom biochemicznym lub chemicznym, przekształcane mogą być w pełnowartościowe, wieloskładnikowe nawozy. Co ważne, rynek nawozów bazujących na surowcach odnawialnych stale się poszerza. Wynika to zarówno ze zwiększonej świadomości rolników, jak również z możliwości stosowania takich nawozów w rolnictwie ekologicznym, które staje się coraz bardziej popularne.

W chwili obecnej nawozy z surowców odnawialnych produkowane są w nieznacznej ilości. W pracy przedstawiono nowe formulacje nawozów mineralno-organicznych, których technologia oparta jest o surowce odnawialne, co zgodne jest z założeniami gospodarki o obiegu zamkniętym. Stanowi to swoistą ofertę technologiczną dla producentów odpadów biologicznych oraz producentów nawozów. W ramach pracy zaproponowano kilka rozwiązań, w których wykorzystywane są różne surowce odnawialne jako źródło poszczególnych składników nawozowych. Każda technologia obejmuje sposób otrzymywania formulacji,

ocenę jej właściwości fizykochemicznych oraz wstępnej skuteczności biologicznej, a także założenia technologiczne. Zaproponowano:

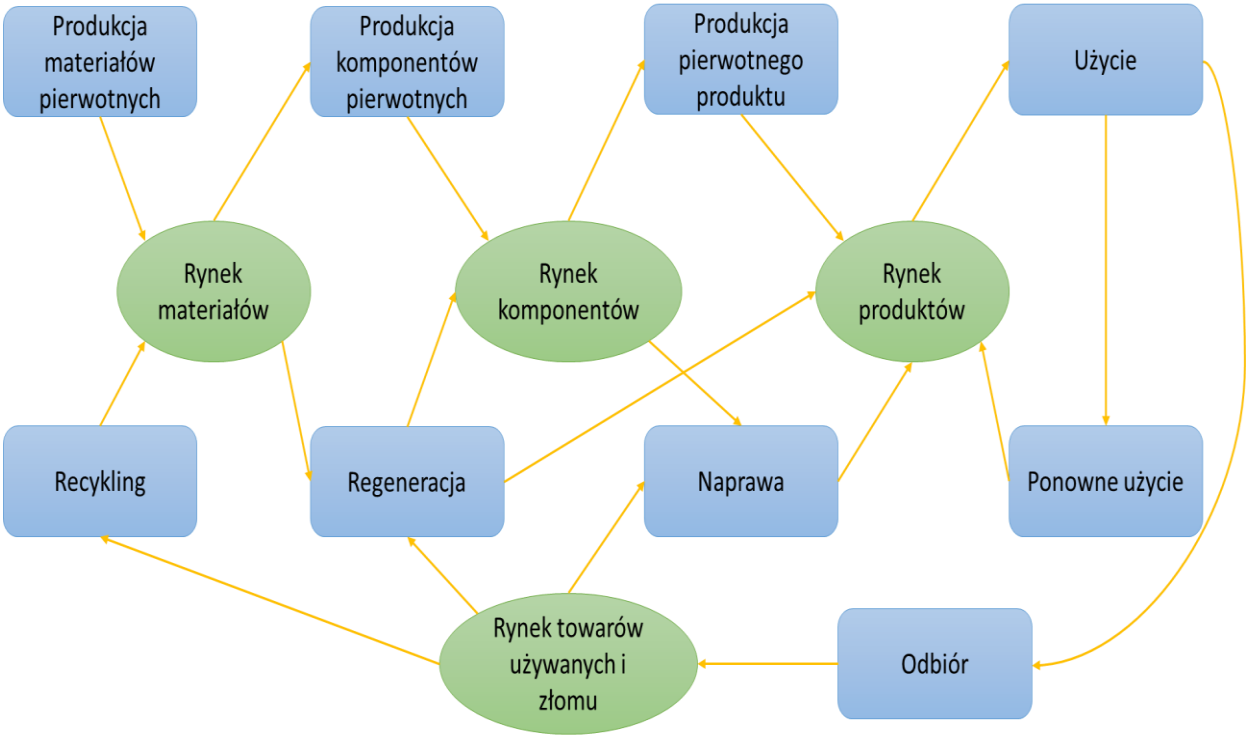
1. nawozy mikroelementowe bazujące na biomasie
2. nawozy fosforowe o obniżonej zawartości kadmu
3. nawozy wieloskładnikowe z aminokwasami pochodzenia zwierzęcego

Niniejsza rozprawa stanowi zbiór innowacji procesowych i produktowych o stopniu gotowości technologicznej TRL co najmniej 6. Zaproponowane formulacje nawozów mogą zostać wykorzystane w rolnictwie ekologicznym, bazującym na surowcach wtórnych zgodnie z ideą gospodarki o obiegu zamkniętym. Cechuje je niski ślad środowiskowy, co wkrótce stanie się istotne z punktu widzenia marketingowego.

1.1 Gospodarka o obiegu zamkniętym – możliwości implementacji w sektorze nawozowym

Gospodarka o obiegu zamkniętym (GOZ) lub gospodarka cyrkularna (GC) (z ang. *circular economy*) jest nowoczesnym ujęciem gospodarki, polegającym na zmianie jej charakteru z liniowego opartego na ciągłym zużyciu surowców i stałej produkcji odpadów, na cyrkularny, w którym dominuje recykling materiałowy, zmniejszający wykorzystanie surowców nieodnawialnych oraz redukujący produkcję odpadów. Dzięki zamykającej się pętli osiąga się również pozytywny efekt w postaci spadku zużycia energii oraz produkcji gazów cieplarnianych (Prieto-Sandoval i in., 2018).

Gospodarka cyrkularna znana jest również jako idea 3R i opiera się na 3 podstawowych zasadach: *reduce* – zredukować, *reuse* – ponowne wykorzystać oraz *recycle* – poddać recyklingowi. Minimalizacja zużycia surowców o niskiej lub zanikającej dostępności i maksymalne wykorzystanie materiałów i surowców wtórnych w myśl recyklingu materiałowego przynosi wymierny efekt środowiskowy (Zink i Geyer, 2017). Pierwszym etapem gospodarki o obiegu zamkniętym jest projektowanie produktu oraz analiza jego cyklu życia. Możliwy jest wtedy odpowiedni dobór składu, tak by finalny produkt mógł zostać wprowadzony do pętli zgodnie z zasadą 3R. Model GOZ przedstawiony na rys. 1 pokazuje złożoność tego systemu jak i możliwości różnych dróg recyklingu materiałowego.



Rys. 1. *Model interakcji występujących w GOZ (opracowanie własne)*

Gospodarka o obiegu zamkniętym jest również głównym nurtem Europejskiego Zielonego Ładu. To plan zrównoważonej gospodarki UE, który zakłada, że w 2050 roku Europa będzie kontynentem neutralnym dla klimatu. Oznacza to m.in. zerowy poziom emisji gazów cieplarnianych netto, oddzielenie wzrostu gospodarczego od zużywania zasobów oraz zrównanie rozwoju poszczególnych regionów. Działanie to ma na celu redukcję poziomu zanieczyszczeń oraz zachowanie bioróżnorodności. W transformacji tej wymagany będzie szereg inwestycji w sektor energetyczny, transport, modernizację przemysłowych linii technologicznych, jak również zwiększenie wydajności cieplnej budynków. Europejski Zielony Ład, jako transformacja społeczno-gospodarcza, oprócz określenia nowego planu GOZ, przedstawia wiele strategii, spośród których jedna dotyczy sektora przemysłowego, a kolejna rolniczego (nosząca miano strategii „od pola do stołu”).

Gospodarska cyrkularna coraz częściej znajduje zastosowanie w produkcji nawozów. Głównym jej wymiarem jest recykling materiałowy, który przejawia się możliwością zastąpienia części surowców poprzez wprowadzenie produktów ubocznych sektora rolno-spożywczego, w tym odpadowej biomasy, pozostałości pożniwnych, pozostałości z hodowli, uboju zwierząt i przetwórstwa spożywczego, jak również osadów ściekowych i popiołów ze spalania biomasy i osadów ściekowych. Wykorzystanie odpadów jednego procesu jako surowców drugiego, powoduje zamknięcie pętli, dzięki czemu unika się rozpraszania

składników pokarmowych, które mogą przekształcić się w czynniki zanieczyszczające środowisko. Implementacja GC w sektorze nawozowym jest zalecana zarówno przez Unię Europejską, jak i Europejską Organizację Producentów Nawozów (Chojnacka i in., 2020).

Gospodarka cyrkularna w przemyśle nawozowym w zakresie recyklingu materiałowego w postaci implementacji surowców alternatywnych ma na celu zawrót pierwiastków biogennych: azotu (N), fosforu (P) oraz potasu (K). Odzysk azotu uzyskuje się poprzez ponowne wykorzystanie biomasy (świeżej lub kompostowanej), osadów ściekowych oraz odpadów z produkcji zwierzęcej (obornik, gnojowica) (Abubaker i in., 2015; Grigatti i in., 2019). Zastosowanie popiołów z biomasy, popiołów z osadów ściekowych, osadów ściekowych oraz kostnych odpadów zwierzęcych (kości, ości, rogi, kopyta, pazury) jest alternatywą dla popularnych minerałów fosforowych – apatytów i fosforytów (Kataki i in., 2017; Wyciszkiewicz i in., 2015). Popioły, jak i odpady z hodowli zwierzęcej są również bogatym źródłem potasu, a ich użycie zastępuje powszechnie stosowane sole potasowe: siarczan (VI) potasu i azotan (V) potasu (Maeda i in., 2018). Wszystkie wymienione wyżej materiały niosą ze sobą również duży ładunek organicznego węgla i innych pierwiastków ważnych z punktu widzenia żyzności gleby i żywienia roślin: siarki, magnezu, wapnia oraz mikroelementów (miedzi, manganu, cynku i żelaza) (Chojnacka i in., 2020).

Recykling materiałowy w przemyśle nawozowym, pomimo wielu zalet, pozytywnego wpływu na stan środowiska i możliwości wdrożenia w gospodarce cyrkularnej, niesie ze sobą również utrudnienia technologiczne. Najważniejszym z nich jest dostęp do źródeł surowców, które występują w dużym rozproszeniu i w małych ilościach. Taki stan rzeczy wymaga zorganizowanego systemu transportu do zakładów produkcyjnych, co z kolei może wpłynąć na rentowność procesu. Ponadto, dyskusji poddaje się stałość składu surowców odnawialnych o potencjalnym zastosowaniu w sektorze nawozowym. Zróżnicowana zawartość poszczególnych pierwiastków wymaga korekty składów finalnych produktów za pomocą substancji mineralnych, co zmusza producentów do dostosowania linii produkcyjnej o kolejne jednostki i procesy jednostkowe oraz zmniejsza wynik ekonomiczny. Warto również zaznaczyć, że niektóre surowce wtórne, o potencjalnym zastosowaniu w produkcji nawozowej, jak popioły czy bio-węgiel, są źródłem metali ciężkich będących mikroelementami (Cu, Zn, Mn, Fe), ale również metalami toksycznych (Hg, Pb, Ni, As), których zawartość w nawozach jest regulowana prawnie. (Mierzwa-Hersztek i in., 2019).

1.2 Nawozy

Nadrzędnym aktem prawnym, regulującym w Polsce stosowanie nawozów jest Ustawa o nawozach i nawożeniu z dnia 10 lipca 2007 r. Zgodnie z jej definicją, nawozy są to substancje zapewniające wzrost żyzności gleby oraz dostarczające roślinom składników odżywczych wspomagających ich rozwój oraz plonowanie. Ustawa ta definiuje również środki poprawiające jakość gleby, jako substancje zmieniające właściwości fizykochemiczne lub biologiczne gleby oraz stymulatora wzrostu, jako substancji o pozytywnym działaniu na wegetację roślin jako skutek działania substancji mineralnych, organicznych lub mineralno-organicznych. Ponadto, Ustawa o nawozach i nawożeniu jasno określa wymagania jakościowe nawozów, zasady ich wprowadzania do obrotu, wytyczne dotyczące stosowania, przechowywania i przewozu, a także definiuje jednostki nadzorujące i kontrolujące w zakresie nawozów i ich stosowania (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033. Ustawa o nawozach i nawożeniu, 2007).

Polski obszar legislacyjny, jak również zaimplementowane prawo Unii Europejskiej wyróżnia różne typy nawozów, biorąc pod uwagę następujące czynniki:

a) skład ogólny: nawozy mineralne, nawozy organiczne, nawozy mineralno-organiczne, nawozy naturalne, nawozy chelatowe;
b) skład pierwiastkowy: nawozy proste (zawierające tylko jeden pierwiastek: azot, fosfor lub potas), nawozy wieloskładnikowe (NP, NK, PK, NPK), nawozy dostarczające drugorzędne składniki pokarmowe (w tym: Ca, Mg, Na S), nawozy mikroelementowe (zawierające: B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, Zn);
c) stan skupienia: płynne lub granulowane (stałe).

Dodatkowo prawodawstwo europejskie, w tym norma PN-EN 13535, definiuje środki wapnujące jako substancję nieorganiczną, zawierającą tlenki, wodorotlenki, węglany lub krzemiany wapnia i/lub magnezu, których celem jest zmiana właściwości gleby, poprzez utrzymanie lub zwiększenie jej odczynu oraz zawartości wody co bezpośrednio wpływa na stan odżywienia rośliny (PN–EN 13535. Nawozy i środki wapnujące – Klasyfikacja, 2002).

Aby preparat mógł zostać uznany za nawóz, musi spełnić wymagania jakościowe stawiane przez Ustawę o nawozach i nawożeniu. Wymagania te dotyczą minimalnych zawartości składników pokarmowych (Tab. 1) oraz maksymalną zawartość metali ciężkich (Tab.2).

Tab. 1. *Minimalne zawartości składników pokarmowych w nawozach (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033. Ustawa o nawozach i nawożeniu)*

Nawozy	**Nawozy stałe**			**Nawozy płynne**		
	N (% m/m)	P_2O_5 (% m/m)	K_2O (% m/m)	N (% m/m)	P_2O_5 (% m/m)	K_2O (% m/m)
Mineralne	2	2	2	1	1	1
Organiczne	0,3	0,2	0,2	0,08	0,05	0,12
Organiczno - mineralne	1	0,5	1	0,5	0,2	0,5

Tab. 2. *Maksymalne zawartości metali ciężkich w nawozach (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033. Ustawa o nawozach i nawożeniu)*

Preparat	**Dopuszczalna zawartość pierwiastków**					
	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb
Nawóz mineralny i mineralno-organiczny [mg/kg s.m.]	-	5	100	2	60	140
Nawozy mineralne [mg/kg s.m.]	50	50	-	2	-	140
Wapno nawozowe [mg/kg CaO]	-	15	-	-	-	600
Wapno nawozowe zawierające magnez [mg/kg CaO+MgO]	-	15	-	-	-	600

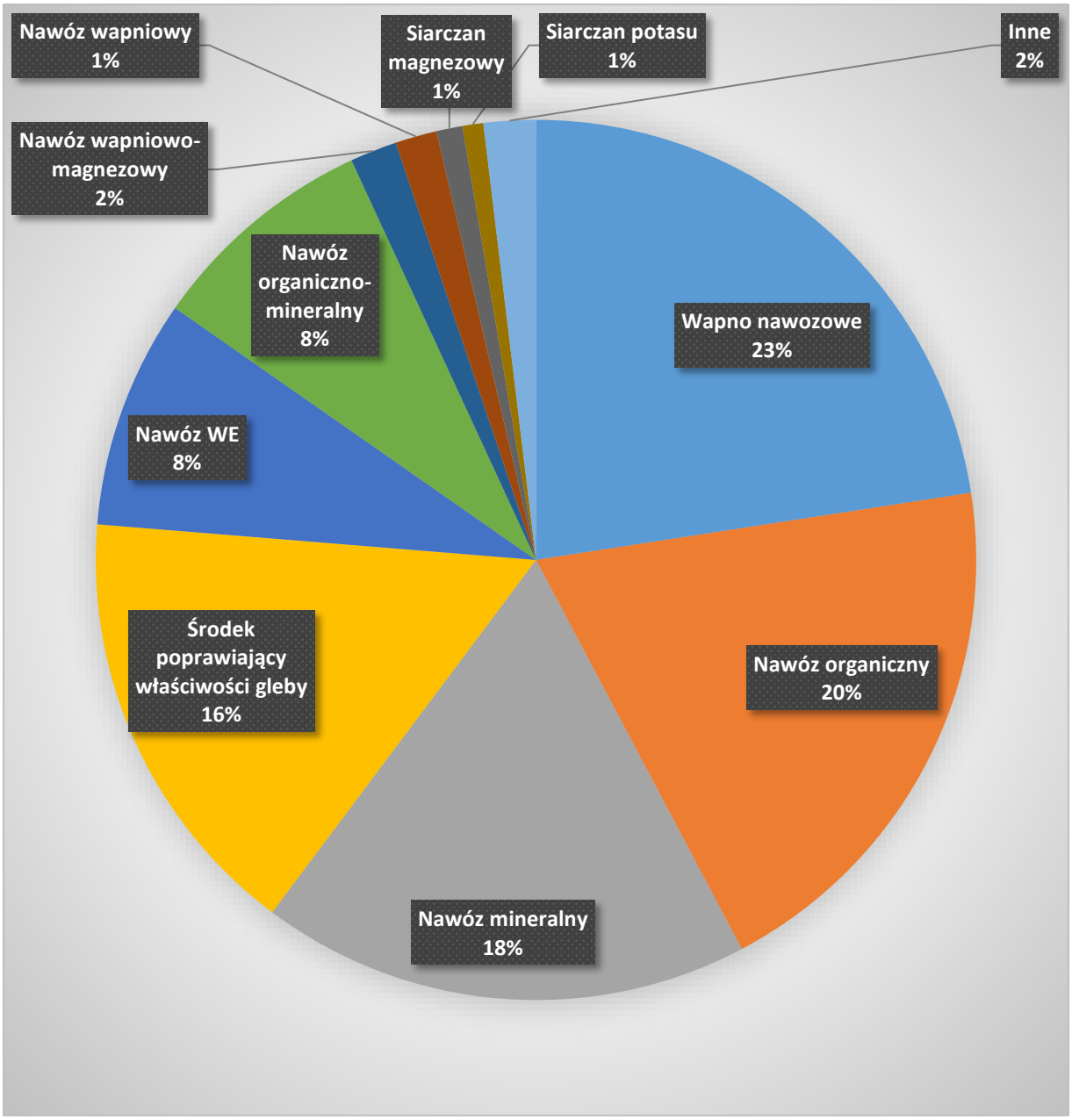
1.3 Nawozy w rolnictwie ekologicznym

W rolnictwie ekologicznym nie stosuje się nawozów będących produktami syntezy chemicznej, czyli większości dostępnych nawozów mineralnych. Zgodnie z Rozporządzeniem Rady (WE) Nr 834/2007 zaleca się stosowanie rotacji roślin, czyli płodozmianu oraz wykorzystanie nawozów organicznych i naturalnych. Zabiegi te mają na celu utrzymanie żyzności gleby, jak również jej aktywności biologicznej i mikrobiologicznej. W gospodarstwie ekologicznym szczególnie doceniane są rośliny motylkowe, których uprawa powoduje wzbogacenie gleby w organiczne związki azotu. Wykorzystuje się tutaj aktywność mikrobiologiczną bakterii PGPR (z ang. *plant growth promoting rhizobacteria*). Są to mikrosymbionty, które wykazują zdolność do wiązania azotu atmosferycznego i przekształcaniu go w jon amonowy NH_4^+. Bakterie te można podzielić na bakterie brodawkowe, które zasiedlają korzenie roślin i zwiększają ich powierzchnię (bakterie z

rodzajów *Rhizobium* i *Bradyrhizobium*) oraz bakterie wolnożyjące (*Arthrobacter, Azotobacter, Azospirillum*). Ocenia się, że bakterie te rocznie wiążą azot z wydajnością 200-500 kg N/ha oraz 5-50 kg N/ha, odpowiednio.

Jeśli stosowanie płodozmianu i wykorzystanie aktywności mikrobiologicznej PGPR nie przynosi rezultatów, ustawa przewiduje możliwość stosowania nawozów i środków poprawiających jakość gleby zgodnie z krajowymi przepisami obowiązującymi w krajach członkowskich Unii Europejskiej. Zabrania się jednak stosowania azotowych nawozów mineralnych. W Polsce jednostką odpowiedzialną za nadzór nad zgodnością wprowadzanych na rynek nawozów ekologicznych z ustawą jest Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach. Obecnie (04.10.2020) do obrotu dopuszczone jest 523 produktów uznanych przez jednostkę nadzorującą za nawozy przeznaczone do rolnictwa ekologicznego. Zestawienie przedstawiono na Rysunku 2.

W strukturze nawozów dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym dominują wapna nawozowe, nawozy organiczne, mineralne oraz środki poprawiające właściwości gleby. Wśród nawozów mineralnych dominują zmielone skały minerałonośne, w tym fosforyty. Na uwagę zasługują nawozy organiczne i środki poprawiające właściwości gleby, które bazują na kwasach humusowych i fulwowych oraz aminokwasach. Wśród preparatów innych, stanowiących 2% ogółu znajdują się m.in. preparaty mikrobiologiczne, nawozy bazujące na glonach i ich ekstraktach, jak również nawozy suplementujące rośliny w miedź i bor (Wykaz nawozów i środków poprawiających właściwości gleby zakwalifikowanych do stosowania w rolnictwie ekologicznym, 2020).



Rys. 2. *Zestawienie nawozów dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym (opracowanie własne)*

1.4 Rola składników nawozowych w żywieniu rośliny

Nadrzędną rolą nawozów jest dostarczanie roślinom składników odżywczych niezbędnych do ich prawidłowego wzrostu i plonowania. Wyróżnia się dwie grupy: makro- i mikroelementy. W systemie intensywnego rolnictwa aplikacja nawozów dostarczających pierwiastków biogennych oraz mikroelementów jest konieczna, ale tylko w określonych dawkach, dostosowanych do warunków glebowych oraz uprawianej rośliny. Wynika to z zasady tolerancji ekologicznej Shelforda, czyli rozwiniętego prawa Liebiga. Wskazuje ona, że

zarówno niedobory składników pokarmowych, jak i ich nadmiary wpływają na organizmy hamująco. Optymalna zawartość poszczególnych składników odżywczych w środowisku wegetacji rośliny, wyznaczona jako przedział pomiędzy minimum i maksimum, nosi miano zakresu tolerancji. Niedobory składników mogą prowadzić do zahamowania wzrostu, karłowatości roślin, źle wykształconych nasion lub obumarcia rośliny. Przenawożenie skutkujące nadmiarem składników odżywczych może z kolei być przyczyną poparzenia rośliny lub wystąpienia suszy fizjologicznej, czyli zjawiska, w którym pierwiastki niezbędne roślinom są dostępne w glebie, ale nie mogą zostać pobrane (Izydorczyk i in., 2021; Reichardt i Lebedev, 2018).

1.5 Surowce odnawialne potencjalnie użyteczne w technologii nawozów zgodnie z założeniami gospodarki o obiegu zamkniętym

1.5.1 Odpadowa biomasa roślinna i sposoby jej zagospodarowania

W nawiązaniu do dyrektywy Unii Europejskiej 2008/98/WE, Polska, jako państwo członkowskie, jest zobowiązana do 50 % redukcji w zakresie ilości odpadów ulegających biodegradacji, składowanych na składowiskach i jest zobowiązana do przekształcania ich w produkty przyjazne dla środowiska. Odpadowa biomasa roślinna zgodnie z definicją prawodawstwa krajowego oraz europejskiego to odpady, produkty i pozostałości pochodzenia naturalnego, głównie z sektora rolniczego, rolno-pożywczego i leśnego, które ulegają rozkładowi w wyniku tlenowych i beztlenowych przemian fizykochemicznych i biologicznych. Grupę tę stanowi przede wszystkim niskiej jakości drewno, pozostałości produkcji rolniczej (słoma, makuchy), rośliny energetyczne, odpady organiczne z produkcji przetworów, soków czy cukru, odpadowa biomasa z utrzymania zieleni miejskiej (trawa, liście, gałęzie, glony) oraz odpady żywnościowe z gospodarstw domowych i żywności instytucjonalnej (Kraiem i in., 2016). Zgodnie z zapisami Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/28/WE z dnia 23 kwietnia 2009 r. odpadową biomasę powinno przeznaczać się do produkcji biopaliw i energii odnawialnej, bezpośrednio lub uprzednim przetworzeniu, np. poprzez pelletyzację. Jednakże, sposób zarządzania biomasą zależy od głównie od jej rodzaju, skali produkcji oraz składu. Dane literaturowe pokazują możliwość wykorzystania potencjału biomasy i przeprowadzenia recyklingu materiałowego celem wytwarzania użytecznych dóbr rynkowych. Takie działanie jest zgodne z ideą gospodarki cyrkularnej, która jest odpowiedzią na nadmierne zużycie surowców, a zwłaszcza paliw kopalnych i nadmiernej produkcji odpadów.

Spalenie surowej lub spelletyzowanej materii organicznej pochodzenia roślinnego zostało szeroko opisane w literaturze. Potencjał energetyczny biomasy roślinnej waha się w

zależności od zawartości węgla, wodoru i wilgotności, które wpływają na wartość opałową i ciepło spalania (Adamovics i in., 2018; Dzurenda, 2017). Odpadowa biomasa jako paliwo jest najpopularniejszym źródłem energii odnawialnej, a jej użycie do tegocelu stale rośnie (Izydorczyk i in., 2020b).

Kompostowanie odpadów biodegradowalnych to druga najczęściej wykorzystywana metoda ich zagospodarowania. Prowadzi to do powstania nawozów organicznych, użytecznych rolniczo. Proces kompostowania niesie ze sobą jednak wysokie straty materii organicznej oraz emisję gazów cieplarnianych (Wei i in., 2017). Redukcję emisji gazów cieplarnianych i odzysk metanu prowadzi się z kolei w biogazowniach, gdzie biomasa poddawana jest fermentacji beztlenowej (Petersson i in., 2007; Xiao i in., 2015).

Biomasa, w szczególności resztki pożniwne mogą stanowić bezpośrednie uzupełnienie puli materii organicznej w glebie. Słoma jest rozdrabniana w trakcie zbioru zbóż, a następnie mieszana z glebą, gdzie ulega rozkładowi. Zabieg ten nie jest jednak zalecany. Zmniejszona ilość opadów w ostatnich latach powoduje, że biodegradacja słomy w glebie jest spowolniona i nie przynosi efektu. Co więcej, słoma zalegająca w glebie jest pożywką dla rozwoju grzybów stanowiących zagrożenie dla upraw i homeostazy gleby (Sun i in., 2016).

Obiecującą metodą zagospodarowania biomasy jest jej wykorzystanie jako nośnika mikroelementów w procesie biosorpcji. Zdolność grup funkcyjnych na powierzchni biomasy do wiązania jonów metali wykorzystywana jest m.in. w procesie oczyszczania ścieków (Daneshvar i in., 2018). Dane literaturowe pokazują również możliwość aplikacji biosorpcji w produkcji dodatków paszowych (Ligas i in., 2018; Michalak i Chojnacka, 2008) i nawozów mikroelementowych (Izydorczyk i in., 2018). Biomasa roślin (Sekhar i in., 2003), grzybów (Khambhaty i in., 2009) lub glonów (Michalak i Chojnacka, 2008) zanurzona w roztworze mikroelementów wiąże jony metali na powierzchni komórki ulegając wysokiemu wzbogaceniu. Otrzymany produkt ma charakter naturalnego chelatu, o wysokiej biodostępności mikroskładników oraz tendencji do powolnej desorpcji, co nadaje mu charakter spowolnionego uwalniania, korzystnego z punktu widzenia nawozowego (Izydorczyk i in., 2020a).

Perspektywicznym źródłem biomasy odpadowej jest przemysł farmaceutyczny i kosmetyczny, który wykorzystuje proces ekstrakcji ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym, do uzyskiwania wyciągów bogatych w naturalne substancje aktywne, wykorzystywane w lekach i suplementach diety. Rumianek, nagietek, pokrzywa, czosnek i cebula to przykłady roślin stosowanych w lecznictwie. Na polskim rynku odpadów pojawiły się pozostałości po

ekstrakcji nadkrytycznej lucerny i nawłoci, których zagospodarowanie będzie stanowiło część niniejszej pracy doktorskiej.

1.5.2 Odpadowa biomasa zwierzęca

Sektor produkcji rolnej i powiązany z nim przemysł przetwórczo-handlowo-usługowy, zaopatrujący rynek krajowy w produkty rolne, w tym mięso i przetwory mięsne produkują spore ilości odpadów organicznych. Ich klasyfikacja i nazewnictwo bazuje na katalogu odpadów: zwierzęta padłe i ubite z konieczności - bydło, trzoda chlewna, owce, kozy, drób, zwierzęta futerkowe, ryby (kod odpadu 02 01 82) lub zwierzęta padłe i ubite z konieczności oraz odpadowa tkanka zwierzęca wykazujące właściwości niebezpieczne (kod odpadu 02 01 80*), zwierzęta padłe i odpadowa tkanka zwierzęca stanowiące materiał szczególnego i wysokiego ryzyka inne niż wymienione w 02 01 80 (kod odpadu 02 01 81) oraz odpadowa tkanka zwierzęca (kod odpadu 02 02 02), odpadowa tkanka zwierzęca wykazująca właściwości niebezpieczne (kod odpadu 02 02 80*), odpadowa tkanka zwierzęca stanowiąca materiał szczególnego i wysokiego ryzyka, w tym odpady z produkcji pasz mięsno-kostnych inne niż wymienione w 02 02 80 (kod odpadu 02 02 81) – zwane dalej odpadami pochodzenia zwierzęcego.

Dane opublikowane przez Główny Urząd Statystyczny za 2018 rok informują, że w roku rozliczeniowym padło: 188,5 tys. szt. bydła (w tym głównie cielęta poniżej 1 roku życia – 136,9 tys. szt.) oraz 2000,8 tys. szt. świń (w tym głównie prosięta – 1290,6 tys. szt.) (Zwierzęta gospodarskie w 2018 r., Główny Urząd Statystyczny, Warszawa, 2019). Dane literaturowe wskazują, że skala produkcji odpadów z ubojni, rzeźni i jednostek żywienia zbiorowego w latach 2015-2017 wyniosła 1,4 mln ton. Wszystkie z powyższych podlegają obowiązkowi utylizacji, której celem jest powtórne wykorzystanie produktów ubocznych z hodowli zwierząt jako surowca zgodnie z zasadami gospodarki o obiegu zamkniętym. Pośrednim celem utylizacji, szczególnie w przypadku zwierząt padłych z powodu choroby, jest sanityzacja i zapobieganie roznoszeniu się patogenów chorobotwórczych, szczególnie wirusów dziesiątkujących pogłowia zwierząt gospodarskich (np. wirus ptasiej grypy, afrykański pomór świń), prionów (np. gąbczasta encefalopatia bydła), bakterii (np. *Salmonella*) czy pasożytów (np. włosień).

Zagospodarowanie padłych zwierząt oraz odpadów z hodowli i przetwórstwa zwierząt prowadzi się wykorzystując różne metody dostosowane do kategorii odpadu. Niedozwolone i karalne jest zakopywanie padłych zwierząt lub innych odpadów zwierzęcych na terenach uprawnych oraz nieużytkach i składowanie w metalowych zbiornikach, plastikowych workach. Zabronione jest również gromadzenie odpadów na otwartej przestrzeni, do której dostęp mają

ludzie jak i zwierzęta, w tym zwierzęta domowe (psy, koty), gryzonie i zwierzęta dzikie, ponieważ może stanowić to zagrożenie epidemiologiczne. Duże zwierzęta gospodarskie, ewidencjonowane przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa – bydło, trzoda, kozy, owce, konie, poddaje się utylizacji za pośrednictwem wyspecjalizowanych zakładów utylizacyjnych, zgodnie z Rozporządzeniem (WE) nr 1069/2009. Zakład utylizacyjny ma za zadanie unieszkodliwienie odpadu zgodnie z zatwierdzonymi parametrami procesowymi (temperatura, ciśnienie, czas). W skali przemysłowej odpady pochodzenia zwierzęcego poddawane są rozgotowaniu pod ciśnieniem, powstała miazga jest następnie suszona, a poprzez ekstrakcję lub tłoczenie, rozdziela się na tłuszcz i mączkę mięsno-kostną. Uzyskane produkty poddaje się rozkładowi termicznemu, prowadząc do recyklingu energetycznego oraz materiałowego (powstały odpad w postaci popiołu z mączki mięsno-kostnej, stosowany do produkcji nawozów). Surowa mączka mięsno-kostna może również stanowić dodatek do pasz dla zwierząt futerkowych lub stanowić komponent nawozu. Takie rozwiązanie problemu padłych zwierząt jest bezkosztowe, ponieważ całość kosztów pokrywa ARiMR (z wyjątkiem młodych zwierząt, gdzie refundacja kosztów wynosi 75%). Utylizacja padłych ptaków oraz zwierząt futerkowych, jak i odpadów z przetwórstwa tych zwierząt przewiduje możliwość wykorzystania ich jako paszy dla zwierząt futerkowych, mięsożernych, przy założeniu że padłe zwierzęta nie były nosicielami chorób zakaźnych. W przeciwnym razie utylizację wykonuje się w wyspecjalizowanym zakładzie utylizacyjnym. Model, w którym utylizacja zwierząt prowadzona jest przez wyspecjalizowane zakłady utylizacyjne, jest najbardziej rozpowszechniony. Wynika to głównie z faktu dużego rozproszenia małych gospodarstw rolnych, gdzie utrzymywanie instalacji do spalania odpadów byłoby nieopłacalne, a sam koszt instalacji zbyt wysoki. Zatem konieczność unieszkodliwiania odpadów pochodzenia zwierzęcego zmusza do transportu odpadów i padliny od producenta do zakładu utylizacyjnego. Rozwiązanie to ma jednak szereg wad, z których największą jest potencjalne roznoszenie patogenów .

Odpady pochodzenia zwierzęcego są przede wszystkim źródłem azotu (w formie organicznej) oraz fosforu (kości). Przetwarzanie tych odpadów wydaje się być o wiele bardziej korzystne, gdy weźmiemy pod uwagę właściwości biostymulujące zhydrolizowanych białek zwierzęcych. Powstałe aminokwasy są przyswajalnym źródłem węgla organicznego i zapewniają poprawę wigoru roślin i wzrost plonowania. Brak jest jednak rozwiązań technologicznych, w których odpady zwierzęce zagospodarowuje się tą metodą.

Wyodrębnioną podgrupą odpadów zwierzęcych są materiały keratynowe – pióra, kopyta i rogi. Keratyna zbudowana jest głównie z glicyny, alaniny, seryny i waliny (Staroń i in., 2011). Potencjalną metodą zagospodarowania odpadów keratynowych jest ich hydroliza kwasowa i zasadowa. Uzyskany koncentrat aminokwasów wykorzystuje się jako surowiec do produkcji aminokwasowych dodatków nawozowych oraz biostymulatorów wzrostu roślin.

1.5.3 Odpady fosforowe

Odpady fosforowe stanowią alternatywę dla powszechnie stosowanych w technologii nawozów fosforowych, bazującej na fosforytach i apatytach. Ich obecność jest wynikiem wieloletniego nagromadzenia się fosforu w środowisku w wyniku stosowania nawozów i chemii gospodarczej. Potencjał tych materiałów jest znany i opisany w literaturze, ale wciąż słabo wykorzystywany. Do grupy odpadów fosforowych zalicza się kości, ości, mączkę mięsno-kostną oraz popioły ze spalania osadów ściekowych.

Potencjalnym materiałem fosforowym, o znaczeniu rolniczym jest również mączka mięsno kostna (MMK). Niegdyś stanowiła składnika pasz dla drobiu i trzody chlewnej, w chwili obecnej jest karmą jedynie dla zwierząt futerkowych. Po wprowadzeniu zakazu stosowania w MMK jako paszy dla ptactwa i trzody zwiększono jest wykorzystanie jako nawozu. Użycie mączki mięso kostnej jako komponentu paszowego może drastycznie wzrosnąć po wprowadzeniu planowanego zakazu hodowli zwierząt futerkowych, co dodatkowo będzie skutkowało nadmiarem tego surowca na rynku. Produkt ten jest bogatym źródłem fosforu (~ 12% P_2O_5), azotu (~8%), wapnia (~10%). Ponadto są nośnikiem związków organicznych. Ich wykorzystanie w uprawie roślin wynika z wysokiego potencjału biostymulującego, pochodzącego z rozkładu białek i produkcji aminokwasów. Pierwiastki biogenne – N i P, występują jednak w formach o niskiej przyswajalności. Dużą zaletą jest również śladowa zawartość metali ciężki, dzięki czemu mączka mięsno-kostna spełnia wymagania jakościowe stawiane nawozom (Liu i in., 2019). Zwiększenie przyswajalności pierwiastków zawartych w MMK może zostać podniesione poprzez obróbkę chemiczną. Rozwiązaniem może być zastosowanie hydrolizy kwasowej lub zasadowej, bądź solubilizacji mikrobiologicznej.

1.5.4 Popioły

Grupą odpadów o szerokim zastosowaniu są popioły. Wykorzystywane są przede wszystkim w przemyśle budowlanym do produkcji dróg, nasypów, produkcji kruszyw, spoiw,

kompozytów, klinkieru czy betonu. Potencjał popiołów wykorzystywany jest również w rolnictwie i ogrodnictwie (Diliberto i in., 2020; Fareed i in., 2020; Opaliński i in., 2018).

Rolnicze wykorzystanie popiołów jako dotyczy głównie popiołów ze spalania biomasy, węgla kamiennego i torfu, produktów ubocznych hodowli zwierząt oraz osadów ściekowych (Kamble i in., 2017; Symanowicz i in., 2018). Odpady te są nośnikiem dużych ładunków tlenków pierwiastków alkalicznych – potasu, magnezu i wapnia. W związku z tym doceniany jest ich potencjał do alkalizowania gleb (Campos i in., 2018). W przemyśle nawozowym popiół wykorzystywany jest również jako wypełniacz granul nawozowych oraz nośnik substancji aktywnych dozowanych w trakcie granulacji (Mieldažys i in., 2019; Rolewicz i in., 2018).

Możliwość zastosowania popiołu w produkcji nawozów uzależniona jest od jego pochodzenia i składu. Niektóre typy popiołu są potencjalnym źródłem toksycznych związków organicznych oraz metali ciężkich, co może dyskwalifikować ich zastosowanie w rolnictwie lub wymagane jest ich odpowiednie przetworzenie. Ponadto surowiec ten charakteryzuje się dużą zmiennością składu, co sprawia problemy technologiczne w jego wielkoskalowym zastosowaniu (Maresca i in., 2017; Rey-Salgueiro i in., 2016).

1.6 Technologie waloryzacji surowców odnawialnych na nawozy

1.6.1 Biosorpcja

Biosorpcja to odwracalny proces wiązania jonów metali przez grupy funkcyjne zlokalizowane na powierzchni martwych komórek biomasy roślinnej: karboksylową, aminową, sulfonową czy amidową (Volesky i Schiewer, 2002). Dominującym procesem jest wymiana jonowa. Najważniejsze parametry procesowe to: pH, rodzaj i stężenie sorbatu, rodzaj, rozdrobnienie i stężenie sorbentu (biomasy), temperatura oraz wpływ obcych jonów (Chojnacka, 2010). Uznaje się, że wymianie jonowej towarzyszą inne procesy fizykochemiczne: strącanie powierzchniowe, oddziaływania van der Waalsa, wiązania wodorowe, kompleksowanie czy adsorpcja fizyczna. Dzięki współwystępowaniu powyższych procesów biosorpcja skutkuje wysokimi współczynnikami wzbogacenia biomasy w sorbowane jony metali. Zaletą tej metody jest również jej niski koszt, wysoka wydajność, szeroki dostęp do różnych biosorbentów, które można poddać modyfikacji co z większy wydajność procesu, łatwa desorpcja i odzysk sorbatu.

Proces biosorpcji oferuje możliwość wykorzystania szerokiej gamy sorbentów: bakterii (Mohapatra i in., 2019), grzybów (Bano i in., 2018), alg, odpadów przemysłowych, odpadów rolniczych (Ali, 2018), odpadów zielonych (Rangabhashiyam i in., 2018) oraz odpadów zawierających celulozę lub chitozan (Chojnacka, 2010). Proces ten opisywany jest w literaturze

jako metoda oczyszczania ścieków (Ngabura i in., 2018), produkcji dodatków paszowych (Ligas i in., 2018) oraz nawozów mikroelementowych (Izydorczyk i in., 2020a).

1.6.2 Hydroliza

Popularnym sposobem zagospodarowania odpadów jest ich kwasowa i zasadowa hydroliza. Obecność kwasów i zasad inicjuje proces hydrolizy, powodując rozpad wiązań w cząsteczkach estrów, białek, tłuszczy, cukrów i wielocukrów. W związku z tym metoda znalazła szerokie zastosowanie w przerobie biomasy. Dane literaturowe opisują wykorzystanie hydrolizy w zagospodarowaniu lignocelulozowej biomasy (dos Santos i in., 2019), ścieków (Barber, 2016), osadów ściekowych (Svensson i in., 2018), resztek żywności (Ebikade i in., 2018), keratyny (Bhavsar i in., 2017), tłuszczów i olei (Muñoz-Pina i in., 2020).

Rozkład trudno hydrolizowalnych materiałów prowadzi się w obecności enzymów (np. lipazy, peptydazy) lub z udziałem mikroorganizmów produkujących enzymy metodą hydrolizy enzymatycznej (Gu i in., 2020; Tsegaye i in., 2018). Dane literaturowe donoszą również o hydrolizie wspomaganej zwiększoną temperaturą (Svensson i in., 2018), mikrofalami (Teng i in., 2016), czy ultradźwiękami (Agi i in., 2020).

Skuteczność procesu hydrolizy jest wielowymiarowa. Z jednej strony prowadzi do rozpadu dużych cząsteczek związków, co pozwala na zagospodarowanie odpadów, w tym również tych niebezpiecznych. Z drugiej strony, hydroliza jest metodą sanityzacji i higienizacji odpadów, prowadząc do unieszkodliwienia chorobotwórczych patogenów. Dlatego też hydroliza kwasowa i zasadowa może być wykorzystywana do waloryzacji odpadów pochodzenia zwierzęcego, które stanowią poważne zagrożenie sanitarne (Zhenling i in., 2017).

1.6.3 Solubilizacja

Solubilizacja jest procesem roztwarzania materiałów z użyciem silnych czynników – stężonych kwasów mineralnych i wodorotlenków. Prowadzi ona do zwiększenia rozpuszczalności związków chemicznych w wyniku działania czynników solubilizujących, posiadających grupy o powinowactwie hydrofilowym i hydrofobowym. Rozróżnia się solubilizację hydrotropową oraz micelarną, przy czym pierwszy typ ma większe znaczenie w przemyśle nawozowym. Proces ten wykorzystywany jest m.in. w technice ekstrakcyjnej otrzymywania kwasu fosforowego (V), który stanowi podstawowy substrat do produkcji nawozów fosforowych. Pod wpływam kwasu siarkowego (VI) następuje solubilizacja fosforytów i reakcja podwójnej wymiany, której produktami są m.in. H_3PO_4 oraz $CaSO_4$ (Podraza i in., 2011).

2. Cel pracy

Celem pracy doktorskiej było opracowanie nowych formulacji nawozów mineralno-organicznych, bazujących na surowcach wtórnych, będących źródłami pierwiastków nawozowych. Formulacje opracowano zgodnie z wytycznymi dla gospodarki o obiegu zamkniętym.

Wyróżniono następujące cele szczegółowe:

1. Opracowanie formulacji nawozów mikroelementowych bazujących na biomasie lucerny i nawłoci wzbogaconej na drodze biosorpcji w jony cynku, miedzi i manganu oraz technologię ich produkcji, o podwyższonym stopniu gotowości technologicznej,
2. Opracowanie formulacji nawozów fosforowych o obniżonej zawartości kadmu otrzymanych poprzez solubilizację chemiczną i biologiczną odpadów surowcowych w postaci kości, ości i popiołów ze spalania osadów ściekowych oraz technologię ich produkcji o podwyższonym stopniu gotowości technologicznej,
3. Opracowanie formulacji nawozów wieloskładnikowych z aminokwasami pochodzenia zwierzęcego oraz technologię ich produkcji o podwyższonym stopniu gotowości technologicznej,

W pracy przeprowadzono proces waloryzacji surowców wtórnych pochodzenia biologicznego na cele nawozowe. Po wytworzeniu laboratoryjnych partii nawozów zbadano ich skład oraz zgodność z parametrami jakościowymi stawianymi przez Ustawę o nawozach i nawożeniu. Przeprowadzono ocenę skuteczności biologicznej w testach *in vivo* i *in vitro* (testy kiełkowania i badania polowe), w których sprawdzono wpływ nawozów na wybrane parametry (w zależności od formulacji i rośliny modelowej), m.in. długość i masę roślin, skład pierwiastkowy, parametry piekarnicze. Dla każdej formulacji przeprowadzono analizę czystości patentowej, zaproponowano schemat technologiczny oraz bilans materiałowy.

Zaproponowane w rozprawie doktorskiej formulacje nawozowe są rozwiązaniem realnych problemów polskich przedsiębiorstw, które borykają się z problemem zagospodarowania odpadów lub brakiem surowców i koniecznością zastąpienia surowców klasycznych alternatywnymi.

Szczegółowe cele pracy przedstawiono w Tabeli 3.

***Tab. 3**. Cele szczegółowe rozprawy doktorskiej*

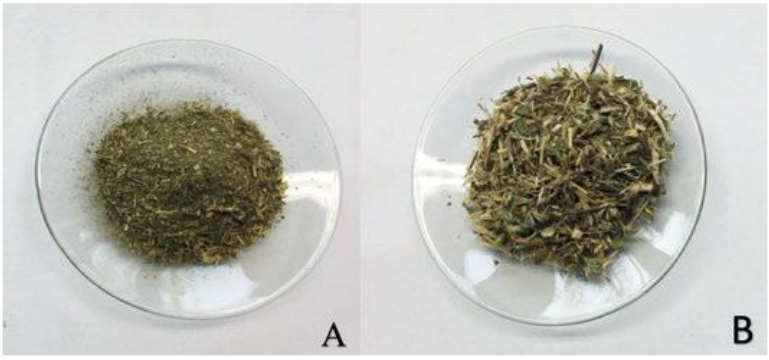
Lp.	Formulacja	Partner przemysłowy	Wykonane badania	Poziom TRL
1	Nawozy mikroelementowe bazujące na biomasie lucerny i nawłoci wzbogaconej na drodze biosorpcji w jony cynku, miedzi i manganu	F.K. Pollena-Eva S.A.	-wzbogacenie biomasy w mikroelementy na drodze biosorpcji -analiza składu -analiza biodostępności mikroelementów -ocena skuteczności biologicznej -bilans materiałowy i projekt technologiczny	VIII
2	Nawozy fosforowe o obniżonej zawartości kadmu otrzymane poprzez solubilizację chemiczną i biologiczną odpadów surowcowych w postaci kości, ości i popiołów ze spalania osadów ściekowych	Grupa Azoty, ZAK S.A	-solubilizacja mikrobiologiczna (dobór surowca i szczepu bakterii) -analiza składu -ocena skuteczności biologicznej -bilans materiałowy i projekt technologiczny	IX
4	Nawozy wieloskładnikowe z aminokwasami pochodzenia zwierzęcego	Fermy Drobiu Woźniak Sp. z o. o.	-hydroliza odpadów zwierzęcych -analiza składu -ocena skuteczności biologicznej -bilans materiałowy i projekt technologiczny	VII

3. Materiały i metody

3.1 Materiały

3.1.1 Odpadowa biomasa lucerny i nawłoci

Odpadową biomasę lucerny (*Medicago*) i nawłoci (*Solidago*) (Rys. 3A i 3B), po ekstrakcji nadkrytycznym ditlenkiem węgla pozyskano z Zakładu Ekstrakcji Nadkrytycznej Instytutu Nowych Syntez Chemicznych w Puławach. Biomasa stanowi produkt uboczny procesu ekstrakcji związków biologicznie aktywnych, stanowiących substrat w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.



Rys. 3. *Biomasa użyta w procesie biosorpcji: lucerna (A), nawłoć (B)*

Biomasę w formie surowej (otrzymanej z INS), przeznaczono do otrzymania mikroelementowych dodatków nawozowych, poprzez jej wzbogacenie w jony miedzi (II), cynku (II) oraz manganu (II) na drodze biosorpcji.

3.1.2 Surowce odpadowe zawierające fosfor

Surowce wtórne o wysokiej zawartości P_2O_5, które wykorzystano do badań stanowiły: ości pieczone, kości: wieprzowe, indycze, kacze, gęsie i z kurczaka (zbiory własne) oraz popioły z osadów ściekowych (NTI, Sp. z o.o.), przedstawiono na Rysunku 4.

Rys. 4. *Wtórne surowce fosforowe wykorzystane do badań (od lewej: popiół ze spalania osadów ściekowych, rozdrobnione kości indyka)*

Zapewniono optymalne rozdrobnienie surowców, z zakresu 0,1 – 0,3 mm, ponieważ taki rozmiar zapewnia korzystny kontakt z czynnikami solubilizującymi (bulion hodowlany, kwasy).

3.1.3 Mikroorganizmy

Szczepy bakterii solubilizujących fosfor: *Bacillus megaterium, Bacillus subtilis, Bacillus cereus* oraz *Bacillus thuringiensis* pozyskano z Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów zlokalizowanych w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu (WDCM106). Bakterie hodowane w klasycznej pożywce hodowlanej (zubożonej o fosfor), zarówno pojedynczo jak i w formie konsorcjów, wykorzystano do bioługowania fosforu z odpadów wtórnych.

3.1.4 Pożywka hodowlana

Bulion hodowlany uzyskano poprzez rozpuszczenie w 1 litrze wody destylowanej 10 g glukozy; 0,5 g $(NH_4)_2SO_4$; 0,2 g NaCl; 0,1 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,2 g KCl; 0,002 g $MnSO_4 \cdot H_2O$; 0,002 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, oraz 0,5 g ekstraktu drożdżowego. Do przygotowania użyto odczynników o czystości analitycznej pozyskanymi z POCh S.A. Gliwice, Polska.

3.1.10 Pozostałe odczynniki wykorzystane w pracy doktorskiej.

Tab. 4. *Odczynniki wykorzystywane w realizacji doświadczeń*

Lp.	Nazwa	Wzór sumaryczny	Klasa czystości	Producent	Wykorzystanie
1	Pięciowodny siarczan (VI) miedzi	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	cz.d.a. - 99,9-99,99%	Sigma-Aldrich	Wzbogacenie biomasy
2	Siedmiowodny siarczan (VI) cynku	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	cz.d.a. - 99,9-99,99%	Sigma-Aldrich	Wzbogacenie biomasy
3	Jednowodny siarczan (VI) manganu	$MnSO_4 \cdot 2H_2O$	cz.d.a. - 99,9-99,99%	Sigma-Aldrich	Wzbogacenie biomasy
4	Kwas azotowy (V), stężony 69%	HNO_3	ch. cz. – 99,99-99,999%	Merck	Mineralizacja biomasy i nawozów
5	Kwas chlorowodorowy, stężony 35%	HCl	ch. cz. – 99,99-99,999%	Merck	Mineralizacja nawozów
6	Wodorotlenek potasu	KOH	cz.d.a. - 99,9-99,99%	Sigma-Aldrich	Naturalizacja

3.2 Metody

3.2.1 Biosorpcja

Biosorpcję, czyli proces pasywnego wiązania jonów metali przez komórki biomasy wykorzystano do otrzymania aplikacyjnych partii nawozów mikroelementowych bazujących na odpadowej biomasie lucerny i nawłoci. Lucernę i nawłoć wzbogacono w jony Cu^{2+}, Mn^{2+} oraz Zn^{2+} osobno, w układzie jedno-kationowym, w celu uniknięcia efektu konkurencji jonów różnego rodzaju o miejsca aktywne na powierzchni biomasy. Szczegółowe parametry procesu przedstawiono w Tabeli 5.

Tab. 5. *Parametry procesu biosorpcji*

Lp	Parametr	Wartość
1	Mikroelementy	Zn(II), Cu(II), Mn(II)
2	Stężenie roztworu mikroelementów	300 mg/dm^3
3	Stężenie biomasy	2 g/dm^3
4	Straty materiału	5%
5	Czas kontaktu	1,5 h
6	pH	5
7	Temperatura	25°C
8	Reaktor	mieszalnikowy, 20 dm^3
9	Rodzaj procesu	ciągły, w układzie jednokationowym,
10	Parametry suszenia	24 h, 50°C

Uzyskane produkty biosorpcji wysuszono oraz poddano analizie składu wielopierwiastkowego oraz testom ekstrakcyjnym. Na tej podstawie przygotowano mieszanki nawozowe, które wykorzystano w testach kiełkowania na ogórku oraz badaniach polowych w uprawie kukurydzy, jak również wyznaczono współczynnik wzbogacenia biomasy (*EF-enrichment factor*). Współczynnik ten wyrażony jest jako stosunek zawartości jonu mikroelementu w biomasie wzbogaconej (C_w, *mg/kg*) do zawartości tego samego jonu w biomasie niewzbogaconej (C_n, *mg/kg*), zgodnie z równaniem (1):

$$EF = \frac{C_w}{C_n} \quad (1)$$

3.2.2 Solubilizacja mikrobiologiczna

Wstępne doświadczenia solubilizacji mikrobiologicznej fosforowych surowców odpadowych prowadzono w kolbach Erlenmeyera o pojemności 250 cm^3. Do każdej kolby wprowadzano 90 cm^3 pożywki hodowlanej oraz solubilizowany surowiec, po czym poddawano sterylizacji (121 °C, 1 atm, 15 min.). Następnie zawartośc kolby zaszczepiano 10 cm^3 zawiesiny bakteryjnej (w fazie logarytmicznego wzrostu) i inkubowano jako okresowe hodowle (33 °C, wytrząsanie 120 obr./min). Proces prowadzono przez 5 dni, przy czym każdego dnia pobierano próbkę o objętości 5 cm^3, w której oceniano zawartość fosforu (metodą ICP-OES), pH (pH-metr Orion 4-Star, Thermo Scientific) oraz wzrost komórek metodą spektrofotometryczną poprzez pomiar zmętnienia OD (*Optical Density*).

Po określeniu podstawowych parametrów procesowych solubilizacji mikrobiologicznej (czas prowadzenia procesu, dawka surowca fosforowego) zwiększono skalę. Do tego celu wykorzystano termostatowany reaktor BIOTRON LiFlus GX 7L Single, o pojemności 5 dm^3 (Rys. 5).

Rys. 5. *Bioreaktor Biotron*

Po zakończeniu procesu solubilizacji oceniano jej wydajność poprzez wyznaczenie współczynnika solubilizacji (SF – *solublization factor*), który liczbowo wyraża się jako stosunek zawartości fosforu rozpuszczonego w bulionie pohodowlanym (C_{FB}, *mg/kg*) i całkowitej zawartości fosforu wprowadzonej wraz z surowcem (C_{FC}, *mg/kg*), zgodnie z równaniem (2):

$$SF = \frac{C_{FB}}{C_{FT}} \cdot 100\% \quad (2)$$

3.2.3 Wzrost komórek

Do oceny tempa wzrostu komórek bakteryjnych wykorzystano metodę spektrofotometryczną, polegającą na pomiarze zmętnienia, czyli zmiany gęstości optycznej hodowli przy długości fali 620 nm. Badania prowadzono na spektrometrze UV/VIS (Genesys10S, Thermo Scientific).

3.2.4 Hydroliza kwasowa

Proces hydrolizy kwasowej wykorzystano do otrzymywania płynnych nawozów bazujących na odpadowej biomasie zwierzęcej. W tym celu odpady Kategorii 2 (nierozdrobnione, padłe kury) umieszczono w reaktorze zbiornikowym (Rys. 6), wykonanym ze stali kwasoodpornej, o pojemności 50 dm^3, wyposażonym w płaszcz grzewczo-chłodzący para/woda (zakres temperatur roboczych: +10 ÷ +140℃), wykraplacz oparów oraz mieszadło wysokoobrotowe z płynną regulacją obrotów (maksymalne obroty na wale w zakresie 600 ÷ 800 obr/min, regulacja w zakresie 30÷100% obrotów maksymalnych).

Rys. 6. *Reaktor do hydrolizy kwasowej*

Mieszadło wytwarzające przepływ mieszany osiowo-promieniowy o pochyłych łopatkach dostosowane jest do mieszania zawiesiny, dzięki czemu reaktor może pracować z medium jednofazowym ciekłym lub wielofazowym: ciecz (faza rozpraszająca) + ciało stałe (zawiesina) w zakresie gęstości: od poniżej 1 do 1,8 kg/dm^3, lepkości dynamicznej: do 1500 mPa*s; i ciśnieniu: do 6 bar.

Umieszczona odpadowa biomasa zwierzęca została następnie zalana (w stosunku masowym 1:1) mieszaniną stężonych kwasów siarkowego (VI) i fosforowego (V) (w stosunku objętościowym 2:1). Proces hydrolizy prowadzono z udziałem mieszania (20 obr/min) przez 24h, utrzymując w środku reaktora temperaturę 40 °C. Po upływie doby hydrolizat zneutralizowano przy użyciu stężonego roztworu wodorotlenku potasu (1100 g KOH/dm^3). Uzyskaną zawiesinę przefiltrowano przy użyciu prasy filtracyjnej, otrzymując klarowny roztwór, który poddano testom stabilnościowym oraz analizie składu pierwiastkowego i zawartości aminokwasów.

3.2.5 Analiza składu nawozów i biomasy

Wszystkie analizy wielopierwiastkowe wykonano w akredytowanym przez Polskie Centrum Akredytacji Laboratorium Chemicznym Analiz Wielopierwiastkowych (Certyfikat Akredytacji nr AB 696), działającym przy Katedrze Zaawansowanych Technologii Materiałowych, Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Przygotowania próbek oraz pomiarów dokonano zwalidowanymi i akredytowanymi metodami, zgodnie z instrukcjami opracowanymi w ramach wdrożonego w laboratorium Systemu Zarządzania Jakością według normy ISO 17025:2018.

Zawartość makro- (oprócz N) i mikroelementów oraz pierwiastków toksycznych (oprócz Hg) oznaczono metodą ICP-OES. Wysuszone, rozdrobnione i homogeniczne próbki nawozów mikroelementowych o masie ok. 0,5g zmineralizowano 10 ml wody królewskiej (2,5 ml 69% HNO_3 oraz 7,5 ml HCl), a próbki materiału roślinnego o masie ok. 1,0 g zmineralizowano 5 ml stężonego kwasu azotowego. Proces mineralizacji wspierano systemem do rozkładu mikrofalowego Start D (Milestone, Italy), ze zwalidowanymi programami czasowo-temperaturowymi. Po mineralizacji próbki ochłodzono, rozcieńczono stukrotnie i poddano analizie na spektrometrze ICP-OES Vista-MPX (Varian, Australia).

Całkowitą zawartość N w próbkach biomasy i nawozów oznaczono metodą termokonduktometryczną z wykorzystaniem analizatora CN Vario MACRO Cube z detektorem przewodności cieplnej (TCD – Thermal Conductivity Detector) (ELEMENTAR Analysensysteme, Germany). Wysuszone i rozdrobnione próbki o masie ok. 30 mg zamknięto w kapsułki z folii cynowej, a następnie poddano analizie w/w techniką.

Zawartość rtęci w próbkach nawozów oraz biomasy oznaczono wykorzystując technikę atomowej spektroskopii absorpcyjnej. Wysuszone i rozdrobnione próbki o masie około 100 mg, umieszczono na niklowych łódeczkach. Próbki analizowano przy użyciu jednofunkcyjnego spektrometru absorpcji atomowej AMA-254 (ALTEC, Republika Czeska), przeznaczonego do

oznaczania całkowitej zawartości rtęci, na podstawie suchego spopielania *in situ*, po którym następowała amalgamacja zimnych oparów.

3.2.6 Analiza zawartości aminokwasów

Ocenę jakościowo-ilościowej zawartości aminokwasów w hydrolizacie bazującym na odpadowej biomasie zwierzęcej wykonano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, przy użyciu chromatografu Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA), wspomaganego przez oprogramowanie Chromeleon 6.80 SR11d. Ocenę jakościową dokonano na podstawie pików pojawiających się w określonych czasach retencji, charakterystycznych dla konkretnych aminokwasów, z kolei ich zawartość obliczono na podstawie pomiaru pola powierzchni piku.

3.2.7 Oceny zawartości mikroorganizmów

Ocenę zawartości mikroorganizmów w nawozach dokonano poprzez posiewy mikrobiologiczne. Celem wyznaczenia zawartości bakterii *Bacillus* spp. w bionawozach fosforowych posłużono się metodą posiewów redukcyjnych, polegających na aplikacji zawiesiny bakteryjnych (o różnych rozcieńczeniach) na stałe podłoże mikrobiologiczne poprzez pipetę i rozprowadzenie głaszczką. Czystość mikrobiologiczną nawozów otrzymanych metodą hydrolizy kwasowej wykazano poprzez posiewy powierzchniowe, oparte o aplikację niewielkich ilości nawozu ezą bakteriologiczną na szalki z podłożem hodowlanym. Następnie szalki umieszczano w cieplarce na min. 3 dni w temperaturze 35 °C. Po zadanym czasie dokonywano ręcznego zliczenia ilości kolonii bakterii. Do badań wykorzystano klasyczne podłoże agarowe, uprzednio wylane na szalki Petriego i ostudzone. Całość tych badań prowadzono w reżimie sterylności, aby uniknąć zakażenia hodowli.

3.2.8 Ocena stabilności nawozów płynnych

Nawozy otrzymane metodą solubilizacji mikrobiologicznej zostały poddane analizie stabilności w warunkach stresu temperaturowego. W tym celu próbki bionawozu szczelnie zamknięto i poddano działaniu temperaturze: 4°C, 25°C, 40°C przez 48h. Za kryterium stabilności przyjęto: brak synerezy, brak aglomeratów świadczących o procesie krystalizacji oraz przeżywalność mikroorganizmów na poziomie 80%, co potwierdzano poprzez posiewy dywanowe.

3.2.9 Ocena biodostępności składników pokarmowych w testach ekstrakcyjnych

Biodostępność mikroelementów oceniono za pomocą testów ekstrakcyjnych. W tym celu określoną masę wzbogaconej biomasy ekstrahowano wodą i obojętnym cytrynianem

amonu, oddzielnie, zgodnie z normami odpowiednio PN-EN 15958:2011 i PN-EN 15957:2011. Ekstrakcja zgodnie z normą PN-EN 15958:2011 obejmuje ekstrakcję próbki nawozu (ok. 1g) w kolbie z wodą destylowaną (100 ml) przez 30 minut, w temperaturze otoczenia. Ekstrakcja zgodnie z normą PN-EN 15957:2011 obejmuje ekstrakcję próbki nawozu (ok. 0,5g) w obojętnym roztworze cytrynianu amonu (100ml), przez 60 min. w temperaturze 65˚C. Po tym czasie roztwór oddziela się od nawozu, a otrzymany ekstrakt przenosi się do kolb miarowych i rozcieńcza do 250 ml. Ekstrakty analizowano pod względem zawartości poszczególnych mikroelementów za pomocą ICP-OES. Uzyskane wyniki odniesiono do zawartości mikroelementów w ekstrahowanej biomasie.

3.2.10 Wstępna ocena skuteczności nawozów w testach *in vivo* – testy kiełkowania

Wstępną ocenę fitotoksyczności i skuteczności preparatów przeprowadzono z wykorzystaniem testów kiełkowania. Poprzez fitotoksyczność rozumie się ograniczenie lub zahamowanie wzrostu roślin w następstwie zaaplikowanego nawozu, w początkowej fazie wzrostu roślin. Wystąpienie fitotoksyczności preparatu może wynikać z nieodpowiedniego składu lub zbyt dużej dawki, która zgodnie z prawem tolerancji Shelforda była czynnikiem ograniczającym. Doświadczenia przeprowadzono na roślinie modelowej, przy użyciu kiełkownika Jacobsena, z zaprogramowanym fotoperiodem 12:12, w temperaturze pokojowej i pod ciśnieniem atmosferycznym. Całość została wykonana zgodnie z zasadami *International Seed Testing Association*. Nasiona poddano trzydniowej stratyfikacji zimnej, a następnie ułożono na szalkach Petriego, wyłożonych inertnym podłożem - watą bawełnianą (5g) lub glebą referncyjną (5g). Na każdej szalce umieszczono po 50 nasion, które następnie zwilżono wodą wodociągową i przykryto specjalnymi kołpakami chroniącymi przed nadmiernym parowaniem wody. Badania preparatów odbywały się w różnych dawkach, w odniesieniu do ujemnej grupy kontrolnej (bez nawożenia) oraz kontroli z preparatem referencyjnym. Każdy obiekt badawczy składał się z co najmniej 3 powtórzeń. Badania prowadzono przez 14 dni, pamiętając o stałej kontroli wilgotności waty. Podane w założeniach preparaty zastosowano w 3 dniu badania, po pełnym wykiełkowaniu nasion. W 14 dniu badania zakończono. Siewki rośliny modelowej poddano ocenie biometrycznej, w której zmierzono: udział wykiełkowanych nasion, średnią masę kiełka, średnią długość łodygi, średnią długość korzenia, świeżą masę i suchą masę. Suchą masę siewek ogórka poddano analizie wielopierwiastkowej.

Naważkę o masie ok. 1 g zmineralizowano na mokro w piecu mikrofalowym, przy użyciu kwasu azotowego (V) i poddano analizie na optycznym, emisyjnym spektrometrze plazmowym.

Wyniki pomiarów biometrycznych siewek hodowanych w testach kiełkowania poddano analizie statystycznej. Wyznaczono współczynnik transferu pierwiastka TF (*transfer factor*). Poprzez pojęcie to rozumie się frakcję pierwiastka, wyrażoną w procentach, jaka została pobrana przez roślinę, w odniesieniu do całkowitej dawki, podanej roślinom w trakcie nawożenia. Parametr ten obliczano z równania (3), jako stosunek iloczynu ilości suchej masy (m_S, *g*) i różnicy zawartości mikroelementu w grupie badawczej (C_x, *mg/kg*) i grupie kontrolnej (C_k, *mg/kg*), w odniesieniu do całkowitej dawki mikroelementu w przeliczeniu na szalkę (D_m, *mg*).

$$TF = \frac{m_S \cdot (C_x - C_k)}{1000 \cdot D_m} \cdot 100\% \quad (3)$$

3.2.11 Testy wazonowe

Testy wazonowe prowadzono przez 25 dni, w komorze fitotronowej z fotoperiodem 12:12, kontrolą natężenia światła, temperatury i wilgotności powietrza. W każdym dołku multiplatu umieszczano 50g jednorodnej gleby oraz jedno nasionko rośliny modelowej, poddane uprzednio stratyfikacji zimnej przez 72h (zgodnie z zaleceniami *International Seed Testing Association*). W trakcie badania glebę nawadniano, jeśli istniała taka potrzeba. Badania prowadzono w odniesieniu do ujemnej grupy kontrolnej, pobocznych grup kontrolnych (nawożonych koformulantami) oraz preparatu referencyjnego Hydrocote 13:13:13 (Yara Poland). Po upływie 25 dni badania zakończono, a rośliny poddano ocenie biometrycznej, w której zmierzono: udział wykiełkowanych nasion, średnią masę kiełka, średnią długość łodygi, średnią długość korzenia, świeżą masę i suchą masę. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

3.2.12 Ocena biometryczna kiełków i rozsady

Kiełki oraz rośliny z badań wazonowych poddano ocenie biometrycznej. Poszczególne parametry oceniono następującymi metodami:

a) Długość części nadziemnej [cm] – pomiar klasyczną linijką, z dokładnością do 0,1 cm
b) Długość korzenia [cm] – pomiar klasyczną linijką, z dokładnością do 0,1 cm
c) Zawartość chlorofilu [SPAD] – pomiar automatycznym miernikiem – fluorymetr SPAD (Konica Minolta)
d) Świeża masa [g] – pomiar wykonano wagą analityczną Sartorius Quintix (Sartorius Poland)

e) Sucha masa [g] – pomiar wykonano wagą analityczną Sartorius Quintix (Sartorius Poland), po uprzednim wysuszeniu kiełków na wagosuszarce laboratoryjnej MA 50.R (Radwag)
f) Ilość wykiełkowanych nasion [%] – parametr określono poprzez ręczne zliczenie ilości kiełków
g) Średnia masa kiełka [g] – parametr wyznaczono obliczeniowo dzieląc całkowitą świeżą masę przez ilość wykiełkowanych nasion

3.2.13 Wyznaczenie współczynnika biodostępności fosforu TFP

Glebę użytą do testów wazonowych oraz rośliny zebrane po ich zakończeniu poddano analizie pod kątem zawartości fosforu. Na podstawie tych danych oraz znajomości wartości parametru suchej masy wyliczono współczynnik biodostępności fosforu (TFP – *Transfer factor of phosphorus*) . Liczbowo określa się go jako stosunek iloczynu zawartości fosforu w roślinie (C_{FR}, *mg/g*) i suchej masy (m_S, *g*) i iloczynu zawartości fosforu w glebie użytej do testów wazonowych (C_{FG}, *mg/g*) oraz jej masy (m_G, g), zgodnie z równaniem (4):

$$TFP = \frac{C_{FR} \cdot m_S}{C_{FG} \cdot m_G} \cdot 100\% \quad (4)$$

3.2.14 Ocena skuteczności nawozów w badaniach polowych

Ocenę skuteczności biologicznej wybranych preparatów sprawdzono w warunkach rzeczywistych w jednorocznych lub dwuletnich badaniach polowych. Doświadczenie jednoczynnikowe, w układzie losowanych bloków, przeprowadzono w 4 powtórzeniach. Powierzchnia poletka wynosiła 20 m^2. Oprócz testowanych formulacji w różnych dawkach, wyodrębniono ujemną grupę kontrolną (bez nawożenia) oraz grupę kontrolną nawożoną preparatem referencyjnym. W badaniach dobrano dawki nawożenia zgodnie z zaleceniami *International Fertilizer Association* (IFA), biorąc pod uwagę typ gleby oraz jej zasobność w makro i mikroelementy. W trakcie badania monitorowano warunki pogodowe (temperatura oraz ilość opadów atmosferycznych) oraz prowadzono dokumentacje fotograficzną.

3.2.15 Ocena właściwości piekarniczych ziarna pszenicy

Plon ziarna pszenicy uzyskany w badaniach polowych oceniono pod względem właściwości piekarniczych. Analizie poddano następujące parametry:

a) gęstość nasypowa [g/dm^3] – pomiar wykonano zgodnie z normą PN-EN ISO 7971-3:2010, według której wyznaczono masę litra zboża z wykorzystaniem gęstościomierza laboratoryjnego o pojemności 1 dm^3

b) liczba opadania [s] – liczbę opadania, czyli wskaźnika aktywności enzymów amylolitycznych wykonano metodą Hagberga-Pertena, zgodnie z normą PN-EN ISO 3093:2010. W tym celu, ok. 7 g mąki pszennej pełnoziarnistej umieszczono w szklanej probówce, dodano 25 ml wody dejonizowanej, całość mieszano a następnie probówkę zamykano specjalnym korkiem z mieszadłem. Probówkę umieszczano w łaźni wodnej automatycznego analizatora FN 1310 (Perten Instruments AB, Luksemburg), gdzie pod wpływem wody oraz ciepła dostarczanego z łaźni skrobia zawarta w pszenicy rozpoczyna proces kleikowania. Metoda ta wykorzystuje pomiar czasu opadania mieszadełka, co sczytywane jest przez analizator.

c) zawartość glutenu [%] i gluten index – pomiar wykonano przy użyciu systemu Glutomatic 2200 (Perten Instruments AB, Luksemburg) oraz wirówki typu 2015 (Perten Instruments AB, Luksemburg). W komorze roboczej umieszcza się 10g mąki pełnoziarnistej. Następnie dochodzi do zagniatania ciasta z jednoczesnym wymywaniem skrobi przy użyciu 2% roztworu chlorku sodu w czasie 5 minut. Uzyskany w ten sposób czysty gluten odwirowuje się na specjalnej wirówce z kasetami sitowymi przez 4 minuty, przy 6000 obr/min. Działająca na gluten siła odśrodkowa powoduje jego wysuszenie i rozdzielenie na 2 frakcje, tzw. „glutenu mocnego" i „glutenu słabego", które różnią się właściwościami fizykochemicznymi, elastycznością i rozpływalnością. Łączna masa obu frakcji pomnożona przez 10 daje ilość mokrego glutenu (%), z kolei stosunek masy frakcji która nie przeszła przez sito do łącznej masy obu frakcji pomnożona przez 100 daje bezwymiarowy Gluten Index - wyróżnik jakościowy glutenu. Gluten Index, z definicji, waha się w zakresie od 0 dla glutenu całkowicie nieprzydatnego do 100 jednostek dla glutenu "zbyt mocnego".

d) zawartość popiołu [%] – zawartość popiołu oznaczono metodą spalania zgodnie z normą PN-EN ISO 2171:2010. W tym celu naważkę mąki pełnoziarnistej o masie około 1g (z dokładnością do 0,0001g) umieszcza się na wyprażonym tyglu o stałej masie (z dokładnością 0,0001 g), po czym poddaje się działaniu wysokiej temperatury (ok. 900 °C) w piecu konwekcyjnym. Po pełnym spopieleniu rozgrzane tygle przenosi się z pieca do eksykatora, aż do uzyskania stałej masy (pomiar tygla po spaleniu dokonuje się kilkukrotnie, aż do zaniku zmiany masy). Na podstawie znajomości masy początkowej tygla oraz masy tygla po procesie spopielania mąki oblicza się masę popiołu (z dokładnością do 0,0001g). Stosunek masy popiołu do masy próbki maki poddanej

spopieleniu, pomniejszonej o jej wilgotność, pomnożony przez 100 daje zawartość procentową popiołu w zbożu.

e) zawartość białka [%] – pomiaru zawartości białka dokonano przy wykorzystaniu automatycznego analizatora całoziarnowego NIR DA 7200 (Perten Instruments AB, Luksemburg). Promieniowanie elektromagnetyczne produkowane przez stacjonarny monochromator, absorbowane przez badany materiał wywołuje drganie wiązań chemicznych o wysokiej polarności. Część promieniowania niezaabsorbowanego zostaje odbita od próbki jest mierzona przez 256 detektorów o czułościach odpowiadającym energiom uzyskiwanym w zakresie bliskiej podczerwieni: 950-1700 nm. Na podstawie natężenia promieniowania początkowego i odbitego określana jest zawartość białka.

3.2.16 Analiza statystyczna danych

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu oprogramowania Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc.). Zgodnie z przyjętą strategią, analizę rozpoczynano od oceny normalności rozkładu zmiennych poprzez Test Shapiro-Wilka. Jeśli rozkład wyników był inny niż normalny ocenę różnic statystycznych pomiędzy zmiennymi dokonywano poprzez Test U Manna-Whitneya. Z kolei, jeśli rozkład był normalny, dokonywano analizy jednorodności wariancji Testem Browna-Forsythea, a następnie Testem T (dla wariancji jednorodnych) lub Testem Welcha (dla wariancji niejednorodnych) oceniano istotność różnic statystycznych.

4. Wyniki i ich dyskusja

4.1. Technologia nawozów mikroelementowych bazujących na biomasie lucerny

Badania przeprowadzono w ramach projektu z programu Biostrateg II pt.: „*Rośliny uprawne oraz produkty naturalne jako źródła substancji biologicznie aktywnych przeznaczonych do produkcji preparatów kosmetycznych, farmaceutycznych i suplementów diet*" finansowanego przez Narodowe Centrum Badania i Rozwoju w (nr Umowy BIOSTRATEG2/298205/9/NCBR/2016).

4.1.1. Wzbogacanie biomasy

Porównanie składu biomasy lucerny i nawłoci przed i po wzbogaceniu w jony miedzi, cynku i manganu na drodze biosorpcji pozwoliła ocenić poziom wzbogacenia i wyznaczyć współczynnik wzbogacenia EF, będący ilorazem zawartości mikroelementu w biomasie po procesie wzbogacenia (C_w) i zawartości mikroelementu w niewzbogaconej biomasie (C_n), zgodnie z równaniem (1).

Uzyskane wyniki w zakresie stężeń mikroelementów oraz metali ciężkich ważnych z punktu widzenia nawozowego oraz obliczone współczynniki wzbogacenia zestawiono w Tabeli 6.

Tab. 6. *Wyniki wzbogacenia biomasy*

Pierwiastek	Lucerna			Nawłoć		
	Zawartość przed wzbogaceniem, mg/kg	Zawartość po wzbogaceniu, mg/kg	EF	Zawartość przed wzbogaceniem, mg/kg	Zawartość po wzbogaceniu, mg/kg	EF
Cu	5,58	20700	3710	9,83	19800	2014
Zn	32,1	10300	321	42,1	10700	254
Mn	53,9	10200	189	353	15700	45
Zawartość pierwiastków toksycznych, mg/kg						
Pb **Hg** **Cd** **Ni** **As**	< 1,98 < 0,001 < 0,18 < 0,09 < 4,58					

Proces wzbogacania biomasy charakteryzował się dużą wydajnością, co potwierdzają wysokie współczynniki wzbogacenia EF. Współczynniki EF są zróżnicowane w zależności od

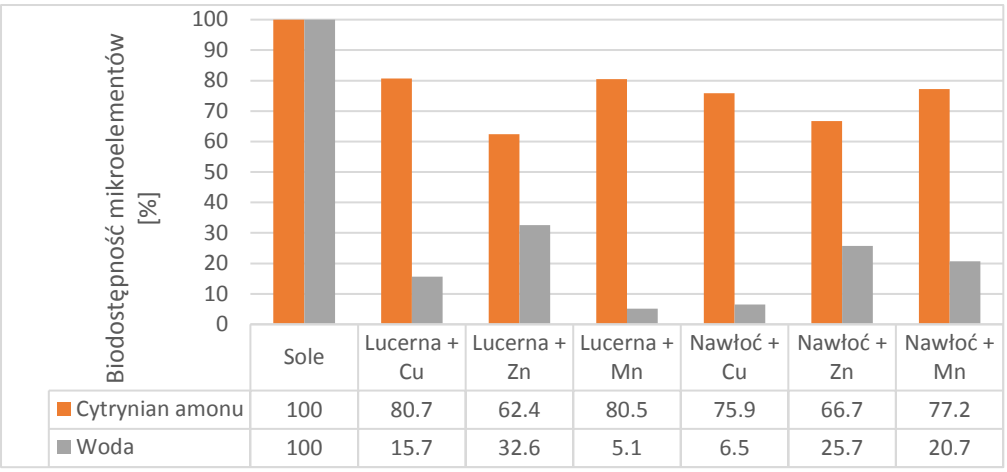
biomasy oraz wzbogacanego pierwiastka. Wyższe współczynniki uzyskano dla biomasy lucerny. Zarówno biomasę lucerny jak i nawłoci wzbogacono w największym stopniu w jony miedzi i odnotowano ich wzrost odpowiednio o ponad 3700 i 2000 razy. W obu przypadkach najmniejszą wydajność wzbogacania biomasy zanotowano w przypadku jonów manganu.

Zawartość metali ciężkich odnotowano na poziomie niższym niż poziom detekcji spektrometru optycznego. Poziomy te są zgodne z wymaganiami stawianymi nawozom przez Ustawę o nawozach i nawożeniu.

Wzbogacanie odpadowej biomasy na drodze biosorpcji jest znane i opisane w literaturze. Michalak i in., 2019 poddali wzbogaceniu biomasę rozdrobnionej trawy oraz lucerny m.in. w jony miedzi, manganu i cynku. W badaniu uzyskano niższe współczynniki wzbogacenia w jony Cu^{2+}, Mn^{2+} i Zn^{2+}, które dla trawy wynosiły odpowiednio: 616, 20 i 113, a lucerny odpowiednio: 321, 90, i 158. Samoraj i in., 2016 wykorzystał proces biosorpcji jako sposób zagospodarowania odpadowych nasion czarnej porzeczki. Biomasa została wzbogacona w jony miedzi, manganu i cynku, uzyskując następujące współczynniki wzbogacenia: 1128, 192 i 197. W badaniu tym uzyskano wyższy współczynnik wzbogacenia w mangan. Powyższe badania potwierdzają, że wzbogacanie biomasy na drodze biosorpcji zależy od rodzaju biomasy oraz jonu, w który biomasa jest wzbogacana. Różnica w zdolności wiązania jonów mikroelementów przez różną biomasę wynika ze zmiennej pojemności sorpcyjnej biosorbentów, co jest związane z budową chemiczną ścian komórkowych i m.in. z różnego ładunku grup funkcyjnych na powierzchni biomasy (Bakkaloglu i in., 1998).

4.1.2. Biodostępność mikroelementów

Ocena biodostępności w testach ekstrakcyjnych w wodzie i obojętnym cytrynianie amonu jasno pokazują, że mikroelementy w nawozach uzyskanych metodą biosorpcji są dostępne dla roślin. Wyniki testów zestawiono na Rysunku 7. Stuprocentową biodostępność mikroelementów uzyskano dla soli, które ulegają łatwemu rozpuszczeniu zarówno w wodzie jak i obojętnym cytrynianie amonu. Wyniki testów ekstrakcyjnych nawozów mikroelementowych otrzymanych metodą biosorpcji wykazały dużo niższą dostępność, przy czym znacznie wyższą w roztworze cytrynianu amonu (62,4-80,7%), będącym odpowiednikiem roztworu glebowego, niż w wodzie (5,1-32,6%).



	Sole	Lucerna + Cu	Lucerna + Zn	Lucerna + Mn	Nawłoć + Cu	Nawłoć + Zn	Nawłoć + Mn
Cytrynian amonu	100	80.7	62.4	80.5	75.9	66.7	77.2
Woda	100	15.7	32.6	5.1	6.5	25.7	20.7

Rys. 7. *Biodostępność mikroelementów w nawozach bazujących na biomasie lucerny i nawłoci*

Ocena biodostępności mikroelementów w testach ekstrakcyjnych jest symulacją procesu desorpcji. Wcześniej zaadsorbowane jony metali na powierzchni biomasy są desorbowane i zastępowane przez jony z roztworu ekstrakcyjnego. W neutralnym cytrynianie amonu desorpcja będzie skuteczniejsza niż w wodzie, co wynika z siły jonowej roztworu (Mellis i in., 2017).

Fakt, że biodostępność w obojętnym cytrynianie amonu wykazuje wyższe wartości, jest pożądany. Cytrynian amonu, jako naturalny roztwór glebowy, stwarza korzystne warunki do desorpcji jonów z powierzchni bio-nośników mikroelementów nawozowych, udostępniając je roślinom. Niska dostępność mikroelementów w wodzie chroni je przed wymywaniem i spływem do głębszych partii gleby, na przykład podczas silnych opadów deszczu. W popularnych nawozach mikroelementowych w postaci soli nieorganicznych - głównie siarczanów - biodostępność mikroelementów dla roślin jest wysoka, gdyż sole te są dobrze rozpuszczalne w wodzie i cytrynianach. Powoduje to jednak duże straty składników pokarmowych nawozu do wód gruntowych. Mikroelementy powinny być dostępne przez cały okres wegetacji rośliny, ponieważ są one niezbędne w różnych fazach wzrostu, kwitnienia czy napełniania ziaren. Wysoka rozpuszczalność tych soli zmniejsza prawdopodobieństwo ich dostępności w końcowych fazach wegetacji, ponieważ składniki pokarmowe szybko rozpuszczają się i przenikają przez glebę do wód gruntowych. Ta sama dawka mikroelementów w stosowanych nawozach w postaci wzbogaconej biomasy jest stopniowo desorbowana z jej powierzchni w warunkach glebowych. Zjawisko to wydłuża zatem dostępność mikroskładników pokarmowych dla roślin, co jest zaletą nawozów otrzymywanych metodą biosorpcji. Uwalnianie mikroelementów z nawozów otrzymanych w wyniku biosorpcji zależy od wielu czynników procesów fizycznych, chemicznych i biologicznych (zarówno od strony

rośliny, jak i mikroflory glebowej). Ponieważ jony mikroskładników pokarmowych są związane z grupami karboksylowymi na nośniku biologicznym, a roślina przyjmuje jony mikroskładników pokarmowych, równowaga przesuwa się, a następna frakcja jest uwalniana z nawozu. Dodatkowo, dostarczenie mikroelementów w postaci związanej z biomasą zmniejsza problem utraty i wypłukiwania jonów mikroelementów lub możliwości przedawkowania, fitotoksyczności czy niedokarmiania rośliny zgodnie z prawem Shelforda. Pobieranie mikroelementów jest również kontrolowane przez biologiczne sygnały roślinne, różne w każdym stadium wzrostu i związane z tym wymagania roślin (Chojnacka i in., 2005; Mukhtar i in., 2015).

4.1.3. Testy kiełkowania

Badanie przeprowadzono na 6 obiektach, w których wyróżniono: grupę kontrolną (1), grupę nawożoną niewzbogaconą lucerną (2), grupę nawożoną niewzbogaconą nawłocią (3), grupę nawożoną wzbogaconą lucerną (4), grupę nawożoną wzbogaconą nawłocią (5) oraz grupę nawożoną siarczanami(VI) mikroelementów (6), powszechnie stosowanymi jako nawóz mikroelementowy w rolnictwie. W przypadku grup badawczych nawożonych mikroelementami, wzbogaconą biomasę oraz sole mikroelementów zastosowano w ilościach zapewniających 2,7 mg Cu(II), 8,1 mg Mn(II) oraz 10,8 mg Zn(II). W grupie 2 użyto niewzbogaconej biomasy lucerny w ilości odpowiadającej masie biomasy wzbogaconej, zastosowanej w grupie 4; w grupie 3 analogicznie zastosowano niewzbogaconą nawłoć. Grupa kontrolna była przez cały okres badań podlewana wodą wodociągową. Szczegółowe wyniki testów kiełkowania zestawiono w Tabeli 7.

Tab. 7. *Wyniki pomiarów biometrycznych siewek ogórka*

Parametr	Obiekt badawczy*					
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
% wykiełkowanych nasion	92	93	91	93	92	91
Średnia masa kiełka, g	0,216	0,228	0,219	0,245	0,234	0,193
Średnia długość łodygi, mm	$34,4^{ab}$	$34,9^{c}$	$34,5^{d}$	$59,8^{acdef}$	$42,4^{be}$	$34,4^{f}$
Średnia długość korzenia, mm	26,3	26,5	26,7	29,7	28,5	24,1
Świeża masa, g	32,491	31,806	29,893	36,750	32,083	28,89
Sucha masa, g	3,675	3,359	3,369	4,579	3,705	3,189

*grupa kontrolna-1, grupy nawożone niewzbogaconą biomasą lucerny-2 i nawłoci-3, grupy nawożone wzbogaconą biomasą lucerny-4 i nawłoci-5, grupa nawożona solami mikroelementów

**wyniki oznaczone tą samą literą w wierszu różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym $p<0,05$

Przeprowadzone testy kiełkowania nie wykazały efektu fitotoksyczności ze strony nowych preparatów. Co więcej zaobserwowano efekt stymulujący wzrost ogórka w

początkowych fazach, co przełożyło się na wzrost średniej świeżej i suchej masy kiełek oraz średniej długości łodygi i korzenia w porównaniu z grupą odniesienia nawożoną solami mikroelementów.

Zastosowanie nowych bio-nawozów wywarło wpływ na początkową fazę wzrostu ogórka. Wzrost wartości parametrów wigoru siewek był widoczny, choć w większości przypadków różnice nie były istotne. Zależności statystycznie istotne zaobserwowano dla długości łodygi siewek, które to dla grup nawożonych wzbogaconą biomasą lucerny lub nawłoci były znacznie większe. Wykazano również nieznaczny efekt fitotoksyczny w grupie nawożonej solami mikroelementów, który przełożył się na spadek suchej masy, nawet w odniesieniu do grupy kontrolnej podlewanej jedynie wodą.

Analiza składu pierwiastkowego suchej masy kiełków metodą ICP-OES pozwoliła na ocenę przyswajalności mikroelementów z nawozów bazujących na biomasie oraz soli mikroelementów. Wyniki przedstawiono w Tabeli 8.

Tab. 8. *Zawartość pierwiastków w suchej masie kiełków ogórka*

Pierwiastek	Obiekt badawczy					
	1	2	3	4	5	6
MAKROELEMENTY, mg/kg s.m.						
K	8900	9620	9020	12500	9870	7940
Ca	5470	5390	5500	5680	3080	2320
Mg	8280	8360	8240	6750	5580	6212
Na	6440	7580	7850	1250	1290	794
MIKROELEMENTY, mg/kg s.m.						
Co	<0,270	<0,270	<0,270	<0,270	<0,270	<0,270
Cu	37,7	33,6	32,6	83,9	252	762
Fe	162	178	169	282	191	159
Mn	77,2	77,6	77,9	442	901	2380
Se	22,5	24,0	22,1	7,78	20,3	26,8
Zn	244	179	182	803	2880	1310
PIERWIASTKI TOKSYCZNE, mg/kg s.m.						
Cd	0,161	0,090	0,121	0,084	0,273	0,051
Ni	<0,0900	<0,0900	<0,0900	<0,0900	<0,0900	<0,0900
Pb	12,2	10,9	9,57	6,82	4,82	3,11
Hg	$<3*10^{-4}$	$<3*10^{-4}$	$<3*10^{-4}$	$<3*10^{-4}$	$<3*10^{-4}$	$<3*10^{-4}$
As	<4,58	<4,58	<4,58	<4,58	<4,58	<4,58
Al	2,15	1,56	1.76	<1,40	<1,40	<1,40

*grupa kontrolna-1, grupy nawożone niewzbogaconą biomasą lucerny-2 i nawłoci-3, grupy nawożone wzbogaconą biomasą lucerny-4 i nawłoci-5, grupa nawożona solami mikroelementów

**wyniki oznaczone tą samą literą w wierszu różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym $p<0,05$

Analiza wielopierwiastkowa składu kiełków pozwoliła zauważyć różnice w poziomie mikroelementów w roślinach nawożonych nowymi formulacjami. Najwyższe zawartości miedzi, manganu i cynku uzyskano w kiełkach nawożonych siarczanami (VI) mikroelementów. Należy jednak przypomnieć o delikatnym efekcie fitotoksycznym ze strony soli mineralnych. Na podstawie zawartości mikroelementów w kiełkach nawożonych mikroelementami oraz kiełków bez nawożenia obliczono współczynnik transferu (TF, według równania 3) mikroelementu z nawozu do biomasy kiełek (Tab. 9). Największy TF uzyskano dla nawożenia mikroelementami w postaci siarczanów (VI). Mniej skuteczną formą podawania Cu, Mn i Zn była wzbogacona biomasa. Niższe wartości TF przy takiej samej dawce świadczą o stopniowym uwalnianiu mikroelementów z powierzchni wzbogaconej biomasy. Właściwość ta jest pożądana i korzystna, ponieważ zapewnia roślinom dłuższy dostęp do mikroelementów.

Tab. 9. *Współczynnik transferu mikroelementów z nawozów*

Pierwiastek	Dawka mikroelementu na obiekt badawczy, mg	Transfer mikroelementu z dodatku nawozowego %		
		Wzbogacona lucerna	Wzbogacona nawłoć	Sole mineralne
Cu	2,70	7,80	29,4	85,5
Mn	8,10	20,6	37,7	90,7
Zn	10,8	23,7	90,4	31,5

Wyniki testów kiełkowania były obiecujące. Należy jednak zaznaczyć, że testy kiełkowania nie są metodą referencyjną przeznaczoną do oceny skuteczności biologicznej nawozów. Badania prowadzone na szalkach Petriego wykluczają wystąpienie zjawiska spływu powierzchniowego lub wgłębnego mikroelementu. Zastosowany układ zamknięty powoduje, że cała dawka zastosowanego nawozu jest obecna w środowisku wzrostu kiełków, co również umożliwia bilans jonów. Właściwym badaniem pozwalającym na jednoznaczną ocenę działania nawozów są badania polowe (minimum 2-letnie), które prowadzone w całym okresie wegetacyjnym rośliny pozwalają na wyciągnięcie wiążących wniosków.

O nawozach otrzymywanych metodą biosorpcji wiadomo niewiele. Istnieje kilka donosów naukowych o ich skuteczności. W badaniach Tuhego i in., 2014 przeprowadzono testy kiełkowania z nawożeniem cynkiem przy użyciu 7 różnych nawozów, w tym 5 uzyskanych metodą biosorpcji. W stosunku do badań opisanych w niniejszej pracy zastosowano inną roślinę modelową i inną dawkę, a więc badania nie są porównywalne, ale podobnie uzyskano efekt wzbogacania kiełków w Zn (Tuhy i in., 2014).

W osobnych badaniach opisano wpływ nawozów opartych na biomasie wodorostów morskich wzbogaconej cynkiem. Stosując tę samą dawkę mikroelementu, zastosowanie bio-nawozów na bazie alg spowodowało wzbogacenie w cynk oraz zwiększenie masy kiełków w porównaniu z zastosowaniem soli nieorganicznej i chelatu. Świadczy to o pozytywnym wpływie nawozów otrzymanych metodą biosorpcji (Tuhy i in., 2015a).

4.1.4. Badania polowe

Ocenę przydatności rolniczej bioproduktów nawozowych wytworzonych z nawłoci i lucerny, wzbogaconych w cynk, miedź i mangan przeprowadzono w dwuletnim, ścisłym doświadczeniu polowym w latach 2018 i 2019. Rośliną doświadczalną była kukurydza na ziarno, odm. LG 32.58 (grupa średnio wczesna), o bardzo wysokiej zdrowotności roślin od siewu do zbioru oraz odpornej na warunki stresu (susza glebowa, niskie temperatury).

4.1.4.1 Schemat doświadczenia

Doświadczenie założono w Stacji Doświadczalnej IUNG-PIB Jelcz-Laskowice jako jednoczynnikowe, w układzie losowanych bloków, w 4 powtórzeniach. Powierzchnia poletka wynosiła 20 m^2.

Tab. 10 . *Obiekty i dawki nawozowe*

Lp.	Obiekt / nawożenie	Dawka biomasy/ha /poletko
1	0 - Kontrolny	-
2	**NPK**	-
3	NPK + Zn, Cu, Mn (sole techniczne) – dawka 100%	10 kg Zn, 2 kg Cu, 4 kg Mn/ha; 20g Zn, 4 g Cu, 8g Mn/pol.
4	NPK + **nawłoć** wzbogacona w Zn, Cu, Mn – dawka 100%	1,5 t/ha 3,0 kg/pol.
5	NPK + **nawłoć** wzbogacona w Zn, Cu, Mn – dawka 125%	1,875 t/ha 3,75 kg/pol.
6	NPK + **nawłoć** wzbogacona w Zn, Cu, Mn – dawka 75%	1,125 t/ha 2,25 kg/pol.
7	NPK + **lucerna** wzbogacona w Zn, Cu, Mn – dawka 100%	1,5 t/ha 3,0 kg/pol.
8	NPK + **lucerna** wzbogacona w Zn, Cu, Mn – dawka 125%	1,875 t/ha 3,75 kg/pol.
9	NPK + **lucerna** wzbogacona w Zn, Cu, Mn – dawka 75%	1,125 t/ha 2,25 kg/pol.

W schemacie doświadczenia oprócz obiektów gdzie zastosowano badane nawozy uwzględniono obiekt kontrolny (0) - bez nawożenia NPK i bioproduktów oraz dwa obiekty porównawcze: obiekt nawożony NPK bez biomasy z mikroelementami (2) i obiekt nawożony

solami mikroelementowymi w optymalnej dawce (3) (Tab. 10). Losowość poletek przedstawiono w Tabeli 11.

Tab. 11 . *Układ losowanych bloków*

2	9	8	5	1	6	3	4	7	9	2	3	5	4	7	1	6	8
III powtórzenie									IV powtórzenie								
8	4	5	7	6	9	3	1	2	8	9	5	4	1	3	7	6	2
I powtórzenie									II powtórzenie								

Zastosowano podstawowe nawożenie NPK przedsiewnie w dawkach: 70 kg N/ha (saletra amonowa 32%N), 50 kg P_2O_5/ha (superfosfat 40% P_2O_5) oraz 160 kg K_2O/ha (sól potasowa 60%), a także oraz nawożenie pogłówne saletrą amonową 32% w dawce 70 kg/ha N. Nawożenie mikroelementami było zróżnicowane, w zależności od obiektu badawczego. W obiektach 3, 4 , 7 zastosowano dawkę 100% Zn, Cu i Mn – liczona wg zalecanej dla kukurydzy dawki 10 kg Zn/ha, 2 kg Cu/ha i 4 kg Mn/ha. W obiektach 5 i 8 zastosowano 125% (12,5 kg Zn; 2,5 kg Cu; 5 kg Mn/ha), a w obiektach 6 i 9 75% dawki mikroelementów (7,5 kg Zn; 1,5 kg Cu; 3 kg Mn /ha). W obiekcie 3 zastosowano sole techniczne: pięciowodny $CuSO_4$, siedmiowodny $ZnSO_4$, i czterowodny $MnSO_4$. Obiekty 4,5,6 nawożono wzbogaconą w mikroelementy biomasą lucerny, a obiekty 7, 8 i 9 wzbogaconą biomasą nawłoci.

4.1.4.2. Warunki glebowe

Analiza właściwości fizykochemicznych gleby w miejscu uprawy kukurydzy pozwoliła ocenić kategorię agronomiczną gleby oraz jej zasobność w pierwiastki kluczowe w żywieniu zastosowanej rośliny modelowej. Wyniki analiz gleby w roku 2018 i 2019 przedstawiono w Tabeli 12.

Tab. 12*. Analiza gleby doświadczalnej*

Parametr	**2018**	**2019**
Kategoria gleby	II – gleba lekka (glina lekka)	III – gleba średnia (glina średnia)
pH	5,7 (lekko kwaśny)	5,8 (lekko kwaśny)
Zawartość pierwiastków		
C_{org}	0,74 %	1,09 %

N_{min} (warstwa 0-90cm)	82,1 kg/ha s.m. (zawartość średnia)	78,9 kg/ha s.m. (zawartość średnia)
P_2O_5	16,0 mg/100g (zawartość wysoka)	21,2 mg/100g (zawartość b. wysoka)
K_2O	10,8 mg/100g (zawartość średnia)	19,0 mg/100g (zawartość średnia)
Mg	7,5 mg/100g (zawartość wysoka)	4,4 mg/100g (zawartość niska)
Cu	4,1 mg/kg (zawartość średnia)	5,3 mg/kg (zawartość średnia)
Mn	78,0 mg/kg (zawartość średnia)	102,0 mg/kg (zawartość średnia)
Zn	4,2 mg/kg (zawartość niska)	14,3 mg/kg (zawartość średnia)

Zasobność gleby w składniki pokarmowe (makro- i mikroelementy) wyceniano w oparciu o obowiązujące w stacjach chemiczno-rolniczych w Polsce liczby graniczne tj. zakresy dla zawartości wysokiej, średniej i niskiej. Liczby zależne są od kategorii agronomicznej gleb (Cu, Zn, K, Mg), oraz od pH gleby – w przypadku Mn. pH gleby pod uprawę kukurydzy było optymalne; zawartość w glebie Cu i Mn była średnia (wymagająca nawożenia), a Zn – niska lub średnia w stosunku do potrze tego gatunku, co stworzyło podstawy do uzyskania pozytywnej reakcji roślin na zastosowane nawożenie mikroelementowe (*Zalecenia nawozowe, cz. I. Liczby graniczne do wyceny zawartości w glebach makro- i mikroelementów.*, 1990).

4.1.4.3. Stan odżywienia rośliny w czasie wegetacji

Zawartość N_{og},. P, K, Mg oraz Zn, Cu i Mn stwierdzone w częściach wskaźnikowych (liść podkolbowy) roślin wyceniono na podstawie wartości granicznych wg Bergmanna (Bergamann, 1986). Z przeprowadzonej analizy chemicznej wynika, że kukurydza była optymalnie odżywiona w makro- i mikroelementy (koncentracja magnezu była na granicy optimum). Zawartości N, P, K i Mg w liściach były zbliżone w obrębie obiektów nawożonych (ob. 2-9). Aplikacja badanych bioproduktów zawierających mikroelementy (ob. 4-9) spowodowała wzrost zawartości cynku do poziomu optymalnego dla kukurydzy. Rośliny nie nawożone cynkiem były niedostatecznie zaopatrzone w ten składnik. Zwiększenie koncentracji tego składnikach w roślinach w kombinacjach z bioproduktami (szczególnie ob. 5 i 8) może świadczyć o jego dobrej przyswajalności. Po aplikacji produktów z mikroelementami stwierdzono również istotny wzrost zawartości miedzi i manganu. W roślinach z obiektów gdzie zastosowano mikroelementy doglebowo w postaci mineralnej (ob. 3) stężenie Zn, Cu i Mn było w roślinach niższe w porównaniu do badanych bioproduktów. Szczegółowe wyniki przedstawiono w Tabeli 13.

Zastosowanie nawozów mikroelementowych w postaci wzbogaconej biomasy lucerny i nawłoci na drodze biosorpcji spowodowało poprawę odżywienia kukurydzy. Najkorzystniejsza okazała się suplementacja rośliny modelowej wzbogaconą lucerną, w dawce mikroelementów wynoszącej 125%. Nawożenie nawozami mikroelementowymi wg zaproponowanej technologii wpłynęło na biofortyfikację nadziemnych części roślin, w tym przypadku liści podkolbowych. Wysokie poziomy mikroelementów są korzystne z punktu widzenia wykorzystania biomasy kukurydzy jako paszy dla zwierząt gospodarskich. Podaż mikroelementów związanych w biomasie roślin jest optymalnym sposobem żywienia zwierząt. Wartością dodaną takiej paszy jest wysoka biodostępność i przyswajalność mikroelementów w układzie pokarmowych żwaczy.

Dane literaturowe wskazują, że mikroelementy zbierane przez roślinę i gromadzone w liściach mogą podlegać przeniesieniu. Na przykład w przypadku cynku udowodniono, że nie ma bariery pomiędzy bielmem a tkanką naczyniową. W związku z tym mikroelementy z liści, poprzez translokację, mogą być przenoszone na ziarno w okresie ich wypełniania, zwiększając tym samym plon (Stomph i in., 2014). Można stwierdzić, że wysoka zawartość Zn, Cu i Mn w liściach uzyskanych w niniejszej pracy sprzyja biofortyfikacji ziarna kukurydzy.

Tab. 13. *Zawartość składników pokarmowych w liściach podkolbowych*

Obiekt*	N og.		P		K		Mg		Zn		Cu		Mn	
	% s.m								mg/kg s.m.					
	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019
1	2,35	2,03	0,22	0,20	2,35	2,17	0,19	0,22	16,4	23,2	5,66	6,3	37,5	48,8
2	2,97	2,71	0,29	0,23	2,24	2,11	0,20	0,20	19,8	32,9	6,98	7,2	34,9	47,2
3	2,87	2,78	0,27	0,24	2,41	2,15	0,19	0,19	23,9	27,8	8,25	8,2	45,7	59,3
4	2,94	2,61	0,29	0,22	2,23	2,14	0,17	0,19	33,7	31,7	8,28	7,4	49,6	56,9
5	3,09	2,85	0,29	0,23	2,20	2,15	0,20	0,20	32,0	38,6	8,34	**8,7**	48,1	60,4
6	2,93	2,73	0,30	0,24	2,26	2,16	0,18	0,21	26,7	34,9	8,12	7,1	45,6	62,0
7	3,03	2,52	0,29	0,21	2,33	2,14	0,18	0,20	34,8	34,0	8,15	7,5	59,9	57,0
8	2,90	2,77	0,28	0,23	2,25	2,17	0,18	0,19	**36,0**	**39,6**	**8,47**	8,3	**86,2**	**67,0**
9	3,21	2,68	0,32	0,23	2,24	2,17	0,18	0,20	35,1	34,5	7,13	6,8	60,7	64,1
Zakres optymalny**	2,8-3,5		0,25-0,5		2,0-3,5		0,2-0,5		25-70		6-12		35-100	

*1-ob. Kontrolny, 2-NPK, 3-NPK+sole mikroelementów (100% dawki mikroelementów), 4,5,6 – NPK+ wzbogacona nawłoć (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio), 7,8,9 – NPK+ wzbogacona lucerna (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio)

**Zakresy optymalne według Bergmana

4.1.4.4. Plony

Plonowanie kukurydzy w przeprowadzonym doświadczeniu polowym było zróżnicowane pomiędzy latami 2018 i 2019. W 2018 roku Plon z obiektu kontrolnego – tzw. 0, bez nawożenia był o 30% niższy w stosunku do porównawczego nawożonego optymalnego NPK bez mikroelementów (ob. 2). Aplikacja Cu, Mn i Zn w postaci soli technicznych i w badanych produktach wpłynęła na zwiększenie plonów ziarna o 4 – 11% z wyłączeniem ob. 6 (NPK + nawłoć wzbogacona w Zn, Cu, Mn – 75% dawki). W obrębie obiektów nawożonych bioproduktami wzbogaconymi w mikroelementy istotnie statystycznie wyższe plony stwierdzono po zastosowaniu NPK z nawłocią i z lucerną wniesionymi w najwyższej dawce 125% (ob. 5 i 8) w porównaniu z obiektem 2 (NPK – bez mikroelementów) i w stosunku do obiektu 6 (NPK + nawłoć z Zn, Cu, Mn – 75% dawki).

W 2019 roku mimo okresowej suszy uzyskano stosunkowo wysokie plony kukurydzy w zakresie 6,9 – 9,4 t z ha (Tab. 14). Plon z obiektu kontrolnego – tzw. 0, bez nawożenia był o 22% niższy w stosunku do porównawczego nawożonego optymalnego NPK bez mikroelementów (ob. 2). Aplikacja Cu, Mn i Zn w postaci soli technicznych i w badanych produktach wpłynęła na zwiększenie plonów ziarna o 2 – 11%. Na ob. 6 i 9 i nawłoć i lucerna 75% dawki zwyżek plonu nie uzyskano.

Tab. 14. *Plonowanie kukurydzy*

Obiekt*	Plon średni		Plon w liczbach względnych		MTZ	
	t/ha		l. wzgl. ob. NPK- 100%		g	
	2018	2019	2018	2019	2018	2019
1	4,94 a	6,887 a	70	78	223,1	351,0
2	7,07 b	8,815 b	**100**	**100**	238,0	365,9
3	7,46 bc	9,217 bc	106	105	246,5	370,3
4	7,31 bc	9,318 bc	104	106	242,3	363,3
5	7,83 c	9,750 c	**111**	**111**	247,8	**375,8**
6	6,98 b	8,815 bc	99	100	234,7	369,3
7	7,62 bc	9,028 bc	108	102	239,3	362,7
8	7,90 c	9,375 bc	**111**	**106**	**251,1**	369,4
9	7,46 bc	8,587 b	106	98	237,6	358.8

*1-ob. Kontrolny, 2-NPK, 3-NPK+sole mikroelementów (100% dawki mikroelementów), 4,5,6 – NPK+ wzbogacona nawłoć (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio), 7,8,9 – NPK+ wzbogacona lucerna (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio)

W obrębie obiektów nawożonych bioproduktami wzbogaconymi w mikroelementy istotnie statystycznie najwyższe plony stwierdzono po zastosowaniu NPK z nawłocią i mikroelementami wniesionymi w najwyższej dawce 125% - obiekt 5, w porównaniu z obiektem 2 (NPK – bez mikroelementów). Ziarno kukurydzy (MTZ) zebranej z tej kombinacji cechowała największa masa.

Wprowadzenie do gleby mikroelementów z bioproduktami: nawłoć – 125% dawki oraz lucerna – 125% dawki przyniosło zwiększony efekt plonotwórczy w porównaniu do aplikacji mikroelementów w postaci czystych soli na obiekcie porównawczym.

4.1.4.5. Jakość ziarna kukurydzy

W ziarnie kukurydzy oznaczono zawartość białka, skrobi i tłuszczu metodą spektroskopii odbiciowej w bliskiej podczerwieni (NIRS). Poziom zawartości badanych wskaźników jakości we wszystkich wariantach doświadczenia nie odbiegał od zawartości średnich i odpowiadał wymogom pasz (Tab. 15). Pod wpływem działania porównywanego nawożenia stwierdzono niewielkie tendencje wzrostowe zawartości skrobi w porównaniu do wartości dla ziarna kontrolnego. Różnice pomiędzy rokiem 2018 a 2019 były nieznaczne.

Tab. 15. *Plonowanie kukurydzy*

Obiekt*	Białko		Skrobia		Tłuszcz	
	[% s.m.]					
	2018	2019	2018	2019	2018	2019
1	9,5	9,3	65,6	61,1	3,4	5,2
2	9,8	9,7	67,8	63,8	3,7	4,9
3	10,0	9,9	66,8	62,3	4,1	5,5
4	10,0	9,5	66,7	62,6	4,2	5,6
5	9,8	9,8	66,3	63,9	3,6	5,8
6	9,9	9,7	67,2	61,6	3,5	5,4
7	9,8	9,6	66,8	62,7	3,8	6,5
8	10,2	8,8	67,4	61,7	3,9	4,9
9	10,0	10,0	67,8	63,0	4,0	4,7
	Średnia/norma (Gąsiorowski, 2005)					
	9,1		*73,4*		*4,4*	

*1-ob. Kontrolny, 2-NPK, 3-NPK+sole mikroelementów (100% dawki mikroelementów), 4,5,6 – NPK+ wzbogacona nawłoć (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio), 7,8,9 – NPK+ wzbogacona lucerna (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio)

Najniższa zawartość azotu w ziarnie, zgodnie z oczekiwaniami, wystąpiła na obiekcie nienawożonym azotem. Na pozostałych obiektach pod wpływem nawożenia koncentracja N

og. zwiększyła się o 12-20%. W przypadku P i K odnotowano niewielkie różnice międzyobiektowe. Wprowadzenie mikroelementów w bio-produktach powodowało ich wzrost w ziarnie kukurydzy. Różnice te nie były jednak istotne statystycznie.

Zdaniem ekspertów z Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa na podstawie wyników z dwuletniego doświadczenia polowego z kukurydzą można wnioskować o dobrym działaniu nawozowym, biostymulującym i plonotwórczym bioproduktów z nawłoci i lucerny zawierających Zn, Cu i Mn. W warunkach glebowych i panującej pogody w czasie wegetacji w SD Jelcz-Laskowice, składniki zastosowane szczególnie w wyższych dawkach biopreparatów (125% i 100%) wykazały dobrą przyswajalność dla roślin, pozytywnie wpływały na odżywienie roślin w mikroelementy i plonowanie kukurydzy.

W zakresie nawozów mikroelementowych otrzymywanych metodą biosorpcji istnieje tylko kilka doniesień naukowych. W badaniach tych wykorzystuje się inną biomasę jako nośnik mikroelementów. Tuhy i in., 2015a, 2015b opisuje fortyfikację kukurydzy mikroglonami *Spirulina* sp. wzbogaconymi w cynk, miedź i mangan w procesie biosorpcji. Badanie to różni się pod względem warunków glebowych i odmiany kukurydzy. Jednak przy założeniu takiej samej dawki mikroelementów w badaniach Tuhego i in., 2015a, 2015b uzyskano wyższą zawartość Cu i Zn oraz porównywalną zawartość manganu, a także mniejszą wydajność.

Tab. 16. *Zawartość składników pokarmowych w ziarnie kukurydzy*

Obiekt*	N og.		P		K		Mg		Zn		Cu		Mn	
	% s.m								mg/kg s.m.					
	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019
1	1,49	1,50	0,25	0,27	0,25	0,41	0,10	0,12	19,3	22,4	2,12	1,82	20,1	7,0
2	1,71	1,53	0,28	0,24	0,33	0,38	0,09	0,11	20,5	24,2	2,32	2,00	21,0	7,7
3	1,77	1,52	0,29	0,25	0,32	0,39	0,10	0,11	21,3	23,4	2,44	1,96	22,0	7,1
4	1,79	1,50	0,30	0,26	0,32	0,39	0,12	0,12	**21,7**	23,7	2,55	1,92	22,8	7,4
5	1,71	1,55	0,31	0,25	0,30	0,41	0,11	0,12	19,2	25,6	**2,84**	2,11	21,6	7,8
6	1,74	1,51	0,30	0,27	0,33	0,43	0,12	0,12	20,8	**25,3**	2,22	**4,55**	**22,8**	**8,3**
7	1,73	1,55	0,30	0,26	0,30	0,40	0,12	0,12	20,6	23,6	2,48	2,16	22,1	7,8
8	1,68	1,52	0,29	0,25	0,29	0,38	0,10	0,11	21,5	23,8	2,15	2,01	21,7	7,1
9	1,68	1,54	0,29	0,27	0,30	0,41	0,11	0,02	20,1	24,0	2,32	2,14	22,0	7,7

*1-ob. Kontrolny, 2-NPK, 3-NPK+sole mikroelementów (100% dawki mikroelementów), 4,5,6 – NPK+ wzbogacona nawłoć (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio), 7,8,9 – NPK+ wzbogacona lucerna (dawki mikroelementów: 100%, 125%, 75%, odpowiednio)

4.2 Technologia nawozów fosforowych metodą solubilizacji mikrobiologicznej

Badania przeprowadzono w ramach umowy dot. „Opracowania wstępnych formulacji produktu: opracowania technologii wytwarzania bionawozów fosforowych na bazie odnawialnych surowców fosforowych (metodą solubilizacji mikrobiologicznej)" wykonanej dla Grupa Azoty ZAK S.A. jako podwykonawca w ramach projektu finansowanego przez NCBiR POIR Działanie 1.2: Sektorowe programy B+R Projekt: „Nowe formulacje specjalistycznych nawozów organiczno-mineralnych"

4.2.1 Analiza składu surowców

Przydatność wybranych odpadowych surowców fosforonośnych oceniono na podstawie całkowitej zawartości fosforu (wyrażonego jako P_2O_5), fosforu dostępnego w cytrynianie amonu oraz rozpuszczalnego w wodzie, jak również łatwością przygotowania do procesu. Wyniki przedstawiono w Tabeli 17.

Tab. 17. *Charakterystyka odnawialnych surowców fosforowych.*

Surowiec	P_2O_5 całkowity, %	P_2O_5, % z całkowitego		P_2O_5 niedostępny, %
		Rozpuszczalny (woda)	Dostępny (cytrynian amonu)	
Kości kurczak	16,1	7,42	81,8	2,93
Kości indyk	**21,4**	**3,73**	**73,4**	**5,69**
Kości kaczka	17,1	5,33	79,8	3,45
Kości gęś	18,0	3,14	56,9	7,76
Kości wieprzowe	22,8	2,36	93,1	1,57
Ości pieczone	**20,5**	**5,57**	**99,1**	**0,184**
Popiół	**19,9**	**0,017**	**55,4**	**8,87**

Największą zawartością fosforu odznaczały się kości wieprzowe (22,8% m/m P_2O_5), jednak charakteryzują się one wysoką twardością i trudnością w mieleniu oraz dużą zawartością frakcji organicznej (krew, szpik kostny). W związku z tym, do dalszych badan wykorzystano kości indycze, ości pieczone oraz popiół ze spalania osadów ściekowych. Surowce te oprócz korzystnej zawartości fosforu (powyżej 20% m/m P_2O_5), wykazują również wysoką biodostępność fosforu, co jest korzystne w zaproponowanej technologii.

Wykorzystane w badaniach surowce mogą być odnawialną alternatywą dla popularnych w przemyśle nawozowym fosforytów. Dane literaturowe wskazują, że zawartość P w przeliczeniu na P_2O_5 w skałach fosforonośnych jest zróżnicowana w zależności kraju pochodzenia i waha się pomiędzy 18,15 % m/m (Arabia Saudyjska) a 28,00 % m/m (Maroko) (Amine i in., 2019; El-Taher i Khater, 2016).

Kości i ości są powszechnym odpadem sektora rolno-spożywczego. Ich dostępność na rynku jest wysoka, lecz rozproszona. Potencjał kości i ości jako źródła fosforu zależy od ich pochodzenia gatunkowego, które wpływa na zawartość fosforu. Dane literaturowe podają, że zawartość P_2O_5 w kościach waha się pomiędzy 19 a 24%, z kolei w ościach wynosi około 20% (Saeid i in., 2018; Someus i Pugliese, 2018). Materiały te są również nośnikiem wapnia, materii organicznej oraz nieznacznych ilości mikroelementów. Warto dodać, że kości i ości są nośnikami śladowych ilości metali ciężkich. Ma to ogromne znaczenie w przypadku kadmu i nawozów fosforowych. Najnowsze rozporządzenia UE, dotyczące jakości nawozów regulują redukcję zawartości kadmu w suchej masie nawozów z 60 mg/kg do 20 mg/kg. Dane statystyczne mówią, że zmiana dotyczyłaby aż 56% nawozów fosforowych. Zmiany w zakresie nawozów fosforowych są konieczne, ze względu na wyczerpujące się złoża fosforytów. Ponadto, pozostałe złoża są coraz gorszej jakości i zawierają w sobie coraz większe ilości tego toksycznego metalu (Marini i in., 2020).

Popioły ze spalania osadów ściekowych z polskich oczyszczalni 3-go stopnia jako nośnik fosforu zawierają fosforany wapniowo-żelazowe, fosforany wapniowo-magnezowe i fosforany żelaza(III). Zawartość P_2O_5 w popiele jest zróżnicowana w zależność od spalarni, w której powstaje. W Polsce działa 9 instalacji, które łącznie produkują rocznie około 30 tys. ton, (najwięcej w Warszawie), o zawartości wahającej się pomiędzy 16,8 a 25,9%. Szczegóły przedstawiono w Tabeli 18. Roczna krajowa produkcja popiołów pozwala na utrzymanie ciągłego procesu w skali przemysłowej, a ich korzystny skład zwiększa użyteczność w celach nawozowych.

Tab. 18. *Popioły z osadów ściekowych – zawartość fosforu oraz roczna produkcja*

Lp.	Instalacja	P_2O_5,%	Ilość powstających popiołów [t/rok]
1	**Warszawa**	16,81	10 147
2	**Kraków**	17,86	8 200
3	**Łódź**	19,92	2 200
4	**Gdańsk**	25,19	4 100
5	**Bydgoszcz**	18,39	1557,3
6	**Gdynia**	25,88	1 700
7	**Kielce**	24,73	700-900
8	**Szczecin**	22,74	1 000
9	**Łomża**	22,44	388,5
		Średnia: 21,55	**Suma: 29 993**

Spalanie osadów ściekowych jest wymuszone prawodawstwem europejskim dostosowanym do przepisów krajowych. Przepisy prawa wprowadzają zakaz składowania na składowiskach wysokokalorycznych odpadów, powyżej 6000 kJ/kg s.m., w tym osadów ściekowych. Niestety, bezpośrednie zastosowanie popiołów do celów nawozowych jest obecnie niedozwolone przez UE. Potencjał odpadowych materiałów zawierających znaczne ilości P_2O_5 można wykorzystać po ich uprzedniej waloryzacji, np. solubilizacji lub ekstrakcji fosforu. Należy jednak zaznaczyć, że trwają prace Komisji Europejskiej nad opracowanie przepisów umożliwiających wykorzystanie substancji odpadowych, będących źródłem fosforu, w tym struwitu, popiołów i biowęgla, jako materiałów składowych nawozów. Problem popiołów o dużej zawartości fosforu jest o tyle większy, że nie nadaje się on do wykorzystania w budownictwie i drogownictwie. Zgodnie z normą EN-450-1, jony fosforanowe w popiołach o zawartości powyżej 100 mg rozpuszczalnego P_2O_5 /kg popiołu spowalniają wiązanie wody, wydłużenie czasu wiązania betonu oraz znaczny spadek jego wytrzymałości mechanicznej.

Popioły ze spalania osadów ściekowych charakteryzują się wysoką lecz zmienną zawartością fosforu (Tabela 18), z czego znaczna jego część jest niedostępna. Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie w literaturze, która wskazujące, że biodostępność fosforu w popiele ze spalania ścieków w testach ekstrakcyjnych neutralnym cytrynianem amonu wynosi od 19,7 % (spalarnia osadów Kielce) do 45,7% (spalarnia osadów Gdańsk) (Smol i in., 2020). Zgodnie z dostępną widzą, istnieją techniki zwiększające biodostępność fosforu jak wyprażanie z czynnikami redukującymi, strącanie, ekstrakcja czy procesy wspomagane mikroorganizmami (Melia i in., 2017).

4.2.2 Solubilizacja mikrobiologiczna

Solubilizacja surowców fosforonośnych przez pojedyncze szczepy Bacillus

Wprowadzenie bakterii w stan stresu abiotycznego, wynikającego z braku fosforu w pożywce bakteryjnej, zmusza mikroorganizmy do podjęcia próby znalezienia jego źródła. W tym celu komórki bakteryjne produkują wtórne metabolity, takie jak kwas szczawiowy, octowy czy cytrynowy, które stopniowo roztwarzają surowce. W przeprowadzonych badaniach (Rys. 8) oceniono wpływ szczepów *Bacillus: B. megaterium, B. subtilis, B. thuringiensis i B. cereus* na solubilizację różnych surowców fosforowych (kości, ości, popioły), w różnych dawkach (100, 200 i 300 % wymaganej przez mikroorganizmy).

***Rys. 8**. Dokumentacja fotograficzna z przeprowadzonych badań*

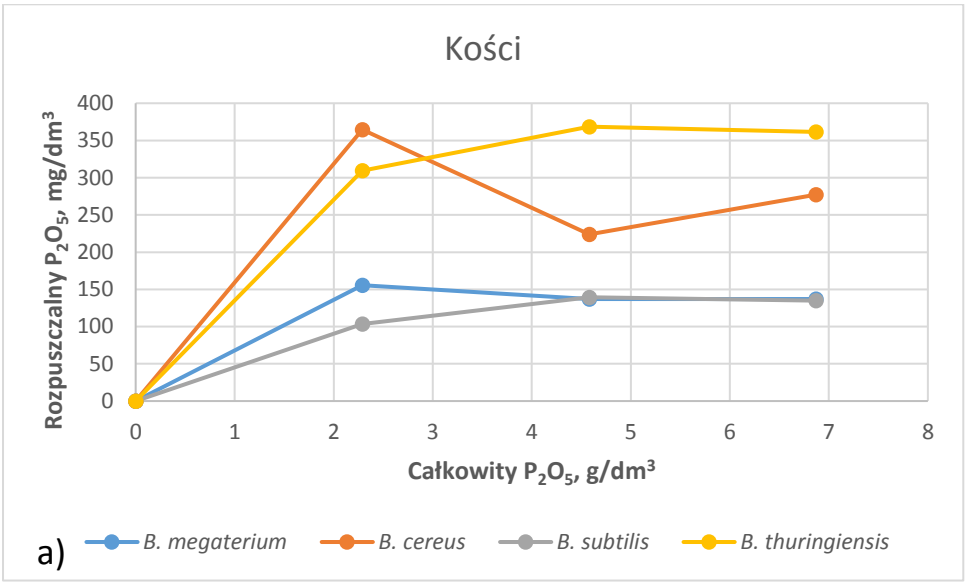
Różnice pomiędzy dawką i rodzajem surowców fosforowych oraz szczepami bakterii oceniono na podstawie zawartości P_2O_5 w bulionie pohodowlanym. Wyniki solubilizacji wraz z krzywymi wzrostu bakterii przedstawiono w Tabeli 19.

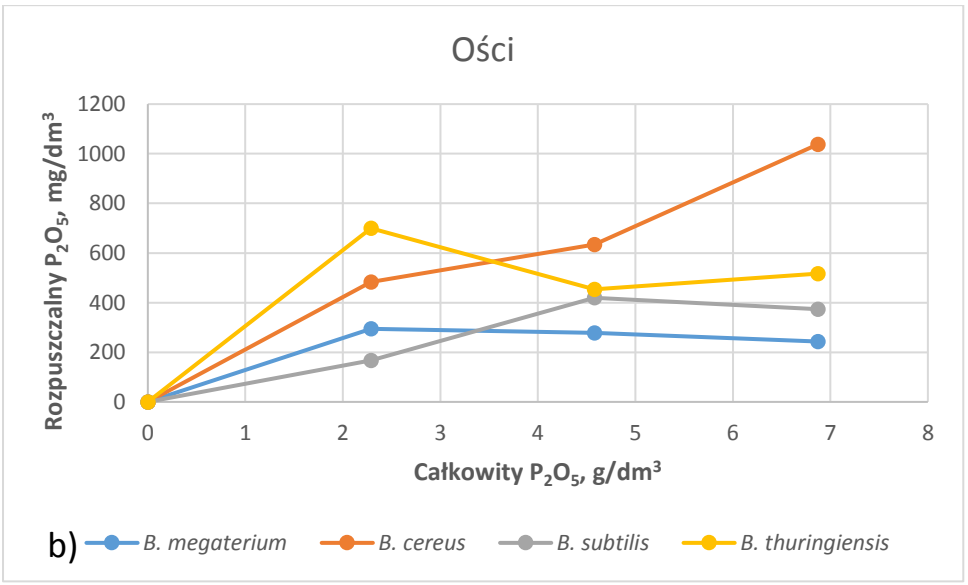
***Tab.19.** Maksymalne stężenie P_2O_5 w roztworze (mg/dm^3) i stopień solubilizacji (%)*

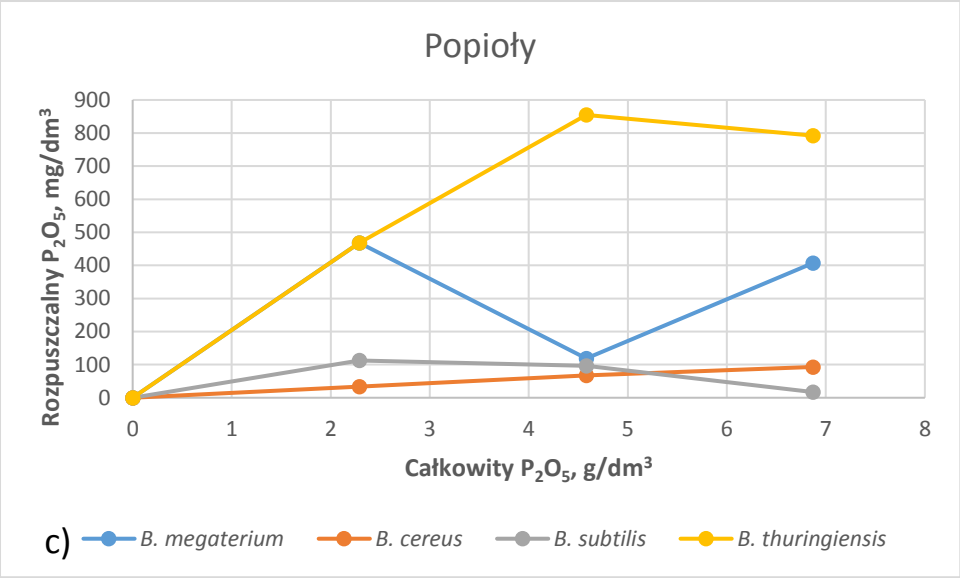
Szczep	Surowiec	Maksymalne stężenie P_2O_5, mg/dm^3			Stopień solubilizacji, %		
		100%	200%	300%	100%	200%	300%
B. megaterium	kości	156	137	137	6,79	2,99	2,00
	ości	294	278	243	12,8	6,07	3,54
	popiół	468	118	407	20,4	2,59	5,92
B. cereus	kości	365	224	277	15,9	4,89	4,03
	ości	483	635	1037	21,1	13,8	15,1
	popiół	33,4	67,1	93,1	1,46	1,47	1,36
B. subtilis	kości	103	139	135	4,52	3,04	1,96
	ości	167	419	373	7,29	9,15	5,43
	popiół	112	96,3	17,6	4,92	2,10	0,26
B. thuringiensis	kości	309	368	362	13,5	8,05	5,26
	ości	699	453	517	30,5	9,88	7,51
	popiół	468	854	792	20,4	18,6	11,5

Dla kości, przy dawce P_2O_5 w zakresie 2,3-6,9 g/dm^3, największe stężenie rozpuszczalnego P_2O_5 w hodowli otrzymano w przypadku *Bacillus thuringiensis:* **368 mg/dm^3** przy 4,6 g/dm^3 całkowitego P_2O_5 (zawartego w surowcu). Nieco niższą wydajność solubilizacji wykazał *B. cereus* (280 mg/dm^3 P_2O_5) przy maksymalnym stężeniu surowca. W przypadku ości, największe stężenie rozpuszczalnego P_2O_5 uzyskano w wyniku solubilizacji przez *B. cereus*. W tym przypadku maksymalne stężenie P_2O_5 rozpuszczalnego zaobserwowano przy maksymalnym stężeniu surowca fosforowego: **1037 mg/dm^3**. Stężenie to było 2,8 razy wyższe

niż w przypadku kości. Pozostałe mikroorganizmy ze zdecydowanie mniejszą wydajnością solubilizowały ości. Solubilizacja popiołów przebiegała z pośrednią wydajnością. Podobnie jak w przypadku kości, najbardziej wydajnie solubilizował szczep *Bacillus thuringiensis*. Stężenie rozpuszczalnego P_2O_5 wynosiło **854 mg/dm^3**, podobnie jak w przypadku kości, przy 4,6 g/dm^3 całkowitego P_2O_5. Zmiany stężenia P_2O_5 w czasie, dla różnych szczepów i materiałów przestawiono na Rysunku 9.



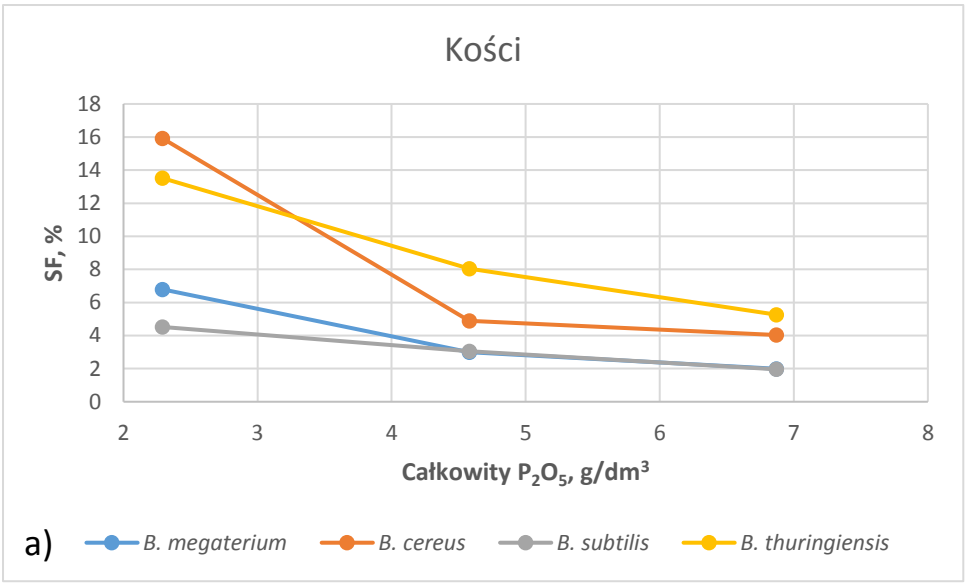




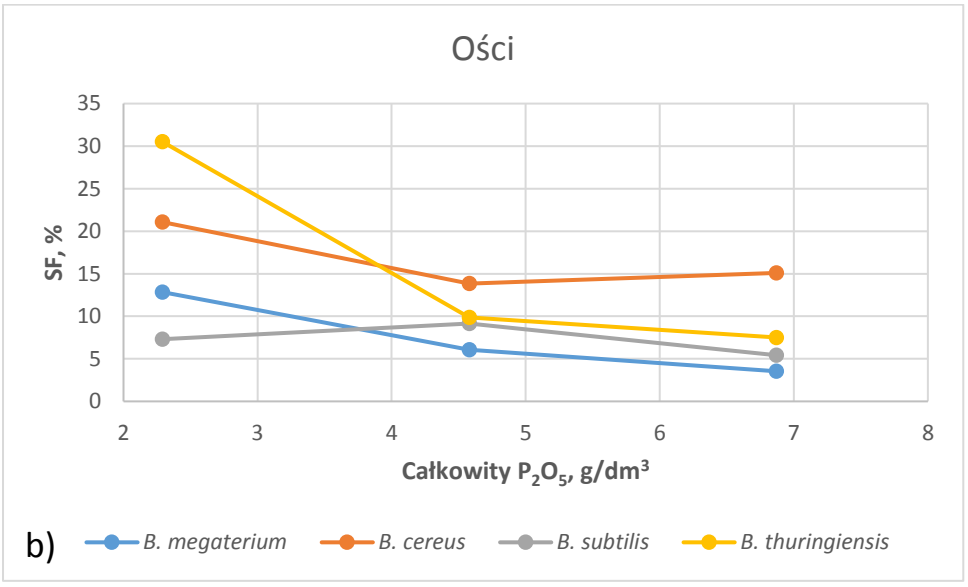
Rys. 9. *Wpływ stężenia całkowitego P_2O_5 (zawartego w surowcu) w hodowli różnych szczepów bakterii z rodzaju Bacillus sp. na stężenie rozpuszczalnego fosforu w hodowli z wykorzystaniem różnych surowców odnawialnych a) kości, b) ości, c) popioły)*

*) Łączenie punktów ma na celu przedstawienie wynikającego z przeprowadzonych badań trendu oraz zwiększenie czytelności wykresów.

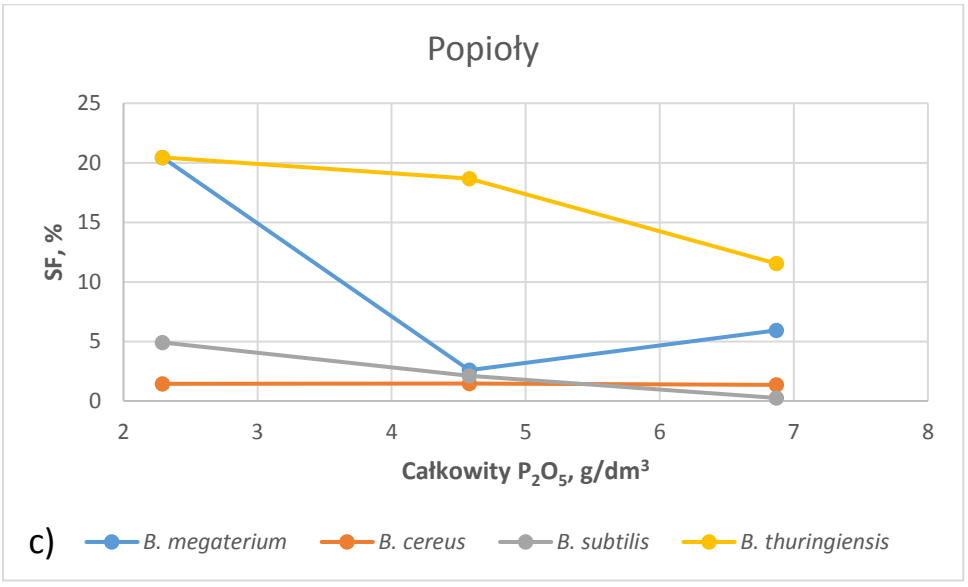
Analiza wpływu stężeń i rodzaju surowców solubilizowanych przez poszczególne szczepy *Bacillus* na współczynnik solubilizacji pokazała, że największa wartość tego współczynnika jest osiągana dla ości: 30,5 % (najmniejsze stężenie surowca, *B. thuringiensis*), dla popiołów 20,4 % (najmniejsze stężenie surowca: *B. thuringiensis* i *B. megaterium*), a dla kości 15,9 % (najmniejsze stężenie surowca: *B. cereus*). Współczynnik solubilizacji należy jednak interpretować w połączeniu ze stężeniem rozpuszczalnego P_2O_5, które wynosiło odpowiednio: ości 699 mg/dm^3, popioły 468 mg/dm^3 i kości 365 mg/dm^3. W większości przypadków zauważono również, że stopień solubilizacji spada wraz ze wzrostem dawką surowca (Rys. 10).


Kości
SF, %
Całkowity P_2O_5, g/dm³
B. megaterium
B. cereus
B. subtilis
B. thuringiensis

a)


Ości
SF, %
Całkowity P_2O_5, g/dm³
B. megaterium
B. cereus
B. subtilis
B. thuringiensis

b)

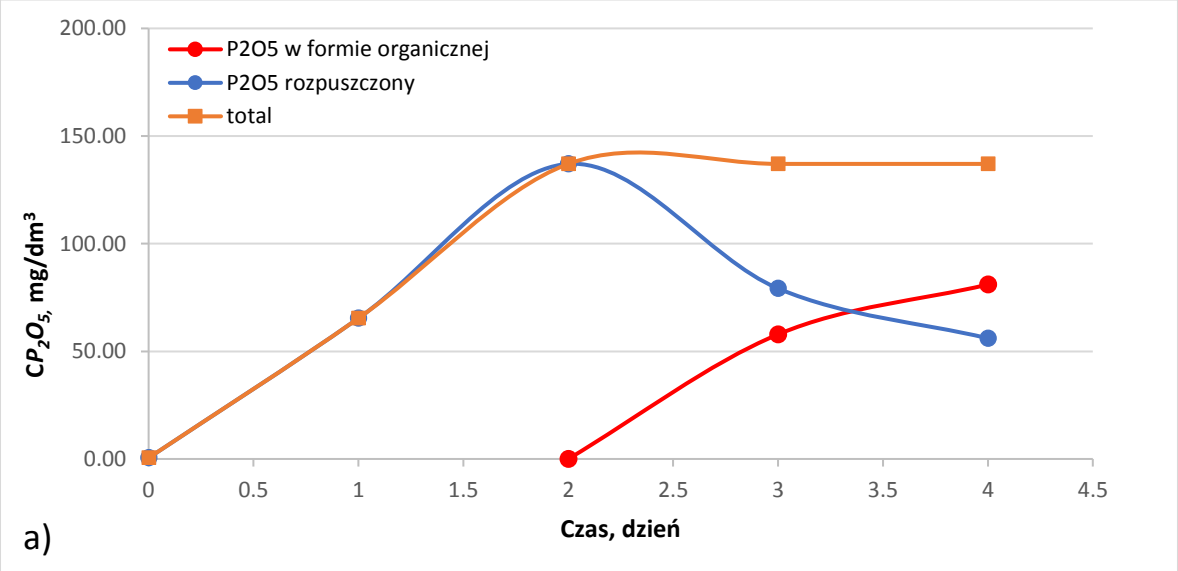

Popioły
SF, %
Całkowity P_2O_5, g/dm³
B. megaterium
B. cereus
B. subtilis
B. thuringiensis

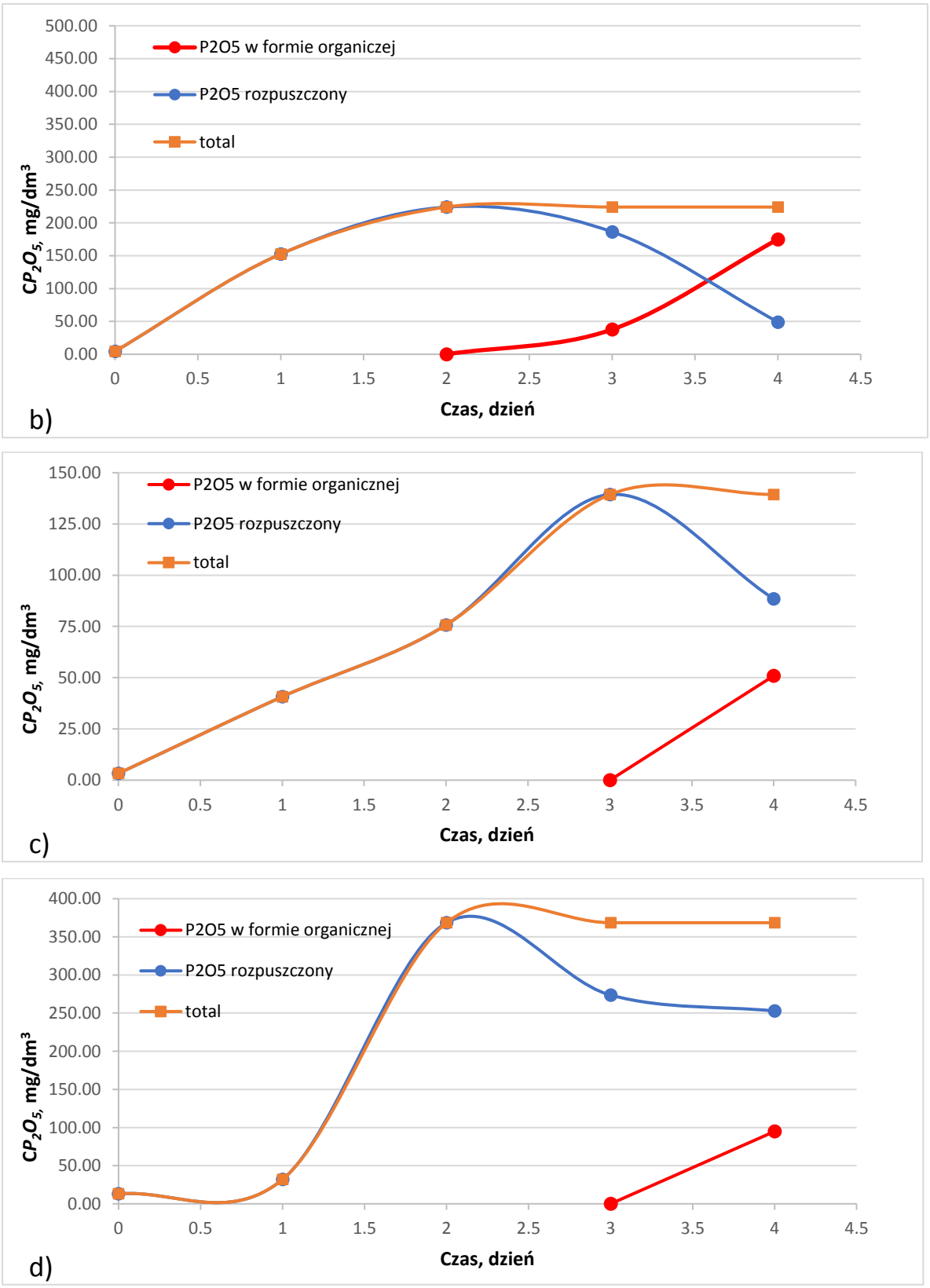
c)

Rys. 10. *Wpływ stężenia całkowitego P_2O_5 z poszczególnych fosforowych surowców odnawialnych: a) kości, b) ości, c) popioły, na współczynnik solubilizacji SF (zgodnie z równaniem 2)*

*) Łączenie punktów ma na celu przedstawienie wynikającego z przeprowadzonych badań trendu oraz zwiększenie czytelności wykresów.

Ponadto, w trakcie przeprowadzania procesu solubilizacji i sporządzania krzywych kinetyki tego procesu nieoczekiwanie okazało się, że w niektórych hodowlach proces przebiega dwu-etapowo, a mianowicie następuje w pierwszej kolejności biotransformacja fosforu z hydroksyapatytu do formy wodorofosforanów, rozpuszczanych w mediach hodowlanych, a następnie bio-transformacja do granul polifosforanowych wewnątrz komórek mikroorganizmów. Dla potwierdzenia poniżej przedstawiono przykładowe krzywe solubilizacji kości w dawce 200% przez wszystkie szczepy, gdzie zobrazowano zmianę stężenia różnych form fosforu w czasie: fosforu rozpuszczalnego, w formie organicznej (zakumulowanej w biomasie mikroorganizmów) oraz sumę tych dwóch form fosforu (Rys. 11).





Rys. 11. *Krzywe kinetyki solubilizacji kości (dawka 200%) z wyróżnieniem zmian form fosforu w trakcie trwania procesu z użyciem: a) B. megaterium, b) B. cereus, c) B. subtilis, d) B. thuringiensis*

Na podstawie sporządzonych krzywych kinetyki dla wszystkich szczepów i wszystkich surowców w dawkach 100%, 200% i 300% dawki wymaganej przez mikroorganizmy (łącznie 36 krzywych) stwierdzono, że korzystnie jest prowadzić proces przez 2 doby, ponieważ w drugiej dobie osiągana jest największa zawartość fosforanów rozpuszczonych w bulionie hodowlanym.

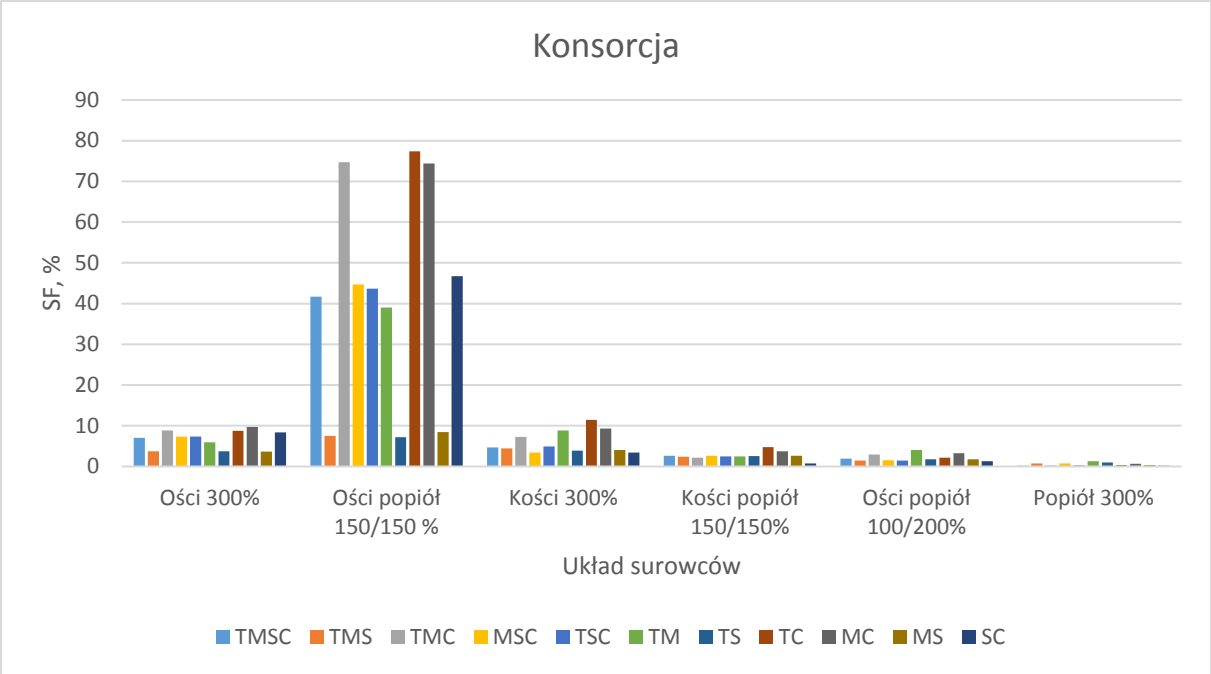
Solubilizacja surowców fosforonośnych przez konsorcja szczepów Bacillus

Na podstawie wyników solubilizacji surowców zawierających fosfor przez pojedyncze szczepy bakterii *Bacillus* uznano, że najlepszym rozwiązaniem jest zastosowanie dawki 300% P_2O_5 w stosunku do standardowego składu pożywki zalecanej do hodowli bakterii z rodzaju *Bacillus*. Zdolność solubilizacyjną układów dwukulturowych, trójkulturowych i układu czterokulturowego sprawdzono na pojedynczych surowcach (ości, kości, popiół) oraz mieszankach surowców (ości i popiół, kości i popiół), a wyniki zestawiono w Tabeli 20.

Tab. 20. *Maksymalne stężenie P_2O_5 otrzymane dla różnych konsorcjów z zastosowaniem różnych źródeł fosforu. Kolor zielony w poszczególnych komórkach przedstawia wartość z komórki w odniesieniu do całego zbioru danych*

Konsorcjum	Stężenie P_2O_5 [mg/dm^3]					
	Ości 300%	Ości i popiół 150%/150%	Kości 300%	Kości i popiół 150%/150%	Ości i popiół 100%/200%	Popiół 300%
TMSC	482	2864	320	183	135	13,9
TMS	255	517	304	163	100	48,9
TMC	607	5132	500	149	204	21,3
MSC	503	3072	234	180	103	53,7
TSC	506	3003	336	171	102	21,3
TM	406	2679	607	171	278	88,0
TS	255	495	264	178	120	69,0
TC	600	5318	785	325	150	23,6
MC	667	5109	639	257	224	46,8
MS	249	578	278	181	121	21,8
SC	576	3211	232	51,4	90,8	15,8

Najbardziej korzystne okazało się zastosowanie połączenia ości i popiołu (stosunek 1:1 wnoszonej dawki P_2O_5). Warunki te okazały się szczególnie przyjazne dla aktywności trzech konsorcjów – TMC, TC oraz MC. W tych przypadkach stężenie rozpuszczonych fosforanów przekraczało 0,5% m/v. Dla powyższych przypadków współczynniki solubilizacji były najwyższe, przekraczające 70% (Rys. 12).



Rys. 12. *Współczynnik solubilizacji P_2O_5 otrzymany dla różnych konsorcjów z zastosowaniem różnych źródeł fosforu*

Zastosowanie mieszanki dwóch źródeł fosforu (ości i popiołu) zapewniło bakteriom optymalne warunki do wzrostu. Warto zwrócić uwagę na rolę materii organicznej, która wprowadzona wraz z ościami stymulowała wzrost bakterii, zapewniając tym samym skuteczniejszą solubilizację surowców. Zauważono, że zwiększenie jednoczesne zwiększenie dawki popiołu i zmniejszenie dawki ości obniżyło wydajność procesu. Wynikało to z mniejszej intensywności wzrostu bakterii, co oszacowano poprzez pomiar zmętnienia OD (Tabela 21).

Tab. 21. *Maksymalne zmętnienie (OD 620) otrzymane dla różnych konsorcjów z zastosowaniem różnych źródeł fosforu*

Konsorcjum	**OD_{max}**					
	Ości 300%	**Ości i popiół 150%/150%**	**Kości 300%**	**Kości i popiół 150%/150%**	**Ości i popiół 100%/200%**	**Popiół 300%**
TMSC	8,8	8,49	8,72	2,05	5,79	4,49
TMS	5,45	5,57	2,31	2,03	2,81	3,71
TMC	9,44	8,78	8,99	6,49	5,95	5,88
MSC	10,3	10,1	4,57	2,50	5,98	4,38
TSC	9,70	9,39	2,42	2,19	4,45	4,29
TM	5,92	7,38	7,28	5,97	5,06	5,09
TS	4,65	4,56	2,01	2,01	2,34	2,10
TC	11,8	9,28	8,02	3,15	5,77	4,71
MC	17,3	8,63	8,14	6,18	6,73	5,00
MS	10,2	8,14	2,07	1,77	2,23	3,27
SC	9,11	8,28	2,48	1,84	6,04	2,75

Po analizie uzyskanych wyników dokonano wyboru najlepszego konsorcjum, które składało się z 2 szczepów: *B. cereus* oraz *B. thuringiensis*. Połączenie wybranych szczepów skutkowało najwyższym stężeniem fosforanów w pożywce hodowlanej, największym współczynnikiem solubilizacji SF oraz największym zmętnieniem OD, świadczącym o szybkim komórek bakteryjnych. Wybrane konsorcjum wytypowano do produkcji aplikacyjnej partii nawozów, czego dokonano przy użyciu bioreaktora o pojemności 5 dm^3.

4.2.3 Właściwości fizykochemiczne bionawozu fosforowego

Podstawowe parametry uzyskanego bionawozu przedstawiono w Tabeli 22.

Tab. 22. *Właściwości fizykochemiczne bionawozu fosforowego metodą solubilizacji mikrobiologicznej*

Oznaczany parametr	Jednostka	Nawóz (metoda solubilizacji mikrobiologicznej)	
		Wartość	Niepewność, ± (dla k=2)
N	%	0,13	0,03
$P_2O_5^{total}$	%	0,54	0,11
$P_2O_5^{woda}$	%	0,22	0,04
$P_2O_5^{cytrynian}$	%	0,54	0,11
K_2O	%	0,032	0,005
CaO	%	0,48	0,10
Cr	mg/dm^3	2,7	0,4
Cu	mg/dm^3	11	2
Fe	mg/dm^3	1633	327
Mn	mg/dm^3	15	3
Zn	mg/dm^3	54	8
Cd	mg/dm^3	<LOD (<0,18)	-
Pb	mg/dm^3	8,9	1,3
$P_2O_5^{max}$	g/dm^3	5,4	-
$Cd/P_2O_5^{total}$	-	0	-
pH	-	6,50	0,32
Gęstość	g/cm^3	0,96	0,05
Lepkość dynamiczna	Pa*s	$1,14*10^{-3}$	-
Lepkość kinetyczna	cm^2*s^{-1}	$1,19*10^{-3}$	-
Stężenie mikroorganizmów	jtk	$1,1*10^8$	-
Stabilność		Stabilny	

Uzyskany bionawóz spełniał wszystkie wymagania jakościowe stawiane nawozom płynnym przez Ustawę o nawozach i nawożeniu. Całość zawartego w bionawozie fosforu jest dostępna w obojętnym cytrynianie amonu, co przekłada się na jego wysoką przyswajalność. Ponadto otrzymany nawóz korzystnie zawiera wysokie poziomy mikroelementów, szczególnie żelaza (0,16%). Odczyn zbliżony do neutralnego pozwala na stosowanie bezpośrednio na

rośliny, a lepkość dynamiczna i kinetyczna zbliżona do lepkości wody przekłada się na brak problemów technicznych podczas aplikacji. Uzyskana formulacja odznaczała się wysoką stabilnością, związaną z brakiem synerezy. Wartością dodaną wyróżniającą preparat jest bardzo niska zawartość kadmu, co wpisuje się w bieżące trendy zmierzające do obniżenia dopuszczalnych limitów tego pierwiastka w nawozach. Udowadnia to, że wtórne surowce odpadowe są wartościowym materiałem do produkcji agrochemikaliów, a ich odpowiednia waloryzacja umożliwia ich wykorzystanie na skalę przemysłową.

Waloryzację materiałów odpadowych można prowadzić przy wykorzystaniu bakterii i grzybów, czyli solubilizacji mikrobiologicznej. W procesie tym wykorzystywana jest zdolność mikroorganizmów do produkcji wtórnych metabolitów, głównie słabych kwasów organicznych oraz mineralnych, ale również enzymów (Saeid, 2019). Dane literaturowe wskazują przede wszystkim na potencjał bakterii z rodzaju *Bacillus*, *Acidithiobacillus* oraz *Pseudomonas* (Jayawardhane i Yapa, 2018; Matias i in., 2019; Prakash i Arora, 2019). Potencjał tych bakterii wykorzystywany w solubilizacji surowców fosforowych i produkcji płynnych nawozów na ich bazie. Kolonie bakterii zaszczepione w bulionie hodowlanym poddane są stresowi w postaci braku fosforu w pożywce. Tym sposobem mikroorganizmy roztwarzają surowce i powodują ekstrakcję z materiałów odpadowych (kości, popioły) fosforanu, który jest niezbędny do ich wzrostu i namnażania (Rolewicz i in., 2018; Semerci i in., 2019). Działanie mikroorganizmów prowadzi przede wszystkim do zwiększania biodostępności fosforu. Roztwór po mikrobiologicznej solubilizacji może być bezpośrednio stosowany jako nawóz płynny lub ciecz granulacyjna, bez potrzeby usuwania kolonii bakteryjnych, które pełnią dodatkową funkcję bio-nawozu. Dzięki temu uzyskuje się zaszczepienie kolonii bakteryjnych w glebie, co prowadzi do ich dalszego wzrostu (w sprzyjających warunkach) i zwiększania dostępności kolejnych porcji fosforu, które są zakumulowane w glebie w postaci słabo-rozpuszczalnych związków. Bakterie wspomagają również proces mineralizacji materii organicznej, wprowadzanej do gleby np. w postaci nawozów organicznych lub mineralno-organicznych (Kalayu, 2019).

4.2.4 Testy kiełkowania

Ocenę fitotoksyczności oraz skuteczności biologicznej w pierwszej fazie wzrostu roślin zweryfikowano w testach kiełkowania wykorzystując rzodkiewkę (*Raphanus sativus*) jako roślinę modelową. Nasiona pochodzące z firmy Torseed – Przedsiębiorstwo Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa S.A. podano przed badaniem stratyfikacji zimnej przez 72h, zgodnie z zaleceniami ISTA (*International Seed Testing Association*).

Dobór dawki

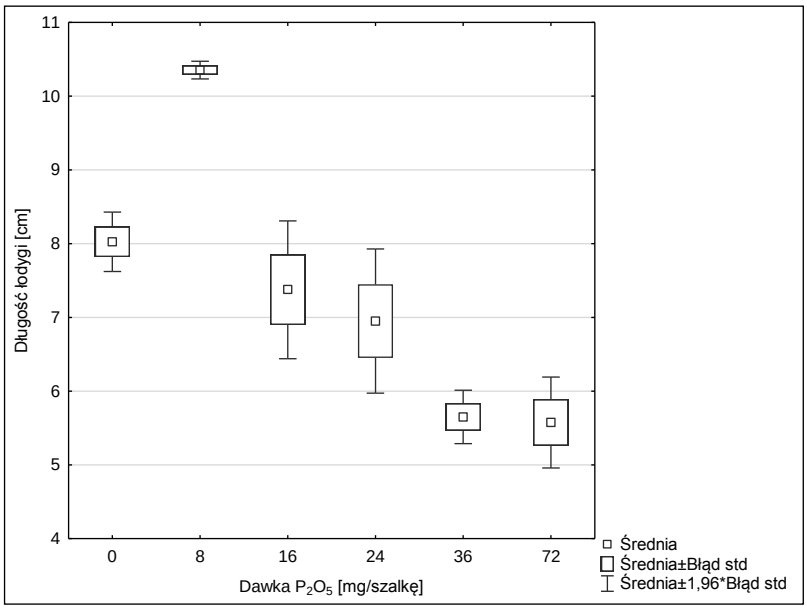
Ocenę fitotoksyczności poprzedzono przyśpieszonym, 7-dniowym doświadczeniem celem dobrania odpowiedniej dawki P_2O_5 do stosowanej rośliny modelowej. Badanie opierało się na 6 grupach badawczych zróżnicowanych pod względem dawki fosforu (0, 8, 16, 24, 36, 72 mg P_2O_5/ szalkę), każda w 4 powtórzeniach, nawożonych preparatem referncyjnym Hydrocote 13:13:13 (Yara Polska). Po 7 dniach doświadczenie zakończono i dokonano analizy biometrycznej siewek rzodkiewki, oceniając następujące parametry: długość roślin, liczbę wykiełkowanych nasion, świeżą i suchą masę oraz zawartość chlorofilu. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, pozwalającej na jednoznaczne określenie optymalnej dawki dla wybranej rośliny modelowej. Wyniki zestawiono w Tabeli 23.

Tab. 23. *Wyniki testów kiełkowania dla doboru dawki nawozu (N=4)*

Dawka P_2O_5 [mg/szalkę]	**Długość łodygi [cm]**		**Długość korzenia [cm]**		**Zawartość chlorofilu**		**Świeża masa [g]**	
	$\bar{x}$	**±SD**	$\bar{x}$	**±SD**	$\bar{x}$	**±SD**	$\bar{x}$	**±SD**
0	$8{,}0^{abc}$	0,4	$6{,}1^{a}$	0,2	$35{,}3^{a}$	1,6	$3{,}75^{ab}$	0,62
8	$10{,}4^{adefg}$	0,1	$6{,}3^{b}$	0,4	$45{,}0^{abcd}$	2,6	$4{,}52^{cdef}$	0,67
16	$7{,}4^{dhi}$	0,8	5,5	0,8	$37{,}6^{b}$	1,7	$3{,}26^{fg}$	0,26
24	$7{,}0^{e}$	0,9	$5{,}6^{c}$	0,4	39,6	1,7	$3{,}03^{cgh}$	0,58
36	$5{,}7^{bfh}$	0,3	$4{,}5^{abc}$	0,3	$35{,}4^{c}$	2,5	$2{,}43^{ad}$	0,13
72	$5{,}6^{cgi}$	0,5	5,2	0,3	$36{,}4^{d}$	2,7	$1{,}58^{begh}$	0,27
Dawka P_2O_5 [mg/szalkę]	**Sucha masa [g]**		**% suchej masy [%]**		**% wykiełkowanych nasion [%]**		**Średnia masa kiełka [g]**	
	$\bar{x}$	**±SD**	$\bar{x}$	**±SD**	$\bar{x}$	**±SD**	$\bar{x}$	**±SD**
0	$0{,}194^{a}$	0,023	$5{,}21^{a}$	0,30	79^{a}	9,1	$0{,}189^{ab}$	0,010
8	$0{,}250^{bcde}$	0,037	5,54	0,03	79^{b}	6,6	$0{,}228^{abcdef}$	0,020
16	$0{,}154^{b}$	0,033	$4{,}69^{b}$	0,77	81^{c}	10,7	$0{,}162^{cg}$	0,010
24	$0{,}151^{c}$	0,028	4,98c	0,13	69^{5}	9,1	$0{,}175^{dh}$	0,010
36	$0{,}137^{d}$	0,013	5,65	0,32	58^{d}	2,0	$0{,}167^{ei}$	0,005
72	$0{,}099^{ae}$	0,015	$6{,}31^{abc}$	0,13	50^{abc}	10,4	$0{,}127^{bfghi}$	0,008

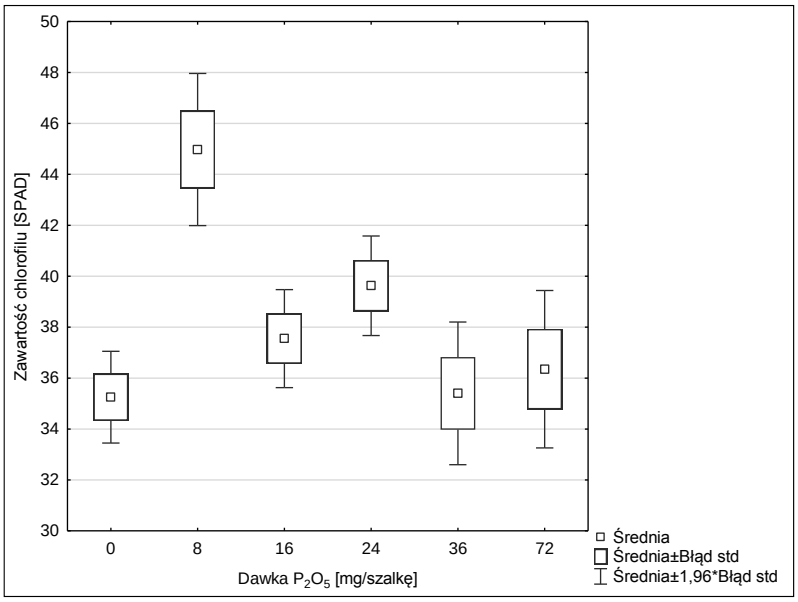
**wyniki oznaczone tą samą literą w wierszu różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym $p<0{,}05$

Ocena biometryczna i analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała, że optymalna dawka dla rzodkiewki wynosi 8 mg P_2O_5/szalkę. Obiekt nawożony taką dawką wykazał największe wartości prawie wszystkich mierzonych wartości (z wyjątkiem procentowej zawartości suchej masy oraz ilości wykiełkowanych nasion). Należy zauważyć, że w większości parametrów uzyskane wyniki różniły się w sposób statystycznie istotny od pozostałych grup. Wybrane parametry przedstawiono na Rysunkach 13-16, w postaci wykresów typu ramka-wąsy, celem lepszego zobrazowania wyników.



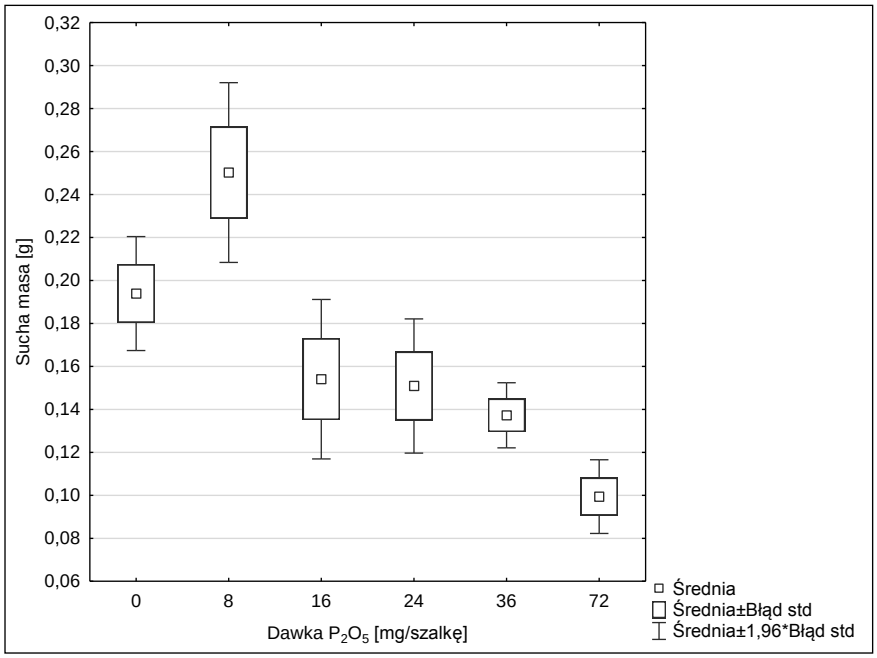
Rys. 13. *Wykres zależności długości łodygi od zastosowanej dawki nawozu*

Najwyższą średnią długość łodygi (Rys. 13) uzyskano dla dawki 8 mg P_2O_5/szalkę. Wartośc ta jest statystycznie istotna w porównaniu do wszystkich grup. Najniższa wartość mierzonego parametru przypadła dla dawki 72 mg P_2O_5/szalkę. Może to świadczyć o efekcie fitotoksyczności.



Rys. 14. *Wykres zależności zawartości chlorofilu od zastosowanej dawki nawozu*

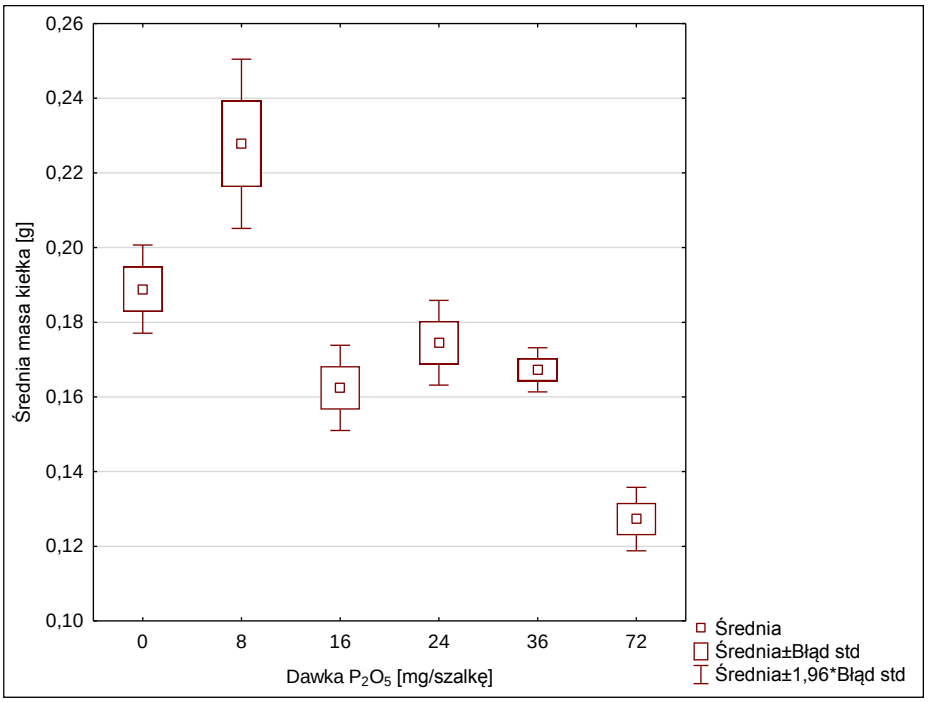
Na Rys. 14 przedstawiono różnice zawartości chlorofilu pomiędzy grupami o różnej dawce nawozu. Najwyższą zawartość chlorofilu uzyskano dla dawki 8 mg P_2O_5/szalkę i wynik ten był statystycznie istotny wobec wszystkich grup z wyłączeniem grupy nawożonej dawką 36 mg P_2O_5/szalkę.



Rys. 15. *Wykres zależności suchej masy siewek od zastosowanej dawki nawozu*

Również zawartość suchej masy osiągnęła największą wartość w grupie nawożonej dawką 8 mg P_2O_5/szalkę (Rys. 15). Wynik ten jest statystycznie istotny, podobnie jak w

przypadku świeżej masy, względem wszystkich grup oprócz grupy kontrolnej. Ponownie świadczy to o efekcie fitotoksyczności przy wyższych dawkach P_2O_5.



Rys. 16. *Wykres zależności średniej świeżej masy siewki od zastosowanej dawki nawozu*

Najwyższą średnia masę odnotowano dla grupy nawożonej nawozem w dawce 8 mg P_2O_5/szalkę (Rys 16). Różnice pomiędzy dawką 8 mg P_2O_5/szalkę a pozostałymi dawkami wahają się od 21% w przypadku grupy kontrolnej aż do 55% w przypadku grupy nawożonej dawką 72 mg P_2O_5/szalkę.

Właściwe testy kiełkowania

Właściwe testy kiełkowania (Rys 17-18) prowadzono przez 14 dni, na wybranej roślinie modelowej oraz wyznaczonej doświadczalnie dawce P_2O_5. W badaniu wyodrębniono 7 grup badawczych (każda w 4 powtórzeniach): ujemną kontrolną bez nawożenia (1), kontrolną z pożywką hodowlaną bez bakterii (2), kontrolną z pożywką z bakteriami (3), grupa kontrolna z bakteriami (mikroorganizmy wyizolowane z pożywki hodowlanej i zawieszone w wodzie) (4), nawożoną bionawozem (solubilizat mikrobiologiczny) (5), z nasionami zaprawianymi solubilizatem mikrobiologicznym (6) oraz grupę nawożoną nawozem komercyjnym Hydrocote 13:13:13 (Yara Poland). Po dwóch tygodniach badanie zakończono, a uzyskane kiełki poddano ocenie biometrycznej dokonując pomiaru długości roślin, liczby wykiełkowanych nasion, świeżej i suchej masy oraz zawartości chlorofilu. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej i zestawiono w Tabeli 24.

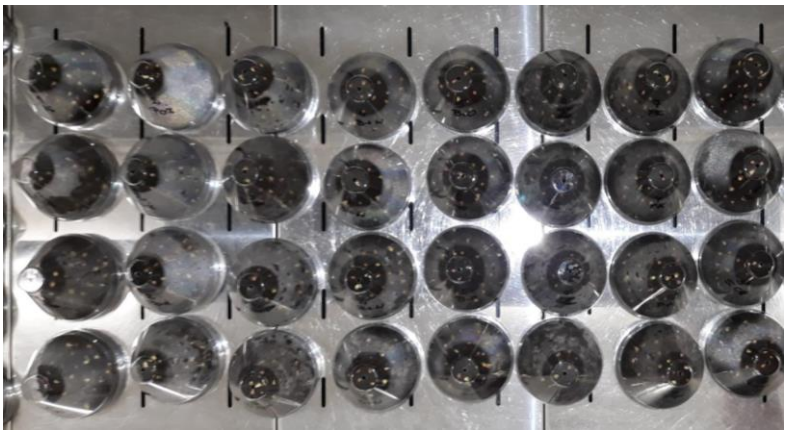
***Tab. 24**. Wyniki właściwych testów kiełkowania (N=4)*

Grupa	Długość łodygi [cm]		Długość korzenia [cm]		Zawartość chlorofilu		Świeża masa [g]	
	$\bar{x}$	±SD	$\bar{x}$	±SD	$\bar{x}$	±SD	$\bar{x}$	±SD
1	$7,5^{abc}$	0,4	$4,1^{abcde}$	0,1	$41,5^{abcde}$	1,2	$4,19^{abcd}$	0,10
2	7,7	0,2	$4,6^{afgh}$	0,2	$37,6^{afghi}$	1,5	$3,53^{aefgh}$	0,11
3	7,8	0,2	$4,7^{b}$	0,2	$37,8^{bjklm}$	1,3	$3,67^{bijkl}$	0,11
4	$8,8^{a}$	0,3	$5,5^{cf}$	0,2	$51,1^{cfjn}$	1,4	$4,09^{eimn}$	0,26
5	$9,6^{b}$	0,2	$5,1^{dg}$	0,2	$51,5^{dgko}$	0,9	$4,76^{cfjmo}$	0,18
6	6,9	0,4	$6,0^{eh}$	0,2	$50,8^{ehlp}$	1,5	$2,28^{dgknop}$	0,06
7	$8,6^{c}$	0,3	4,5	0,2	$41,8^{imnop}$	1,5	$4,45^{hlp}$	0,14

Grupa*	Sucha masa [g]		% suchej masy [%]		% wykiełkowanych nasion [%]		Średnia masa kiełka [g]	
	$\bar{x}$	±SD	$\bar{x}$	±SD	$\bar{x}$	±SD	$\bar{x}$	±SD
1	$0,229^{abcde}$	0,004	$5,29^{ab}$	0,22	89^{a}	7,7	$0,196^{ab}$	0,013
2	$0,192^{afgh}$	0,009	$5,45^{c}$	0,25	78	4,5	$0,181^{cd}$	0,007
3	$0,217^{fijk}$	0,004	$5,93^{ade}$	0,19	88^{b}	7,5	$0,168^{e}$	0,015
4	$0,206^{blm}$	0,009	$5,03^{dfg}$	0,19	83	5,9	$0,197^{fg}$	0,006
5	$0,280^{cgilno}$	0,011	$5,88^{fh}$	0,26	81	7,7	$0,237^{acef}$	0,026
6	$0,127^{dhjnp}$	0,006	$5,56^{i}$	0,15	69^{abc}	3,3	$0,133^{bdgh}$	0,007
7	$0,186^{ekop}$	0,013	$4,37^{bceghi}$	0,29	86^{c}	4,5	$0,198^{h}$	0,011

**wyniki oznaczone tą samą literą w wierszu różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym $p<0,05$

1 - grupa kontrolna, 2 – pożywka, 3 - bakterie + pożywka, 4 - bakterie + woda, 5 – bionawóz, 6 – zaprawianie nasion, 7 – nawóz komercyjny



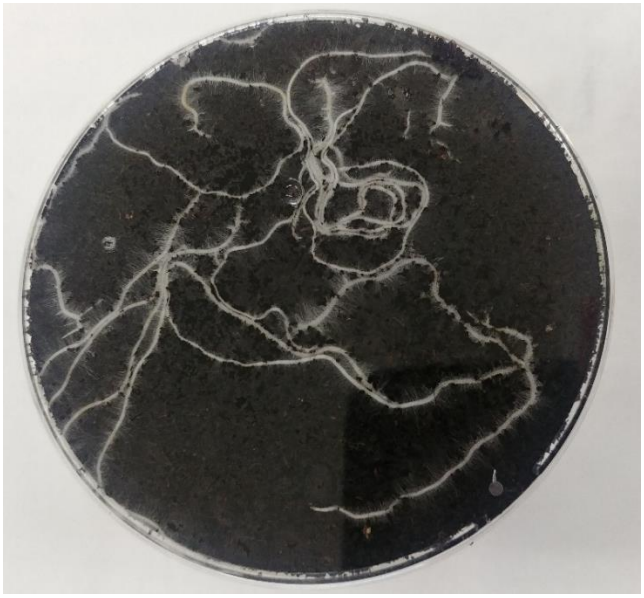
Rys. 17. *Testy kiełkowania w 1 dniu*

Rys. 18. *Testy kiełkowania w 14 dniu*

Wyniki odniesiono do grupy kontrolnej (brak nawożenia) oraz do grupy nawożonej preparatem komercyjnym. Dodatkowo zastosowano grupy odniesienia, w których przy braku nawożenia zastosowano preparaty mikrobiologiczne oraz pożywkę, dla sprawdzenia efektu działania pożywki, w której prowadzono proces solubilizacji mikrobiologicznej oraz wpływu samych mikroorganizmów na uwalnianie puli niedostępnego fosforu obecnego w glebie. Zbadano również wpływ zaprawiania nasion bionawozem zawierającym zarówno fosfor jak i mikroorganizmy.

Analiza statystyczna wyników wykazała różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami, co wynika z zastosowania różnych preparatów. Preparaty zawierające mikroflorę znacznie wpływają na długość korzenia. Szczególnie widać to w przypadku grupy, której nasiona były zaprawiane bionawozem. Ta grupa osiągnęła najwyższe wartości tego parametru, które były różniły się w sposób istotny od pozostałych obiektów. Widać wyraźny efekt działania mikroorganizmów jako biostymulatora wzrostu roślin, wpływającego korzystnie na wzrost korzeni. W grupie z zaprawianymi nasionami nastąpił wzrost długości korzenia o 33 %, w przypadku bionawozu o 13 %, a w przypadku zastosowania zawiesiny bakterii w wodzie o

22 % względem grupy, w której zastosowano nawóz referencyjny. Różnice te jednak nie były statystycznie istotne. **Wskazuje to na rekomendowany sposób aplikacji preparatu – w formie zaprawy donasiennej. Szczególnie zalecanej w przypadku suszy i gleb ubogich w składniki nawozowe oraz w uprawie roślin, których plonem jest korzeń (np. buraki, rzodkiewki, marchew).** Zaobserwowano również znacznie większą ilość włośników, co przedstawiono na Rys. 19. Zaprawianie nasion wpłynęło niekorzystnie na procent wykiełkowanych nasion, gdzie odnotowano najniższą wartość.



Rys. 19. *System korzeniowy roślin Grupy 6 – nasiona zaprawiane bionawozem*

Największą długość łodygi 9,6 cm odnotowano w grupie z bionawozem, następnie bakteriami zawieszonymi w wodzie (8,8 cm). Średnie w tych grupach były odpowiednio o 12 % i 2 % wyższe niż w nawozie komercyjnym (8,6 cm). Statystycznie istotne róznice uzyskano pomiędzy długością łodygi z grupy kontrolnej (gr. 1) a długościami dla roślin nawożonych bionawozem (gr. 5) i roślinami nawożonymi bakteriami zawieszonymi w wodzie (gr. 4)

Długość łodygi znacząco przełożyła się na świeżą i suchą masę oraz średnią masę kiełka. Świeża masa roślin była największa w przypadku zastosowania bionawozu (gr 5) – czyli zawiesiny bakterii w roztworze zawierającym zestaw składników nawozowych, jak w nawozie referencyjnym. **Świeża masa była o 7 % większa niż w nawozie komercyjnym. Wartość ta stanowi efekt biostymulacyjny bionawozu.** W przypadku suchej masy roślin efekt był podobny jak dla świeżej masy roślin. **Większą suchą masę roślin względem nawozu komercyjnego odnotowano w grupie z bionawozem (50 % większa, $p<0,05$)**, z bakteriami zawieszonymi w wodzie (11 % większa, $p<0,05$), z bakteriami w pożywce (36% ($p<0,05$)). Różnice statystycznie istotne odnotowano pomiędzy bionawozem a wszystkimi pozostałymi

grupami, podobnie w przypadku grupy 6 (nasiona zaprawiane), gdzie odnotowano najniższą wartość, która była statystycznie istotnie mniejsza w odniesieniu do reszty. Nawożenie bionawozem dało najlepsze rezultaty również w przypadku średniej masy kiełek. Wyniki była wyższe od preparatu komercyjnego, jednak nie zaobserwowano różnic statystycznie istotnych pomiędzy tymi grupami. Zwiększenie średniej masy kiełka jest również jednym z efektów korzystnego działania preparatów zawierających żywą mikroflorę na wzrost roślin. **W wyniku zastosowania bionawozu nastąpił 20 % wzrost średniej masy kiełka względem nawozu referencyjnego**.

Zawartość chlorofilu związana jest z efektem biostymulacyjny mikroorganizmów obecnych w bionawozie. Grupy z zaprawianymi nasionami, zawierające bakterie zawieszone w wodzie i w bionawozie wykazywały statystycznie istotnie wyższą zawartość chlorofilu, odpowiednio o 21,5 % (gr.6), 22,2 (gr. 4) 23,2 % (gr. 5) względem nawozu referencyjnego. **Widać wyraźnie korzystny wpływ zastosowania mikroorganizmów obecnych w bionawozie na zawartość chlorofilu. Jest to efekt biostymulacji, który powinien się przełożyć na większy plon masy zielonej roślin.**

W badaniach warto również zwrócić szczególną uwagę na grupę 3 i 4, którym to podano mikroorganizmy zawieszone odpowiednio w pożywce hodowlanej i wodzie. Grupa 4, w której bakterie zawieszone były w wodzie wykazuje wyższe wartości mierzonych parametrów. Prawdopodobnie wynika to ze stresu, któremu zostały poddane bakterie. W grupie 3 bakterie miały w swoim otoczeniu łatwo przyswajalne składniki pożywki, podczas gdy w grupie 4 bakterie zmuszone zostały do ich pozyskiwania z gleby. Dzięki temu też bakterie w grupie 4 uwolniły z puli makro- i mikroelementów zawartych w podłożu składniki niezbędne również dla roślin, co wpłynęło na ich większy wzrost.

Wpływ bakterii glebowych lub zaaplikowanych z nawozem lub biostymulatorem wzrostu na wzrost i rozwój roślin jest znany w literaturze i szeroko opisany. Przede wszystkim mikroorganizmy kolonizują korzenie, a tym samym zwiększają ich powierzchnie i wspomagają wzrost rośliny. Mikroorganizmy, również z gatunku *Bacillus* stanowią jednocześnie ochronę przed patogenami oraz szkodnikami (Mendis i in., 2018). Badania wykazują, że bakterie zwiększają siłę kiełkowania nasion uprzednio namaczanych w roztworze zawierającym bakterie, jak i również wpływają na wydajniejszy wzrost wzdłużny rośliny. Dowiedziono również, że bakterie z gatunku *Bacillus* wydajniej wspierają wegetację niż bakterie *Pseudomonas* (Widnyana i Javandira, 2016). Dane literaturowe wskazują, że efekt stymulujący wynika z indukcji wzrostu sideroforów, solubilizacji niedostępnej puli fosforu glebowego, jak

również pobudzenia roślin do syntezy kwasu indolilooctowego (IAA), będącego naturalnym hormonem roślinnym regulującym jej wzrost (Ribeiro i in., 2018).

4.2.5 Testy wazonowe

W konfiguracji analogicznej do właściwych testów kiełkowania przeprowadzono badania wazonowe (7 grup badawczych, każda w 4 powtórzeniach). Rośliny hodowano przez 25 dni, w warunkach komory fitotronowej z kontrolą światła, temperatury i wilgotności powietrza, przy zachowanym fotoperiodzie 12:12. Roślinę modelową stanowiła rzodkiewka (*Raphanus sativus*). Po upływie założonego czasu rośliny zebrano i poddano ocenie biometrycznej, a uzyskane wyniki analizie statystycznej (Tab. 25).

Tab. 25. *Wyniki testów wazonowych (N=4)*

Grupa	Długość części nadziemnej [cm]		Długość korzenia [cm]		Zawartość chlorofilu		Świeża masa [g]	
	$\overline{x}$	±SD	$\overline{x}$	±SD	$\overline{x}$	±SD	$\overline{x}$	±SD
1	$10{,}1^{ab}$	0,1	$8{,}5^{a}$	0,1	40,6	1,9	$11{,}7362^{abc}$	0,3250
2	$10{,}0^{cd}$	0,3	$8{,}0^{bcde}$	0,4	41,6	1,5	$11{,}1941^{defg}$	0,1957
3	$10{,}1^{ef}$	0,1	$8{,}8^{f}$	0,2	41,4	2,4	$12{,}6907^{d}$	0,2039
4	$10{,}3^{g}$	0,1	$9{,}3^{b}$	0,3	41,5	2,6	$12{,}4681^{hi}$	0,5777
5	$11{,}0^{acegh}$	0,2	$9{,}2^{c}$	0,1	42,1	2,5	$17{,}1102^{aehj}$	0,5708
6	$9{,}9^{hi}$	0,2	$9{,}6^{adf}$	0,6	37,8	1,6	$13{,}2641^{bfijk}$	0,4529
7	$10{,}7^{bdfi}$	0,2	$8{,}9^{e}$	0,3	41,6	1,1	$16{,}6895^{cgk}$	0,7558

Grupa	Sucha masa [g]		% suchej masy [%]		% wykiełkowanych nasion [%]		Średnia masa kiełka [g]	
	$\overline{x}$	±SD	$\overline{x}$	±SD	$\overline{x}$	±SD	$\overline{x}$	±SD
1	$1{,}0868^{abcde}$	0,0574	$9{,}27^{abc}$	0,50	82	4,5	$0{,}5738^{ab}$	0,0272
2	$1{,}0917^{fghij}$	0,0675	$9{,}75^{d}$	0,49	82	4,5	$0{,}5472^{cdef}$	0,0213
3	$1{,}2623^{afkl}$	0,0412	$9{,}95^{e}$	0,21	85	3,3	$0{,}5978^{gh}$	0,0172
4	$1{,}2653^{bgmn}$	0,0648	$10{,}15^{a}$	0,19	78	4,5	$0{,}6399^{cij}$	0,0127
5	$1{,}8621^{chkmo}$	0,0424	$10{,}89^{bdef}$	0,17	79	3,3	$0{,}8670^{adgik}$	0,0248
6	$1{,}3131^{diop}$	0,0457	$9{,}90^{f}$	0,12	82	4,5	$0{,}6481^{ekl}$	0,0241
7	$1{,}7296^{ejlnp}$	0,0555	$10{,}38^{c}$	0,37	80	6,3	$0{,}8383^{bfhjl}$	0,0577

**wyniki oznaczone tą samą literą w kolumnie różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym $p<0{,}05$

1 - grupa kontrolna, 2 – pożywka, 3 - bakterie + pożywka, 4 - bakterie + woda, 5 – bionawóz, 6 – zaprawianie nasion, 7 – nawóz komercyjny

Grupa nawożona bionawozem wykazała większy wzrost wzdłużny siewki rzodkiewki (o 3%) względem grupy nawożonej nawozem referencyjnym, choć różnica ta jest nieistotne statystycznie. Zarówno nawóz komercyjny jak i bionawóz różnią się w sposób statystycznie istotny względem grupy kontrolnej, grupy nawożonej pożywką, pożywką z bakteriami oraz w przypadku zaprawiania nasion.

Długość korzenia była zauważalnie większa w przypadku zastosowania mikroflory**. W grupie z zaprawianymi nasionami o 8 %, w grupie z bionawozem – o 3 %, a z zawiesiną bakterii w wodzie o 4 % wyższa względem nawozu komercyjnego.** Różnice te nie były istotne statystycznie.

W próbach wazonowych, zawartość chlorofilu tylko nieznacznie i nieistotnie statystycznie była wyższa w próbach z mikroorganizmami niż w nawozie komercyjnym (o 1,2 % wyższa w grupie z bionawozem). W grupie z zaprawionymi nasionami była istotnie niższa - w tej grupie odnotowano jednak biostymulację wzrostu części korzeniowej roślin. **Należy jednak zwrócić uwagę na porównywalną zawartość chlorofilu w grupie z bakteriami bez obecności składników nawozowych. Prawdopodobnie, dzięki obecność bakterii solubilizacyjnych, nastąpiło zwiększenie biodostępności składników nawozowych obecnych w glebie. Być może dzięki odpowiedniemu skomponowaniu szczepionek bakteryjnych, możliwe będzie ograniczenie dawek nawozowych.**

Świeża masa roślin była najwyższa w grupie, w której zastosowano bionawóz. W porównaniu z produktem referencyjnym odnotowano wzrost o 2,4 %, aczkolwiek różnica ta nie jest statystycznie istotna. Obie grupy badawcze wykazały jednak różnice istotnie statystyczne względem pozostałych grup. Najniższą wartość świeżej masy odnotowano w przypadku nawożenia pożywką.

Podobnie jak w przypadku świeżej masy, najwyższą wartość suchej masy odnotowano w przypadku nawożenia bionawozem oraz nawozem komercyjnym. Różnice te były istotne statystycznie względem pozostałych grup. **Najwyższą wartość suchej masy odnotowano dla grupy nawożonej bionawozem. Wartość ta była wyższa o 7,7% wyższa niż w grupie nawożonej nawozem komercyjnym.** Należy jednak zaznaczyć, że różnice pomiędzy tymi grupami nie były statystycznie istotne.

Parametr suchej masy rośliny najwyższą wartość osiągnął w przypadku grupy nawożonej bionawozem, a jego różnice w jego wartościach były statystycznie istotne względem grupy kontrolnej, grupy nawożonej pożywką i bakteriami zawieszonymi w pożywce oraz w przypadku zaprawy nasion. **Grupa nawożona bionawozem wykazała 4,9% wzrostu**

wartości suchej masy w porównaniu do grupy nawożonej preparatem komercyjnym. Różnice te nie były istotne statystycznie.

Ilość wykiełkowanych nasion była zbliżona we wszystkich grupach i choć różnice pomiędzy grupami są widoczne, to nie są one znamienia statystycznej istotności. Parametr ten osiągnął najwyższą wartość w przypadku nasion nawożonych bakteriami zawieszonymi w pożywce.

Średnia świeża masa rośliny była najwyższa w grupie nawożonej bionawozem (o 3,4 %) względem produktu referencyjnego. Różnica ta nie była istotna statystycznie. Obie grupy odnotowały jednak różnice istotne statystycznie względem pozostałych grup badawczych.

4.2.6 Biodostępność fosforu

W celu oceny pełnej skuteczności bionawozu fosforowego oraz skutków wprowadzenia mikroorganizmów do gleby przed wysiewem nasion oraz po zbiorze siewek poddano analizie i oceniono zawartość poszczególnych frakcji fosforu: całkowitego, dostępnego w obojętnym cytrynianie amonu oraz rozpuszczalnego w wodzie. Wyniki badań zestawiono w Tabeli 26.

Tab. 26. *Frakcje fosforu w glebie przed i po badaniach wazonowych*

Grupa badawcza	P_2O_5 Total [mg/kg gleby]		P_2O_5 rozpuszczalna w cytrynianie [mg/kg gleby]		P_2O_5 rozpuszczalna w wodzie [mg/kg gleby]	
	Przed	*Po*	*Przed*	*Po*	*Przed*	*Po*
1	777,2	746,0	775,4	758,0	362,9	332,6
2	777,2	706,8	775,4	650,7	332,6	253,6
3	877,9	714,4	694,6	689,4	270,0	248,8
4	775,0	767,2	771,4	646,0	332,6	299,4
5	890,8	526,9	854,6	516,0	405,2	244,8
6	786,4	783,3	690,2	669,9	398,3	315,5
7	906,7	842,0	902,7	677,3	402,6	319,5

1 - grupa kontrolna, 2 – pożywka, 3 - bakterie + pożywka, 4 - bakterie + woda, 5 – bionawóz, 6 – zaprawianie nasion, 7 – nawóz komercyjny

Największy procentowy spadek całkowitej zawartości fosforu w glebie zaobserwowano w przypadku grupy nawożonej bionawozem. W tym przypadku nastąpił również największy spadek frakcji rozpuszczalnej w wodzie i obojętnym cytrynianie amonu. Wynika to z procesów biochemicznych zachodzących w glebie pod wpływem mikroorganizmów. Procesy metaboliczne bakterii spowodowały przekształcenie form fosforu z nieprzyswajalnych w przyswajalne, które następnie zostały pobrane przez roślinę. Należy zauważyć, że właśnie ta

grupa kontrolna zanotowała największy wzrost roślin. Najniższą zmianę całkowitego fosforu zanotowano w przypadku nasion zaprawianych bionawozem. W grupie tej odnotowano największy przyrost korzeni i zwiększenie powierzchni włośników.

Analizie poddano również zawartość fosforu w roślinie, którą następnie odniesiono do zawartości fosforu w glebie. Pozwoliło to na obliczenie współczynnika biodostępności fosforu TFP (wyznaczonego zgodnie z równaniem 4) , który obrazuje zachowanie fosforu w układzie gleba – roślina. Wyniki zestawiono w Tabeli 27.

Tab. 27. *Współczynnik biodostępności fosforu w glebie*

Grupa badawcza	Zawartość P w roślinach	TFP
	[g/kg s.m.]	[%]
1	8,298	23,20
2	8,616	24,20
3	8,339	23,98
4	7,635	24,93
5	8,496	**35,51**
6	8,467	28,27
7	8,600	32,81

1 - grupa kontrolna, 2 – pożywka, 3 - bakterie + pożywka, 4 - bakterie + woda, 5 – bionawóz, 6 – zaprawianie nasion, 7 – nawóz komercyjny

W trakcie 25 dniowych badań wazonowych najwięcej fosforu zostało pobrane przez grupę nawożoną bionawozem, co przekłada się na największy współczynnik biodostępności. Związane jest to biodostępnością fosforu, wykazaną w testach ekstrakcyjnych gleby. Lepsza biodostępność P_2O_5 w bionawozach pozwala na redukcję ich dawki, przy zachowaniu wysokiego plonu.

4.3 Technologia nawozów wieloskładnikowych metodą hydrolizy kwasowej

4.3.1 Właściwości fizykochemiczne nawozu

Otrzymany nawóz będący zneutralizowanym hydrolizatem kwasowym poddano analizie wielopierwiastkowej metodami ICP-OES, termokonduktometrii (N, C) oraz AAS (Hg). Skład przedstawiono w Tabeli 28.

Tab. 28. *Właściwości fizykochemiczne nawozu wieloskładnikowego otrzymanego metodą hydrolizy*

Oznaczany parametr	Nawóz wieloskładnikowy	Nawóz wieloskładnikowy z mikroelementami
Makroelementy [%]		
N	2,12 ±0,32	2,12 ±0,32
C	7,15 ± 1,07	7,15 ± 1,07
P_2O_5	3,57 ± 0,53	3,57 ± 0,53
K_2O	5,37 ± 0,80	5,37 ± 0,80
CaO	0,10 ± 0,015	0,10 ± 0,015
MgO	0,03 ± 0,005	0,03 ± 0,005
SO_3	2,90 ± 0,44	2,90 ± 0,44
Mikroelementy [mg/kg]		
Cu	2,26 ± 0,33	**2000 ± 300**
Fe	158 ± 23,7	158 ± 23,7
Mn	3,91 ±0,58	**2000 ± 300**
Zn	25,2 ± 3,78	**2000 ± 300**
Metale ciężkie [mg/kg]		
As	<LOD (<9,5)	<LOD (<9,5)
Cd	<LOD (<0,18)	<LOD (<0,18)
Cr	<LOD (<0,05)	<LOD (<0,05)
Hg	<LOD (<0,001)	<LOD (<0,001)
Ni	<LOD (<1,12)	<LOD (<1,12)
Pb	<LOD (<0,82)	<LOD (<0,82)
Pozostałe właściwości		
pH	5,51 ±0,12	5,43 ± 0,11
Gęstość [g/cm^3]	1,02 ± 0,07	1,07 ± 0,06
Lepkość dynamiczna [Pa·s]	$1{,}22 \cdot 10^{-3}$	$1{,}27 \cdot 10^{-3}$
Lepkość kinetyczna [$cm^2 \cdot s^{-1}$]	$1{,}19 \cdot 10^{-3}$	$1{,}18 \cdot 10^{-3}$
Stabilność	Stabilny	Stabilny

Otrzymany nawóz poprzez hydrolizę odpadów zwierzęcych mieszaniną stężonych kwasów i neutralizację wodorotlenkiem potasu spełniał wszystkie wymogi jakościowe stawiane przez Ustawę o Nawozach i nawożeniu. Warto zauważyć, że zawartość wszystkich metali toksycznych była znacznie poniżej dopuszczalnych limitów. W związku z obecnością wolnych aminokwasów (Rozdział 4.3.2) przygotowano drugą formulację, która bazowała na zneutralizowanym hydrolizacie, ale wzbogacono ją w mikroelementy: Cu, Mn, Zn do poziomu

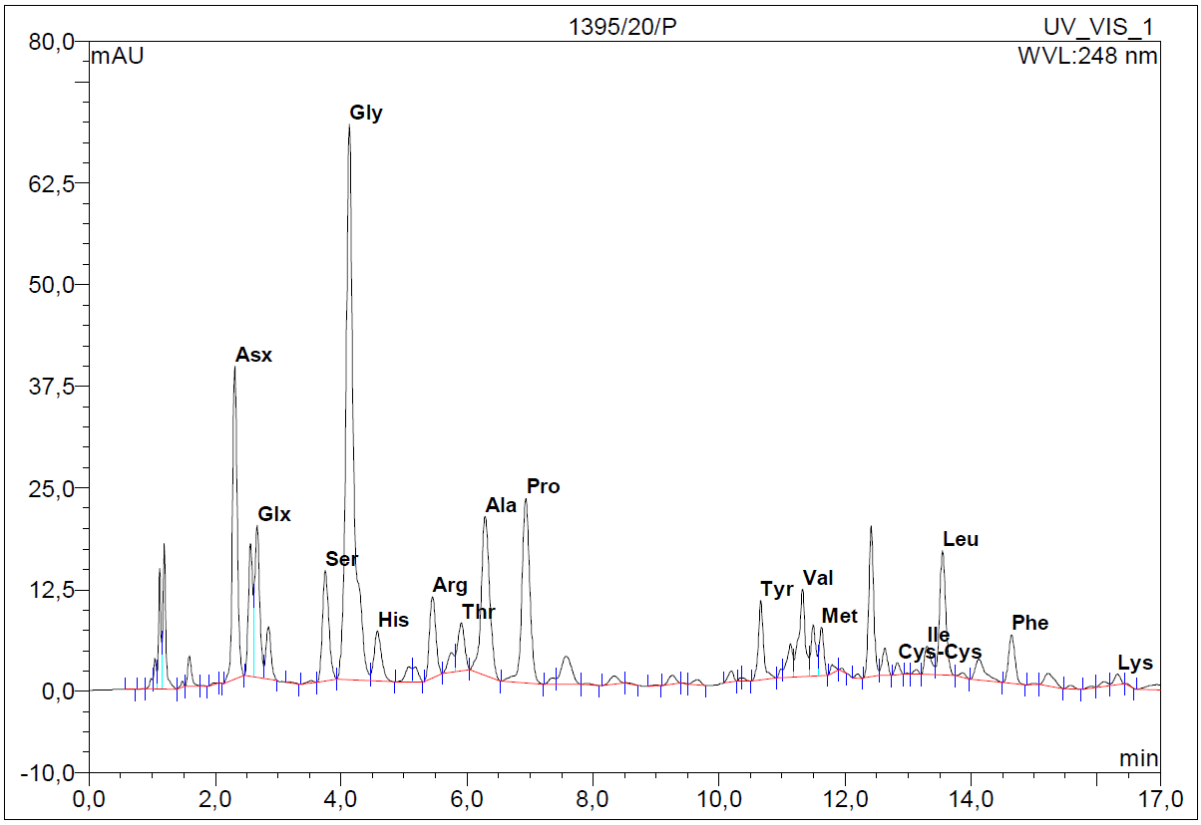
0,2%. Zabieg ten zastosowano celem próby podania roślinom mikroelementów w badaniach polowych i osiągnięcia wzbogacenia jadalnych części roślin (ziarna pszenicy). Wolne aminokwasy mogły pełnić rolę czynników chelatujących jony mikroelementów, przez co uległyby one łatwiejszemu pobraniu przez system korzeniowy roślin.

4.3.2 Zawartość aminokwasów

Analiza chromatograficzna próbki nawozu wykazała obecność wszystkich podstawowych aminokwasów budujących białka organizmów żywych. Chromatogram z badania przedstawiono na Rys. 20. Na podstawie pomiaru powierzchni piku określono zawartość poszczególnych aminokwasów, co zestawiono w Tabeli 29.

Tab. 29 *Zawartość aminokwasów w nawozie bazującym na odpadowej biomasie zwierzęcej*

Lp.	Aminokwas	Skrót	Czas retencji [s]	Powierzchnia piku [mAU·min]	Zawartość [pmol/ml]	Zawartość [mg/dm^3]
1	Asparagina i/lub kwas asparaginowy	Asx	2,31	3,308	581,125	518
2	Kwas glutaminowy i/lub glutamina	Glx	2,67	1,702	270,540	398
3	Seryna	Ser	3,75	1,578	247,654	260
4	Glicyna	Gly	4,13	9,771	1428,555	1072
5	Histydyna	His	4,58	0,837	135,653	210
6	Arginina	Arg	5,45	1,173	174,638	304
7	Tyrozyna	Thr	5,91	0,754	118,107	141
8	Alanina	Ala	6,29	3,041	392,782	350
9	Prolina	Pro	6,93	3,312	411,622	474
10	Tyrozyna	Tyr	10,66	0,941	128,293	323
11	Walina	Val	11,33	1,244	180,254	211
12	Metionina	Met	11,63	0,497	66,167	99
13	Cysteina	Cys	12,83	0,132	13,617	16,5
14	Izoleucyna	Ile	13,30	0,417	58,841	77,2
15	Leucyna	Leu	13,55	1,702	209,524	275
16	Fenyloalanina	Phe	14,65	0,695	100,316	166
17	Lizyna	Lys	16,33	0,152	12,176	17,8
				Suma	**4529,863**	**4822**



Rys. 20. *Chromatogram analizy zawartości aminokwasów*

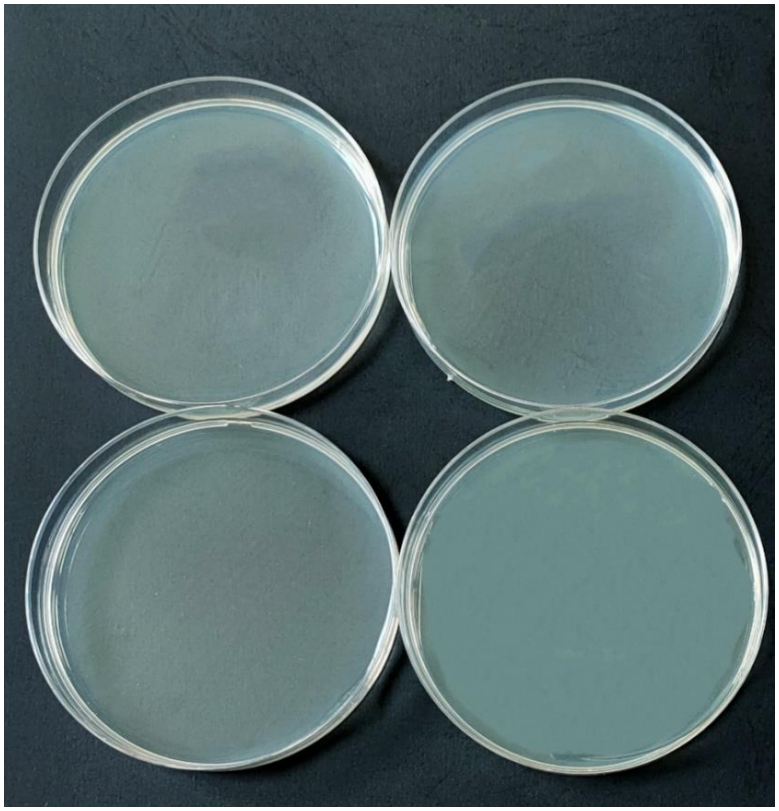
Sumaryczna zawartość aminokwasów w jednym mililitrze nawozu wynosi 4530 pikomoli co daje prawie 0,5%, z czego największy udział, wynoszący 31,5% ma glicyna. Aminokwasy odgrywają ważną rolę w żywieniu roślin. Wykazano, że glicyna i jej pochodna betaina wpływają stymulująco na wzrost liści (Mohammadipour i Souri, 2019) i ochronnie przeciw negatywnym skutkom przymrozków (Hayes i in., 2020), fenyloalanina wpływa pozytywnie na wzrost zawartości związków bioaktywnych (polifenoli, antocyjanów) (Portu i in., 2017) oraz plonowanie (Reham i in., 2016), glutamina promuje pobór pierwiastków biogennych oraz mikroelementów (Noroozlo i in., 2019), z kolei prolina redukuje stres związany z wysokim zasoleniem (Kahlaoui i in., 2018) i obecnością metali ciężkich (Zouari i in., 2016).

Fakt obecności aminokwasów w hydrolizatach bazujących na mięsie lub odpadach zwierzęcych jest znany z literatury. Głównie opisane są przypadki hydrolizy enzymatycznej, bazującej zarówno na enzymach trawiennych ludzkiego układu trawiennego np. trypsyna (Tan i in., 2018), jak i enzymach litycznych pochodzenia bakteryjnego, np. alkalaza z bakterii *Bacillus spp.* (Shi i in., 2019). Znane są również badania nad zastosowaniem hydrolizy kwasowej z wykorzystaniem kwasu siarkowego (VI), jako metody zagospodarowania odpadów

rzeźnych, w tym piór i skóry (Ben Hamad Bouhamed i Kechaou, 2017). Należy zaznaczyć, że obecność wolnych aminokwasów świadczy o tym, że w trakcie rozkładu odpadów zachodzi proces hydrolizy, a nie mineralizacji. W drugim przypadku, analiza chromatograficzna nie wykazałaby obecności aminokwasów, ponieważ warunki silnie kwasowe, zbyt wysoka temperatura lub źle dobrany stosunek odpadu do czynnika hydrolizującego mógłby spowodować całkowitą degradację związków organicznych pod wpływem kwasu siarkowego.

4.3.3 Czystość mikrobiologiczna

Hydrolizaty bazujące na odpadowej biomasie zwierząt – padłych zwierzętach, mogą być potencjalnymi nośnikami mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych. W celu wykazania czystości mikrobiologicznej, świadczącej o bezpieczeństwie nowego preparatu według zaproponowanej technologii, wykonano klasyczne mikrobiologiczne posiewy powierzchniowe. W związku z podejrzeniem, że możliwa jest obecność przetrwalników, posiewy przechowywano w cieplarce przez 5 dni, aby wywołać reaktywację potencjalnie obecnych przetrwalników bakterii. Uzyskane wyniki (Rys 21) świadczą o czystości mikrobiologicznej nawozów, ponieważ stwierdzono brak kolonii bakterii i grzybów w zneutralizowanym hydrolizacie, zarówno w formie żywej jak i endospor spoczynkowych.



Rys. 21. *Posiewy powierzchniowe hydrolizatu*

Brak obecności kolonii w posiewie mikroorganizmów świadczy zarówno o skuteczności metody hydrolizy kwasowej w zagospodarowaniu odpadów kategorii drugiej, które są potencjalnym zagrożeniem epidemiologicznym, jak również skuteczności kwasów i wodorotlenku potasu jako czynnika higienizującego. Zostało to również potwierdzone w literaturze, gdzie silne kwasy i alkalia wykazywały aktywność antymikrobiologiczną, co wykorzystano między innymi w przemyśle spożywczym i stomatologii (Sharma i in., 2018; Weinroth i in., 2019). Czystość mikrobiologiczna preparatu zapewnia bezpieczeństwo jego stosowania, co dodatkowo zwiększa wartość użytkową. Ponadto, powyższe badanie udowadnia, że zaproponowana metoda zagospodarowania odpadów kategorii drugiej jest konkurencyjną alternatywą dla powszechnie stosowanej utylizacji poprzez spopielenie, ponieważ mikroorganizmy chorobotwórcze ulegają lizie w silnie kwasowym środowisku.

4.3.4 Badania polowe

Skuteczność nawozów otrzymanych poprzez hydrolizę odpadów zwierzęcych zostały przeprowadzone w jednorocznych badaniach mikropoletkowych, w całym okresie wegetacyjnym pszenicy jarej (*Triticum aestivum*) odmiana Tybalt, w miejscowości Gułów, Dolnośląskie, Polska, w roku 2020. Badanie przeprowadzono w układzie losowych bloków, na glinie piaszczysto-gliniastej o pH 6,5. Wyznaczono 3 grupy badawcze: nawożona preparatem komercyjnym (Aminoplant) (1), nawożona zneutralizowanym hydrolizatem (2), nawożona zneutralizowanym hydrolizatem wzbogaconym w mikroelementy. Każda grupa badawcza składała się z czterech poletek o powierzchni 9 m^2. Przed wysiewem zastosowano Polifoskę 6 NPK(S) 6-20-30 oraz Salmag N(CaO, MgO) 27, oba w dawce 200 kg/ha.

W trakcie prowadzenia procesu stale monitorowano warunki meteorologiczne – temperatura, ilość opadów i wilgotność powietrza. Zastosowano również środki ochrony roślin (herbicyd i fungicyd).

Testowane preparaty zaaplikowano 5 czerwca 2020, przy bezwietrznej pogodzie, temperaturze 19,8 °C i wilgotności powietrza 39%. W dzień aplikacji 40% roślin znajdowało się w stadium rozwoju BBCH 39, a 60% w BBCH 41. Po osiągnięciu stadium BBCH 99 zebrano plon, który poddano ocenie ilościowej (Tab. 30) i jakościowej (Rozdział 4.3.5).

Tab. 30. *Plonowanie pszenicy*

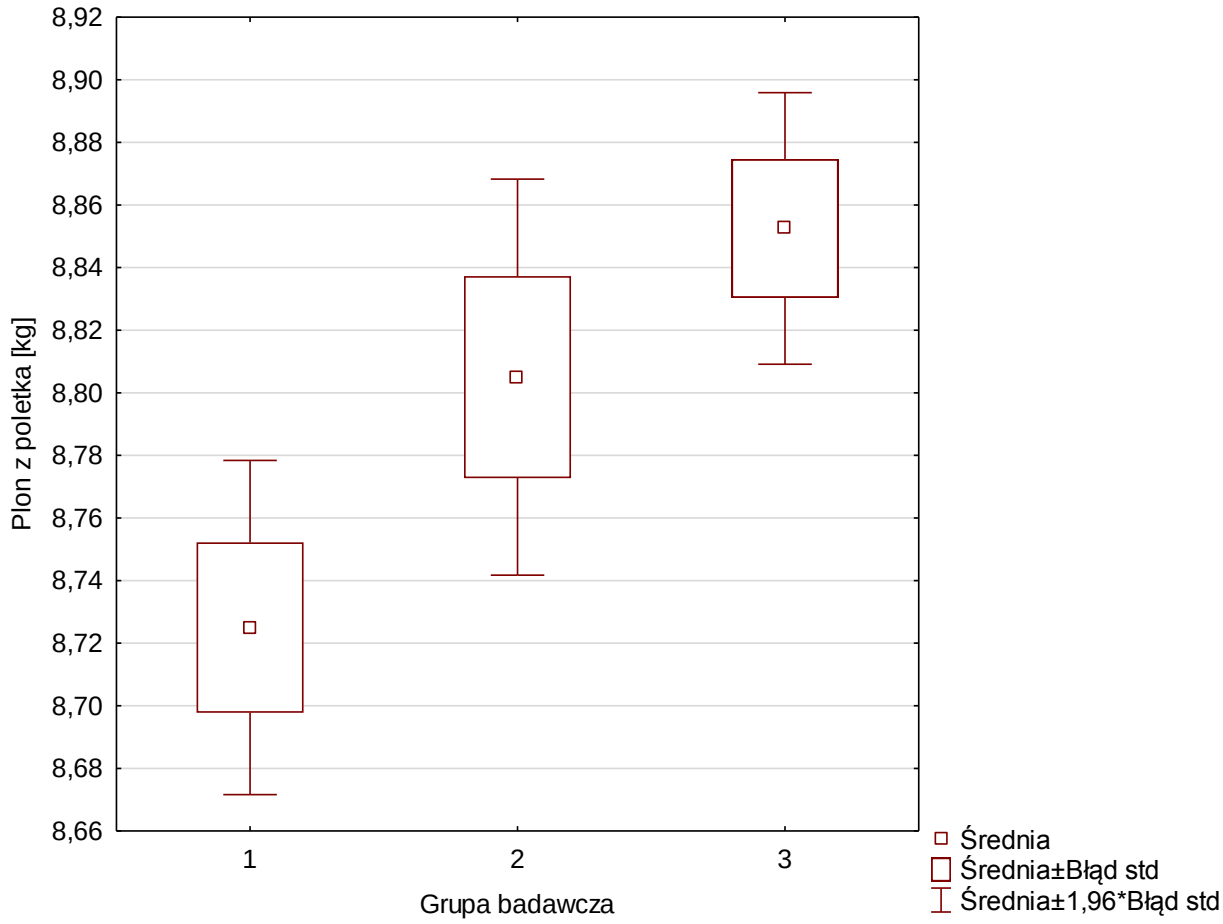
Lp.	Grupa badawcza	Poletko	Plon [kg/9m^2]	Plon [kg/ha]
1	**Preparat komercyjny**	**I**	8,68	9,64
		II	8,80	9,78
		III	8,69	9,66
		IV	8,73	9,70
		Średnia	**8,73** [a]	**9,69** [a]
2	**Zneutralizowany hydrolizat**	**I**	8,76	9,73
		II	8,82	9,80
		III	8,75	9,72
		IV	8,89	9,88
		Średnia	**8,81**	**9,78**
3	**Zneutralizowany hydrolizat wzbogacony w mikroelementy**	**I**	8,82	9,80
		II	8,81	9,79
		III	8,88	9,87
		IV	8,90	9,89
		Średnia	**8,85** [a]	**9,84** [a]

a,a-oznaczone tą samą literą w wierszu różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym p<0,05

1-preparat komercyjny, 2- zneutralizowany hydrolizat, 3- zneutralizowany hydrolizat z mikroelementami

Największy średni plon uzyskano dla grupy nawożonej preparatem otrzymanym zaproponowaną metodą i wzbogacenie w mikroelementy ważne z punktu widzenia odżywiania roślin, czyli Cu, Mn, Zn. Plony uzyskane w badaniu były znacznie wyższe względem danych literaturowych. El-Hendawy i in., 2019 w badaniach dwuletnich osiągnęli plony z zakresu 8,81 – 6,60 t/ha. Z kolei Klikocka i in., 2016 przy różnym dawkowaniu N i S wykazali plonowanie pszenicy jarej na poziomie 4,08 – 5,59 t/ha. Różnice te mogą wynikać z innej odmiany pszenicy, innego rodzaju i zasobności gleby uprawnej czy odmiennych warunków klimatyczno-meteorologicznych.

Uzyskane wyniki poddano również analizie statystycznej. Wykazano istnienie różnic istotnych statystycznie, co przedstawiono na Rys. 22.



Rys. 22. *Plonowanie pszenicy jarej – różnice pomiędzy grupami (1-preparat komercyjny, 2-zneutralizowany hydrolizat, 3- zneutralizowany hydrolizat z mikroelementami)*

Różnice zaobserwowano pomiędzy grupami badawczymi 1 i 3, gdzie odnotowano wzrost plonowania o 1,55% i różnice te były istotne statystyczne na poziomie $p<0,05$. Zwiększone plonowanie grupy 3 może wynikać z obecności w nawozie zarówno aminokwasów jak i mikroelementów. Efekt suplementacji pszenicy jarej mikroelementami znany jest z literatury. Aplikacja miedzi i cynku w fazie krzewienia i wzrostu pędu na długość (BBCH 20-39) w formie dolistnego oprysku zwiększa plonowanie pszenicy o 250kg z każdego hektara uprawy (Bobrenko i in., 2020). Wzrost plonowania pszenicy obserwowany jest również po dolistnej aplikacji aminokwasów, co zaobserwowano w badaniach El-Said i Mahdy, 2018. Aminokwasy stanowią gotowe bloki budulcowe, które po pobraniu przez roślinę mogą być bezpośrednio włączane w szlaki metaboliczne, co prowadzi do szybszego wzrostu. Oprócz zwiększonego plonowania, suplementacja aminokwasami prowadzi do wzrostu ilości kłosów, liści i odnóg, powierzchni liści, wysokości rośliny, ilości ziaren w kłosie oraz MTZ pszenicy jarej (El-Said i Mahdy, 2018).

4.3.5 Analiza ziarna

Analiza składu ziarna

Ziarno pszenicy jarej poddano mineralizacji mikrofalowej z użyciem stężonego kwasu azotowego (V) oraz analizie wielopierwiastkowej metodą ICP-OES, AAS (Hg) oraz TC (N). Wyniki analizy zestawiono w Tabeli 31.

Tab. 31. *Skład pierwiastkowy ziarna pszenicy jarej*

Lp.	Pierwiastek	Zawartość pierwiastków w ziarnie pszenicy w z grupy badawczej:		
		1	2	3
Makroelementy [%]				
1	N	2,58 ±0,39	2,57 ± 0,39	2,61 ± 0,39
2	P	0,36 ± 0,05	0,35 ± 0,05	0,35 ± 0,05
3	K	0,40 ± 0,06	0,039 ± 0,06	0,38 ± 0,05
4	S	0,16 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,03
5	Ca	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01
6	Mg	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,02
7	Na	0,03 ± 0,005	0,05 ± 0,007	0,06 ±0,009
Mikroelementy [mg/kg]				
8	Cu	4,29 ± 0,644 ^{a}	4,41 ± 0,662 ^{b}	5,63 ± 0,845 ^{ab}
9	Fe	69,8 ± 10,5 ^{a}	49,8 ± 7,47 ^{a}	51,1 ± 7,67
10	Mn	37,3 ± 5,60 ^{a}	39,8 ± 5,97	41,2 ±6,18 ^{a}
11	Mo	<LOD (<0,055)	<LOD (<0,055	<LOD (<0,055
12	Zn	27,1 ± 4,07 ^{a}	29,6 ± 4,45 ^{b}	36,3 ± 5,44 ^{ab}
Metale ciężkie [mg/kg]				
13	As	<LOD (<4,98)	<LOD (<4,98)	<LOD (<4,98)
14	Ba	<LOD (<0,02)	<LOD (<0,02)	<LOD (<0,02)
15	Cd	<LOD (<0,09)	<LOD (<0,09)	<LOD (<0,09)
16	Cr	<LOD (<0,025)	<LOD (<0,025)	<LOD (<0,025)
17	Hg	<LOD (<0,001)	<LOD (<0,001)	<LOD (<0,001)
18	Ni	<LOD (<0,56)	<LOD (<0,56)	<LOD (<0,56)
19	Pb	<LOD (<0,36)	<LOD (<0,36)	<LOD (<0,36)
Pozostałe [mg/kg]				
20	Al	3,09 ± 0,463	5,96 ± 0,894	3,64 ± 0,546

a,b-średnie oznaczone tą samą literą w wierszu różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym p<0,05

1-preparat komercyjny, 2- zneutralizowany hydrolizat, 3- zneutralizowany hydrolizat z mikroelementami

Analiza statystyczna zawartości pierwiastków nie wykazała różnic statystycznie istotnych pomiędzy zawartościami głównych pierwiastków budujących ziarno (Ca, K, Mg, N, Na, P, S) oraz al. weszystkich grupach badawczych. Poziomy wszystkich metali ciężkich były

mniejsze od limitu detekcji wykorzystywanych metod. Różnice istotne statystycznie wykazano pomiędzy zawartościami mikroelementów. Nawożenie nawozem otrzymanym na drodze zaproponowanej technologii i wzbogaconym w mikroelementy (grupa badawcza 3) wpłynęło na zwiększenie zawartości miedzi w ziarnie pszenicy jarej o 23,9 % względem grupy nawożonej preparatem komercyjnym (grupa 1) oraz o 21,7 % względem grupy 2 nawożonej nawozem niewzbogaconym w mikroelementy. Taką samą tendencję zaobserwowano dla cynku, osiągając wzrost zawartości w ziarnie o 25,3% oraz 18,5 %, odpowiednio względem grupy 1 i 2. Analiza statystyczna wykazała również istotną różnicę pomiędzy grupą 3 a 1 pod względem zawartości manganu, a wzrost ten wyniósł 9,4 %. Stosowanie komercyjnego preparatu skutkowało jednak zwiększoną zawartością żelaza w porównaniu do grupy nawożonej zneutralizowanym hydrolizatem niewzbogaconym w mikroelementy. Różnica ta wyniosła 28,6 %. Wzrost zawartości mikroelementów w jadalnych częściach roślin poprzez zabiegi agronomiczne jest szeroko opisane w literaturze. Osiąga się to m.in. poprzez zwiększone dawki nawozów mikroelementowych, zwiększanie biodostępności puli mikroelementów obecnych w glebie poprzez działanie mikroorganizmów, irygację czy stosowanie nawozów kompleksowych (Izydorczyk i in., 2021).

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość uzyskania efektu wzbogacenia jadalnych części roślin (ziarna) poprzez stosowanie nawozu z dodatkiem mikroelementów. Fakt, zwiększonej zawartości Cu, Mn i Zn w ziarnie wynika również z okresu aplikacji nawozu. BBCH 39 i BBCH 41 to przełom wzrostu źdźbła i początku tworzenia się kłosa. Wówczas metabolizm rośliny skierowany jest na wypełnianie ziarna, a więc większość produktów szlaków metabolicznych trafia do nasion, stad też można spodziewać się wzrostu zawartości mikroelementów w plonie. O tym, jak ważny wpływ na zawartość mikroelementów ma czas aplikacji nawozów pisali m.in. (Esfandiari i Abdoli, 2016). Racjonalna suplementacja roślin w mikroelementy w odpowiednich fazach ich wzrostu jest spójna z założeniami precyzyjnego i zrównoważonego rolnictwa. Ponadto stanowi prostą i skuteczną metodę agronomicznego zwalczania negatywnego zjawiska jakim jest tzw. „ukryty głód” (*ang. hidden hunger*) (Siddique i in., 2021).

Ocena właściwości piekarniczych

Ocenę właściwości piekarniczych wykonano dzięki uprzejmości przyzakładowego laboratorium należącego do Młynu Kurczakowscy S.A. Pomiary wykonano zgodnie z obowiązującymi normami. Wyniki zestawiono w Tabeli 32.

Tab. 32. *Ocena właściwości piekarniczych pszenicy jarej*

Lp.	Grupa badawcza	Gęstość nasypowa [g/dm^3]	Zawartość glutenu [%]	Gluten - index	Zawartość białka [%]	Zawartość Popiołu [%]	Liczba opadania [s]
1	Preparat komercyjny	761 ± 10	37,4 ± 1,71 ^{ab}	55,7 ± 2,07	15,3 ± 0,54 ^{a}	1,80 ± 0,12	381 ± 5 ^{ab}
2	Zneutralizowany hydrolizat	766 ± 9	36,9 ± 1,63 ^{bc}	56,3 ± 2,44	15,2 ± 0,44 ^{b}	1,82 ± 0,09	339 ± 4 ^{bc}
3	Zneutralizowany hydrolizat wzbogacony w mikroelementy	771 ± 12	38.1 ± 1,66 ^{ac}	55,7 ± 2,06	15,6 ± 0,59 ^{ab}	1,85 ± 0,11	312 ± 4 ^{ac}

a,b,c-średnie oznaczone tą samą literą w kolumnie różnią się między sobą na poziomie statystycznie istotnym $p<0,05$

Gęstość nasypowa uzyskanego plonu była typowa dla pszenicy jarej, która powinna mieścić się w zakresie 750 – 800 g/dm^3. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami badawczymi. Uzyskane wyniki korelowały również z danymi literaturowymi. Plon pszenicy uzyskany w badaniach Borkowska i Banach, 2018 charakteryzował się gęstością w stanie zsypnym rzędu 760 – 808 g/dm^3 (średnia 790 g/dm^3). Z kolei badanie przeprowadzone przez Taner i in., 2018 skutkowało osiągnięciem plonu pszenicy o gęstości nasypowej 773 g/dm^3. Należy jednak zaznaczyć, że gęstość nasypowa zależy od wielu parametrów, w tym morfologii ziarna, wilgotności, stopnia zanieczyszczenia (plewy, ziarna połamane) czy odmiany pszenicy. Z punktu widzenia piekarniczego, im większa gęstość w stanie zsypnym, tym większy wyciąg mąki z ziarna (Borkowska i Banach, 2018). Zależność ta obowiązuje jednak w przyjętym zakresie 750-800 g/dm^3, bowiem powyżej tego przedziału obserwuje się nadmierny udział ziarna połamanego, które wypełnia luki pomiędzy całymi ziarnami, zwiększając gęstość nasypową. Ziarno połamane, uznawane za zanieczyszczenie jest oddzielane w ciągu technologicznym otrzymywania mąki i najczęściej trafia do zbiornika z otrębami paszowymi.

Zawartość glutenu w ziarnie pszenicy jarej było zróżnicowane w zależności od zastosowanego nawożenia, a różnice te były istotne na poziomie statystycznym $p<0,05$. Największą zawartość glutenu uzyskano na grupy 3, gdzie zaaplikowano nawóz z mikroelementami, z kolei najniższą w nawozie bez mikroelementów. Wpływ mikroelementów na zawartość glutenu został wykazany w literaturze. Szczególne znaczenie ma dolistna

aplikacja cynku i żelaza, która istotnie wpływa na zwiększenie zawartości glutenu w ziarnie (Melash i in., 2019). Wyniki uzyskane dla wszystkich trzech grupa badawczych są wyższe w porównaniu do danych literaturowych. Zawartość mokrego glutenu w badaniach przeprowadzonych przez Malalgoda i in., 2018 wynosiła 34,1%, a w badaniach Keler i Martynova, 2020 wahała się pomiędzy 31,3% a 33,7%. Wysoka zawartość glutenu w mące jest wartością pożądaną w produkcji makaronów. W piekarnictwie wysoki poziom glutenu nie jest zaletą. Związane jest to ze wzrostem ciasta w trakcie wypieku pieczywa, gdzie działanie drożdży i wspomagaczy pieczenia (soda oczyszczona), nie jest w stanie rozerwać włókien glutenu, przez co pieczywo będzie płaskie i gumowate. Ma to związek z utrudnionym procesem tworzenia się pęcherzy gazów w cieście, rozpływalnością i elastycznością glutenu (Różyło i in., 2010).

W przypadku glutenu znaczenia ma również parametr Gluten Index, który jest miara stosunku silnych i słabych włókien glutenu. W przypadku wysokiej zawartości glutenu, jaką uzyskano w badaniach, stosunkowo niski Gluten Index (55,7-56,3) umożliwia wykorzystanie mąki w piekarnictwie, ponieważ duży udział „słabego glutenu" łatwo ulegającego rozerwaniu w trakcie wzrostu ciasta, nie spowolni jego wzrostu, a finalne pieczywo osiągnie oczekiwaną strukturę spulchnioną przez pęcherze powietrza (Lu, 2017). Siła glutenu wyrażona poprzez Gluten Index jest parametrem uzależnionym od wielu czynników, wśród których dominujące są warunki pogodowe w okresie wegetacyjnym pszenicy, jej odmiana oraz udział ilości glutenu pochodzącego z łuski ziarna w objętości glutenu całkowitego (Knežević i in., 2018). Uzyskane w badaniach wyniki są stosunkowo niższe w porównaniu do danych literaturowych, gdzie osiąga się wartości Gluten Indexu na poziomie 52,1-89,7 (Rasaei i in., 2017) oraz 80,0-95,0 (Knežević i in., 2018).

Zawartość glutenu wpływa bezpośrednio na zawartość białka w ziarnie. W przeprowadzonych badaniach największą zawartość białka uzyskano w ziarnie pszenicy z gruby badawczej 3 (zneutralizowany hydrolizat z mikroelementami), a wynik ten był istotnie wyższy względem pozostałych grup. Różnica w zawartości białka, podobnie jak samego glutenu, wynika z wpływu mikroelementów (Hernández-Espinosa i in., 2018; Melash i in., 2019). Zwiększona zawartość białka może sprzyjać niepożądanej tendencji wzrostu kwasowości ziarna (Litwinek i in., 2017) W interpretacji wyników należy pamiętać, że wartości zawartości białka podawane są dla białka suchego, a glutenu dla glutenu mokrego.

Zawartość popiołu związana jest z obecnością związków mineralnych w ziarnie. Parametr ten bezpośrednio wpływa na kolor uzyskanej mąki oraz jej typ. Zgodnie z

oczekiwaniami zawartość popiołu w ziarnie była najwyższa w grupie badawczej w której zaaplikowano nawozy zawierające mikroelementy. Różnice pomiędzy grupami nie były jednak istotne statystycznie. Uzyskane wyniki są porównywalne z danymi literaturowymi, wykazującymi zawartość popiołu w ziarnie pszenicy jarej na poziomie 1,72-22,1 (Jarecki i in., 2017; Woźniak i Rachoń, 2020).

Liczba opadania jest zarówno wskaźnikiem przechowalniczym jak i piekarniczym ziarna. Parametr ten mówi o aktywności enzymów amylolitycznych ziarna pszenicy. Najkorzystniejsza aktywność enzymów związana jest z liczbą opadania rzędu 250 – 300 sekund. Nadmierna liczba opadania, występująca powyżej 400 s świadczy o zbyt niskiej aktywności alfa-amylazy, co może przełożyć się na niską przydatność piekarniczą (Sobczyk i in., 2018). Zbyt niska wartość opadania (poniżej 150 s) związana jest z intensywnie zachodzącymi procesami w ziarnie i nadmierną aktywnością enzymów amylolitycznych. Przede wszystkim jest to oznaka zbyt dużej wilgotności ziarna oraz ukryty sygnał świadczący o porastaniu ziarna. Mąka uzyskana z takiego ziarna nie nadaje się na cele piekarnicze. Co więcej, nie powinna być też składowana w silosach, ponieważ z jednej strony ziarno takie kwaśnieje, z drugiej zaś może ulec samozapłonowi w wyniku emisji ciepła i pary wodnej (Rachoń i in., 2020). Ponadto warunki te są sprzyjające dla rozwoju mikroorganizmów i szkodników (Dziura i in., 2017). Uzyskane w badaniu wyniki dla poszczególnych grup badawczych różnią się w sposób istotnie statystycznie. Najniższą wartość liczby opadania, a zarazem najbliższą optymalnemu przedziałowi odnotowano dla grupy nawożonej zneutralizowanym hydrolizatem z mikroelementami. Liczba opadania uzależniona jest od wielu czynników z czego dominujące są warunki atmosferyczne w okresie wegetacyjnym. Jednakże zwraca się uwagę na zależność pomiędzy Liczbą opadania a prawidłowym nawożeniem azotowym. Aplikacja łatwo przyswajalnych form azotu, korzystnie w formie aminokwasów w optymalnej dawce reguluje ilość i aktywność enzymów amylolitycznych (Wyzińska i Sułek, 2017).

Analizując wszystkie wyznaczone parametry piekarnicze stwierdzono pozytywny wpływ nowych nawozów otrzymanych z zaproponowanych surowców metodą hydrolizy kwasowej. Znaczący wpływ miał dodatek mikroelementów, które nie tylko polepszyły użyteczność zboża w produkcji wysokiej jakości mąki, ale jednocześnie wzbogaciły ziarno w niezbędne człowiekowi mikroelementy – miedź, mangan i cynk. Jest to nieoceniona zaletą w dobie niedożywienia mikroelementowego, skutkującymi licznymi zaburzeniami i chorobami.

5. Badanie stanu techniki

5.1 Technologia nawozów mikroelementowych bazujących na biomasie lucerny

5.1.1 Czystość patentowa

Wykorzystanie lucerny i nawłoci w produkcji nawozowej jest znane i chronione metodami ochrony własności intelektualnej. Rozwiązanie znane z chińskiego zgłoszenia patentowego **CN106892731**, wykorzystuje lucernę, jako jeden ze składników nawozu wieloskładnikowego, przeznaczonego do truskawek, zwiększającego odporność roślin na stres. Nawóz ten otrzymuje się przez zmieszanie słomy, trocin, odchodów bydła i drobiu, inhibitora nitryfikacji DMPP (*dimetylofenylopiperazyna)*, mączki sojowej, wywaru melasy, osadu rzecznego, osadu z biogazu, mocznika, soli: wodorowęglanu amonu, siarczanu (VI) potasu, chlorku wapnia, cytrynianu cynku oraz lucerny.

Opisany w innym chińskim zgłoszeniu patentowym **CN107162743**, nawóz zdolny do wzmacniania korzeni, zawiera żywicę kationo-wymienną, lucernę, korzenie roślin strączkowych, ziemię okrzemkową, gnojowicę z hodowli trzody chlewnej, zymofit oraz rozbite kolby kukurydzy. Nawóz otrzymany z wymienionych składników zapewnia odżywienie roślin w fosfor i azot oraz retencję pierwiastków śladowych, zwłaszcza mikroelementów, dzięki zastosowaniu ziemi okrzemkowej oraz żywicy kationo-wymiennej.

Wynalazek opisany w chińskim zgłoszeniu patentowym **CN107162740**, dotyczy, rozpuszczalnego w wodzie nawozu organicznego do uprawy pitaji. Nawóz zawiera zmieszane ze sobą takie składniki jak; kwas szczawiowy, lucerna, kwas cytrynowy, selenian, obornik gołębi i obornik owczy, sproszkowany tytoń, resztki grzybów, popiół z łuski ryżowej, bakterie fermentacyjne. Nawóz wpływa na zwiększenie plonowania pitaji oraz na poprawę jakości i smaku owoców.

Kolejne chińskie zgłoszenie **CN107162846** dotyczy nawozu przeznaczonego do hodowli winorośli, uzyskanego ze sproszkowanego węgla, mączki z lucerny, selenianu sodu, superfosfonianu wapnia, chlorku żelaza (III), siarczanu cynku, chelatowanego manganu aminokwasowego oraz liści dyni, fioletowego listka ziemniaka i makucha rzepakowego Nawóz według tego wynalazku wpływa na lepsze ukorzenienie winorośli, jednocześnie powodując poprawę jakości gleby i jej użyźnienie.

W innym chińskim zgłoszeniu **CN105837371** opisano sposób produkcji nawozu do hodowli kłączy lotosu, polegający na zmieszaniu fosforanu wapniowo-magnezowego, odchodów zwierząt gospodarskich, popiołu z wodorostów, soku sojowego, fioletowego soku z kapusty, pozostałości octu, liści nawłoci, sproszkowanej łodygi rącznika, proszku bambusa,

polisacharydu glonów, mikrozymu, kwasu fulwowego, środka do pielęgnacji gleby, siarczanu żelazawego, selenianu sodu, kwasu humusowego i wody. Stosowanie nawozu poprawia plonowanie oraz jakość kłączy lotosu oraz wpływa na poprawę jakości gleby.

Chiński patent **CN102229449**, dotyczy nawozu bogatego w mikroby oraz aminokwasy i sposobu jego wytwarzania, obejmującego mieszanie brązowego cukru, ziela nawłoci nawozowej, mączki rybnej i szlamu, bakterii fotosyntetycznych, pałeczki bakterii *Bacillus* oraz wapna gaszonego. Warstwy mieszaniny, uzupełnione osadem z dna stawu i otrębami umieszcza się w beczce, oddzielając wapnem gaszonym i poddaje fermentacji, a następnie suszy. Otrzymany nawóz bogaty w mikroby i aminokwasy cechuje długi czas działania nawozu oraz długi czas retencji wody co w efekcie zwiększa plonowanie roślin.

Żadne z przedstawionych rozwiązań nie opisuje zagospodarowania biomasy poprzez proces biosorpcji. Zatem, zaproponowane rozwiązanie technologiczne odznacza się czystością patentową i nie narusza niczyjej własności intelektualnej.

5.1.2 Surowce w świetle obowiązującego prawa

Zgodnie z zapisami Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/28/WE z dnia 23 kwietnia 2009 r. odpadową biomasę lucerny i nawłoci można przeznaczyć do celów energetycznych (spalenie lub zgazowanie biomasy) lub wykorzystać w innym celu po odpowiedniej przeróbce. W świetle dostępu do innych metod, zagospodarowanie metodą biosorpcji posiada duży potencjał. Biomasa lucerny stanowi wartościową paszę dla żwaczy, jednak po procesie ekstrakcji nadkrytycznym dwutlenkiem węgla, traci ona swoją wartość odżywczą poprzez utratę związków hydrofobowych. Biomasa nawłoci wydaje się być materiałem paszowym niskiej jakości, ponieważ poprzez zawartość związków biologicznie czynnych jest środkiem moczopędnym. Z kolei, kompostowanie biomasy powoduje emisję gazów cieplarnianych i straty pierwiastkowe.

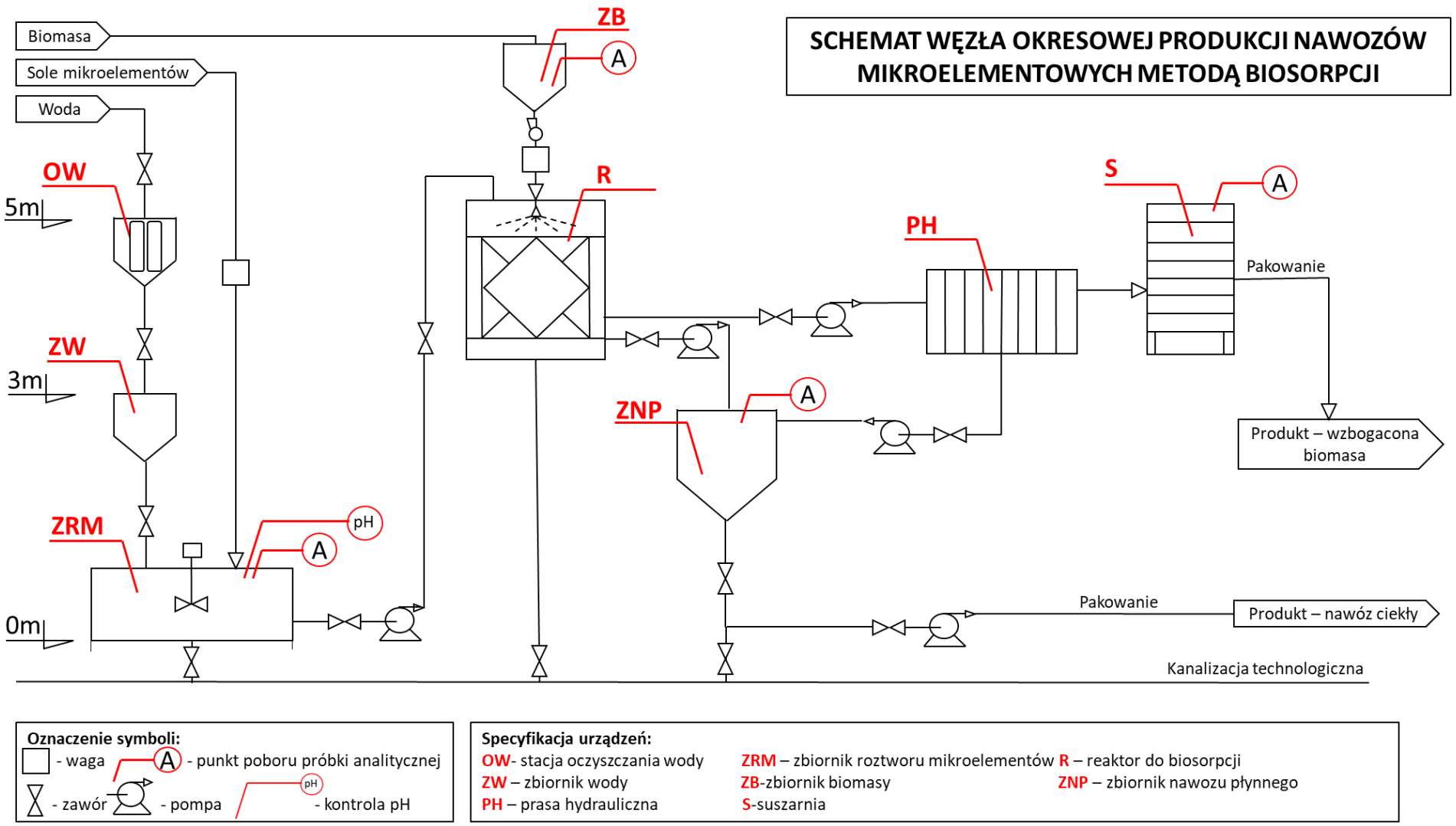
Zagospodarowanie biomasy lucerny i nawłoci na drodze wzbogacenia poprzez biosporcję wydaje się być uzasadnione również ze względu na jej dostępność. Obecnie rośliny te wykorzystywane są głównie w przemyśle kosmetyczno-farmaceutycznym w firmie Pollena-Eva. Instalacja do wzbogacania mogłaby powstać przy zakładzie produkcyjnym, co wyeliminowałoby koszty związane z transportem. Biosorpcja jest również odpowiedzią na zakaz składowania biomasy na wysypiskach śmieci, zatem jest rozwiązaniem problemu z obszaru zagospodarowania biomasy.

Zarówno skład surowców, jak i produktów spełnia wymagania nawozowe. Bardzo niskie zawartości metali toksycznych, a zatem spełnienie parametrów jakościowych stawianych

nawozom umożliwia stosowanie ich w tym celu. Oczywiście, biomasa pełniąca funkcję nawozu mikroelementowego musi zostać poddana procesowi wzbogacenia w jony miedzi, cynku i manganu.

5.1.3 Opis koncepcji technologicznej

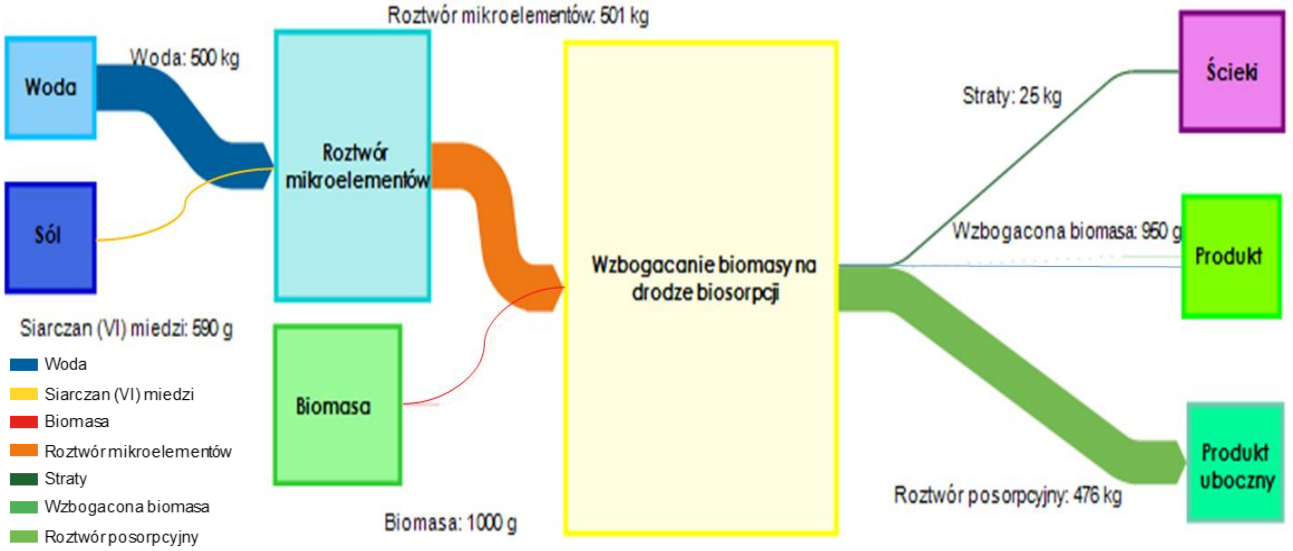
Na Rysunku 23 przedstawiono schemat węzła okresowej produkcji nawozów metodą biosorpcji. Pierwszym etapem jest oczyszczenie wody w stacji wyposażonej w kolumny jonowymienne. Oczyszczona woda trafia do zbiornika wody, skąd następnie trafia do zbiornika przeznaczonego do przygotowania roztworu mikroelementów. Przy zbiorniku tym zlokalizowano punkt kontroli pH oraz punkt poboru próbki analitycznej. Następnie roztwór mikroelementów o założonym stężeniu i pH trafia do reaktora z dyszą natryskową do prowadzenia procesu biosorpcji. Zbiornik ten uprzednio wypełnia się biomasą, która trafia ze zbiornika biomasy po rozdrobnieniu w młynie. Po procesie biosorpcji biomasa trafia na prasę filtracyjną i po usunięciu nadmiaru roztworu trafia do suszarni, skąd po kontroli jakości trafia do pakowania. Roztwór posorpcyjny oraz odciek z prasy filtracyjnej trafia do osobnego zbiornika. Roztwór ten może stanowić nawóz ciekły, do wykorzystania w nawożeniu fertygacyjnym. Ze zbiornika roztwór trafia na linię pakowalnia. Najważniejsze jednostki, tj. zbiornik do przygotowania roztworu mikroelementów, reaktor oraz zbiornik nawozu ciekłego połączone są z kanalizacją technologiczną, do której następuje zrzut ścieków z mycia urządzeń.



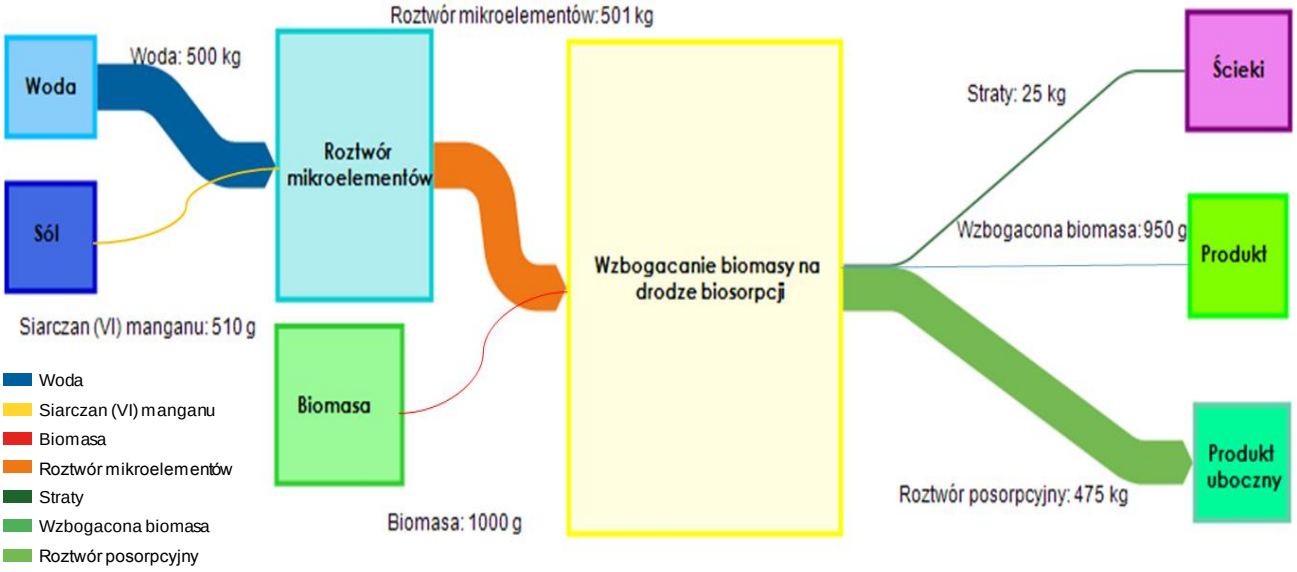
Rys. 23. *Węzeł produkcyjny nawozów mikroelementowych metodą biosorpcji*

5.1.4 Bilans materiałowy

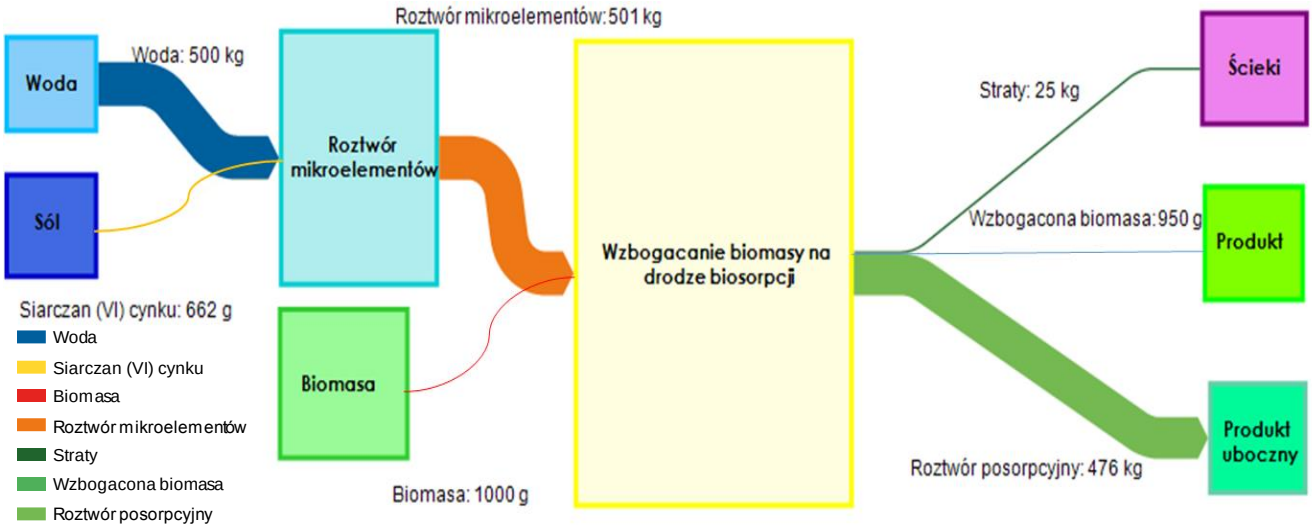
Rysunki 24, 25, 26 przedstawiają bilans materiałowy procesu wzbogacania biomasy lucerny i nawłoci w jony mikroelementów, odpowiednio miedzi, manganu i cynku. Zamieszczone wykresy dotyczą wzbogacania 1kg biomasy, według założeń procesowych zestawionych w Tab. 5. Zgodnie z nimi przyjęto 5% surowców w trakcie jednej szarży. Straty te generowane są na etapie rozdzielania biomasy od roztworu posorpcyjnego oraz suszenia.



Rys. 24. *Wykres Sankeya dla procesu wzbogacania biomasy w jony* Cu^{2+}



Rys. 25. *Wykres Sankeya dla procesu wzbogacania biomasy w jony* Mn^{2+}



Rys. 26. *Wykres Sankeya dla procesu wzbogacania biomasy w jony* Zn^{2+}

Kluczowym parametrem procesu, wpływającym na proporcje pomiędzy surowcami jak i przepływ masy jest stężenie biomasy w roztworze mikroelementów w trakcie procesu. Zgodnie z założeniami, w jednym litrze roztworu roboczego można umieścić 2g biomasy. A zatem do wzbogacenia 1kg biomasy potrzeba 500 kg wody.

Dla powyższych wykresów nie dokonano rozdziału na biomasę lucerny i nawłoci osobno. Warunki procesowe dla obu biomas są jednakowe. Różnice występują jedynie w jakości produktu i poziomu wzbogacenia, ale nie generuje to różnic w przepływie masy w trakcie procesu.

5.1.5 Oszacowanie kosztów wytwarzania

W Tabelach 33 i 34 przedstawiono skróconą analizę ekonomiczną procesu otrzymywania nawozów mikroelementowych metodą biosorpcji. Koszty jednostkowe ustalono na podstawie rozeznania rynkowego, jako średnie ceny krajowe.

Tab. 33. *Analiza kosztów procesu wzbogacania 100 kg biomasy*

Lp.	Nazwa kosztu	Koszt jednostkowy [zł]	Koszt/szarżę [zł]
1	Odpadowa biomasa	0 zł	0 zł
2	Woda	5 zł/m^3 x 50 m^3	250 zł
3	Sole	Cu: 59kg x 230zł/25kg	542,8 zl
		Mn: 66,2kg x 106zł/25kg	280,7 zł
		Zn: 51kg x 122zł/25kg	248,9 zł
4	Energia elektryczna	3772 kWh x 0,56 zł/kWh	2112 zł
5	Kontrola jakości r-ru do biosorpcji	50 zł/10 szarż	5 zł
6	Kontrola jakości produktu	50 zł/10 szarż	5zł
7	Kontrola jakości r-ru po biosorpcji	50 zł/10 szarż	5zł
8	Standaryzacja produktu	220 zł/10 szarż	22 zł
9	Pakowanie	10 zł/szarżę	10 zł
10	Czyszczenie instalacji	1000 zł/50 szarż	20 zł
11	Robocizna	100 zł/szarżę	100 zł
Koszty sumarycznie			
1	Koszt produkcji 100 kg biomasy wzbogaconej w Cu		3071,8 zł
2	Koszt produkcji 100 kg biomasy wzbogaconej w Mn		2809,7 zł
3	Koszt produkcji 100 kg biomasy wzbogaconej w Zn		2777,9 zł

Nawozy mikroelementowe otrzymane metodą biosorpcji są naturalnym odpowiednikiem dostępnych na rynku chelatów miedzi, manganu i cynku. W analizie rozchodów i przychodów można zatem przyjąć ceny rynkowych odpowiedników.

Jedna szarża, pozwalająca otrzymać 100 kg wzbogaconej biomasy, generuje również produkcję 47,5 m^3 roztworu posorpcyjnego, bogatego w mikroelementy oraz jony wapnia, magnezu i potasu, oddane w procesie wymiany jonowej podczas biosorpcji. Roztwór ten może stanowić nawóz mikroelementowy do fertygacja, lub komponent do produkcji takich nawozów. Średnia cena rynkowa 1000 L nawozu NPK do fertygacja to 2500 zł. Zakładając że uzyskany roztwór posorpcyjny jest roztworem mikroelementowym, bez podstawowych składników, cenę można obniżyć do 100 zł/1000L.

Tab. 34. *Bilans kosztów i zysków produkcji nawozów metodą biosorpcji*

Lp	Parametr	Koszt jednostkowy [zł]	Koszt/szarżę [zł]
Cu			
1	Koszty produkcji	3071,8 zł	-3071,8 zł
2	Zyski ze sprzedaży nawozów	100kg x 1025zł/25kg	+4100 zł
3	Zyski ze sprzedaży r-ru posorpcyjnego	47,5m^3 x 100 zł/m^3	+4750 zł
		Bilans:	5778,2 zł
Mn			
1	Koszty produkcji	2809,7 zł	-2809,7 zł
2	Zyski ze sprzedaży nawozów	100kg x 415zł/25kg	+1660 zł
3	Zyski ze sprzedaży r-ru posorpcyjnego	47,5m^3 x 100 zł/m^3	+4750 zł
		Bilans:	3600,3
Zn			
1	Koszty produkcji	2777,9 zł	-2777,9 zł
2	Zyski ze sprzedaży nawozów	100kg x 515zł/25kg	+2060
3	Zyski ze sprzedaży r-ru posorpcyjnego	47,5m^3 x 100 zł/m^3	+4750
		Bilans:	**4032,1**

Wstępne obliczenia pokazują potencjał zaproponowanej metody. Produkcja jest rentowna, ponieważ nie przynosi strat. Zatem, zaproponowana metoda wzbogacania biomasy i produkcja tym sposobem nawozów mikroelementowych jest interesującym rozwiązaniem na rynku nawozowym.

5.1.6. Możliwość komercjalizacji w świetle obowiązującego prawa

W świetle obowiązującego prawa, brak jest przeciwwskazań do komercjalizacji produktu. Ustawa o nawozach i nawożeniu dopuszcza nawozy bazujące na biomasie. Ponadto, zaproponowane produkty nawozowe uzyskały pozytywną rekomendację jednostki opiniującej – Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa. Ponadto, przedstawione rozwiązanie

wpisuje się w ideę gospodarki o obiegu zamkniętym i jest rozwiązaniem w pełni pro-środowiskowym.

5.2 Technologia nawozów fosforowych metodą solubilizacji mikrobiologicznej

5.2.1 Czystość patentowa

Analiza baz patentowych wykazała istnienie dwóch patentów związanych z produkcja płynnych nawozów fosforowych z wykorzystaniem mikroorganizmów. Polski patent nr **PL223123B1** zakłada rozkład wtórych surowców odpadowych o dużej zawartości fosforu (kości, ości, popioły ze spalania osadów ściekowych) przy użyciu szczepów *Acidithiobacillus ferrooxidans* lub *Bacillus megaterium*, przez okres co najmniej 14 dni. Zaproponowana technologia w niniejszej rozprawie opiera się na tych samych surowcach, jednak istnieje wiele różnic. Przede wszystkim zaproponowano wykorzystanie szczepów *Bacillus cereus* oraz *Bacillus thuringiensis.* Przewidziano wykorzystanie potencjału tych mikroorganizmów w dwukulturowym konsorcjum, a nie w postaci pojedynczych szczepów. Ponadto, czas prowadzenia procesu jest znacznie krótszy, ponieważ zakłada się że proces solubilizacji będzie trwać jedynie dwa dni, co znacznie podnosi atrakcyjność proponowanego rozwiązania.

Chiński patent **CN101792342B** zakłada wykorzystanie szczepów *Bacillus licheniformis, Bacillus cereus* lub *Bacillus subtilis* w celu feremntacji beztlenowej. Surowcami poddawanymi fermentacji są sproszkowane kości, sproszkowana ziemia, popiół węglowy i sproszkowana skała płonna z węgla. Patent ten wykorzystuje zupełnie inną metodę, różniącą się warunkami procesowymi, surowcami jak i szczepami bakterii. Zaproponowane w niniejszej rozprawie rozwiązanie nie narusza zatem własności intelektualnej twórców patentu.

5.2.2 Surowce w świetle obowiązującego prawa

Zarówno wykorzystywana technika jak i surowce są dozwolone w opracowywaniu formulacji nawozowych. Szczepy bakterii *Bacillus spp*., jak i ich bezpieczeństwo jest znane z literatury oraz potwierdzone licznymi badaniami. Na rynku obecnych jest wiele biostymulatorów wzrostów wykorzystujących potencjał bakterii, np. BACILLUS VIP (Agrobios), BACTIM BIOKOMPOST (Intermag) czy EmFarma Plus (ProBiotics Polska). W większości są to klasyczne szczepionki mikrobiologiczne złożone z zawieszonych mikroorganizmów w pożywce lub mieszanki mikroorganizmów z substancjami biostymulującymi, jak kwasy fulwowe czy humusowe.

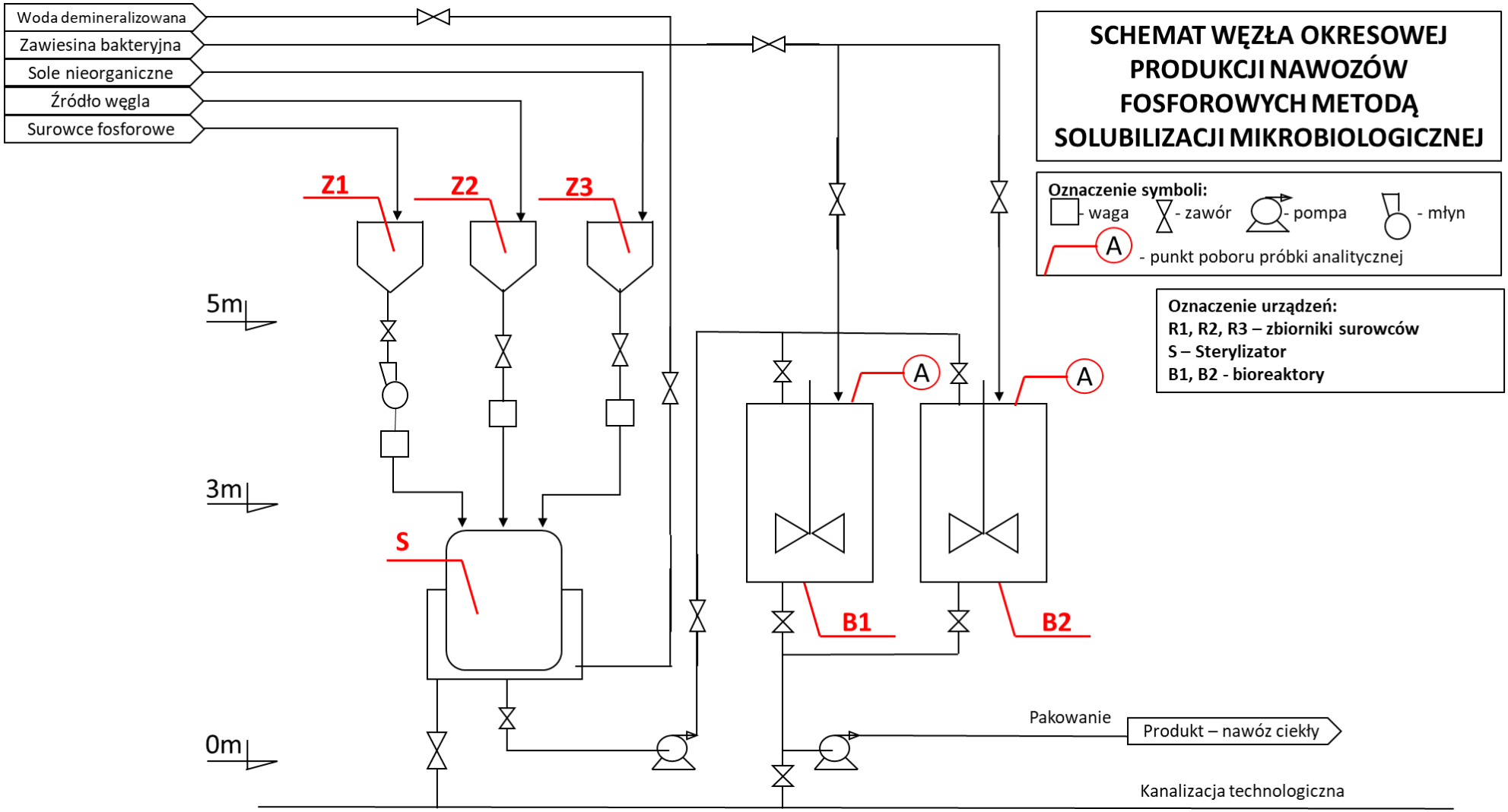
Zgodnie z obowiązującym prawem kości i ości mogą być wykorzystywane w produkcji nawozów, pod warunkiem że zostały zakwalifikowane jako odpadowa tkanka zwierzęca (kod

odpadu 02 01 02 – odpadowa tkanka z rolnictwa, ogrodnictwa, upraw hydroponicznych, leśnictwa, łowiectwa i rybołówstwa; 02 02 02 – odpadowa tkanka zwierzęca z przygotowania i przetwórstwa produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego). Zakazuje się stosowania zwierząt padłych i ubitych z konieczności (kod odpadu 02 01 08), gdyż jest on uznawany za niebezpieczny, unieszkodliwiany poprzez rozkład termiczny.

Klasyfikacja prawna popiołu ze spalania osadu jako odpadu jest skomplikowana. Osad ściekowy z oczyszczalni ścieków komunalnych klasyfikowany jest do grupy 19 - Odpady z instalacji i urządzeń służących zagospodarowaniu odpadów, z oczyszczalni ścieków oraz z uzdatniania wody pitnej i wody do celów przemysłowych, podgrupy 01 obejmująca odpady ze spalarni odpadów, w tym pirolizy odpadów. W mojej opinii, pomimo przyporządkowania popiołu do wielu kodów odpadów z podgrupy 19 01, popiół ze spalania osadów ściekowych powinno się klasyfikować jako odpad 19 01 12, ponieważ nie zawierają one substancji niebezpiecznych. Jednakże, w związku z bardzo niską rozpuszczalnością fosforu zawartego w popiele w wodzie, konieczna jest jego obróbka chemiczna, celem zwiększenia biodostępności i wykorzystania potencjału, jaki niesie popiół w większej skali.

5.2.3 Opis koncepcji technologicznej

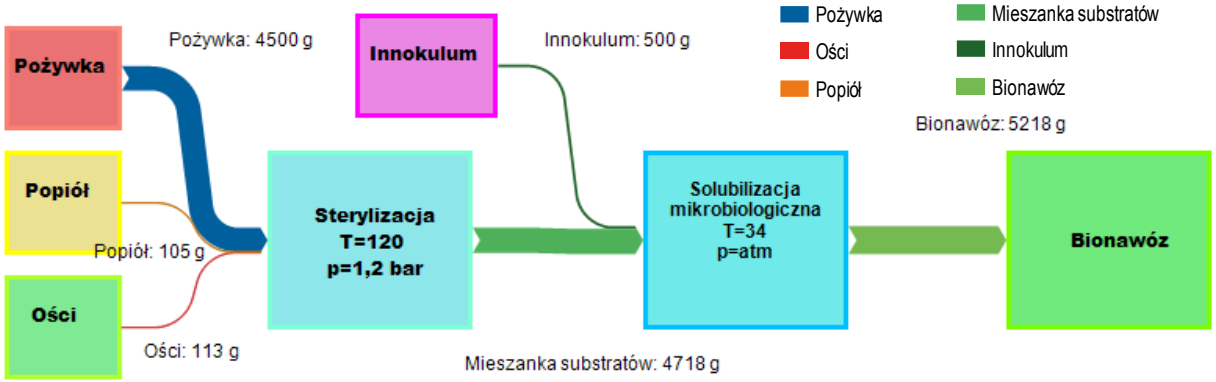
Na rysunku 27 przedstawiono koncepcję technologiczną wytwarzania bio-nawozów fosforowych metoda solubilizacji mikrobiologicznej. Surowce niezbędne do produkcji tj. surowce fosforowe, mieszanka soli oraz źródło węgla dla bakterii (glukoza) znajdują się w zbiornikach, odpowiedni R1, R2 i R3. Wtórne surowce fosforowe po przejściu przez młyn są ważone i trafiają do sterylizatora, gdzie trafia również odważona mieszanka soli, odważone źródło węgla oraz woda. Jałowa mieszanka surowców, poprzez pompę hydrauliczną trafia rurociągiem do bioreaktorów B1 i B2. Do bioreaktorów trafia również zawiesina bakteryjna. W bioreaktorach znajduje się również wyznaczony punkt pobrania próbki analitycznej, np. do oceny zawartości fosforanów czy wykonania posiewów celem oceny stężenia bakterii (jtk.). po 48 godzinach, produkt w postaci nawozu płynnego jest pakowany i składowany w magazynie.



Rys. 27. *Węzeł produkcyjny nawozów fosforowych metodą solubilizacji chemicznej*

5.2.4 Bilans materiałowy

Na Rysunku 28 przedstawiono wykres Sankeya dotyczący produkcji 5,218 kg bionawozu fosforowego metodą solubilizacji mikrobiologicznej. Wsad składa się z pożywki (4500g), popiołu (105g) oraz ości (113g), które poddawane są sterylizacji, a także inokulum bakteryjnego (500g).



Rys. 28. *Wykres Sankeya dla solubilizacji mikrobiologicznej*

Prawidłowo prowadzony proces powoduje minimalne straty na etapie opróżniania bioreaktora przed załadunkiem kolejnej szarży. Straty te pominięto. Technologia nie generuje też emisji gazów.

5.2.5 Oszacowanie kosztów wytwarzania

W Tabelach 35 i 36 przedstawiono skrócona analizę ekonomiczną procesu otrzymywania solubilizatu mikrobiologicznego. Koszty jednostkowe ustalono na podstawie rozeznania rynkowego, jako średnie ceny krajowe. Obliczenia wykonano dla 520 kg (50 szarż w 2 reaktorach).

Tab. 35. *Analiza kosztów procesu otrzymywania solubilizatu mikrobiologicznego*

Lp.	Nazwa kosztu	Koszt jednostkowy [zł]	Koszt/szarżę [zł]
1	Odpadowa biomasa	0 zł	0 zł
2	Woda	5 zł/m^3 x 20 m^3	100 zł
3	Pożywka bakteryjna	300 zł	300 zł
	Szczepy bakterii	400 zł	400 zł
4	Energia elektryczna	2000 kWh x 0,56 zł/kWh	1120 zł
5	Kontrola jakości r-ru surowców	100 zł/10 szarż	500 zł
6	Kontrola jakości produktu	100 zł/10 szarż	500 zł
8	Standaryzacja produktu	220 zł/10 szarż	1100 zł
9	Pakowanie	10 zł/szarżę	500 zł
10	Czyszczenie instalacji	1000 zł/50 szarż	1000 zł
11	Robocizna	200 zł/szarżę	10000 zł
		Koszty sumarycznie:	**15 520 zł**

Koszty produkcji 520 kg bionawozu droga solubilizacji mikrobiologicznej generuje koszty rzędu 15 520 zł. Do kosztów tych powinno doliczyć się koszty obsługi administracyjnej firmy produkcyjnej (księgowość, BHP) oraz koszty dystrybucji. Do obliczeń przyjęto średnią cenę dostępnych na rynku nawozów/biostymularorów zawierających różne szczepy bakterii.

Tab. 36. *Bilans kosztów i zysków produkcji nawozów metodą solubilizacji chemicznej*

Lp	Parametr	Koszt jednostkowy [zł]	Koszt/szarżę [zł]
1	Koszty produkcji	15 520 zł	-15 520 zł
2	Zyski ze sprzedaży nawozów	520kg x 250zł/5kg	+26 000 zł
		Bilans:	**+10 480 zł**

Produkcja jest rentowna, co pokazują wstępne obliczenia. Świadczy to o wysokim potencjale zaproponowanej technologii. Wartość dodana związana z wykorzystaniem bezpiecznych surowców odpadowych i bakterii zwiększających pulę dostępnego fosforu w glebie może znaleźć uznanie nie tylko w rolnictwach ekologicznych, ale również w klasycznym, gdzie wykorzystywane są głównie nawozy sztuczne.

5.2.6 Możliwość komercjalizacji w świetle obowiązującego prawa

Zgodnie z obowiązującym prawodawstwem brak jest przeciwwskazań do komercjalizacji wyników i rejestracji produktu. Preparaty zawierające wyłącznie mikroorganizmy mogą być wprowadzane do obrotu bez pozwolenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Nawozy zaproponowane w niniejszej rozprawie doktorskiej muszą zostać zaopiniowane przez jednostkę uprawnioną, czyli Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Należy zaznaczyć, że przed rejestracją skuteczność nawozu musi zostać potwierdzona w warunkach rzeczywistych – badania polowe. Ponadto wymaga się badań pod kątem spełnienia kryteriów jakościowych nawozów (odpowiednie poziomy makroskładników i metali ciężkich, określone przez Ustawę o Nawozach i Nawożeniu) oraz zapewnienia bezpieczeństwa dla ludzi, zwierząt i środowiska.

5.3 Technologia nawozów wieloskładnikowych metodą hydrolizy kwasowej

5.3.1 Czystość patentowa

W zakresie utylizacji zwierząt polska baza patentowa obejmuje 2 opisy patentowe. Patent P.376127 zakłada mieszanie odpadów z hodowli zwierząt, w tym głównie odchodów z

wapnem oraz cementem. Powstała mieszanina w procesie kondycjonowania ulega stwardnieniu i może być wykorzystywana na użyteczne produkty. Niedogodnością tej metody jest emisja azotu w formie amoniaku. Z kolei wynalazek o nr. P.384969 opisuje zagospodarowanie różnych odpadów organicznych pochodzenia zwierzęcego na drodze kompostowania. Dostępny jest szereg patentów dot. zagospodarowania pojedynczych odpadów z produkcji zwierząt np. gnojowicy (P.404953) czy pierza (P.395240, P.415595), na bazie czego produkowane są nawozy lub biostymulatory wzrostu roślin.

Analiza międzynarodowych i krajowych baz patentowych wykazała, że zaproponowana technologia nie narusza praw własności intelektualnej osób trzecich. Fakt ten wskazuje na nowatorskie podejście do problemu zagospodarowania odpadów kategorii drugiej na cele nawozowe. W związku w powyższym, sposób produkcji nawozów bazujących na zwierzętach padłych i zabitych z przyczyny, klasyfikowanych do kategorii drugiej może zostać z powodzeniem wdrożony.

W trakcie realizowanych prac powstało zgłoszenie patentowe nr. P 434435 pt: *Biopreparat stymulujący wzrost roślin i jego otrzymywanie*, Katarzyna Chojnacka, Dawid S. Skrzypczak, Mariusz Korczyński, Anna Witek-Krowiak, Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**. Powyższe zgłoszenie dotyczy proponowanej technologii.

5.3.2 Surowce w świetle obowiązującego prawa

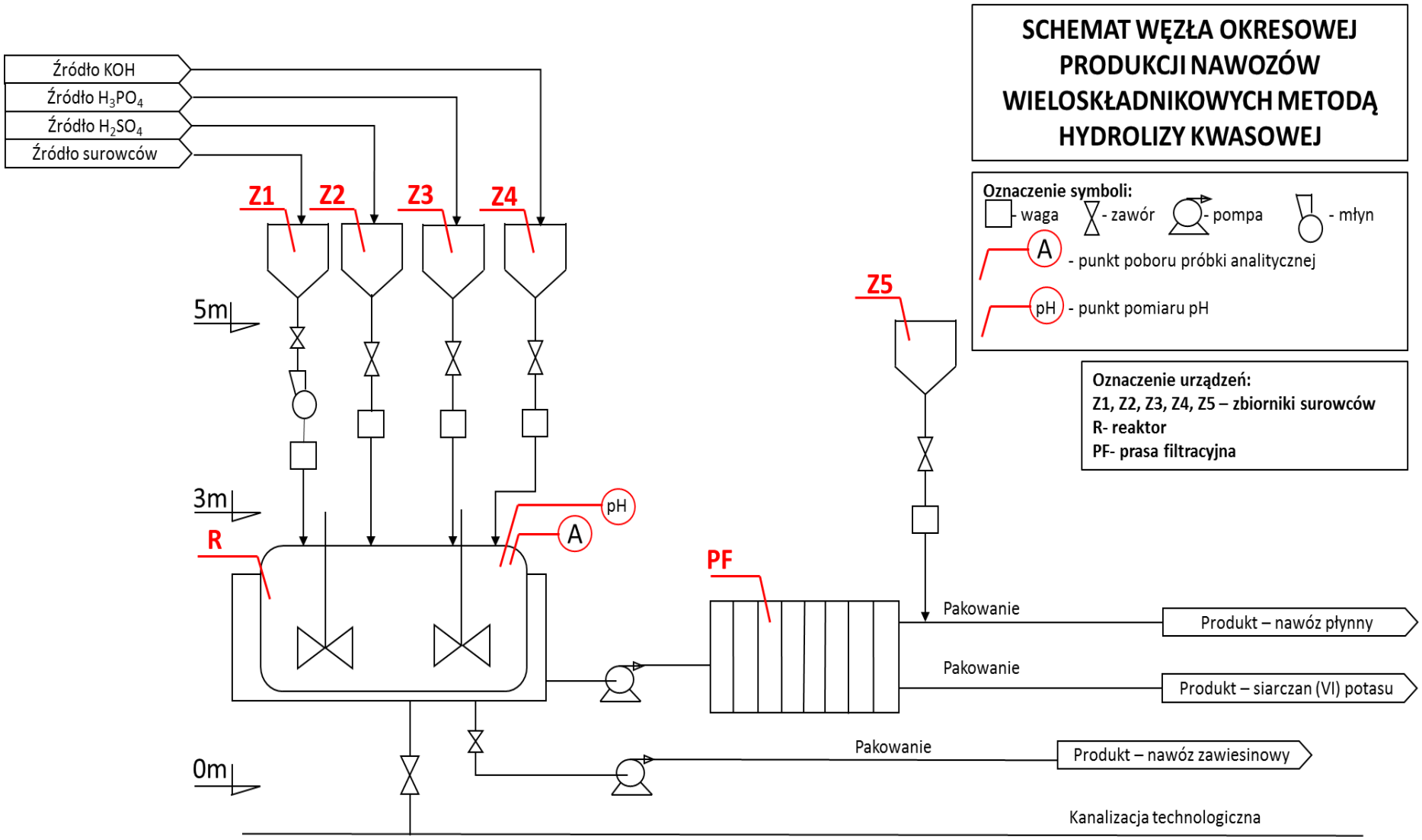
Zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa stężony kwas siarkowy (VI), stężony kwas fosforowy (V), wodorotlenek potasu oraz sole mikroelementów w postaci siarczanów (VI) miedzi, manganu i cynku (bezwodne lub uwodnione) są dopuszczone w technologii nawozów jako czynniki do solubilizacji i higienizacji odpadów pochodzenia zwierzęcego (kategoria odpadów 2).

Proponowana technologia bazuje na padłych zwierzętach lub ubitych z konieczności. W świetle krajowego i europejskiego prawodawstwa jest to odpad niebezpieczny, przy czym nie jest jednoznaczna jego klasyfikacja do konkretnej kategorii odpadowej. Padłe zwierzęta występują zarówno w Kategorii 1 i Kategorii 2 ubocznych produktów pochodzenia zwierzęcego. Przy czym, odpady Kategorii 1 podlegają zagospodarowaniu jedynie poprzez spopielenie. Odpady Kategorii 2 można poddać recyklingowi materiałowemu i przekształceniu ich w użyteczne produkty, z zastrzeżeniem że nie mogą one być wykorzystane do żywienia zwierząt. Istota sprawy leży tak naprawdę w kwestii klasyfikacji odpadu do kategorii. Nie ulega wątpliwości, że w myśl rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. określającego przepisy sanitarne dotyczące produktów

ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi odpady zawierające priony (indukujące chorobę BSE) nie mogą być używane jako półprodukt do produkcji nawozów, ponieważ należą do Kategorii I. Padłe zwierzęta i ubite z konieczności, np. w celu zwalczania chorób (z wyjątkiem BSE) zaliczane są do Kategorii 2, zgodnie z cytowanym Rozporządzeniem. Zatem, do proponowanej technologii nawozów można używać jedynie odpadów Kategorii 2 lub 3 (m.in. zwierzęta padłe, płody, zarodki, zamarły drób w skorupce, krew, łożysko, wełna, pióra, włosy, rogi, ścinki z kopyt i surowe mleko, zwierzęta wodne i ich części i inne). Należy zatem jasno zaznaczyć, że proponowana technologia nie dotyczy odpadów Kategorii 1 czyli: zwierząt i tkanek zwierzęcych będących nośnikami BSE, zwierząt domowych, egzotycznych, laboratoryjnych, doświadczalnych, z przewozu międzynarodowego lub poddanych nielegalnym zabiegom, produktów ubocznych zebranych w trakcie oczyszczania ścieków i mieszaniny odpadów Kategorii 1 z odpadami Kategorii 2 lub 3.

5.3.3 Opis koncepcji technologicznej

Węzeł okresowej produkcji nawozów wieloskładnikowych metodą hydrolizy kwasowej (Rys. 29) składa się z 4 zbiorników surowców: odpadowej biomasy, stężonego kwasu siarkowego (VI), stężonego kwasu fosforowego (V) oraz stężonego roztworu wodorotlenku potasu (Zbiorniki Z1, Z2, Z3 i Z4). Początkowo odpady oraz kwasy trafiają do reaktora z mieszaniem (R), gdzie prowadzony jest proces hydrolizy. Zaleca się, aby reaktor wykonany był ze stali kwasoodpornej oraz wyposażony był w chłodzenie, bowiem reakcja hydrolizy stężonymi kwasami jest reakcją egzotermiczną. Po pełnej hydrolizie surowca odpadowego, w reaktorze prowadzi się proces neutralizacji przy użyciu stężonego roztworu wodorotlenku potasu. Reakcja ta również prowadzi do wydzielenia ciepła. Reaktor wyposażony jest w miejsce do poboru próbki analitycznej oraz kontrolę pH. W wyniku neutralizacji powstaje siarczan (VI) potasu. Rozwiązanie przewiduje dwie możliwości. Pierwsza rozwiązanie zakłada pakowanie neutralizatu z osadem K_2SO_4, który jako produkt jest nawozem zawiesinowym. Druga opcja zakłada oddzielanie osadu od roztworu na prasie filtracyjnej (PF), w wyniku czego powstają dwa strumienie produktów: nawóz płynny i nawóz stały – siarczan (VI) potasu, które kierowane są na linię pakowania. Nawóz płynny może być również wzbogacony w mikroelementy (Cu, Mn, Zn do poziomu 0,2%), dlatego też przewidziano zbiornik z mieszaniną soli mikroelementów (Z5).

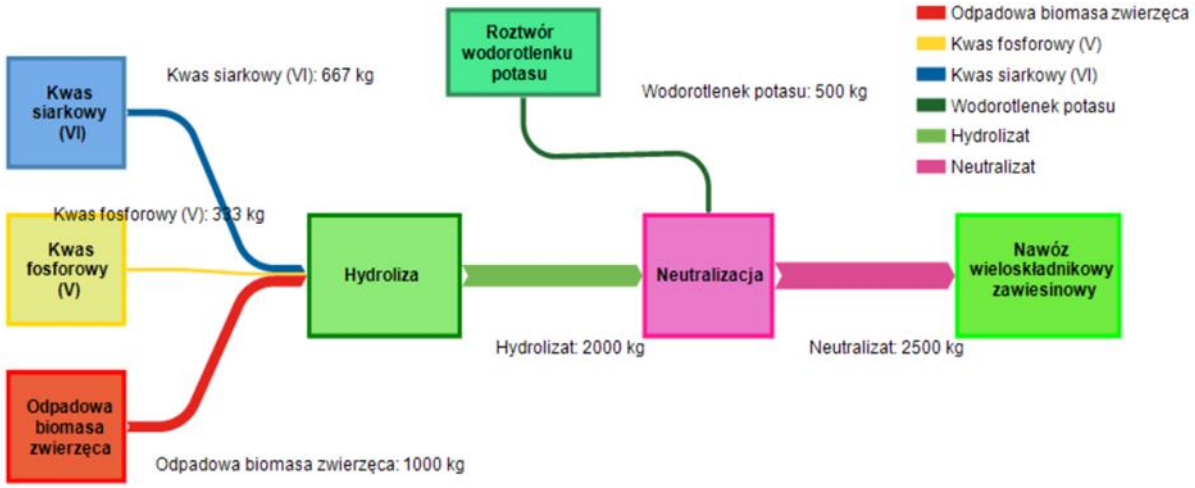


Rys. 29. *Węzeł produkcyjny nawozów wieloskładnikowych metodą solubilizacji chemicznej*

5.3.4 Bilans materiałowy

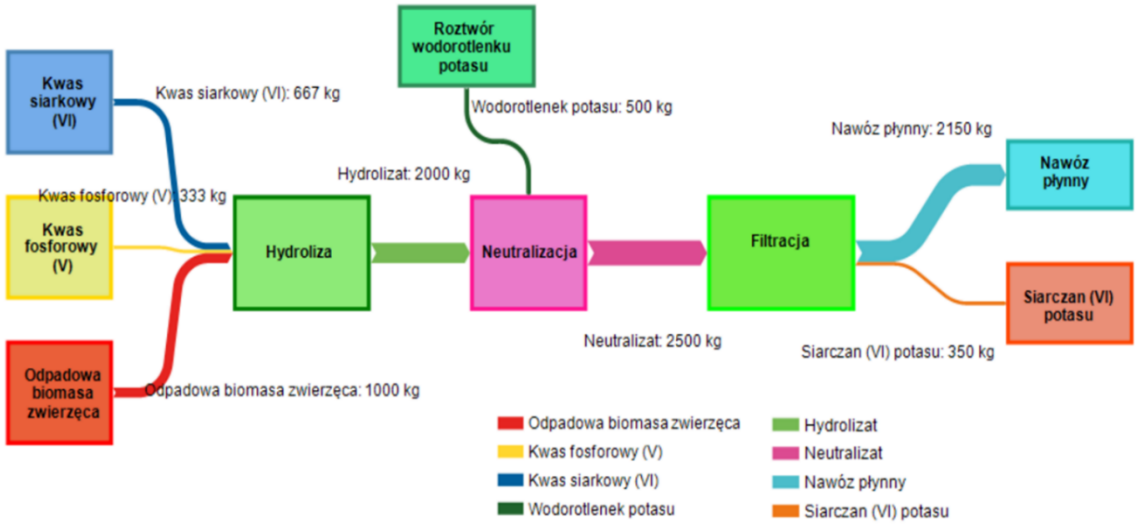
Bilans materiałowy oszacowano dla 3 wariantów produkcji: nawozu zawiesinowego (1), nawozu płynnego z oddzielonym osadem siarczanu (VI) potasu (2) oraz nawozu płynnego wzbogaconego w mikroelementy z oddzielonym osadem siarczanu (VI) potasu. Obliczeń dokonano dla 1 tony surowca odpadowego.

Wykres przedstawiony na Rys. 30 dotyczy produkcji nawozów zawiesinowych. Wsadem do hydrolizy jest tona odpadów zwierzęcych, 667 kg kwasu siarkowego (VI) oraz 333 kg kwasu fosforowego (V). W etapie neutralizacji do układu wprowadzane jest ok. 500 kg stężonego roztworu wodorotlenku potasu. Sumarycznie otrzymywane jest 2500 kg nawozu.



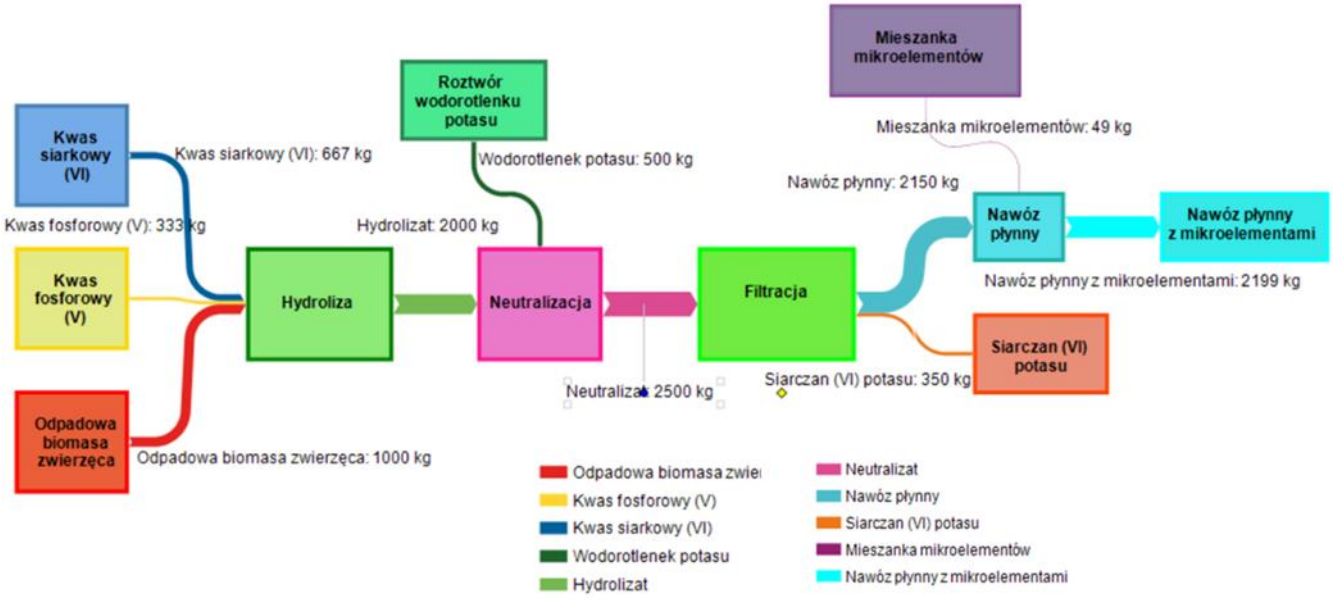
Rys. 30. *Wykres Sankeya dla produkcji nawozu zawiesinowego*

Kolejny wariant produkcji zakłada rozdzielanie zawiesiny na prasie filtracyjnej, w wyniku czego otrzymuje się 2150 kg nawozu płynnego oraz 350 kg siarczanu (VI) potasu (Rys. 31)



Rys. 31. *Wykres Sankeya dla produkcji nawozu płynnego poprzez oddzielenie K_2SO_4*

Trzeci wykres (Rys. 32) dotyczy produkcji nawozu płynnego wzbogaconego w mikroelementy, zatem zaplanowano dodatkowy strumień mieszaniny mikroelementów (technicznych uwodnionych siarczanów (VI) miedzi, manganu i cynku), w ilości 49 kg. Skutkuje to wzrostem masy nawozu płynnego, finalnie otrzymując 2199 kg.



Rys. 32. *Wykres Sankeya dla produkcji nawozu płynnego wzbogaconego w mikroelementy, wraz z oddzieleniem K_2SO_4*

W obliczeniach pominięto straty, które przy prawidłowym prowadzeniu procesu są minimalne. W związku z brakiem emisji gazów podczas hydrolizy, nie zakłada się również start składników gazowych.

5.3.5 Oszacowanie kosztów wytwarzania

Poniższe tabele (Tab. 37-38) przedstawiają zyski z zagospodarowania 1 tony odpadów kategorii drugiej (padłe i ubite z przyczyny zwierzęta) na cele nawozowe, według 3 zaproponowanych sposób przeprowadzenia procesu.

Tab. 37. *Analiza kosztów procesu otrzymywania nawozu metodą hydrolizy kwasowej*

Lp.	Nazwa kosztu	Koszt jednostkowy [zł]	Koszt/szarżę [zł]		
			Nawóz zawiesinowy	Nawóz płynny i K_2SO_4	Nawóz płynny z mikroelementami i K_2SO_4
1	Odpadowa biomasa	0 zł	0 zł	0 zł	0 zł
2	Woda	2 zł/m^3	40 zł	40 zł	40 zł
3	Kwas siarkowy (VI)	9112 zł/t	608 zł	608 zł	608 zł
4	Kwas fosforowy (V)	3060 zł/t	1019 zł	1019 zł	1019 zł
5	Wodorotlenek potasu	7800 zł/t	1950 zł	1950 zł	1950 zł
6	Sole mikroelementów	Cu:320zł/25kg Mn:105zł/25kg Zn:189zł/25kg	-	-	319,3
7	Energia elektryczna	0,56 zł/kWh	200 zł	250 zł	250 zł
8	Kontrola jakości surowców	100 zł/10 szarż	10 zł	10 zł	10 zł
9	Kontrola jakości produktu	100 zł/10 szarż	10 zł	10 zł	10 zł
10	Standaryzacja produktu	220 zł/10 szarż	22 zł	22 zł	22 zł
11	Pakowanie	150 zł/szarżę	150 zł	150 zł	150 zł
12	Czyszczenie instalacji	10 zł	10 zł	10 zł	10 zł
13	Robocizna	200 zł/szarżę	200 zł	200 zł	200 zł
Koszty sumarycznie:			**4221 zł**	**4271 zł**	**4590,3 zł**

Koszt przerobu 1 tony padłych zwierząt według 3 zaproponowanych metod generuje zmienne koszty rzędu 4220 – 4600 zł. Do kosztów tych powinno doliczyć się koszty obsługi administracyjnej firmy produkcyjnej (księgowość, BHP) oraz koszty dystrybucji. Do obliczeń przyjęto średnią cenę rynkową surowców.

Tab. 38. *Bilans kosztów i zysków produkcji nawozu metodą hydrolizy kwasowej*

Lp	Parametr	Nawóz zawiesinowy	Nawóz płynny i K_2SO_4	Nawóz płynny z mikroelementami i K_2SO_4
1	Koszty produkcji	4221 zł	4271 zł	4590,3 zł
2	Zyski ze sprzedaży nawozów	30 000 zł	Nawóz płynny: 23 650 K_2SO_4:700 zł	Nawóz płynny z mikroelementami.: 28 600 zł K_2SO_4: 700zł
3	Oszczędność wynikająca z braku konieczności utylizacji	270 zł	270 zł	270 zł
	Bilans:	**26 049 zł**	**20 349 zł**	**23 580 zł**

Powyższe obliczenia wykazują, że produkcja nawozów według zaproponowanej technologii jest wysoce opłacalna. Ceny sprzedaży nawozów odniesiono do cen rynkowych produktów o zbliżonej jakości (zawartości NPKS, mikroelementów, aminokwasów). Podane kwoty są kwotami brutto. Realny zysk należy pomniejszyć o podatek VAT od towarów, koszty promocji produktu, transportu, opłaty środowiskowe, wynagrodzenia pracowników nietechnicznych.

5.3.6 Możliwość komercjalizacji w świetle obowiązującego prawa

Zaproponowany sposób otrzymywania nawozów wieloskładnikowych może zostać skomercjalizowany pod warunkiem, że hydrolizowany odpad w postaci zwierząt padłych i ubitych z konieczności zostanie zaklasyfikowany do Kategorii 2 produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego. Omawiana technologia niesie ze sobą wiele zalet, które zwiększają potencjał wdrożeniowy. Przede wszystkim, hydroliza mieszaniną stężonych kwasów siarkowego (VI) i fosforowego (V) jest bezemisyjna, zatem instalacja nie wymaga zaawansowanych systemów zapewniających bezpieczeństwo środowiska. Ponadto, układ aparatury nie jest skomplikowany. Prostota rozwiązania sprawia, że proponowana technologia może być skierowana nie tylko dla firm nawozowych, ale dla producentów bydła, trzody chlewnej i drobiu. Wykorzystując przyzakładową instalację będą oni samowystarczalni w kwestii utylizacji padłych zwierząt, co obecnie wykonywane jest odpłatnie przez wyspecjalizowane firmy i stanowi ogromny koszt dla hodowców zwierząt. Należy podkreślić, że utylizacja zwierząt i produkcja nawozów metodą hydrolizy jest rozwiązaniem *in situ,* zatem eliminowana jest potrzeba transportu padliny pomiędzy producentem a zakładem utylizującym, co ma ogromne znaczenie epidemiologiczne i zapobiega roznoszeniu się chorób zwierzęcych

na częściach samochodów transportujących. W takiej sytuacji, wymagane jest jednak uzyskanie pozwolenia na posiadanie i wykorzystanie kwasu siarkowego (VI), który podlega monitoringowi jako prekursor materiałów wybuchowych. Ponadto, klasyczna utylizacja zachodzi na drodze spopielenia, co wiąże się z emisją dużych ilości gazów cieplarnianych i potrzebą zagospodarowania odpadu poutylizacyjnego, czyli popiołu. Zaproponowana metoda jest bezemisyjna i bezodpadowa zatem odznacza się niskim śladem środowiskowym.

Potwierdzona skuteczność biologiczna nawozów, pozytywnie wpływająca na ilość i jakość plonu, spełnienie wszystkich parametrów jakościowych stawianych nawozom oraz czystości mikrobiologicznej zapewnia bezpieczeństwo upraw. Biostymulujący efekt, wynikający z obecności aminokwasów dodatkowo zwiększa wartość proponowanej technologii. Niemniej jednak, nawozy otrzymane metodą hydrolizy padłych i zabitych z konieczności zwierząt wymagają badań przedwdrożeniowych przez jednostkę uprawnioną, czyli Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach.

6. Podsumowanie

Technologia nawozów mikroelementowych bazujących na biomasie lucerny

Opracowano formulacje nawozowe bazujące na odpadowej biomasie lucerny (*Medicago*) oraz nawłoci (*Solidago*), zawierającej jony miedzi (II), manganu (II) i cynku (II). Zaproponowana technologia jest odpowiedzią na realny problem odpadowej biomasy z sektora kosmetycznego i wpisuje się w ideę gospodarki o obiegu zamkniętym. Wzbogacenie biomasy w jony mikroelementów przeprowadzono na drodze biosorpcji, czyli pasywnego wiązania jonów metali przez grupy funkcyjne zlokalizowane na powierzchni biomasy. Proces przebiegał w reaktorze mieszalnikowym o pojemności 20 dm^3, w temperaturze 25°C i pH równym 5. W celu uniknięcia konkurencji ze strony poszczególnych jonów mikroelementów, partie materiału wzbogacano w układzie jednokationowym, poprzez zanurzenie biomasy w roztworze mikroelementu o stężeniu 300 mg/dm^3, na czas 90 minut. Po zadanym czasie, biomasę oddzielano, suszono i poddawano analizie składu. Oznaczono współczynnik zbogacenia EF biomasy, czyli stosunek zawartości mikroelementu po i przed procesem biosorpcji. Współczynnik ten był zróżnicowany w zależności od użytej biomasy oraz wzbogacanego mikroelementu i wynosił odpowiednio: EF_{Cu}=3710, EF_{Zn}=321 i EF_{Mn}=189 dla lucerny oraz EF_{Cu}=2014, EF_{Zn}=254 i EF_{Mn}=45 dla nawłoci.

Z partii materiału wzbogaconego w pojedyncze jony przygotowywano mieszankę, która stanowiła kompleksowy nawóz mikroelementowy, spełniający wszystkie wymagania jakościowe stawiane nawozom przez Ustawę o Nawozach i Nawożeniu. Nawóz taki poddano testom biodostępności mikroelementów w testach ekstrakcyjnych w wodzie i neutralnym cytrynianie amonu. W cytrynianie amonu, jako odpowiedniku roztworu glebowego osiągnięto biodostępność mikroelementów na poziomie: Cu: 80,7%, Mn: 80,5%, Zn: 62,4 (nawozy na bazie lucerny) oraz Cu: 75,9%, Mn: 77,2%, Zn: 66,7 (nawozy na bazie nawłoci), a w wodzie Cu: 15,7%, Mn: 5,1%, Zn: 32,6% (nawozy na bazie lucerny) i Cu: 6,5%, Mn: 20,7%, Zn: 25,7% (nawozy na bazie nawłoci), podczas gdy dostępność mikroelementów z soli technicznych wynosiła 100% (zarówno w obojętnym cytrynianie amonu oraz wodzie). Tym sposobem wykazano spowolnione uwalnianie mikroelementów, co jest właściwością pożądaną, obniżającą straty mikroskładników i gwarantującą ich dostępność na każdym etapie wzrostu rośliny. Następnie opracowane formulacje stanowiły przedmiot badań biologicznych, w których oceniono ich skuteczność biologiczną. W testach kiełkowania na ogórku wykazano, że stosowanie nawozów mikroelementowych otrzymanych metodą biosorpcji nie powoduje zahamowania kiełkowania. Co więcej, w porównaniu do klasycznych nawozów wykazano

efekt biostymulujący, wpływający na przyrost masy kiełków, długość ich korzenia i łodygi. Stosowanie nawozów otrzymanych według zaproponowanej technologii może być również sposobem otrzymywania żywności funkcjonalnej, bowiem w testach kiełkowania wykazano znaczny wzrost zawartości mikroelementów w biomasie kiełków. W dwuletnich badaniach polowych na kukurydzy również wykazano pozytywny wpływ nawozów mikroelementowych otrzymanych metodą biosorpcji. Przy odpowiednim dawkowaniu (125% dawki mikroelementów związanych z biomasą) w porównaniu z solami technicznymi uzyskano wzrost plonu i zawartości mikroelementów w liściach podkolbowych oraz ziarnie kukurydzy, a także stwierdzono brak zmiany zawartości białka, skrobi i tłuszczu. Zatem stosowanie nawozów bazujących na wzbogaconej biomasie pozwala otrzymać wysokiej jakości paszę dla zwierząt oraz ziarno spożywcze.

W świetle obowiązującego prawodawstwa wykazano brak przeciwwskazań do komercjalizacji technologii. Wykorzystywane surowce są dopuszczone do wykorzystania w rolnictwie, a sposób prowadzenia procesu nie narusza niczyich praw własności intelektualnej. Zaproponowana technologia składa się z podstawowych jednostek i procesów technologicznych. Pomimo wysokich kosztów produkcji, opłacalność zaproponowanej technologii jest wysoka. Ponadto, zaproponowane produkty nawozowe uzyskały pozytywną rekomendację jednostki opiniującej – Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa.

Technologia nawozów fosforowych metodą solubilizacji mikrobiologicznej

Zaproponowana technologia otrzymywania nawozów fosforowych również jest odpowiedzią na istniejący problem wyczerpywania się złóż fosforytów, będących zagrożeniem dla polskiego sektora nawozowego. Badania realizowano we współpracy z GA ZAK S.A. W niniejszej pracy zaproponowano solubilizację fosforanów z odpadowych surowców fosforonośnych – kości, ości i popiołów ze spalania osadów ściekowych przy pomocy mikroorganizmów. Szczepy bakterii z rodzaju *Bacillus* produkują wtórne metabolity w postaci słabych kwasów organicznych i nieorganicznych, które skutecznie solubilizują fosforany zawarte we wspomnianych materiałach. Z drugiej strony, w zaproponowanym procesie bakterie hodowane były w klasycznej pożywce zubożonej o fosfor, a dzięki uzyskanemu stresowi biotycznemu wywołano efekt pozyskiwania fosforu z innych źródeł (surowce fosforowe). Rezultatem procesu solubilizacji mikrobiologicznej jest przeprowadzenie fosforu z formy niedostępnej w dostępną dla roślin.

W badaniu sprawdzono skuteczność solubilizacji ości, kości i popiołów przez pojedyncze bakterie *Bacillus: B. megaterium, B. subtilis, B. thuringiensis i B. cereus* jak

również ich konsorcja (dwu-, trzy- lub czteroszczepowe). Wykazano, że współczynnik solubilizacji spada wraz z dawką surowca fosforowego. Ponadto określono, że optymalny czas prowadzenia solubilizacji wynosi 2 doby, ponieważ w drugiej dobie osiągana jest największa zawartość fosforanów rozpuszczonych w bulionie hodowlanym. Dowiedziono również, że konsorcja bakterii wykazują wyższą wydajność solubilizacji, jednak potrzeba do tego zarówno surowca organicznego (kości lub ości) oraz nieorganicznego (popiół).

Uzyskana formulacja nawozowa spełniała wszystkie wymogi stawiane nawozom płynnym. Wykazano dostępność w obojętnym cytrynianie amonu całej puli fosforu zawartej w nawozie, co przekłada się na jego wysoką przyswajalność. Ponadto otrzymany nawóz korzystnie zawiera wysokie poziomy mikroelementów, szczególnie żelaza (0,16%). Odczyn zbliżony do neutralnego pozwala na stosowanie bezpośrednio na rośliny, a lepkość dynamiczna i kinetyczna zbliżona do lepkości wody przekłada się na brak problemów technicznych podczas aplikacji.

Przeprowadzono badania skuteczności biologicznej uzyskanego solubilizatu mikrobiologicznego w testach kiełkowania oraz badaniach wazonowych na rzodkiewce. W testach kiełkowania wykazano m.in. wzrost świeżej masy kiełków o 7%, wzrost średniej masy kiełka o 20%, wzrost zawartości chlorofilu oraz wzrost suchej masy na korzyść stosowanego bionawozu, względem preparatu komercyjnego. Korzystniejsze wyniki uzyskano również w badaniach wazonowych. Ponadto zauważono, że bionawóz może stanowić również ciekawą zaprawę nasienną, prowadzącą do istotnego wzrostu długości korzenia (o 33% w testach kiełkowania oraz o 8% w badaniach wazonowych).

Przeanalizowano potencjał wdrożeniowy technologii bionawozów. W świetle obowiązujących przepisów brak jest przeciwwskazań do komercjalizacji technologii. Wykorzystywane surowce oraz metody nie naruszają praw własności intelektualnej oraz są dopuszczone do stosowania w rolnictwie. Zaproponowany węzeł produkcyjny opiera się na podstawowych procesach i jednostkach, co czyni proces łatwym oraz tanim w prowadzeniu. Technologia wymaga sterylnych warunków, które osiąga się poprzez proces sterylizacji, co choć zwiększa koszt i czas trwania szarży procesu, jest konieczne dla jego prawidłowego przebiegu i wysokiego odzysku fosforu z surowców wtórnych.

Technologia nawozów wieloskładnikowych metodą hydrolizy kwasowej

Hydroliza odpadów przy pomocy kwasu siarkowego (VI) jest sposobem ich waloryzacji co stanowi odpowiedź na problem sektora produkcji zwierzęcej oraz przetwórstwa mięsnego. Zaproponowana technologia stanowi odpowiedź na problem największego producenta jaj w

Polsce – Ferm Drobiu Woźniak Sp. z o.o. Ilość padłych zwierząt oraz koszt ich utylizacji przez zewnętrzne firmy zmusił producenta do poszukiwania innych rozwiązań, które jednocześnie ograniczą koszty związane z utylizacją oraz pozwolą wyprodukować produkty użyteczne o potencjale wdrożeniowym we własnej działalności przedsiębiorstwa.

W ramach pracy doktorskiej przeprowadzono badania nad możliwością zagospodarowania odpadu kategorii 2, wśród której wchodzą m.in. zwierzęta padłe i ubite z przyczyny (inne niż nośniki choroby BSE). W tym celu materiał pozyskany od producenta (martwa kura nioska) został umieszczony w całości (bez rozdrobnienia i usuwania piór) w reaktorze a następnie zalany w stosunku 1:1 mieszaniną stężonych kwasów mineralnych (kwas siarkowy (VI) oraz kwas fosforowy (V), w stosunku 1:1). Proces hydrolizy prowadzono przez 24h, a następnie uzyskany hydrolizat neutralizowano wodorotlenkiem potasu. Uzyskaną zawiesinę sączono, otrzymując klarowny roztwór oraz nawóz stały.

Przedmiotem dalszych badań był głównie nawóz płynny. Analiza pierwiastkowa składu wykazała spełnienie wszystkich warunków jakościowych stawianych nawozom płynnym przez ustawę o Nawozach i nawożeniu. Ponadto, wykazano obecność aminokwasów (~0,5%). Nawóz płynny został dodatkowo wzbogacony w mikroelementy (Cu, Mn, Zn). Następnie zbadano wpływ nawozu płynnego (zarówno wzbogaconego i niewzbogaconego w mikroelementy) w badaniach polowych na pszenicy jarej. Wykazano statystycznie istotny przyrost plonu oraz zawartość mikroelementów w ziarnie pszenicy nawożonej nawozem wzbogaconym w mikroelementy. Oceniono również parametry piekarnicze: gęstość nasypową, zawartość glutenu, gluten index, zawartość białka i popiołu oraz liczbę opadania. Najlepszymi parametrami piekarniczymi odznaczało się ziarno pszenicy nawożonej nawozem według zaproponowanej technologii wzbogaconym w mikroelementy. Uzyskano statystycznie wyższą zawartość glutenu (38,1%) i białka (15,6%) oraz statystycznie niższą liczbę opadania (312 s). Pozostałe parametry mieściły się w normach i nie odbiegały statystycznie od wartości uzyskanych dla ziarna pszenicy nawożonej preparatem komercyjnym i hydrolizatem niewzbogaconym w mikroelementy. Wykazano zatem, jak ważny udział w plonowaniu roślin oraz jakości plonu mają mikroelementy. Ponadto uzyskane wyniki jasno wskazują na pozytywny biostymulujący wpływ aminokwasów.

Z punktu widzenia własności intelektualnej nie ma przeciwwskazań do komercjalizacji technologii. Prawo krajowe oraz europejskie dopuszcza zagospodarowanie odpadów Kategorii 2 na cele nawozowe po odpowiedniej ich waloryzacji. Niemniej jednak należy zaznaczyć, że zaproponowana metoda otrzymywania nawozów wykorzystuje stężony kwas siarkowy (VI),

który jako prekursor materiałów wybuchowych podlega specjalnym regulacjom prawnym, a przedsiębiorstwo musi uzyskać pozwolenie na jego wykorzystywanie. Produkcja nawozów poprzez hydrolizę surowców wtórnych jest procesem mało skomplikowanym, wykorzystującym proste urządzenia i procesy jednostkowe oraz łatwo dostępne surowce, a dzięki temu wysoce rentownym, co wykazano w podstawowych obliczeniach.

7. Wnioski

1. Opracowano technologię otrzymywania nawozów mikroelementowych metodą biosorpcji, bazującą na odpadowej biomasie z przemysłu kosmetycznego – pozostałości z ekstrakcji ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym biomasy lucerny i nawłoci
2. Uzyskano wysokie współczynniki wzbogacenia biomasy w jony mikroelementów, które w testach ekstrakcyjnych wykazują wysoką biodostępność. Ich biodostępność jest zdecydowanie niższa w porównaniu do klasycznych nawozów mikroelementowych w postaci siarczanów, co jest cechą pożądaną i świadczy o ich spowolnionym uwalnianiu.

3. Opracowano technologię nawozów fosforowych metodą solubilizacji mikrobiologicznej z wykorzystaniem szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus* oraz surowców wtórnych bogatych w fosfor (ości, kości i popiołów ze spalania osadu ściekowego). Dobrano odpowiednie warunki prowadzenia procesu.
4. Wykazano zwiększenie efektywności procesu solubilizacji mikrobiologicznej wykorzystując konsorcja szczepów z rodzaju *Bacillus*, których stosowanie prowadzi do zmian ilościowych we frakcjach fosforu w glebie.
5. Opracowano technologię nawozów organiczno-mineralnych płynnych poprzez hydrolizę odpadów Kategorii 2 (nierozdrobnionych padłych kur niosek). Technologia ta jest jednocześnie metodą waloryzacji tych odpadów.
6. Zbadano skuteczność wszystkich 3 formulacji nawozowych. W zależności od formulacji wykazano biostymulujący efekt mikroelementów (nawozy mikroelementowe bazujące na odpadowej biomasie), mikroorganizmów (solubilizat mikrobiologiczny) oraz aminokwasów i mikroelementów (hydrolizat odpadów kategorii 2).
7. Sprawdzono możliwość komercjalizacji wszystkich 3 technologii. Nie wykazano naruszenia praw własności intelektualnych osób trzecich. Stosowane metody oraz surowce są dopuszczone do użycia w produkcji nawozów, jednakże wykorzystanie kwasu siarkowego (VI) wymaga uzyskania stosownych pozwoleń.
8. Zaproponowano schematy technologiczne węzłów produkcyjnych dla poszczególnych formulacji. Sporządzono bilanse masowe.
9. Wykonano analizę opłacalności wdrożenia poszczególnych technologii, w których wykazano wysoką dochodowość proponowanych rozwiązań.

8. Bibliografia

Abubaker, J., Risberg, K., Jönsson, E., Dahlin, A.S., Cederlund, H., Pell, M., 2015. Short-term effects of biogas digestates and pig slurry application on soil microbial activity. Appl. Environ. Soil Sci. 2015. https://doi.org/10.1155/2015/658542

Adamovics, A., Platace, R., Gulbe, I., Ivanovs, S., 2018. THE CONTENT OF CARBON AND HYDROGEN IN GRASS BIOMASS AND ITS. Eng. Rural Dev. 1, 1277–1281. https://doi.org/10.22616/ERDev2018.17.N014

Agi, A., Junin, R., Arsad, A., Abbas, A., Gbadamosi, A., Azli, N.B., Oseh, J., 2020. Ultrasound-assisted weak-acid hydrolysis of crystalline starch nanoparticles for chemical enhanced oil

recovery. Int. J. Biol. Macromol. 148, 1251–1271. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.099

Ali, S.M., 2018. Fabrication of a nanocomposite from an agricultural waste and its application as a biosorbent for organic pollutants. Int. J. Environ. Sci. Technol. 15, 1169–1178. https://doi.org/10.1007/s13762-017-1477-x

Amine, M., Asafar, F., Bilali, L., Nadifiyine, M., 2019. Hydrochloric Acid Leaching Study of Rare Earth Elements from Moroccan Phosphate. J. Chem. 2019. https://doi.org/10.1155/2019/4675276

Bakkaloglu, I., Butter, T.J., Evison, L.M., Holland, F.S., Hancock, I.C., 1998. Screening of various types biomass for removal and recovery of heavy metals (Zn, Cu, Ni) by biosorption, sedimentation and desorption, w: Water Science and Technology. Elsevier Sci Ltd, ss. 269–277. https://doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00587-3

Bano, A., Hussain, J., Akbar, A., Mehmood, K., Anwar, M., Hasni, M.S., Ullah, S., Sajid, S., Ali, I., 2018. Biosorption of heavy metals by obligate halophilic fungi. Chemosphere 199, 218–222. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.043

Barber, W.P.F., 2016. Thermal hydrolysis for sewage treatment: A critical review. Water Res. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.07.069

Ben Hamad Bouhamed, S., Kechaou, N., 2017. Kinetic study of sulphuric acid hydrolysis of protein feathers. Bioprocess Biosyst. Eng. 40, 715–721. https://doi.org/10.1007/s00449-017-1737-7

Bergamann, W., 1986. Comments and Tables for Analytical Plants Diagnosis of Plant or Leaf Analysis, w: VEB Fischer Verlag.

Bhavsar, P., Zoccola, M., Patrucco, A., Montarsolo, A., Rovero, G., Tonin, C., 2017. Comparative study on the effects of superheated water and high temperature alkaline hydrolysis on wool keratin. Text. Res. J. 87, 1696–1705. https://doi.org/10.1177/0040517516658512

Bobrenko, I., Popova, V., Goman, N., Gaidar, A., 2020. Efficiency of Foliar Feeding with Zinc and Copper Chelates of Spring Soft Wheat in the Conditions of the Southern Forest-Steppe of the Omsk Irtysh Region. Atlantis Press, ss. 227–230. https://doi.org/10.2991/assehr.k.200113.175

Borkowska, B., Banach, D., 2018. ASSESSMENT OF SELECTED PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF WHEAT AND RYE FROM THE NORTHERN AND SOUTHERN REGION OF POLAND. Ann. Polish Assoc. Agric. Agribus. Econ. XX, 18–22.

https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7726

Campos, J.A., Peco, J.D., De Toro, J.A., Moreno, C., Amorós, J.A., Moreno, M.M., García-Noguero, E.M., Higueras, P., 2018. Approach to the potential usage of two wood ashes waste as soil amendments on the basis of the dehydrogenase activity and soil oxygen consumption. J. Soils Sediments 18, 2148–2156. https://doi.org/10.1007/s11368-017-1840-z

Chojnacka, K., 2010. Biosorption and bioaccumulation - the prospects for practical applications. Environ. Int. https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.12.001

Chojnacka, K., Chojnacki, A., Górecka, H., Górecki, H., 2005. Bioavailability of heavy metals from polluted soils to plants. Sci. Total Environ. 337, 175–182. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.06.009

Chojnacka, K., Moustakas, K., Witek-Krowiak, A., 2020. Bio-based fertilizers: A practical approach towards circular economy. Bioresour. Technol. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122223

Daneshvar, E., Zarrinmehr, M.J., Hashtjin, A.M., Farhadian, O., Bhatnagar, A., 2018. Versatile applications of freshwater and marine water microalgae in dairy wastewater treatment, lipid extraction and tetracycline biosorption. Bioresour. Technol. 268, 523–530. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.032

Diliberto, C., Meux, E., Diliberto, S., Garoux, L., Marcadier, E., Rizet, L., Lecomte, A., 2020. A zero-waste process for the management of MSWI fly ashes: production of ordinary Portland cement. Environ. Technol. (United Kingdom) 41, 1199–1208. https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1525434

dos Santos, A.C., Ximenes, E., Kim, Y., Ladisch, M.R., 2019. Lignin–Enzyme Interactions in the Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass. Trends Biotechnol. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.010

Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033. Ustawa o nawozach i nawożeniu, b.d.

Dziura, M., Gorzelany, J., Migut, D., Matłok, N., Belcar, J., 2017. Ocena parametrów fizyko - chemicznych ziarna pszenicy dostarczanej do skupu SR San w Głuchowie w latach 2015-2016 . Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego 3, 14–18.

Dzurenda, L., 2017. Influence of moisture content of combusted wood on the thermal efficiency of a boiler Introduction The efficiency of heat production from biofuels-wood depends , according. Arch. Thermodyn. 38, 63–74. https://doi.org/10.1515/aoter-2017-0004

Ebikade, E., Lym, J., Wittreich, G., Saha, B., Vlachos, D.G., 2018. Kinetic Studies of Acid

Hydrolysis of Food Waste-Derived Saccharides. Ind. Eng. Chem. Res. 57, 17365–17374. https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b04671

El-Hendawy, S.E., Al-Suhaibani, N.A., Elsayed, S., Hassan, W.M., Dewir, Y.H., Refay, Y., Abdella, K.A., 2019. Potential of the existing and novel spectral reflectance indices for estimating the leaf water status and grain yield of spring wheat exposed to different irrigation rates. Agric. Water Manag. 217, 356–373. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.03.006

El-Said, M.A.S., Mahdy, A.., 2018. Response of Two Wheat Cultivars to Foliar Application with Amino Acids under Low Levels of Nitrogen Fertilization. Middle East J. Agric. Res. 05, 462–472.

El-Taher, A., Khater, A.E.M., 2016. Elemental characterization of Hazm El-Jalamid phosphorite by instrumental neutron activation analysis. Appl. Radiat. Isot. 114, 121–127. https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2016.05.012

Esfandiari, E., Abdoli, M., 2016. Wheat biofortification through zinc foliar application and its effects on wheat quantitative and qualitative yields under zinc deficient stress. Yuz. Yil Univ. J. Agric. Sci. 26, 529–537. https://doi.org/10.29133/yyutbd.282759

Fareed, A., Zaidi, S.B.A., Ahmad, N., Hafeez, I., Ali, A., Ahmad, M.F., 2020. Use of agricultural waste ashes in asphalt binder and mixture: A sustainable solution to waste management. Constr. Build. Mater. 259, 120575. https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.120575

Gąsiorowski, H., 2005. Kukurydza. Cześć 1. Wiadomości ogólne. Przegląd Zbożowo-Młynarski 49, 31–33.

Grigatti, M., Cavani, L., di Biase, G., Ciavatta, C., 2019. Current and residual phosphorous availability from compost in a ryegrass pot test. Sci. Total Environ. 677, 250–262. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.349

Gu, J., Pei, W., Tang, S., Yan, F., Peng, Z., Huang, C., Yang, J., Yong, Q., 2020. Procuring biologically active galactomannans from spent coffee ground (SCG) by autohydrolysis and enzymatic hydrolysis. Int. J. Biol. Macromol. 149, 572–580. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.281

Hayes, M.A., Shor, A.C., Jesse, A., Miller, C., Kennedy, J.P., Feller, I., 2020. The role of glycine betaine in range expansions; protecting mangroves against extreme freeze events. J. Ecol. 108, 61–69. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13243

Hernández-Espinosa, N., Mondal, S., Autrique, E., Gonzalez-Santoyo, H., Crossa, J., Huerta-

Espino, J., Singh, R.P., Guzmán, C., 2018. Milling, processing and end-use quality traits of CIMMYT spring bread wheat germplasm under drought and heat stress. F. Crop. Res. 215, 104–112. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.10.003

Izydorczyk, G., Chojnacka, K., Kocek, D., Ligas, B., Witek-Krowiak, A., 2018. Technology for production of microelement fertilizers based on alfalfa and goldenrod. Przem. Chem. 97. https://doi.org/10.15199/62.2018.10.26

Izydorczyk, G., Ligas, B., Mikula, K., Witek-Krowiak, A., Moustakas, K., Chojnacka, K., 2021. Biofortification of edible plants with selenium and iodine – A systematic literature review. Sci. Total Environ. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141983

Izydorczyk, G., Sienkiewicz-Cholewa, U., Baśladyńska, S., Kocek, D., Mironiuk, M., Chojnacka, K., 2020a. New environmentally friendly bio-based micronutrient fertilizer by biosorption: From laboratory studies to the field. Sci. Total Environ. 710, 136061. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136061

Izydorczyk, G., Skrzypczak, D., Kocek, D., Mironiuk, M., Witek-Krowiak, A., Moustakas, K., Chojnacka, K., 2020b. Valorization of bio-based post-extraction residues of goldenrod and alfalfa as energy pellets. Energy 194, 116898. https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.116898

Jarecki, W.A., Buczek, J., Bobrecka-Jamro, D., 2017. Reakcja pszenicy jarej na zróżnicowane nawożenie doglebowe i dolistne. J. Cent. Eur. Agric. 18, 460–476. https://doi.org/10.5513/JCEA01/18.2.1919

Jayawardhane, S., Yapa, N., 2018. Potential of Microbial Solubilization of Rock Phosphate for Use in Sustainable Agriculture: Does Biochar Application Enhance Microbial Solubilization? J. Adv. Microbiol. 8, 1–8. https://doi.org/10.9734/jamb/2018/32544

Kahlaoui, B., Hachicha, M., Misle, E., Fidalgo, F., Teixeira, J., 2018. Physiological and biochemical responses to the exogenous application of proline of tomato plants irrigated with saline water. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 17, 17–23. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.12.002

Kalayu, G., 2019. Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. Int. J. Agron. https://doi.org/10.1155/2019/4917256

Kamble, M.G., Deokar, S.K., Mandavgane, S.A., 2017. Use of biomass ashes in agriculture with reference to farming practices in Vidarbha, Maharashtra, India. Curr. Sci. 113, 1384–1393. https://doi.org/10.18520/cs/v113/i07/1384-1393

Kataki, S., Hazarika, S., Baruah, D.C., 2017. Assessment of by-products of bioenergy systems

(anaerobic digestion and gasification) as potential crop nutrient. Waste Manag. 59, 102–117. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.018

Keler, V. V., Martynova, O. V., 2020. Variation of gluten amount in wheat grain under the influence of weather conditions, w: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing Ltd, s. 052014. https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/5/052014

Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, S., Jha, B., 2009. Kinetics , equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine Aspergillus niger. Chem. Eng. J. 145, 489–495. https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.05.002

Klikocka, H., Cybulska, M., Barczak, B., Narolski, B., Szostak, B., Kobiałka, A., Nowak, A., Wójcik, E., 2016. The effect of sulphur and nitrogen fertilization on grain yield and technological quality of spring wheat. Plant, Soil Environ. 62, 230–236. https://doi.org/10.17221/18/2016-PSE

Knežević, Desimir, Šekularac, Andrej, Torbica, Aleksandra, Živančev, Dragan, Tomić, Jelena, Šekularac, A, Torbica, A, Živančev, D, Tomić, J, Knežević, D, 2018. THE INFLUENCE OF WHEAT GENOTYPE AND ENVIRONMENTAL FACTORS ON GLUTEN INDEX AND THE POSSIBILITY OF ITS USE AS BREAD QUALITY PREDICTOR. Genetika 50, 85–93. https://doi.org/10.2298/GENSR1801085S

Kraiem, N., Lajili, M., Limousy, L., Said, R., Jeguirim, M., 2016. Energy recovery from Tunisian agri-food wastes : Evaluation of combustion performance and emissions characteristics of green pellets prepared from tomato residues and grape marc. Energy 107, 409–418. https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.04.037

Li, P., Lu, J., Hou, W., Pan, Y., Wang, Y., Khan, M.R., Ren, T., Cong, R., Li, X., 2017. Reducing nitrogen losses through ammonia volatilization and surface runoff to improve apparent nitrogen recovery of double cropping of late rice using controlled release urea. Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 11722–11733. https://doi.org/10.1007/s11356-017-8825-8

Ligas, B., Izydorczyk, G., Mironiuk, M., Kowalczyk, P., Witek-Krowiak, A., Chojnacka, K., 2018. New feed additives based on alfalfa and goldenrod biomass enriched with microelements by biosorption. Przem. Chem. 97. https://doi.org/10.15199/62.2018.12.26

Lin, Weiwei, Lin, M., Zhou, H., Wu, H., Li, Z., Lin, Wenxiong, 2019. The effects of chemical and organic fertilizer usage on rhizosphere soil in tea orchards. PLoS One 14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217018

Litwinek, D., Buksa, K., Gambuś, H., Kowalczyk, M., Boreczek, J., 2017. Ocena jakości handlowych mąk całoziarnowych – pszennej orkiszowej, pszennej zwyczajnej i żytniej

oraz uzyskanych z nich zakwasów spontanicznych. Zywn. Nauk. Technol. Jakosc/Food. Sci. Technol. Qual. 24, 76–89. https://doi.org/10.15193/zntj/2017/113/212

Liu, X., Selonen, V., Steffen, K., Surakka, M., Rantalainen, A.L., Romantschuk, M., Sinkkonen, A., 2019. Meat and bone meal as a novel biostimulation agent in hydrocarbon contaminated soils. Chemosphere 225, 574–578. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.053

Lu, Y., b.d. Using Gluten Index to Improve Spring Wheat Loaf Volume Prediction.

Maeda, N., Fukasawa, T., Katakura, T., Ito, M., Ishigami, T., Huang, A.N., Fukui, K., 2018. Existence Form of Potassium Components in Woody Biomass Combustion Ashes and Estimation Method of Its Enrichment Degree. Energy and Fuels 32, 517–524. https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b03090

Malalgoda, M., Ohm, J.-B., Meinhardt, S., Simsek, S., 2018. Association between gluten protein composition and breadmaking quality characteristics in historical and modern spring wheat. Cereal Chem. 95, 226–238. https://doi.org/10.1002/cche.10014

Maresca, A., Hyks, J., Astrup, T.F., 2017. Recirculation of biomass ashes onto forest soils: ash composition, mineralogy and leaching properties. Waste Manag. 70, 127–138. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.008

Marini, M., Caro, D., Thomsen, M., 2020. The new fertilizer regulation: A starting point for cadmium control in European arable soils? Sci. Total Environ. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140876

Matias, P.C., Mattiello, E.M., Santos, W.O., Badel, J.L., Alvarez V., V.H., 2019. Solubilization of a K-silicate rock by Acidithiobacillus thiooxidans. Miner. Eng. 132, 69–75. https://doi.org/10.1016/j.mineng.2018.11.050

Melash, A.A., Mengistu, D.K., Aberra, D.A., Tsegay, A., 2019. The influence of seeding rate and micronutrients foliar application on grain yield and quality traits and micronutrients of durum wheat. J. Cereal Sci. 85, 221–227. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.08.005

Melia, P.M., Cundy, A.B., Sohi, S.P., Hooda, P.S., Busquets, R., 2017. Trends in the recovery of phosphorus in bioavailable forms from wastewater. Chemosphere. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.089

Mellis, E.V., Casagrande, J.C., Soares, M.R., 2017. Nickel adsorption and desorption in an acric oxisol as a function of pH, ionic strength and incubation time. Ciência e Agrotecnologia 41, 32–41. https://doi.org/10.1590/1413-70542017411020116

Mendis, H.C., Thomas, V.P., Schwientek, P., Salamzade, R., Chien, J.-T., Waidyarathne, P.,

Kloepper, J., De La Fuente, L., 2018. Strain-specific quantification of root colonization by plant growth promoting rhizobacteria Bacillus firmus I-1582 and Bacillus amyloliquefaciens QST713 in non-sterile soil and field conditions. PLoS One 13, e0193119. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193119

Michalak, I., Chojnacka, K., 2008. The application of macroalga Pithophora varia Wille enriched with microelements by biosorption as biological feed supplement. J. Sci. ofFood Agric. 1186, 1178–1186. https://doi.org/10.1002/jsfa

Michalak, I., Godlewska, K., Marycz, K., 2019. Biomass Enriched with Minerals via Biosorption Process as a Potential Ingredient of Horse Feed. Waste and Biomass Valorization 10, 3403–3418. https://doi.org/10.1007/s12649-018-0351-5

Mieldažys, R., Jotautienė, E., Jasinskas, A., 2019. The Opportunities of Sustainable Biomass Ashes and Poultry Manure Recycling for Granulated Fertilizers. Sustainability 11, 4466. https://doi.org/10.3390/su11164466

Mierzwa-Hersztek, M., Gondek, K., Jewiarz, M., Dziedzic, K., 2019. Assessment of energy parameters of biomass and biochars, leachability of heavy metals and phytotoxicity of their ashes. J. Mater. Cycles Waste Manag. 21, 786–800. https://doi.org/10.1007/s10163-019-00832-6

Mikula, K., Izydorczyk, G., Skrzypczak, D., Mironiuk, M., Moustakas, K., Witek-Krowiak, A., Chojnacka, K., 2020. Controlled release micronutrient fertilizers for precision agriculture – A review. Sci. Total Environ. 712. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136365

Mohammadipour, N., Souri, M.K., 2019. Beneficial effects of glycine on growth and leaf nutrient concentrations of coriander (*Coriandrum sativum*) plants. J. Plant Nutr. 42, 1637–1644. https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1628985

Mohapatra, R.K., Parhi, P.K., Pandey, S., Bindhani, B.K., Thatoi, H., Panda, C.R., 2019. Active and passive biosorption of Pb(II)using live and dead biomass of marine bacterium Bacillus xiamenensis PbRPSD202: Kinetics and isotherm studies. J. Environ. Manage. 247, 121–134. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.073

Mukhtar, A., Mohr, V., Limbeck, A., 2015. The suitability of extraction solutions to assess bioaccessible trace metal fractions in airborne particulate matter: a comparison of common leaching agents. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 16620–16630. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4789-8

Muñoz-Pina, S., Amorós, P., Haskouri, J. El, Andrés, A., Ros-Lis, J. V., 2020. Use of Silica Based Materials as Modulators of the Lipase Catalyzed Hydrolysis of Fats under

Simulated Duodenal Conditions. Nanomaterials 10, 1927. https://doi.org/10.3390/nano10101927

Ngabura, M., Hussain, S.A., Ghani, W.A.W.A., Jami, M.S., Tan, Y.P., 2018. Utilization of renewable durian peels for biosorption of zinc from wastewater. J. Environ. Chem. Eng. 6, 2528–2539. https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.052

Noroozlo, Y.A., Souri, M.K., Delshad, M., 2019. Effects of foliar application of glycine and glutamine amino acids on growth and quality of sweet basil. Adv. Hortic. Sci. 33, 495–502.

Opaliński, I., Masłoń, A., Stachowicz, F., Wójcik, M., Trzepieciński, T., 2018. Possibility of recycling the biomass ashes in sewage sludge management. Arch. Environ. Prot. 44, 51–57. https://doi.org/10.24425/122290

Petersson, A., Thomsen, M.H., Hauggaard-nielsen, H., Thomsen, A., 2007. Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye , oilseed rape and faba bean. Biomass and Bioenergy 31, 812–819. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2007.06.001

PN–EN 13535. Nawozy i środki wapnujące – Klasyfikacja, 2002. . PKN.

Podraza, Z., Krupa-Żaczek, K., Wzorek, Z., 2011. TECHNOLOGIE OTRZYMYWANIA KWASU FOSFOROWEGO(V) . Czas. Tech. Tech. Trans. 185–196.

Portu, J., Santamaría, P., López, R., Garde-Cerdán, T., 2017. Phenolic composition of Tempranillo grapes following foliar applications of phenylalanine and urea: A two-year study. Sci. Hortic. (Amsterdam). 219, 191–199. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.03.014

Prakash, J., Arora, N.K., 2019. Phosphate-solubilizing Bacillus sp. enhances growth, phosphorus uptake and oil yield of Mentha arvensis L. 3 Biotech 9, 1–9. https://doi.org/10.1007/s13205-019-1660-5

Prashar, P., Shah, S., 2016. Impact of Fertilizers and Pesticides on Soil Microflora in Agriculture. Springer, Cham, ss. 331–361. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_8

Prieto-Sandoval, V., Jaca, C., Ormazabal, M., 2018. Towards a consensus on the circular economy. J. Clean. Prod. 179, 605–615. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.224

RACHOŃ, L., KROCHMAL-MARCZAK, B., CEBULAK, T., 2020. Przydatność ziarna jarej pszenicy zwyczajnej, twardej i orkiszowej do produkcji pieczywa w zależności od intensywności technologii produkcji. Agron. Sci. 75, 25–36. https://doi.org/10.24326/as.2020.2.2

Rangabhashiyam, S., Lata, S., Balasubramanian, P., 2018. Biosorption characteristics of methylene blue and malachite green from simulated wastewater onto Carica papaya wood biosorbent. Surfaces and Interfaces 10, 197–215. https://doi.org/10.1016/j.surfin.2017.09.011

Rasaei, A., Jalali-Honarmand, S., Saeidi, M., Ghobadi M.E., Khanizadeh, S., 2017. Wheat grain quality and its relationship with plant growth regulators. Pakistan J. Agric. Sci. 54, 123–127.

Reham, M.S., Khattab, M.E., Ahmed, S.S., Kandil, M.A.M., 2016. Influence of foliar spray with phenylalanine and nickel on growth, yield quality and chemical composition of genoveser basil plant. African J. Agric. Res. 11, 1398–1410. https://doi.org/10.5897/ajar2015.10699

Reichardt, A.V., Lebedev, S.V., 2018. Conservation law of plants' energy value dependence of plants' need in nutrients on biochemical composition. J. Fundam. Appl. Sci. 9, 1329. https://doi.org/10.4314/jfas.v9i2s.847

Rey-Salgueiro, L., Omil, B., Merino, A., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., 2016. Organic pollutants profiling of wood ashes from biomass power plants linked to the ash characteristics. Sci. Total Environ. 544, 535–543. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.134

Ribeiro, V.P., Marriel, I.E., Sousa, S.M. de, Lana, U.G. de P., Mattos, B.B., Oliveira, C.A. de, Gomes, E.A., 2018. Endophytic Bacillus strains enhance pearl millet growth and nutrient uptake under low-P. Brazilian J. Microbiol. 49, 40–46. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.005

Rolewicz, M., Rusek, P., Borowik, K., 2018. Obtaining of granular fertilizers based on ashes from combustion of waste residues and ground bones using phosphorous solubilization by bacteria Bacillus megaterium. J. Environ. Manage. 216, 128–132. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.05.004

Różyło, R., Dziki, D., Laskowski, J., 2010. The influence of flour gluten content on physical properties of bread baked from dough with different yield. Acta Agroph. 15, 383–394.

Saeid, A., 2019. Phosphorus Microbial Solubilization as a Key for Phosphorus Recycling in Agriculture, w: Phosphorus - Recovery and Recycling. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.81487

Saeid, A., Prochownik, E., Dobrowolska-Iwanek, J., 2018. Phosphorus solubilization by Bacillus species. Molecules 23, 2897. https://doi.org/10.3390/molecules23112897

Samoraj, M., Tuhy, Ł., Rusek, P., Rój, E., Chojnacka, K., 2016. Pilot plant conversion of blackcurrant seeds into new micronutrient fertilizer biocomponents via biosorption. BioResources 11, 400–413. https://doi.org/10.15376/biores.11.1.400-413

Santamaría Vanegas, J., Rozo Torres, G., Barreto Campos, B., 2019. Characterization of a κ-Carrageenan Hydrogel and its Evaluation as a Coating Material for Fertilizers. J. Polym. Environ. 27, 774–783. https://doi.org/10.1007/s10924-019-01384-4

Schroeder, P., Anggraeni, K., Weber, U., 2019. The Relevance of Circular Economy Practices to the Sustainable Development Goals. J. Ind. Ecol. 23, 77–95. https://doi.org/10.1111/jiec.12732

Sekhar, K.C., Kamala, C.T., Chary, N.S., Anjaneyulu, Y., 2003. Removal of heavy metals using a plant biomass with reference to environmental control. Int. J. Miner. Process. 68, 37–45.

Semerci, N., Kunt, B., Calli, B., 2019. Phosphorus recovery from sewage sludge ash with bioleaching and electrodialysis. Int. Biodeterior. Biodegrad. 144, 104739. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104739

Sharma, G., Ahmed, H.M.A., Zilm, P.S., Rossi-Fedele, G., 2018. Antimicrobial properties of calcium hydroxide dressing when used for long-term application: A systematic review. Aust. Endod. J. 44, 60–65. https://doi.org/10.1111/aej.12216

Shi, C., Li, T., Huang, J., Khan, I.A., Huang, M., Zhou, G., 2019. Effect of processing conditions and simulated gastrointestinal digestion on the activity of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from duck meat hydrolysate. CyTA - J. Food 17, 393–399. https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1575909

Siddique, K.H.M., Li, X., Gruber, K., 2021. Rediscovering Asia's forgotten crops to fight chronic and hidden hunger. Nat. Plants 7, 116–122. https://doi.org/10.1038/s41477-021-00850-z

Silveira, M.L., O'Connor, G.A., Lu, Y., Erickson, J.E., Brandani, C., Kohmann, M.M., 2019. Runoff and Leachate Phosphorus and Nitrogen Losses from Grass- Vegetated Soil Boxes Amended with Biosolids and Fertilizer. J. Environ. Qual. 48, 1498–1506. https://doi.org/10.2134/jeq2019.03.0106

Smol, M., Adam, C., Kugler, S.A., 2020. Thermochemical treatment of Sewage Sludge Ash (SSA)-potential and perspective in Poland. Energies 13, 5461. https://doi.org/10.3390/en13205461

Sobczyk, A., Jaworska, G., Pycia, K., 2018. Charakterystyka porównawcza wartości technologicznej ziarna starych odmian i nowych rodów orkiszu (Triticum Spelta L.) oraz

ziarna pszenicy zwyczajnej (Triticum Vulgare). Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol. 589, 81–91. https://doi.org/10.22630/zppnr.2017.589.23

Someus, E., Pugliese, M., 2018. Concentrated phosphorus recovery from food grade animal bones. Sustain. 10. https://doi.org/10.3390/su10072349

Staroń, P., Banach, M., Kowalski, Z., 2011. Keratyna – źródła, właściwości, zastosowanie. CHEMIK 65, 1019–1026.

Stomph, T.J., Jiang, W., Van Der Putten, P.E.L., Struik, P.C., 2014. Zinc allocation and re-allocation in rice. Front. Plant Sci. 5. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00008

Sultana, S., Naser, H., Akhter, S., Begum, R., 2016. Effectiveness of soil and foliar applications of zinc and boron on the yield of tomato. Bangladesh J. Agric. Res. 41, 411–418. https://doi.org/10.3329/bjar.v41i3.29712

Sun, R., Dsouza, M., Gilbert, J.A., Guo, X., Wang, D., Guo, Z., Ni, Y., Chu, H., 2016. Fungal community composition in soils subjected to long-term chemical fertilization is most influenced by the type of organic matter. Environ. Microbiol. 18, 5137–5150. https://doi.org/10.1111/1462-2920.13512

Svensson, K., Kjørlaug, O., Higgins, M.J., Linjordet, R., Horn, S.J., 2018. Post-anaerobic digestion thermal hydrolysis of sewage sludge and food waste: Effect on methane yields, dewaterability and solids reduction. Water Res. 132, 158–166. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.008

Symanowicz, B., Becher, M., Jaremko, D., Skwarek, K., 2018. Possibilities for the use of wood ashes in agriculture. J. Ecol. Eng. 19, 191–196. https://doi.org/10.12911/22998993/86156

Tan, X., Qi, L., Fan, F., Guo, Z., Wang, Z., Song, W., Du, M., 2018. Analysis of volatile compounds and nutritional properties of enzymatic hydrolysate of protein from cod bone. Food Chem. 264, 350–357. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.034

Taner, A., Öztekin, Y., Tekgüler, A., Sauk, H., Duran, H., 2018. Classification of Varieties of Grain Species by Artificial Neural Networks. Agronomy 8, 123. https://doi.org/10.3390/agronomy8070123

Teng, N., Ni, J., Chen, H., Ren, Q., Na, H., Liu, X., Zhang, R., Zhu, J., 2016. Initiating Highly Effective Hydrolysis of Regenerated Cellulose by Controlling Transition of Crystal Form with Sulfolane under Microwave Radiation. ACS Sustain. Chem. Eng. 4, 1507–1511. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b01464

Tsegaye, B., Balomajumder, C., Roy, P., 2018. Biodelignification and hydrolysis of rice straw by novel bacteria isolated from wood feeding termite. 3 Biotech 8, 1–11.

https://doi.org/10.1007/s13205-018-1471-0

Tuhy, Ł., Samoraj, M., Baśladyńska, S., Chojnacka, K., 2015a. New micronutrient fertilizer biocomponents based on seaweed biomass. Polish J. Environ. Stud. 24, 2213–2221. https://doi.org/10.15244/pjoes/39552

Tuhy, Ł., Samoraj, M., Michalak, I., Chojnacka, K., 2014. The Application of Biosorption for Production of Micronutrient Fertilizers Based on Waste Biomass. Appl. Biochem. Biotechnol. 174, 1376–1392. https://doi.org/10.1007/s12010-014-1074-0

Tuhy, Ł., Samoraj, M., Witkowska, Z., Chojnacka, K., 2015b. Biofortification of maize with micronutrients by Spirulina. Open Chem. 13, 1119–1126. https://doi.org/10.1515/chem-2015-0126

Volesky, B., Schiewer, S., 2002. Biosorption, Metals, w: Encyclopedia of Bioprocess Technology. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. https://doi.org/10.1002/0471250589.ebt036

Wei, Y., Li, J., Shi, D., Liu, G., Zhao, Y., Shimaoka, T., 2017. Resources , Conservation and Recycling Environmental challenges impeding the composting of biodegradable municipal solid waste : A critical review. "Resources, Conserv. Recycl. 122, 51–65. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.01.024

Weinroth, M.D., Britton, B.C., McCullough, K.R., Martin, J.N., Geornaras, I., Knight, R., Belk, K.E., Metcalf, J.L., 2019. Ground beef microbiome changes with antimicrobial decontamination interventions and product storage. PLoS One 14, e0217947. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217947

Widnyana, I.K., Javandira, C., 2016. Activities Pseudomonas spp. and Bacillus sp. to Stimulate Germination and Seedling Growth of Tomato Plants. Agric. Agric. Sci. Procedia 9, 419–423. https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.158

Woźniak, A., Rachoń, L., 2020. Effect of Tillage Systems on the Yield and Quality of Winter Wheat Grain and Soil Properties. Agriculture 10, 405. https://doi.org/10.3390/agriculture10090405

Wyciszkiewicz, M., Saeid, A., Górecki, H., Chojnacka, K., 2015. New generation of phosphate fertilizer from bones, produced by bacteria. Open Chem. 13, 951–958. https://doi.org/10.1515/chem-2015-0113

Wykaz nawozów i środków poprawiających właściwości gleby zakwalifikowanych do stosowania w rolnictwie ekologicznym, 2020. . Inst. Uprawy, Nawożenia i Glebozawstwa w Puławach.

Wyzińska, M., Sułek, A., 2017. Uprawa, znaczenie i wykorzystanie pszenicy twardej, w: Analiza, produkcja i zastosowanie substancji oraz komponentów pochodzenia roślinnego. ss. 240–249.

Xiao, Z., Yuan, X., Jiang, L., Chen, X., Li, H., 2015. Energy recovery and secondary pollutant emission from the combustion of co-pelletized fuel from municipal sewage sludge and wood sawdust. Energy 91, 441–450. https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.08.077

Zalecenia nawozowe, cz. I. Liczby graniczne do wyceny zawartości w glebach makro- i mikroelementów., 1990. , IUNG Puławy.

Zhenling, Z.G., Peng, S., Ao Bingkai, Z.H., Ong Shuhong, D., 2017. Research Progress on Harmless Treatment of Dead Livestock and Poultry with Alkaline Hydrolysis in China. Anim. Husb. Feed Sci. 9, 346–348. https://doi.org/10.19578/j

Zink, T., Geyer, R., 2017. Circular Economy Rebound. J. Ind. Ecol. 21, 593–602. https://doi.org/10.1111/jiec.12545

Zouari, M., Ben Ahmed, C., Elloumi, N., Bellassoued, K., Delmail, D., Labrousse, P., Ben Abdallah, F., Ben Rouina, B., 2016. Impact of proline application on cadmium accumulation, mineral nutrition and enzymatic antioxidant defense system of Olea europaea L. cv Chemlali exposed to cadmium stress. Ecotoxicol. Environ. Saf. 128, 195–205. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.02.024

9. Spis symboli i skrótów

Symbole:

EF	**E**nrichment **F**actor – współczynnik wzbogacenia	-
C_{FB}	zawartość fosforu rozpuszczonego w bulionie pohodowlanym	mg/kg
C_{FC}	całkowita zawartość fosforu wprowadzona wraz z surowcem	mg/kg
C_{FG}	zawartość fosforu w glebie	mg/kg
C_{FR}	zawartość fosforu w roślinie	mg/kg
C_k	zawartość mikroelementu w grupie kontrolnej	mg/kg
C_n	zawartość jonu mikroelementu w biomasie niewzbogaconej	mg/kg
C_w	zawartość jonu mikroelementu w biomasie wzbogaconej	mg/kg
C_x	zawartość mikroelementu w grupie badawczej	mg/kg
D_m	dawka mikroelementu	mg
m_g	masa gleby	g
m_S	sucha masa	g
SF	**S**olubilization **F**actor – współczynnik solubilizacji	%
TF	**T**ransfer **F**actor - współczynnik transferu	%

TFP	**T**ransfer **F**actor of **P**hosphorus – współczynnik transferu fosforu	%

Skróty:

*<LOD – **L**imit **O**f **D**etection – niższe od poziomu detekcji*
*AAS – **A**tomic **A**bsorption **S**pectrometry – technika atomowej spektrometrii absorpcyjnej*
*ARiMR – **A**gencja **R**estrukturyzacji i **M**odernizacji **R**olnictwa*
*B. – **B**acillus*
*BBCH – Biologische **B**undesanstalt, **B**undessortenamt und **CH**emische Industrie – faza wzrostu rośliny*
*BHP – **B**ezpieczeństwo i **H**igiena **P**racy*
*BSE - **B**ovine **S**pongiform **E**ncephalopathy - Gąbczasta encefalopatia bydła*
*DZ.U. – **D**ziennik **U**staw*
*GC – **G**ospodarka **C**yrkularna*
*GOZ - **G**ospodarka o **O**biegu **Z**amkniętym*
*ICP-OES - **I**nductively **C**oupled **P**lasma **O**ptical **E**mission **S**pectrometry - Technika atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej*
*IFA - **I**nternational **F**ertilizer Industry **A**ssociation - Międzynarodowe Stowarzyszenie Przemysłu Nawozowego*
*INS – **I**nstrytut **N**owych **S**yntez Chemicznych w Puławach*
*ISO – **I**nternational **O**rganization for **S**tandarization – Międzynaraodowa Organizacja Normalizacyjna*
*Jtk – **J**ednostki **t**worzące **k**olonie*
*MMK – **M**ączka **M**ięsno-**k**ostna*
*MTZ – **M**asa **T**ysiąca **Z**iaren*
*NPK – nawozy zawierające azot (**N**), fosfor (**P**), potas (**K**)*
*OD – **O**ptical **D**ensity – zmętnienie*
*PGPR- **P**lant **G**rowth **P**romoting **R**hizobacteria – bakterie stymulujące wzrost roślin*
*PN-EN – **P**olska **N**orma wprowadzająca Normę Europejską*
*Poz. – **Poz**ycja*
*s.m – **s**ucha **m**asa*
*SD – **S**tandard **D**eviation – odchylenie standardowe*
spp. – species - gatunki
Std. – standardowy
*TC - **T**hermal **C**onductivity*
*TCD - **T**hermal **C**onductivity **D**etector – detector konduktometryczny*
*TRL – **T**echnology **R**eadiness **L**evel – poziom gotowości technologicznej*
*UE – **U**nia **E**uropejska*

10. Spis rysunków

Rys. 1. *Model interakcji występujących w GOZ (opracowanie własne)*
Rys. 2. *Zestawienie nawozów dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym (opracowanie własne)*

Rys. 3. *Biomasa użyta w procesie biosorpcji: lucerna (A), nawłoć (B)*
Rys. 4. *Wtórne surowce fosforowe wykorzystane do badań (od lewej: popiół ze spalania osadów ściekowych, rozdrobnione kości indyka)*
Rys. 5. *Bioreaktor Biotron.*
Rys. 6. *Reaktor do hydrolizy kwasowej*
Rys. 7. *Biodostępność mikroelementów w nawozach bazujących na biomasie lucerny i nawłoci*
Rys. 8*. Dokumentacja fotograficzna z przeprowadzonych badań.*
Rys. 9. *Wpływ stężenia całkowitego P_2O_5 (zawartego w surowcu) w hodowli różnych szczepów bakterii z rodzaju Bacillus sp. na stężenie rozpuszczalnego fosforu w hodowli z wykorzystaniem różnych surowców odnawialnych (a) kości, b) ości, c) popioły)*
Rys. 10. *Wpływ stężenia całkowitego P_2O_5 z poszczególnych fosforowych surowców odnawialnych: a) kości, b) ości, c) popioły, na współczynnik solubilizacji SF (zgodnie z równaniem 2)*
Rys. 11. *Krzywe kinetyki solubilizacji kości (dawka 200%) z wyróżnieniem zmian form fosforu w trakcie trwania procesu z użyciem: a) B. megaterium, b) B. cereus, c) B. subtilis, d) B. thuringiensis*
Rys. 12. *Współczynnik solubilizacji P_2O_5 otrzymany dla różnych konsorcjów z zastosowaniem różnych źródeł fosforu*
Rys. 13. *Wykres zależności długości łodygi od zastosowanej dawki nawozu*
Rys. 14. *Wykres zależności zawartości chlorofilu od zastosowanej dawki nawozu*
Rys. 15. *Wykres zależności suchej masy siewek od zastosowanej dawki nawozu*
Rys. 16. *Wykres zależności średniej świeżej masy siewki od zastosowanej dawki nawozu*
Rys. 17. *Testy kiełkowania w 1 dniu*
Rys. 18. *Testy kiełkowania w 14 dniu*
Rys. 19. *System korzeniowy roślin Grupy 6 – nasiona zaprawiane bionawozem*
Rys. 20. *Chromatogram analizy zawartości aminokwasów*
Rys. 21. *Posiewy powierzchniowe hydrolizatu*
Rys. 22. *Plonowanie pszenicy jarej – różnice pomiędzy grupami (1-preparat komercyjny, 2-zneutralizowany hydrolizat, 3- zneutralizowany hydrolizat z mikroelementami)*
Rys. 23. *Węzeł produkcyjny nawozów mikroelementowych metodą biosorpcji*
Rys. 24. *Wykres Sankeya dla procesu wzbogacania biomasy w jony Cu^{2+}*
Rys. 25. *Wykres Sankeya dla procesu wzbogacania biomasy w jony Mn^{2+}*
Rys. 26. *Wykres Sankeya dla procesu wzbogacania biomasy w jony Zn^{2+}*
Rys. 27. *Węzeł produkcyjny nawozów fosforowych metodą solubilizacji chemicznej*
Rys. 28. *Wykres Sankeya dla solubilizacji mikrobiologicznej*
Rys. 29. *Węzeł produkcyjny nawozów wieloskładnikowych metodą solubilizacji chemicznej*
Rys. 30. *Wykres Sankeya dla produkcji nawozu zawiesinowego*
Rys. 31. *Wykres Sankeya dla produkcji nawozu płynnego poprzez oddzielenie K_2SO_4*
Rys. 32. *Wykres Sankeya dla produkcji nawozu płynnego wzbogaconego w mikroelementy, wraz z oddzieleniem K_2SO_4*

11. Spis tabel

Tab. 1. *Minimalne zawartości składników pokarmowych w nawozach (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033. Ustawa o nawozach i nawożeniu)*
Tab. 2. *Maksymalne zawartości metali ciężkich w nawozach (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033. Ustawa o nawozach i nawożeniu)*
Tab. 3*. Cele szczegółowe rozprawy doktorskiej*
Tab. 4. *Odczynniki wykorzystywane w realizacji doświadczeń*
Tab. 5. *Parametry procesu biosorpcji*
Tab. 6. *Wyniki wzbogacenia biomasy*
Tab. 7. *Wyniki pomiarów biometrycznych siewek ogórka*
Tab. 8. *Zawartość pierwiastków w suchej masie kiełków ogórka*
Tab. 9. *Współczynnik transferu mikroelementów z nawozów*
Tab. 10 . *Obiekty i dawki nawozowe*
Tab. 11 . *Układ losowanych bloków*
Tab. 12*. Analiza gleby doświadczalnej*
Tab. 13. *Zawartość składników pokarmowych w liściach podkolbowych*
Tab. 14. *Plonowanie kukurydzy*
Tab. 15. *Plonowanie kukurydzy*
Tab. 16. *Zawartość składników pokarmowych w ziarnie kukurydzy*
Tab. 17. *Charakterystyka odnawialnych surowców fosforowych.*
Tab. 18. *Popioły z osadów ściekowych – zawartość fosforu oraz roczna produkcja*
Tab.19. *Maksymalne stężenie P_2O_5 w roztworze (mg/dm^3) i stopień solubilizacji (%)*
Tab. 20. *Maksymalne stężenie P_2O_5 otrzymane dla różnych konsorcjów z zastosowaniem różnych źródeł fosforu. Kolor zielony w poszczególnych komórkach przedstawia wartość z komórki w odniesieniu do całego zbioru danych*
Tab. 21. *Maksymalne zmętnienie (OD 620) otrzymane dla różnych konsorcjów z zastosowaniem różnych źródeł fosforu*
Tab. 22. *Właściwości fizykochemiczne bionawozu fosforowego metodą solubilizacji mikrobiologicznej*
Tab. 23. *Wyniki testów kiełkowania dla doboru dawki nawozu (N=4)*
Tab. 24*. Wyniki właściwych testów kiełkowania (N=4)*
Tab. 25. *Wyniki testów wazonowych (N=4)*
Tab. 26. *Frakcje fosforu w glebie przed i po badaniach wazonowych*
Tab. 27. *Współczynnik biodostępności fosforu w glebie*
Tab. 28. *Właściwości fizykochemiczne nawozu wieloskładnikowego otrzymanego metodą hydrolizy*
Tab. 29. *Zawartość aminokwasów w nawozie bazującym na odpadowej biomasie zwierzęcej*
Tab. 30. *Plonowanie pszenicy*
Tab. 31. *Skład pierwiastkowy ziarna pszenicy jarej*
Tab. 32. *Ocena właściwości piekarniczych pszenicy jarej*
Tab. 33. *Analiza kosztów procesu wzbogacania 100 kg biomasy*
Tab. 34. *Bilans kosztów i zysków produkcji nawozów metodą biosorpcji*
Tab. 35. *Analiza kosztów procesu otrzymywania solubilizatu mikrobiologicznego*

Tab. 36. *Bilans kosztów i zysków produkcji nawozów metodą solubilizacji chemicznej*
Tab. 37. *Analiza kosztów procesu otrzymywania nawozu metodą hydrolizy kwasowej*
Tab. 38. *Bilans kosztów i zysków produkcji nawozu metodą hydrolizy kwasowej*

12. Dorobek naukowy

I. Wykaz publikacji z listy filadelfijskiej:

1. **Grzegorz K. Izydorczyk**, Urszula Sienkiewicz-Cholewa*, Sylwia B. Baśladyńska, Daria K. Kocek, Małgorzata M. Mironiuk, Katarzyna Chojnacka, *New environmentally friendly bio-based micronutrient fertilizer by biosorption: from laboratory studies to the field*. Science of the Total Environment. 2020, vol. 710, art. 136061, s. 1-50, **IF: 06.551, Punktacja MNiSW: 200.**

2. **Grzegorz K. Izydorczyk**, Dawid S. Skrzypczak, Daria K. Kocek, Małgorzata M. Mironiuk, Anna Witek-Krowiak, Konstantinos Moustakas, Katarzyna Chojnacka, *Valorization of bio-based post-extraction residues of goldenrod and alfalfa as energy pellets*. Energy. 2020, vol. 194, art. 116898, s. 1-47, **IF: 06.082, Punktacja MNiSW: 200**

3. Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Dawid S. Skrzypczak, Konstantinos Moustakas, Anna Witek-Krowiak, Katarzyna Chojnacka, *Value-added strategies for the sustainable handling, disposal, or value-added use of copper smelter and refinery wastes.* Journal of Hazardous Materials. 2021, vol. 403, art. 123602, s. 1-13, **IF: 09.038, Punktacja MNiSW: 200**

4. Katarzyna Mikula, Dawid S. Skrzypczak, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Jolanta K. Warchoł, Konstantinos Moustakas, Katarzyna Chojnacka, Anna Witek-Krowiak, *3D printing filament as a second life of waste plastics—a review*. Environmental Science and Pollution Research. 2021, vol. 28, s. 12321-12333, **IF: 03.056, Punktacja MNiSW: 70**

5. **Grzegorz K. Izydorczyk**, Bartosz Ligas, Katarzyna Mikula, Anna Witek-Krowiak, Konstantinos Moustakas, Katarzyna Chojnacka, *Biofortification of edible plants with selenium and iodine – a systematic literature review.* Science of the Total Environment. 2021, vol. 754, art. 141983, s. 1-15, **IF: 06.551, Punktacja MNiSW: 200.**

6. Claver Numviyimana, Jolanta K. Warchoł, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Sylwia B. Baśladyńska, Katarzyna Chojnacka, *Struvite production from dairy processing wastewater: optimizing reaction conditions and effects of foreign ions through multi-response experimental models*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 2021, vol. 117, s. 182-189, **IF: 04.794, Punktacja MNiSW: 100.**

7. **Grzegorz K. Izydorczyk**, Katarzyna Mikula, Dawid S. Skrzypczak, Konstantinos Moustakas, Anna Witek-Krowiak, Katarzyna Chojnacka, *Potential environmental pollution from copper metallurgy and methods of management.* Environmental Research. 2021, vol. 197, art. 11050, s 1-11, **IF: 05.715, Punktacja MNiSW: 100.**

8. Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Dawid S. Skrzypczak, Małgorzata M. Mironiuk, Konstantinos Moustakas, Anna Witek-Krowiak, Katarzyna Chojnacka, *Controlled release micronutrient fertilizers for precision agriculture – a review*. Science of the Total Environment. 2020, vol. 712, art. 136365, s. 1-9, **IF: 06.551, Punktacja MNiSW: 200.**

9. Paulina K. Kowalczyk, Bartosz Ligas, Dawid S. Skrzypczak, Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Anna Witek-Krowiak, Konstantinos Moustakas, Katarzyna Chojnacka, *Biosorption as a method of biowaste valorization to feed additives: RSM optimization*. Environmental Pollution. 2020, art. 115937, s. 1-49, **IF: 06.792, Punktacja MNiSW: 100.**

10. **Grzegorz K. Izydorczyk**, Małgorzata M. Mironiuk, Sylwia B. Baśladyńska, Marcin Mikulewicz, Katarzyna Chojnacka, *Hair mineral analysis in the population of students living in the Lower Silesia region (Poland) in 2019: comparison with biomonitoring study in 2009 and literature data*. Environmental Research. 2020, art. 110441, s. 1-36, **IF: 05.715, Punktacja MNiSW: 100.**

11. **Grzegorz K. Izydorczyk**, Katarzyna Chojnacka, Daria K. Kocek, Bartosz Ligas, Anna Witek-Krowiak, *Technologia wytwarzania nawozów mikroelementowych na bazie lucerny i nawłoci.* Przemysł Chemiczny. 2018, t. 97, nr 10, s. 1764-1768, **IF: 00.428, Punktacja MNiSW: 15.**

12. Bartosz Ligas, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Małgorzata M. Mironiuk, Paulina K. Kowalczyk, Anna Witek-Krowiak, Katarzyna Chojnacka, *Nowe dodatki paszowe na bazie lucerny i nawłoci wzbogacone w mikroelementy metodą biosorpcji*. Przemysł Chemiczny. 2018, t. 97, nr 12, s. 2141-2144, **IF: 00.428, Punktacja MNiSW: 15.**

II. Rozdział w monografii:

1.Dawid S. Skrzypczak, Katarzyna Mikula, Daria K. Kocek, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Rafał Taf, Anna Witek-Krowiak, Adsorption of phosphates on modified eggshells – batch and fixed-bed column process. W: Practical aspects of chemical engineering : selected contributions from PAIC 2019 Eds. Marek Ochowiak [i in]. Cham : Springer, cop. 2020. S. 412-422.

III. Zgłoszenia patentowe:

1.Katarzyna Chojnacka, Anna Witek-Krowiak, Dawid S. Skrzypczak, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Katarzyna Mikula, Bartosz Ligas, *Kompozycja do otoczkowania nasion oraz sposób otoczkowania nasion.* Zgłosz. pat. nr P 437118 z 25.02.2021. 5 s.

2.Katarzyna Chojnacka, Anna Witek-Krowiak, Dawid S. Skrzypczak, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Katarzyna Mikula, Piotr Młynarz, *Sposób biofortyfikacji owoców pomidora*. Zgłosz. pat. nr P 437166 z 01.03.2021. 4 s.

3.Katarzyna Chojnacka, Piotr Młynarz, Anna Witek-Krowiak, Dawid S. Skrzypczak, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Katarzyna Mikula, Mateusz Gramza, *Sposób wytwarzania formulacji zawierającej aminokwasy i jej zastosowanie*. Zgłosz. pat. nr P 437262 z 10.03.2021. 9 s.

4.Katarzyna Chojnacka, Dawid S. Skrzypczak, Mariusz Korczyński*, Anna Witek-Krowiak, Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, *Biopreparation to stimulate plant growth and its production*. Zgłosz. pat. nr P 434435 z 24.06.2020. 9 s.

5. Katarzyna Chojnacka, Mateusz Gramza, Mariusz Korczyński, Anna Witek-Krowiak, Dawid S. Skrzypczak, Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, *Method of fertilizer preparation*. Zgłosz. pat. nr P 433987 z 18.05.2020. 14 s.

6. Katarzyna Chojnacka, Anna Witek-Krowiak, Dawid S. Skrzypczak, Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Małgorzata M. Mironiuk, *Sposób wytwarzania hydrożelowych nawozów NPK na bazie alginianu sodu oraz soli*. Zgłosz. pat. nr P 432395 z 24.12.2019. 10 s.

7.Katarzyna Chojnacka, Anna Witek-Krowiak, Dawid S. Skrzypczak, Katarzyna Mikula, **Grzegorz K. Izydorczyk**, Małgorzata M. Mironiuk, *Sposób otrzymywania biodegradowalnej otoczki do powlekania granul nawozowych*. Zgłosz. pat. nr P 432402 z 24.12.2019. 8 s.