

INTERDYSCYPLINARNE ZAGADNIENIA W INŻYNIERII I OCHRONIE ŚRODOWISKA



7



Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej

INTERDYSCYPLINARNE ZAGADNIENIA
W INŻYNIERII I OCHRONIE ŚRODOWISKA

7

*Praca zbiorowa pod redakcją
Małgorzaty Kutyłowskiej, Agnieszki Trusz-Zdybek
i Jacka Wiśniewskiego*



Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej
Wrocław 2016

Recenzenci

Michał BODZEK, Małgorzata KABSCHE-KORBUTOWICZ, Krystyna KONIECZNY,
Katarzyna MAJEWSKA-NOWAK, Michał MAŃCZAK, Katarzyna PIEKARSKA,
Izabela SÓWKA, Teodora TRACZEWSKA, Jacek WIŚNIEWSKI

Redakcja techniczna

Bartosz KAŻMIERCZAK,
Małgorzata KUTYŁOWSKA,
Agnieszka TRUSZ-ZDYBEK

Projekt okładki

Bartosz KAŻMIERCZAK

Wydrukowano na podstawie dostarczonych materiałów

Wszelkie prawa zastrzeżone. Żadna część niniejszej książki, zarówno w całości, jak i we fragmentach, nie może być reprodukowana w sposób elektroniczny, fotograficzny i inny bez zgody wydawcy i właścicieli praw autorskich.

© Copyright by Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2016

OFICyna WYDAWNICZA POLITECHNIKI WROCLAWSKIEJ

Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

<http://www.oficyna.pwr.edu.pl>

e-mail: oficwyd@pwr.edu.pl

zamawianie.ksiazek@pwr.edu.pl

ISBN 978-83-7493-943-0

SPIS RZECZY

M. K. BELCIK, K. PIEKARSKA, Zastosowanie testu kometowego do oceny genotoksyczności pyłu zawieszonego.....	5
K. CIEŚLIŃSKA, A. SKALSKA, D. CISZEK, J. KRZYŻAK, M. POGRZEBA, Mikoryza arbuskularna wybranych gatunków roślin energetycznych uprawianych na terenie zanieczyszczonym metalami ciężkimi.....	13
D. DOMARADZKA, U. GUZIK, D. WOJCIESZYŃSKA, Naproksen – trudno degradowany lek przeciwbólny i jego biotransformacja przez <i>Bacillus</i> sp. B1(2015b).....	29
A. GAYER, D. MUCHA, Narażenie na zanieczyszczenia pyłowe powietrza w trakcie uprawiania aktywności fizycznej w środowisku miejskim – badania wstępne.....	40
M. GRZEGORZEK, K. MAJEWSKA-NOWAK, Zastosowanie procesów membranowych do usuwania arsenu ze środowiska wodnego	48
A. GRZELKA, I. SÓWKA, Ocena udziału źródeł powierzchniowych w całkowitej emisji odorów emitowanych podczas wybranych procesów produkcji cukru	60
L. JAŁOWIECKI, J. CHOJNIAK, G. PŁAZA, Analiza antybiotykooporności w bakteryjnych szczepach środowiskowych.....	69
T. KIEŁBASA, Dezodoryzacja gazów odlotowych emitowanych na terenie oczyszczalni ścieków metodą fotokatalitycznego utleniania	78
A. KLIMONDA, I. KOWALSKA, Zastosowanie technik membranowych do odsalania wód kopalnianych	86
A. MARCHLEWICZ, U. GUZIK, D. WOJCIESZYŃSKA, Wpływ dwuwartościowych jonów kadmu na dynamikę rozkładu ibuprofenu przez szczep <i>Bacillus</i> sp. B1(2015b).....	98
S. MIODOŃSKI, M. MUSZYŃSKI-HUHAJŁO, Ocena możliwości wykorzystania mechanicznie zagęszczonego osadu nadmiernego do rozruchu procesu skróconej nitrifikacji. Badania wstępne.....	108
S. MIODOŃSKI, M. MUSZYŃSKI-HUHAJŁO, Zmienność szybkości zużycia azotu amonowego (AUR) podczas rozruchu procesu skróconej nitrifikacji.....	118
L. NIEKRAŚ, Udział grzybów z rodzaju <i>Trichoderma</i> sp. w rozkładzie biodegradowalnych opakowań foliowych	129
I. K. PISZCZATOWSKA, Flokulacja w procesie odwadniania osadów ściekowych.....	137
I. K. PISZCZATOWSKA, Produkcja biogazu ze ścieków	146
M. POGORZELEC, Wpływ ubocznych produktów dezynfekcji wody na organizmy żywe.....	156
M. PUCHLIK, J. STRUK-SOKOŁOWSKA, E. WOŁEJKO, U. WYDRÓ, Problem oczyszczania ścieków z przemysłu spożywczego w małych i średnich przedsiębiorstwach	165
P. REGUCKI, B. ENGLER, Analiza zmian stężenia siarczanów w zamkniętym obiegu wody chłodzącej bloku energetycznego.....	174

S.	RUSINOWSKI, K. SITKO, J. KRZYŻAK, D. CISZEK, M. POGRZEBA, Analiza wybranych parametrów fizjologicznych <i>Miscanthus x giganteus</i> oraz <i>Spartina pectinata</i> uprawianych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi	182
A.	SIEDLECKA, K. PIEKARSKA, Metody hodowlane i molekularne w badaniach antybiotykooporności w wodzie wodociągowej	196
J.	SMYK, M. PUCHLIK, A. KORSAN, Wpływ temperatury na efektywność pracy oczyszczalni ścieków w Białymstoku	209
J.	STRUK-SOKOŁOWSKA, E. WOŁEJKO, M. PUCHLIK, U. WYDRO, Zmiany składu ścieków mleczarskich na wybranym przykładzie	223
M.	STRUTYŃSKA, J. RYBAK, Biologiczna ocena jakości wody rzeki Widawy w oparciu o analizę makrozoobentosu	236
A.	TRUSZ-ZDYBEK, S. WIŚNIEWSKA, Rozwój biofilmu w zależności od rodzaju materiału, z jakiego zbudowana jest sieć wodociągowa	246
H.	WASĄG, J. KUJAWSKA, M. CHOMCZYŃSKA, Zastosowanie flotacji ciśnieniowej do oczyszczania ścieków i odpadów ciekłych z górnictwa gazu łupkowego	258
M.	WOLF, Monitoring obrostów biologicznych w sieci dystrybucji	269
E.	WOŁEJKO, U. WYDRO, J. STRUK-SOKOŁOWSKA, M. PUCHLIK, J. PIEKUTIN, Ocena zmienności <i>Pseudomonas fluorescens</i> w powietrzu wewnętrznym na terenie wybranych piekarni	278
U.	WYDRO, E. WOŁEJKO, J. STRUK-SOKOŁOWSKA, M. PUCHLIK, Pozostałości farmaceutyków w środowisku oraz możliwości ich usuwania	286
J.	ŻUR, D. WOJCIESZYŃSKA, U. GUZIK, Wpływ wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych na formowanie i strukturę biofilmu	300

Maciej K. BEŁCIK, Katarzyna PIEKARSKA*

ZASTOSOWANIE TESTU KOMETOWEGO DO OCENY GENOTOKSYCZNOŚCI PYŁU ZAWIESZONEGO

Pyłowe zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego stają się coraz bardziej poważnym problemem w naszym kraju przyczyniając się do powstawania epizodów smogowych w miastach takich, jak Wrocław czy Kraków. Wdychanie powietrza zawierającego pył z zaadsorbowanymi na jego powierzchni zanieczyszczeniami powoduje zarówno problemy zdrowotne, prowadzące do przedwczesnych zgonów, jak również wywołuje niszczenie materiału genetycznego. Pył i zaadsorbowane na jego powierzchni substancje uznane zostały przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem jako substancje kancerogenne dla ludzi i zakwalifikowane do grupy 1. Zagrożenie zdrowia i życia ludzi przez pył zawieszony w powietrzu można badać przy użyciu testów genotoksyczności takich, jak: test Salmonella, czy też Ames II. Artykuł opisuje test kometowy jako metodę badania genotoksyczności. Opisano historię testu, jego procedurę oraz metody opracowania uzyskiwanych wyników.

1. WSTĘP

1.1. PYŁOWE ZANIECZYSZCZENIA POWIETRZA ATMOSFERYCZNEGO

W powietrzu atmosferycznym znajduje się ponad 2000 substancji chemicznych, które mogą tworzyć skomplikowane mieszaniny o nieznanymi właściwościach i działaniu. Wśród substancji adsorbowanych na powierzchni pyłu zawieszonego znaleźć można między innymi metale, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, węglowodory aromatyczne, fenole związki organiczne zawierające chlor i wiele innych [1].

Pyłowe zanieczyszczenia powietrza wywołują wiele zagrożeń zdrowotnych włączając w to przedwczesne zgony w szczególności z przyczyn sercowo-naczyniowych

* Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Wrocławska, Wyb. S. Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, maciej.belcik@pwr.edu.pl.

i oddechowych [3, 15, 18]. Badania przeprowadzone w 2010 roku wykazały, że zanieczyszczenia powietrza są odpowiedzialne za 3,2 miliona przedwczesnych zgonów, czyniąc je drugim środowiskowym i dziewiątym globalnym czynnikiem ryzyka na świecie [3, 11]. Poza śmiertelnością pyłowe zanieczyszczenia powietrza odpowiedzialne są także za zachorowania dróg oddechowych takich jak ataki astmy, zapalenie płuc, obniżenie czynności płuc oraz sercowo-naczyniowego jak zawał serca. Powyższe schorzenia, spowodowane pyłem, obserwuje się wśród grup narażonych na ryzyko środowiskowe (dzieci, osoby starsze) oraz u potencjalnie zdrowej części populacji [3, 15, 16].

W październiku 2013 roku 24 ekspertów z 11 krajów świata zrzeszonych przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer - IARC) zaklasyfikowało, bazując na dostępnej wiedzy i dowodach wykazanych w badaniach, zanieczyszczenia powietrza zewnętrznego w tym pył zawieszony do 1 grupy związków genotoksycznych. Należy również pamiętać, że na wspomnianej liście znajdują się także substancje adsorbowane na powierzchni pyłu między innymi: benzen, benzo[a]piren, formaldehyd, spaliny silników diesla; również w grupie 1; benzo[a]antracen, benzo[a]antracen, benzo[k]fluorantren, benzo[c]fenantren, dibenzo[a,h]piren w grupach 2A i 2B [2, 9, 14]. W tabeli 1 przedstawiono klasyfikację substancji kancerogennych według Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem.

Tabela 1. Klasyfikacja substancji kancerogennych IARC, stan na 24 sierpnia 2015 [9]

Grupa	Opis	Ilość związków
1	Substancje kancerogenne dla ludzi	117
2A	Substancje prawdopodobnie kancerogenne dla ludzi	74
2B	Substancje potencjalnie kancerogenne dla ludzi	287
3	Substancje niemożliwe do zaklasyfikowania jako kancerogenne dla człowieka	503
4	Substancje prawdopodobnie niekancerogenne dla człowieka	1

1.2. METODY BADANIA GENOTOKSYCZNOŚCI PYŁOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ POWIETRZA

Genotoksyczne działanie pyłowych zanieczyszczeń powietrza zostało potwierdzone w licznych publikacjach. Najczęściej pojawiającą się w literaturze metodą oceny genotoksyczności pyłowych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego jest test Amesa oraz jego modyfikacje.

Test *Salmonella* (Amesa) wykorzystywany jest do badania efektu mutagennego organicznych ekstraktów z pyłów zawieszonych zarówno w Polsce, jak i na całym świecie. Test Amesa został opracowany już w latach 70. XX wieku przez Bruca Amesę i opiera się na sprawdzeniu czy badany materiał powoduje rewersję histydynozależnych auksotroficznych bakterii *Salmonella typhimurium* LT2 do prototrofii. Test *Salmonella* jest szybką i dającą wiarygodne wyniki metodą badań in vitro, przy pomocy dobrze

znanych i w pełni scharakteryzowanych szczepów bakteryjnych. W celu aktywacji metabolicznej promutagenów stosuje się tutaj mikrosomalną frakcję wyizolowaną z wątroby szczura – S9. Najczęściej wykorzystywanymi szczepami w badaniach genotoksyczności powietrza są szczepy podstawowe TA98, TA100, oraz szczepy wrażliwe na nitrowe pochodne WWA – YG1041 oraz YG1042 [2, 14, 19].

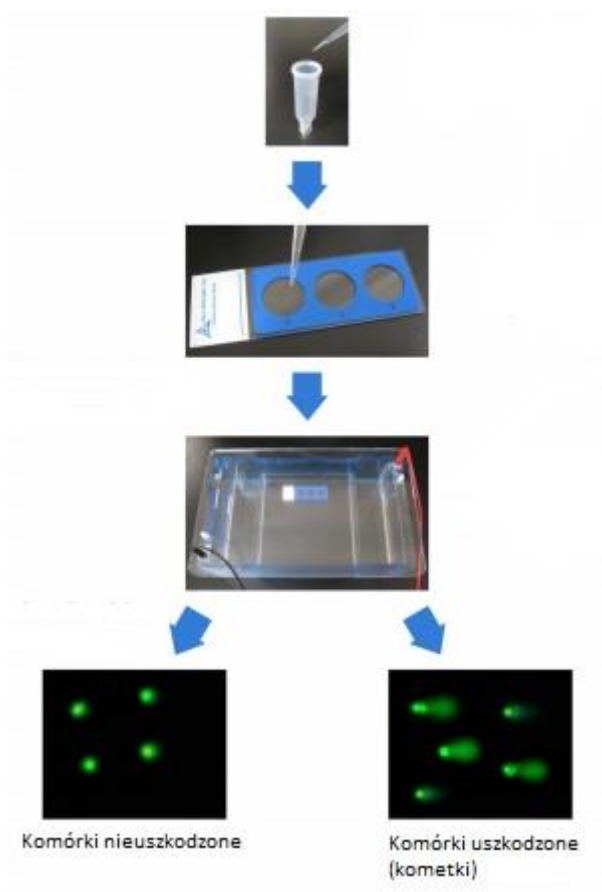
Inną metodą wykrywania mutagenności jest, oparty na teście Salmonella, mikropłytkowy test Ames II, produkowany przez szwajcarską firmę Xenometrix. Opisany test zawiera standardowo dwa szczepy bakteryjne *Salmonella typhimurium* TA98 wykrywające zmianę ramki odczytu oraz mieszaninę szczepów TA-Mix. W skład mieszaniny TA-Mix wchodzi sześć szczepów otrzymanych metodami inżynierii genetycznej, każdy w równych proporcjach. Szczepy oznaczone jako TA7001-TA7006 prowadzą do wykrycia wszystkich sześciu możliwych substytucji par zasad, a dzięki zastosowaniu mieszaniny możliwe staje się w trakcie prowadzenia jednej hodowli wykrycie każdej z substytucji. Odczyt wyników testu opiera się o zmianę barwy podłoża hodowlanego będącej skutkiem rozpoczęcia procesów metabolicznych bakterii testowych, które wydalone do roztworu powodują zmianę jego pH. Zmiana zabarwienia świadczy o rewersji bakterii testowych [7, 8, 10].

2. TEST KOMETOWY

2.1. HISTORIA TESTU

Test kometowy, nazywany także elektroforezą żelową pojedynczych komórek, jest podstawową metodą analizy stopnia fragmentacji DNA. Pierwsze wersje testu, znane wtedy jako „test halo” opracowane zostały w 1978 roku przez Rydberga i Johansona, którzy prowadzili pomiary pęknięć DNA w immobilizowanych żelem agarowym komórkach. Właściwy test kometowy został opracowany później przez Östlinga i Johansona, którzy poprawili czułość metody. Najważniejszym etapem prowadzenia testu jest elektroforeza prowadzona przez krótki okres czasu na zliofilizowanych komórkach. Zabarwienie żelu przy pomocy barwnika pozwala na analizę wyników w postaci charakterystycznych komet analizowanych przy pomocy mikroskopu. Głowa komety jest charakterystycznym miejscem, w którym znajdują się badane komórki przed przeprowadzeniem lizy, ogony pojawiają się tylko w przypadku gdy na komórkę zadziała czynnik powodujący degradację materiału genetycznego. Miarą ilości pęknięć uznano odległość pomiędzy fluorescencją środka głowy, a centrum ogona komety, co okazało się być wprost proporcjonalne do dawki promieniowania użytej przez Östlinga i Johansona [5, 13, 17].

Główną zaletą opisywanej metody jest zdolność do analizy kilku różnych modyfikacji DNA przy nieznacznych zmianach procedury testu. W trakcie badania testem kometowym możliwa jest identyfikacja jednoniciowego i dwuniciowego pęknięcia DNA, a poza tym także modyfikacje chemiczne i enzymatyczne mogące przekształcać się w pęknięcia [4, 5].



Rys. 1. Schemat prowadzenia testu kometowego

2.2. TEST KOMETOWY W BADANIACH PYŁOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ POWIETRZA

Test kometowy jest stosunkowo nową metodą stosowaną w badaniach powietrza atmosferycznego. Metoda kometowa jest badaniem, które mierzy stopień zniszczenia materiału DNA w badanych komórkach. Test kometowy łączy ze sobą elektroforezę z mikroskopią fluorescencyjną. W trakcie badań używane mogą być różnego rodzaju komórki począwszy od prostych komórek bakteryjnych, komórek rozwielitek i innych

drobnych organizmów, do tych wyizolowanych ze zwierząt doświadczalnych, na przykład ze szczurów, poprzez komórki ludzkie, komórki krwi, po hodowlane linie komórkowe i wyizolowane komórki rakowe. Materiał genetyczny badanych komórek wystawiany jest na działanie pyłowych zanieczyszczeń powietrza, które mogą powodować jego niszczenie. DNA, które poddane zostało działaniu związków genotoksycznych pod wpływem elektroforezy zostaje odseparowane od komórki, powodując powstanie ogona kometki. W przypadku, w którym badane związki nie powodują uszkodzenia DNA, efekt ogona nie występuje w badanej próbce. Obserwacja dokonywana jest przy pomocy mikroskopu fluorescencyjnego. Oceny zniszczenia DNA dokonuje się zazwyczaj poprzez wizualną ocenę długości ogona [4, 12]. Na rysunku 1 przedstawiono schemat prowadzenia testu kometowego.

Test kometowy jest zatem czułą i szybką metodą wykrywania zniszczenia materiału genetycznego w komórkach, którą stosuje się w badaniach monitorujących zanieczyszczenia środowiska zarówno metodami *in vitro* jak i *in vivo*, a coraz częściej także w badaniach powietrza i jego pyłowych zanieczyszczeń [4, 6].

2.3. OPRACOWANIE I PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW TESTU

Przy wynikach testu kometowego istnieje możliwość określenia liczby komet, zmierzenie ich długości, długości samych ogonów lub określenia zawartości DNA w poszczególnych elementach komet. Przyjmuje się, że miarodajny wynik uzyskuje się poprzez analizę od 50 do 100 powstałych w trakcie testu komet.

Do analizy wyników uzyskanych w trakcie badań wykorzystywać można programy komputerowe, które dostępne są zarówno na zasadach komercyjnych jak i open source. Jednym z dostępnych darmowych programów do analizy kometek jest CASPLab opracowany w Instytucie Fizyki Teoretycznej Politechniki Wrocławskiej. Program został zaprojektowany do analizy zdjęć kolorowych, jak i w odcieniach szarości zapisanych w formacie TIF. Program analizuje kometki zorientowane prawostronnie, to znaczy posiadające głowę po lewej oraz ogon komety po prawej stronie. Ramka pomiarowa jest wyrysowywana i dopasowywana do wielkości komet na ekranie programu z wczytanym zdjęciem. Ramka może być przesuwana pomiędzy kometami na tym samym pliku graficznym. Aktywacja pomiaru pozwala na pomiar intensywności profilu komety, a wyniki mogą zostać zapisane w pamięci programu.

Program poza podstawowymi mierzonymi parametrami takimi jak średnica głowy, długość ogona i tym podobne, oblicza także Tail Moment – TM oraz Olive Tail Moment – OTM. Tail Moment określany jest jako odległość pomiędzy środkiem głowy komety oraz środkiem głowy ogona komety, natomiast Olive Tail Moment to iloczyn Tail Moment i procentowej ilości DNA zawartej w ogonie komety, mierzonej poprzez intensywność fluorescencji ogona. Zapisane w programie wyniki bez problemu można wyeksportować do pliku tekstowego lub arkusza kalkulacyjnego w celu dalszej ich analizy i obróbki.

3. PODSUMOWANIE

Od kilkunastu lat obserwuje się pogarszanie warunków środowiskowych na ziemi. Jednym z najbardziej widocznych efektów zanieczyszczenia środowiska jest zła jakość powietrza atmosferycznego. W coraz większej ilości miast w Europie, obserwuje się intensyfikację sytuacji smogowych. Smog jest mieszaniną związków chemicznych i pyłów zawieszonych w powietrzu. W ciągu ostatnich kilku miesięcy w Polsce na nowo rozpoczęła się dyskusja nad jakością powietrza atmosferycznego i zanieczyszczeniami pyłowymi wywoływanymi coraz częstszymi przekroczeniami dopuszczalnych norm stężenia pyłu w miastach takich jak Kraków czy Wrocław.

Drobne frakcje pyłu zawieszonego dostają się do organizmu ludzkiego w wyniku oddychania, podczas którego przeciętny człowiek pobiera od 12 do 15 m³ powietrza na dobę. Zanieczyszczenia zaadsorbowane na tym pyłe posiadają właściwości genotoksyczne dlatego tak ważną staje się kwestia monitorowania zanieczyszczeń oraz badania stopnia uszkodzania materiału genetycznego, które mogą powodować.

Do metod znanych i stosowanych powszechnie takich jak biotesty z wykorzystaniem bakterii, coraz częściej zaczyna się używać nowych metod badania genotoksyczności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Jedną z nich jest test kometowy, który pozwala na szybkie i precyzyjne określenie stopnia uszkodzenia DNA komórek. Niekwestionowaną zaletą tego testu jest możliwość zastosowania szerokiej gamy komórek w celu określenia potencjalnego działania na różne organizmy.

Opracowanie wyników testu kometowego ułatwiają liczne programy do analizy kometek, które przyspieszają i ułatwiają analizę dużej ilości danych, pozwalając na precyzyjne określenie długości ogona komety, określającego stopień uszkodzenia komórki.

Aktualnie w Zakładzie Biologii Sanitarnej i Ekotechniki Politechniki Wrocławskiej trwają badania związane z genotoksycznością pyłowych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego frakcji PM_{2,5} przy pomocy testu kometowego.

LITERATURA

- [1] ALVES D.K.M., KUMMROW F., CARDOSO A.A., MORALES, D.A., UMBUZEIRO, G.A., *Mutagenicity profile of atmospheric particulate matter in a small urban center subjected to airborne emission from vehicle traffic and sugar cane burning*, Environmental and molecular mutagenesis, 2015, Vol. 57, No. 1, 41–50.
- [2] BEŁCIK M., TRUSZ-ZDYBEK A., GALAS E., PIEKARSKA K., *Mutagenicity of organic pollutants adsorbed on suspended particulate matter in the center of Wrocław (Poland)*, Atmospheric Environment, 2014, Vol. 95, 620–628.
- [3] BURNS J., BOOGAARD H., TURLEY R., PFADENHAUER L.M., VAN ERP A.M., ROHWER A.C., REHFUESS E., *Interventions to reduce ambient particulate matter air pollution and their effect on health (Protocol)*, Cochrane Database of Systematic Reviews 2014, No. 1.
- [4] COLLINS A.R., *The comet assay: a heavenly method!* Mutagenesis, 2015, Vol. 30, No. 1, 1–4.
- [5] CZUBASZEK M., SZOSTEK, M., WÓJCIK, E., ANDRASZEK, K., *Test kometowy jako metoda*

- identyfikacji niestabilności chromosomów, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2014, Vol. 68, 695–700.
- [6] DASGUPTA S., CAO A., MAUER B., YAN B., UNO S., MCELROY A., *Genotoxicity of oxy-PAHs to Japanese medaka (Oryzias latipes) embryos assessed using the comet assay*, Environmental Science and Pollution Research, 2014, Vol. 21, No. 24, 13867–13876.
- [7] FLÜCKIGER-ISLER S., KAMBER M., *The Ames II and Ames MPP Penta I assay: a liquid microplate format modification of the classic Ames test*, Genotoxicity and DNA Repair: A Practical Approach, 2014, 23–41.
- [8] FLÜCKIGER-ISLER S., BAUMEISTER M., BRAUN K., GERVAIS V., HASLER-NGUYEN N., REIMANN R., ENGELHARDT G., *Assessment of the performance of the Ames II™ assay: a collaborative study with 19 coded compounds*, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2004, Vol. 558, No. 1, 181–197.
- [9] <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/> [dostęp: 8.10.2015].
- [10] KAMBER M., FLÜCKIGER-ISLER S., ENGELHARDT G., JAECKH R., ZEIGER E., *Comparison of the Ames II and traditional Ames test responses with respect to mutagenicity, strain specificities, need for metabolism and correlation with rodent carcinogenicity*, Mutagenesis, 2009.
- [11] LIM S. S., VOS T., FLAXMAN A.D., DANAEI G., SHIBUYA K., ADAIR-ROHANI H., ARYEE M., *A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010*, The lancet, 2014, Vol. 380, No. 9859, 2224–2260.
- [12] MØLLER P., HEMMINGSEN J.G., JENSEN D.M., DANIELSEN P.H., KAROTTKI D.G., JANTZEN K., CHRISTOPHERSEN D.V., *Applications of the comet assay in particle toxicology: air pollution and engineered nanomaterials exposure*, Mutagenesis, 2015, Vol. 30 No. 1, 67–83.
- [13] OSTLING O., JOHANSON K.J., *Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells*, Biochemical and biophysical research communications, 1984, Vol. 123, No. 1, 291–298.
- [14] PIEKARSKA K., *Modyfikacje testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego*, [w:] Prace Naukowe Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej, 2008, Nr 87, Seria: Monografie Nr 52.
- [15] POPE III C.A., DOCKERY D.W., *Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect*, Journal of the Air & Waste Management Association, 2006, Vol. 56 No. 6, 709–742.
- [16] RÜCKERL R., SCHNEIDER A., BREITNER S., CYRYS J., PETERS A., *Health effects of particulate air pollution: a review of epidemiological evidence*, Inhalation toxicology, 2011, Vol. 23 No. 10, 555–592.
- [17] RYDBERG B., JOHANSON K.J., *Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells*, [w:] DNA repair mechanisms, Academic Press, New York San Francisco London 1978, 465–468.
- [18] STIEB D.M., JUDEK S., BURNETT R.T., *Meta-analysis of time-series studies of air pollution and mortality: effects of gases and particles and the influence of cause of death, age, and season*, Journal of the Air & Waste Management Association, 2002, Vol. 52 No. 4, 470–484.
- [19] TRACZEWSKA T.M., *Biologiczne metody oceny skażenia środowiska*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2011.

GENOTOXICITY ASSESSMENT OF THE PARTICULATE MATTER USING COMET ASSAY

Air pollutions becoming serious problem in our country. It contributing formation of smog in cities like Wrocław and Krakow. Inhalation of air containing particulate matter causing health problems. Particulate

matter and substances adsorbed on its surface were considered by the International Agency for Research on Cancer as carcinogenic to humans and classified into group 1. Threat to human life and health by particulate matter in the air can be examined using genotoxicity tests such as Salmonella or Ames II tests. This article describes the comet assay as a method for testing genotoxicity. It describes the history of the test, methods and give guidelines for processing results.

Katarzyna CIEŚLIŃSKA, Aleksandra SKALSKA, Dorota CISZEK,
Jacek KRZYŻAK, Marta POGRZEBA*

MIKORYZA ARBUSKULARNA WYBRANYCH GATUNKÓW ROŚLIN ENERGETYCZNYCH UPRAWIANYCH NA TERENIE ZANIECZYSZCZONYM METALAMI CIĘŻKIMI

Celem pracy było wdrożenie metod badawczych dotyczących kolonizacji mikoryzowej korzeni roślin energetycznych uprawianych na terenie rolniczym zanieczyszczonym metalami ciężkimi. Pobrano korzenie trzech gatunków wieloletnich traw: *Miscanthus giganteus*, *Panicum virgatum*, *Spartina pectinata*. Próbkę barwiono wg zmodyfikowanej metody Phillipsa-Haymana (1970). Na podstawie obserwacji mikroskopowych przygotowanych preparatów wprowadzono modyfikacje w etapie trawienia w KOH (dobór odpowiedniej temperatury i czasu) oraz wybrano PVLG jako najlepsze medium zamykające spośród trzech testowanych (DPX, laktoglicerol, PVLG). Wprowadzone zmiany umożliwiły uzyskanie dobrej jakości obrazów mikroskopowych, co pozwoliło na prawidłowe rozpoznanie struktur mikoryzowych występujących w korzeniach badanych roślin. W wyniku przeprowadzonych badań u wszystkich testowanych gatunków roślin wykryto obecność struktur charakterystycznych dla mikoryzy arbuskularnej. Badania te miały charakter wstępny, ich rezultatem jest wdrożenie metod pozwalających na poprawną analizę kolonizacji mikoryzowej u wybranych roślin energetycznych uprawianych na terenie zanieczyszczonym metalami ciężkimi.

1. WSTĘP

1.1. UPRAWA ROŚLIN ENERGETYCZNYCH NA TERENACH ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI CIĘŻKIMI

Zgodnie z założeniami „Polityki Energetycznej Polski do 2030 roku”, uwzględniającymi cele stawiane przez Unię Europejską, Polska powinna zwiększyć udział energii ze źródeł odnawialnych w całkowitym zużyciu energii, osiągając w 2020 roku poziom

* Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Zakład Badań i Rozwoju, Zespół Remediacji Środowiska, ul. Kossutha 6, 40–844 Katowice, skalaska@ietu.katowice.pl.

15%. W kolejnych latach powinien następować dalszy wzrost tego udziału [10]. W Polsce głównym kierunkiem rozwoju odnawialnych źródeł energii (OZE) jest wykorzystanie biomasy [9]. Zakładanie plantacji roślin uprawianych na cele energetyczne nie powinno konkurować z uprawami rolniczymi i oddziaływać negatywnie na sektor żywnościowy – gleby dobrej klasy powinny być wykorzystywane do uprawy roślin konsumpcyjnych, natomiast pod uprawę roślin energetycznych mogą być przeznaczone gleby gorszej jakości i tereny zdegradowane [8].

Jednym z najpowszechniejszych czynników degradacji gleby jest jej zanieczyszczenie metalami ciężkimi. Zawartość tych pierwiastków w glebach wynika z ich naturalnej obecności w skale macierzystej oraz z dopływu pochodzenia antropogenicznego, będącego skutkiem przemysłowej, gospodarczej i rolniczej działalności człowieka. Spośród tych czynników największy wpływ na zanieczyszczenie gleb metalami ciężkimi ma emisja związana z wydobywaniem i przetwórstwem rud metali. Problem ten dotyczy szczególnie obszaru Górnego Śląska, gdzie skupia się znaczna część krajowego przemysłu górniczo-hutniczego [5, 19]. Ponad połowę powierzchni województwa śląskiego stanowią użytki rolne [4], przy czym od 5% do 10% z nich jest zanieczyszczonych kadmem, cynkiem i ołowiem [19].

Wśród roślin uprawianych na cele energetyczne wymienić można drzewa i krzewy (wierzba, robinia akacja, topola, róża wielokwiatowa), byliny (ślazowiec pensylwański, sylfium przerosłe, topinambur), a także wieloletnie trawy (miskant olbrzymi, spartina prioria, proso różgocate), będące przedmiotem niniejszej pracy [21]. Wymienione gatunki traw przeprowadzają fotosyntezę typu C_4 , dzięki czemu, w porównaniu do rodzimych gatunków, wykazują wyższą efektywność wiązania dwutlenku węgla, prowadzą oszczędniejszą gospodarkę wodną, są bardziej odporne na suszę i charakteryzują się lepszym plonowaniem. Szybki przyrost biomasy i jej wysoka wartość opałowa, odporność na szkodniki i choroby oraz niewielkie wymagania siedliskowe sprawiają, że rośliny te mogą być z powodzeniem wykorzystywane na cele energetyczne. Ponadto, ze względu na wysoki plon biomasy wymienione trawy mogą pobierać z zanieczyszczonej gleby znaczne ilości metali, wykazują więc potencjał fitoremediacyjny [8, 21]. Akumulacja metali ciężkich w częściach nadziemnych roślin energetycznych wiąże się jednak z ryzykiem reemisji zanieczyszczeń do atmosfery w przypadku nieodpowiedniego spalania zanieczyszczonej biomasy [13]. Ważnym czynnikiem wpływającym na zwiększenie tolerancji roślin na zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi oraz mogącym modyfikować pobór metali i ich transport do części nadziemnych roślin jest mikoryza arbuskularna [6].

1.2. MIKORYZA ARBUSKULARNA

Mikoryza jest to symbiotyczny związek pomiędzy grzybami i korzeniami roślin wyższych. Istotą tej symbiozy jest przekazywanie substancji pomiędzy partnerem grzybowym i roślinnym – strzępki zewnętrzno-korzeniowe przerastające podłoże umożliwiają grzybom pobieranie znacznych ilości substancji mineralnych (zwłaszcza fosforu

i azotu, a także potasu, cynku, wapnia, magnezu i miedzi), które są następnie transportowane do korzeni roślin. W zamian grzyby, będące heterotrofami, otrzymują od partnera roślinnego produkty przeprowadzanej przez niego fotosyntezy [7, 24].

Ze względu na sposób kolonizacji korzeni wyróżnia się trzy główne typy mikoryzy: ektomikoryzę, endomikoryzę i typ pośredni – ektendomikoryzę. Najbardziej rozpowszechnionym typem tej symbiozy jest endomikoryza, do której należą: mikoryza storczykowa, erikoidalna oraz mikoryza arbuskularna. W każdym z tych typów endomikoryzy strzępki grzybni są obecne zarówno w przestrzeniach międzykomórkowych, jak również wewnątrz komórek kory korzeni. Mikoryza arbuskularna (ang. *arbuscular mycorrhiza*, AM) jest najstarszym filogenetycznie i najbardziej powszechnym typem mikoryzy. Ten rodzaj mutualistycznej symbiozy roślin z zasiedlającymi ich korzenie grzybami z gromady *Glomeromycota* dotyczy ponad 80% roślin lądowych [6, 20, 22]. Grzyby zaangażowane w ten rodzaj symbiozy, nazywane arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi (ang. *arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF), wytwarzają różnego rodzaju struktury wewnątrz- i zewnątrzkorzeniowe. Do najbardziej charakterystycznych należą arbuskule, od których pochodzi nazwa omawianego typu mikoryzy. Arbuskule są drzewkowatymi strukturami powstającymi wewnątrz komórek kory korzenia poprzez wielokrotne, dychotomiczne rozgałęzianie się strzępek grzybni. W procesie formowania się arbuskul strzępki wnikają do wnętrza komórek poprzez ścianę komórkową i tworzą wgłębienia w błonie komórkowej, nie naruszając jej integralności, a zarazem zwiększając powierzchnię wymiany substancji pomiędzy symbiontami. Innymi ważnymi strukturami, obecnymi tylko u grzybów AM, są pęcherzyki (wezykule). Są to kuliste bądź eliptyczne rozdęcia strzępek wewnątrzkorzeniowych, powstające wewnątrz strzępki lub na jej końcach. Wielkość pęcherzyków wynosi 30–100 μm . Mogą one występować zarówno w komórkach korzeni roślin, jak i w przestworach międzykomórkowych. Wewnątrz pęcherzyków gromadzone są kropelki tłuszczu – struktury te pełnią więc głównie rolę organów magazynujących substancje zapasowe, ale mogą także (u niektórych gatunków AMF) spełniać funkcję propagul (struktur, z których powstaje nowa grzybnia). Nie wszystkie arbuskularne grzyby mikoryzowe wytwarzają pęcherzyki, ocenia się, że występują one u około 80% AMF [1, 5, 6, 20].

Arbuskule i pęcherzyki są dwoma strukturami charakterystycznymi dla mikoryzy arbuskularnej, umożliwiającymi jej jednoznaczne rozpoznanie. Poza nimi, do struktur obecnych w tkankach korzeni należą jeszcze strzępki wewnątrzkorzeniowe, mogące penetrować wnętrze komórek rośliny lub pozostawać w przestworach międzykomórkowych. Strzępki te zawierają substancje zapasowe i uczestniczą w transporcie związków absorbowanych z gleby przez strzępki zewnątrzkorzeniowe, kierując pobrane substancje do arbuskul lub bezpośrednio do komórek korzeni. Strzępki występują w obrębie tkanek korzeni w postaci nierozgałęzionej lub tworzą H- i Y-kształtne rozgałęzienia. Ponadto mogą tworzyć zwoje, najczęściej w pobliżu miejsca wniknięcia grzybni w głąb korzenia, choć także w innych miejscach – ich lokalizacja oraz częstość występowania są bowiem zależne od rodzaju AMF [1].

Do zewnątrzkorzeniowych struktur mikoryzy arbuskularnej należą strzępki grzybni znajdujące się poza korzeniem rośliny (ekstramatrykalne) oraz zarodniki (spory). Strzępki arbuskularnych grzybów mikoryzowych wyróżnia brak poprzecznych sept. W miejscu wnikania strzępki do wnętrza korzenia powstaje charakterystyczne zgrubienie, nazywane apresorium. Rolą strzępek zewnątrzkorzeniowych jest przede wszystkim pobieranie wody i substancji pokarmowych oraz wytwarzanie spor (pojedynczych, wielojądrowych komórek, otoczonych grubą, często wielowarstwową ścianą komórkową). Grzyby z gromady *Glomeromycota* rozmnażają się bowiem bezpłciowo, poprzez spory (azygospory, chlamydospory) wytwarzane na końcach zewnątrzkorzeniowych strzępek (rzadziej spory mogą występować również wewnątrz korzenia). Strzępki ekstramatrykalne umożliwiają ponadto tworzenie połączeń pomiędzy korzeniami sąsiadujących ze sobą roślin i dzięki temu przekazywanie między nimi substancji pokarmowych, a także uczestniczą w procesach glebotwórczych, poprzez łączenie cząstek gleby w agregaty [1, 5, 20].

Obecność mikoryzy arbuskularnej wpływa pozytywnie na kondycję roślin m.in. poprzez zwiększenie powierzchni chłonnej korzeni, co umożliwia roślinom lepszy dostęp do wody i substancji mineralnych zawartych w glebie. Wyniki licznych badań wskazują, że rośliny skolonizowane przez AMF wykazują większą odporność na czynniki stresu środowiskowego, takie jak niedobór substancji odżywczych, długotrwała susza, zasolenie gleby, wysokie temperatury, a także organiczne i nieorganiczne zanieczyszczenia, w tym skażenie gleby metalami ciężkimi [3]. Kolonizacja mikoryzowa wpływa zatem na poprawę warunków siedliskowych i stymuluje wzrost roślin uprawianych na terenach zanieczyszczonych, co ma istotne znaczenie podczas prowadzenia upraw roślin energetycznych na terenach zdegradowanych [22]. Ponadto obecność mikoryzy arbuskularnej może wpływać na procesy migracji zanieczyszczeń w układzie gleba/korzeń/część nadziemna rośliny – poprzez wiązanie metali ciężkich w obrębie grzybni AMF mogą unieruchamiać metale w ryzosferze i zapobiegać ich przemieszczaniu do części nadziemnych roślin [5, 14, 22].

1.3. DSE – NIEMIKORYZOWE ENDOFITY

Korzenie roślin naczyniowych mogą być zasiedlane nie tylko przez grzyby mikoryzowe, ale także inne endofity. Często spotykaną i szeroko rozpowszechnioną grupę grzybów kolonizujących korzenie stanowią ciemnostrzępkowe grzyby endofityczne z przegrodami (ang. *dark septate endophytes*, DSE). Jak wskazuje nazwa, cechą charakterystyczną DSE jest występowanie septowanych strzępek o ciemnym zabarwieniu, wynikającym z obecności melaniny. DSE mogą tworzyć w obrębie korzeni skupiska ściśle upakowanych komórek – mikrosklerocja, będące formą grzybni przetrwalnikowej [15, 17, 23]. Grzyby te kolonizują korzenie roślin występujących zarówno w naturalnych ekosystemach, jak i w uprawach rolnych, a także zasiedlających tereny zdegradowane, w tym zanieczyszczone metalami ciężkimi. Mogą być obecne w korzeniach

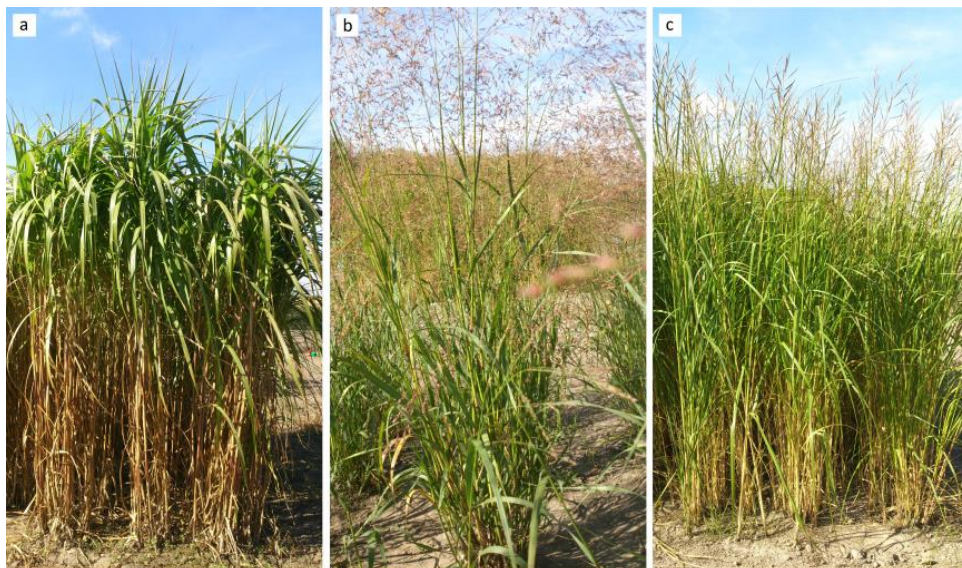
roślin mikoryzowych i kolonizować je wspólnie z grzybami mikoryzowymi, lub występować samodzielnie, bowiem wykryto je także w korzeniach roślin klasyfikowanych jako niemikoryzowe. W odróżnieniu od arbuskularnych grzybów mikoryzowych, których pozytywny wpływ na rośliny został szeroko udokumentowany, rola DSE w środowisku pozostaje niejasna [11, 17, 18, 23].

Celem przeprowadzonych badań było wdrożenie metod badawczych dotyczących kolonizacji mikoryzowej korzeni wybranych roślin energetycznych uprawianych na terenie rolniczym zanieczyszczonym metalami ciężkimi.

2. MATERIAŁY I METODYKA BADAŃ

2.1. CHARAKTERYSTYKA TERENU

Do badań wytypowano następujące trzy gatunki roślin energetycznych: miskant olbrzymi, proso różgowe, spartina periwia. Trawy te uprawiane są na założonych w 2014 roku poletkach doświadczalnych Instytutu Ekologii Terenów Uprzemysłowionych (rysunek 1). Rośliny każdego z wybranych gatunków rosną na osobnym poletku, każde o wymiarach 4×4 m, z zachowaniem 4 metrowej strefy buforowej. Na każdym z poletek posadzonych zostało 49 roślin. Poletka doświadczalne zlokalizowane są w województwie śląskim, na granicy Bytomia i Piekar Śląskich (50°20'43,8"N, 18°57'20,3"E), na gruntach należących do Rolniczej Spółdzielni Produkcyjnej. Teren ten znajduje się w odległości około 1 km od nieczynnej już huty cynku i ołowiu, będącej częścią ZGH „Orzeł Biały”. Na skutek kilkudziesięcioletniego oddziaływania przemysłu górnico-hutniczego w tym obszarze doszło do znacznego zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi. Grunty, na których znajdują się poletka zaklasyfikowane zostały jako glina pylasta (udział poszczególnych frakcji: 28% piasek, 56% pył, 16% il) [13]. Stężenie całkowite Pb, Cd i Zn w glebie na tym obszarze wynosi odpowiednio: 373–541 mg/kg, 14–20 mg/kg i 1369–1835 mg/kg (dane z 2014 roku, niepublikowane), a więc przekracza dopuszczalne wartości stężeń tych metali dla użytków rolnych, zawarte w rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r., w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi [16]. Stężenie biodostępnych form Cd i Zn wynosi odpowiednio: 0,5–1,5 mg/kg i 24,2–88,0 mg/kg. Stężenie biodostępnych form Pb znajduje się poniżej granicy oznaczalności (dane z 2014 roku, niepublikowane).



Rys. 1. Rośliny na poletkach badawczych: a) miskant olbrzymi (*Miscanthus × giganteus*); b) proso różgowate (*Panicum virgatum*); c) spartina preriowa (*Spartina pectinata*) (wrzesień 2015 r.)

2.2. POBÓR I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU KORZENIOWEGO

Materiał korzeniowy pobierano w okresie czerwiec – wrzesień 2015 roku. Pobór ten obejmował próbki korzeni miskanta olbrzymiego, prosa różgowatego i spartiny preriowej, w trzech powtórzeniach (próbki korzeni trzech roślin z każdego poletka). Próbki pobierane były z głębokości 5–30 cm, za pomocą łopatkę ogrodniczej. Pobrane korzenie po przetransportowaniu do laboratorium zostały oczyszczone z gleby poprzez wstępne płukanie w wodzie bieżącej, a następnie w płuczce ultradźwiękowej. Oczyszczony materiał utrwalono w 50% alkoholu etylowym i przechowywano w lodówce w temperaturze 4 °C.

2.3. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO BADAŃ MIKROSKOPOWYCH

Utrwalony materiał korzeniowy opłukano w kilku zmianach wody destylowanej, w celu usunięcia alkoholu. Fragmenty korzeni barwiono stosując zmodyfikowaną metodę Phillipsa-Haymana (1970) [12]. Korzenie poddano trawieniu w 10% KOH (przez 48 godzin), kilkakrotnie opłukano w wodzie destylowanej, zakwaszono w 5% kwasie mlekowym (przez 24 godziny), a następnie barwiono w 0,05% roztworze błękitu aniliny w laktoglicerolu (80% kwas mlekowy: glicerol: woda destylowana, w stosunku 1:1:1). Każdą z tak przygotowanych próbek korzeniowych podzielono na dwie części: jedna

z nich do czasu przygotowania preparatów mikroskopowych przechowywana była w roztworze barwnika, druga natomiast po 24-godzinnym barwieniu została opłukana w wodzie destylowanej zakwaszonej niewielką ilością kwasu octowego (0,3% roztwór) i przeniesiona do laktoglicerolu.

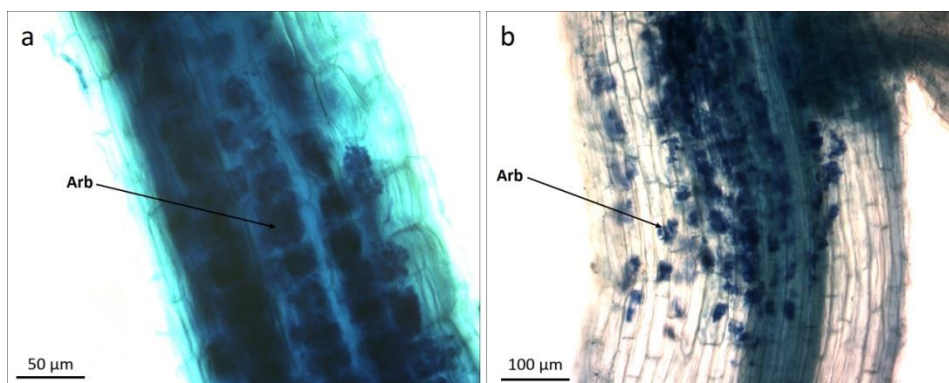
Przed przystąpieniem do sporządzenia preparatów mikroskopowych próbki korzeni przechowywane w roztworze błękitu aniliny odpłukano z nadmiaru barwnika w zakwaszonej wodzie destylowanej, natomiast próbki przechowywane w samym laktoglicerolu nie były powtórnie płukane. Następnie korzenie podzielono na mniejsze, około jednocentymetrowe fragmenty, które umieszczano na szkiełku podstawowym. Do zamykania preparatów przetestowano trzy rodzaje mediów zamykających: laktoglicerol, syntetyczną żywicę DPX oraz roztwór alkoholu poliwinylowego z laktoglicerolem (ang. *polyvinyl-lacto-glycerol*, PVLG). Z każdej próbki korzeniowej utworzono po 2 preparaty zawierające 15 jednocentymetrowych fragmentów korzeni. Przygotowane w ten sposób preparaty poddano obserwacji mikroskopowej, mającej na celu wykrycie i identyfikację struktur mikoryzowych w korzeniach badanych gatunków roślin oraz ocenę jakości przygotowanych preparatów. Badania mikroskopowe prowadzono w jasnym polu, stosując powiększenia 100×, 200× i 400×.

Na podstawie uzyskanych wyników (omówionych w dalszej części pracy) zdecydowano o wprowadzeniu następujących modyfikacji w procesie przygotowania materiału do badań: zmniejszenie objętości próbki korzeniowej poddanej trawieniu w KOH, zmiana czasu trawienia i temperatury, w której prowadzony jest ten proces. Przygotowanie kolejnych próbek do badań rozpoczęto od podzielenia korzeni na mniejsze, około 2–4 cm fragmenty, zmniejszono też ilość korzeni w stosunku do objętości roztworu KOH. Tak przygotowany materiał (uprzednio utrwalony w 50% alkoholu etylowym i opłukany w wodzie destylowanej) poddano trawieniu w 10% KOH, prowadząc proces w 80°C (w łaźni wodnej), przez 1 godzinę. Następnie korzenie kilkakrotnie opłukano w wodzie destylowanej, zakwaszono w 5% kwasie mlekowym (przez 24 godziny) i barwiono w 0,05% roztworze błękitu aniliny w laktoglicerolu (przez 24 godziny). Nadmiar barwnika odpłukano w wodzie z dodatkiem kwasu octowego, próbki do czasu przygotowania preparatów mikroskopowych przechowywano w laktoglicerolu. Do zamykania preparatów użyto PVLG. Po obserwacji mikroskopowej przygotowanych w ten sposób preparatów i analizie uzyskanych wyników, zdecydowano o wprowadzeniu dalszych modyfikacji czasu trawienia w KOH. W celu dobrania czasu trawienia odpowiedniego dla właściwego oczyszczenia korzeni poszczególnych gatunków roślin, z każdej próbki materiału korzeniowego utworzono 5 subpróbek, dla których proces trawienia (prowadzony w 80°C, w łaźni wodnej) przerywano po upływie: 15, 25, 35, 45 i 55 minut. Pozostałe etapy oczyszczania, barwienia i przechowywania materiału korzeniowego oraz przygotowania preparatów nie uległy zmianie i przebiegały zgodnie z procedurą opisaną powyżej. Przygotowane w ten sposób preparaty poddano obserwacji mikroskopowej.

3. WYNIKI BADAŃ

3.1. DOBÓR METODYKI PRZYGOTOWANIA I BARWIENIA MATERIAŁU KORZENIOWEGO WŁAŚCIWEJ DLA BADANYCH ROŚLIN

Wynikiem przeprowadzonych badań są obrazy mikroskopowe, zamieszczone w dalszej części niniejszej pracy. Obserwacje preparatów przygotowanych z materiału korzeniowego przechowywanego w roztworze barwnika oraz tych, które przygotowano z fragmentów korzeni przechowywanych w laktoglicerolu wykazały, że korzystniejsze jest przenoszenie wybarwionych fragmentów korzeni do laktoglicerolu. W przypadku większości badanych fragmentów komórki korzeni przechowywanych w laktoglicerolu były mniej zabarwione niż miało to miejsce w korzeniach pozostawionych w roztworze barwnika (rysunek 2), co umożliwiło uzyskanie lepszego kontrastu pomiędzy wybarwionymi strukturami mikoryzowymi, a tkanką roślinną (która powinna pozostać niewybarwiona).

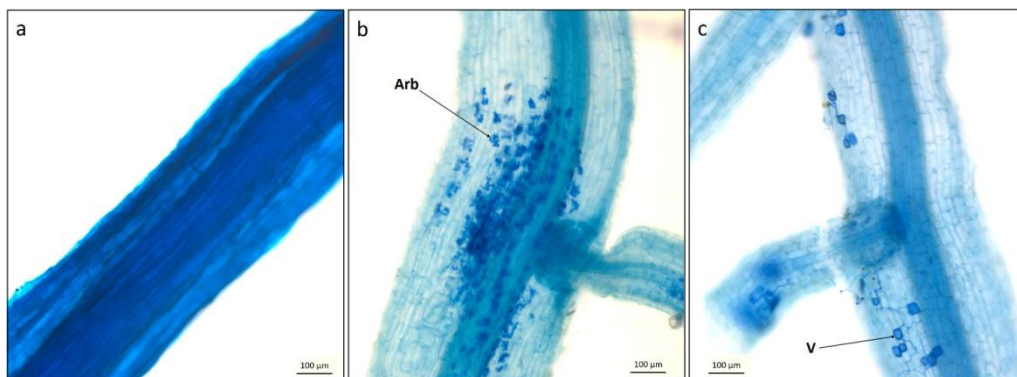


Rys. 2. Obrazy mikroskopowe fragmentów korzeni miskanta olbrzymiego: a) przechowywanych w roztworze błękitu aniliny; b) przechowywanych w laktoglicerolu; Arb – arbuskule

Wyniki testów trzech mediów zamykających: żywicy DPX, laktoglicerolu i PVLG, wykluczyły stosowanie żywicy DPX w procesie przygotowywania preparatów z fragmentów korzeni badanych gatunków roślin. DPX jest medium pozwalającym na szybkie i skuteczne tworzenie trwałych preparatów mikroskopowych, jednak substancja ta okazała się nieprzydatna w odniesieniu do tworzenia preparatów mikoryzowych z korzeni wybranych gatunków roślin. Obrazy mikroskopowe uzyskane w wyniku obserwacji fragmentów korzeni w DPX były bardzo ciemne, warstwy komórek nakładały się na siebie, tkanki korzenia były silnie zabarwione (rysunek 3a) co utrudniało, a w wielu przypadkach zupełnie uniemożliwiało obserwację struktur mikoryzowych.

Obrazy uzyskane z preparatów, dla których medium zamykającym był laktoglicerol były bardziej czytelne, a struktury grzybów mikoryzowych – lepiej widoczne (rysunek

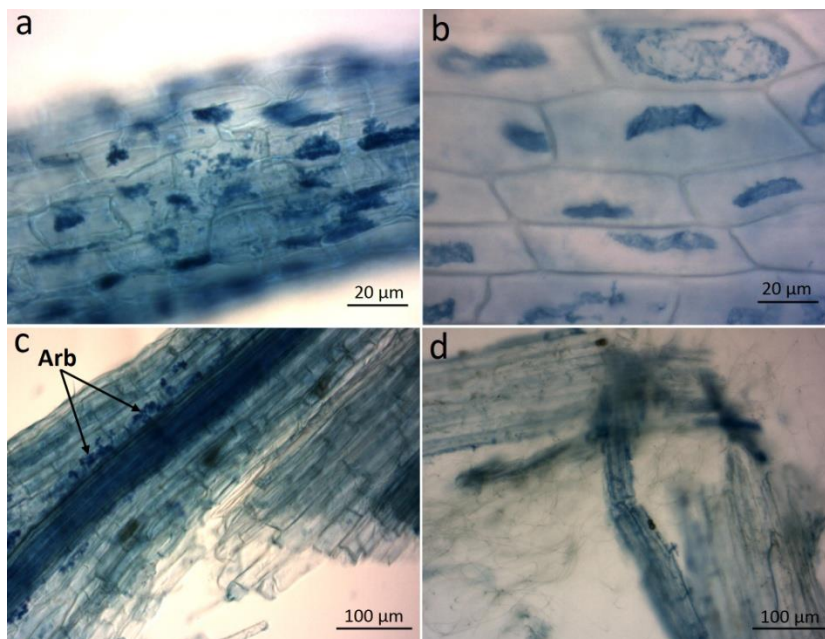
3b). Laktoglicerol wydaje się więc być lepszym medium niż DPX, jednak przygotowane przy jego użyciu preparaty są nietrwałe, szkiełko nakrywkowe przesuwa się wzdłuż powierzchni szkiełka podstawowego zmieniając położenie fragmentów korzeni, a roztwór często wypływa spomiędzy szkiełek. Spośród przetestowanych mediów zamykających substancją, której użycie przyniosło najkorzystniejsze efekty był PVLG (rysunek 3c). Zastosowanie PVLG pozwoliło na uzyskanie trwałych preparatów, których obserwacja dostarczyła dobrej jakości obrazów o odpowiednim kontraście.



Rys. 3. Obrazy fragmentów korzeni miskanta olbrzymiego w trzech różnych mediach zamykających: a) żywicy DPX; b) laktoglicerolu; c) PVLG; Struktury mikoryzowe widoczne na zdjęciach: Arb – arbuskule, V – pęcherzyki (ang. *vesicles*)

Istotną przeszkodę w prowadzeniu obserwacji struktur charakterystycznych dla mikoryzy arbuskularnej stanowiła obecność pozostałości cytoplazmy w nie dość skutecznie oczyszczonych komórkach korzeni (rysunek 4 a, b). Materiał ten uległ zabarwieniu i utrudniał prawidłową obserwację i identyfikację badanych struktur. Substancją służącą do oczyszczania i zmiękczenia korzeni oraz usuwania cytoplazmy z ich komórek jest KOH. Na nieskuteczne oczyszczenie komórek wpływ może mieć kilka czynników, do których należą: zbyt krótki czas trawienia w roztworze KOH, za niska temperatura prowadzenia tego procesu lub zbyt duża objętość próbki badanego materiału w stosunku do objętości roztworu. W celu wyeliminowania błędów i poprawnego oczyszczenia korzeni wprowadzono zmiany w procedurze przygotowania materiału korzeniowego do barwienia, modyfikując objętość próbki, temperaturę roztworu i czas trawienia. Jak podaje Brundrett i in. [2], wstępnie oczyszczone w wodzie korzenie powinny zostać podzielone na 2–4 cm fragmenty, a masa pojedynczej próbki nie powinna przekraczać 2 gram. Tak przygotowany materiał można umieścić w roztworze KOH i autoklawować w temperaturze 121°C przez 15–20 minut (w razie potrzeby dłużej: 25–60 minut) lub podgrzewać roztwór KOH w łaźni wodnej do temperatury 60–90°C. W tym wypadku czas oczyszczania korzeni należy dobrać eksperymentalnie, zależy on m.in. od grubości

korzenia i stopnia jego pigmentacji. Zbyt krótki czas prowadzi do niepełnego oczyszczenia komórek, natomiast fragmenty korzeni zbyt długo trawione w KOH ulegają rozpadowi.

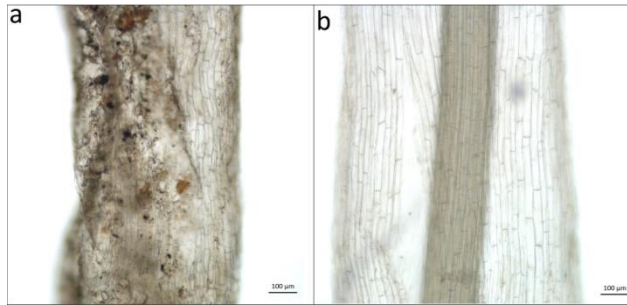


Rys. 4. Nieskutecznie oczyszczone komórki korzeni: spartiny preriowej (a) i prosa różgowatego (b) oraz zdeintegrowane tkanki korzeni: miskanta olbrzymiego, Arb – arbuskule (c) i spartiny preriowej (d)

Jak wykazały badania mikroskopowe, wprowadzenie zmian w procedurze oczyszczania korzeni (zmniejszenie objętości pojedynczej próbki materiału korzeniowego oraz podzielenie korzeni na mniejsze fragmenty i trawienie w 10% KOH, w temperaturze 80°C przez 1 godzinę) przyniosło pozytywny rezultat w postaci lepszego oczyszczenia komórek korzeni. Równocześnie zaobserwowano jednak, że wiele fragmentów uległo częściowej lub znacznej degradacji (rysunek 4 c, d).

Celem kolejnego etapu badań było wyznaczenie odpowiedniego czasu trawienia w KOH, pozwalającego na uzyskanie optymalnych rezultatów dla poszczególnych gatunków roślin. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji mikroskopowych stwierdzono, że najbardziej optymalny czas trawienia korzeni w 10% KOH (w łaźni wodnej w temperaturze 80°C) wynosi: 35 minut dla miskanta olbrzymiego, 45 minut dla prosa różgowatego oraz 25 minut dla spartiny preriowej.

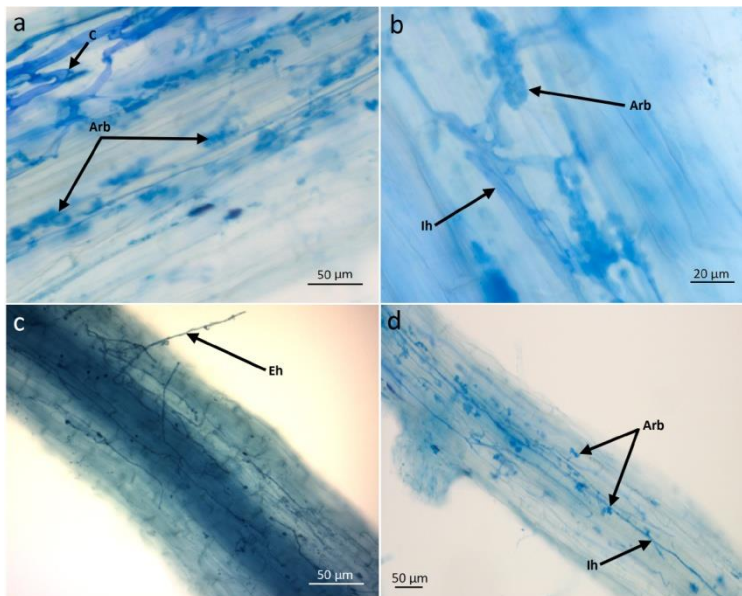
Zastosowanie podgrzewania w 10% roztworze KOH pozwoliło na skuteczne odbarwienie (usunięcie pigmentu) korzeni wybranych gatunków roślin (co przedstawiono na rysunku 5 na przykładzie korzeni miskanta olbrzymiego) oraz lepsze oczyszczenie komórek korzeni, a dobór odpowiedniego czasu trawienia zapobiegł dezintegracji tkanek.



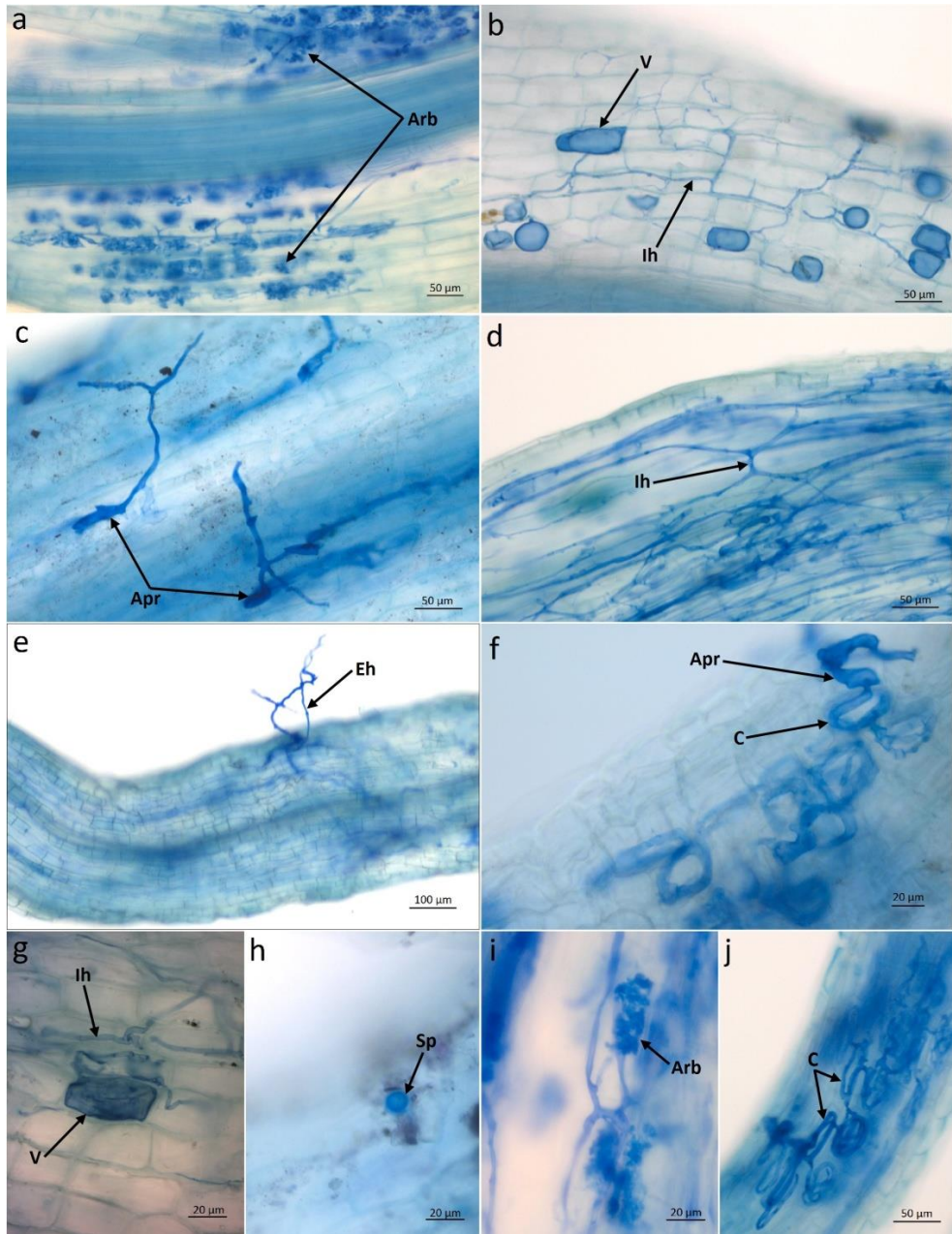
Rys. 5. Mikroskopowy obraz niebarwionych fragmentów korzeni miskanta olbrzymiego: a) fragment nie trawiony w KOH; b) fragment poddany trawieniu w 10% KOH przez 35 min. w temp. 80°C

3.2. MIKORYZA ARBUSKULARNA WYBRANYCH GATUNKÓW ROŚLIN

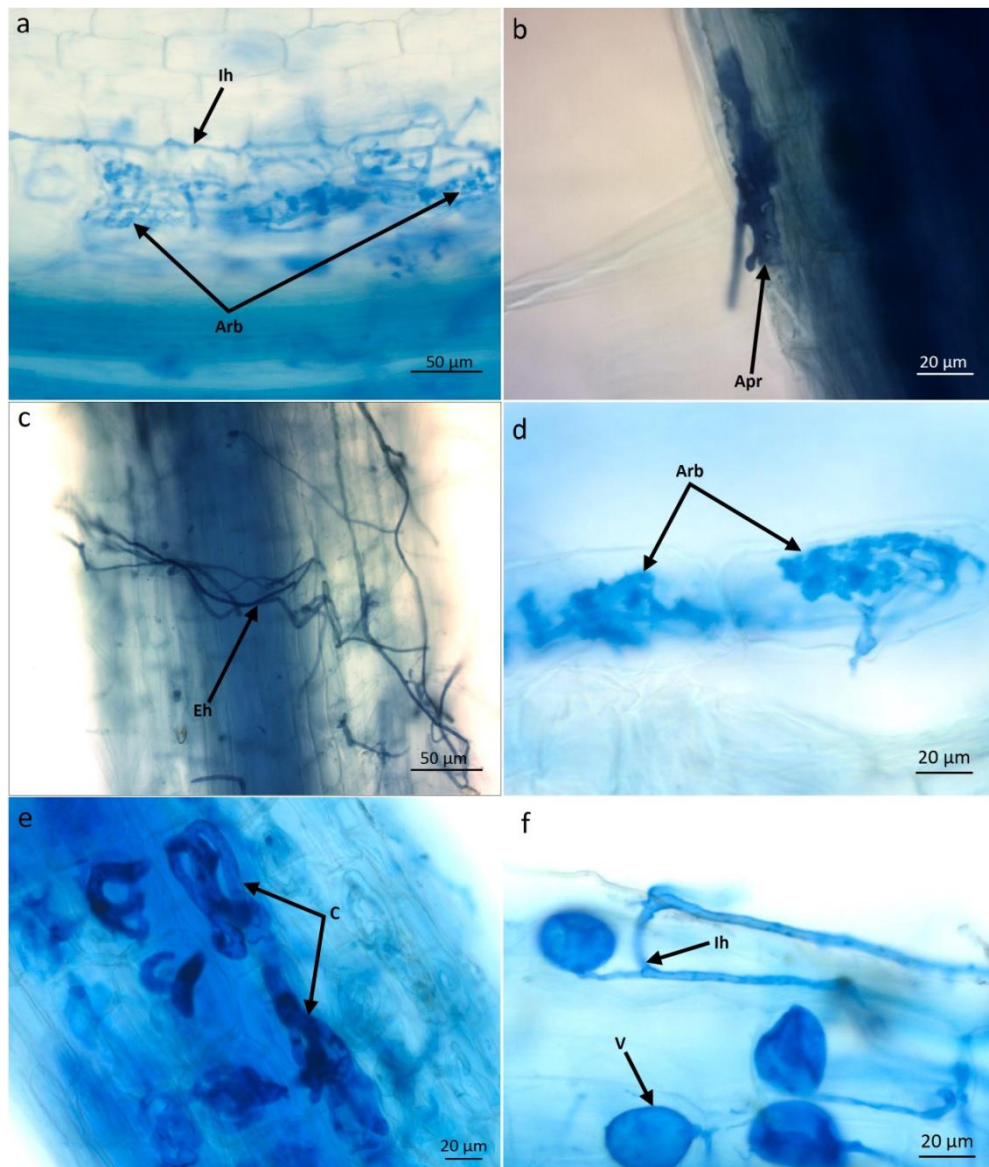
U wszystkich badanych gatunków roślin stwierdzono obecność arbuskularnych grzybów mikoryzowych. W wyniku barwienia błękitem aniliny struktury mikoryzowe wybarwiły się na kolor niebieski. W analizowanych fragmentach korzeni obserwowano występowanie struktur charakterystycznych dla mikoryzy arbuskularnej: arbuskul i pęcherzyków oraz innych zewnątrz- i wewnątrzkorzeniowych struktur AMF, wybrane przedstawiono na rysunkach 6–8.



Rys. 6. Struktury mikoryzowe w korzeniach prosa różgowatego: a) arbuskule (Arb) i zwój (C – ang. *coil*); b) arbuskula (Arb) i strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih – ang. *intraradical hyphae*); c) strzępki zewnątrzkorzeniowe (Eh – ang. *extraradical hyphae*); d) arbuskule (Arb) i strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih)

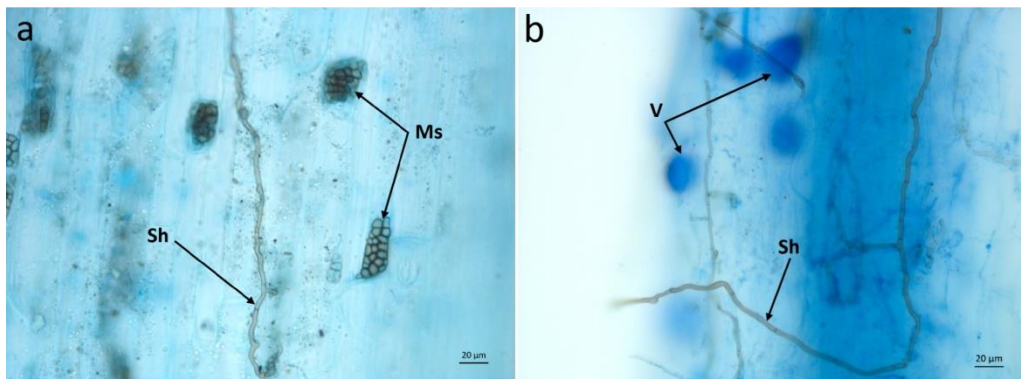


Rys. 7. Struktury mikoryzowe w korzeniach miskanta olbrzymiego: a) arbuskule (Arb); b) pęcherzyk (V – ang. *vesicle*) i strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih); c) apesorium (Apr); d) strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih) tworzące rozgałęzienie H-kształtne; e) strzępki zewnątrzkorzeniowe (Eh); f) apesorium (Apr) i zwój (C); g) pęcherzyk (V) i strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih); h) spora (Sp); i) arbuskula (Arb); j) zwoje (C)



Rys. 8. Struktury mikoryzowe w korzeniach spartiny preloensis: a) arbuskule (Arb) i strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih); b) apesorium (Apr); c) strzępki zewnątrzkorzeniowe (Eh); d) arbuskule (Arb); e) zwoje (C); f) pęcherzyk (V) i strzępki wewnątrzkorzeniowe (Ih) tworzące rozgałęzienie Y-kształtne

Poza strukturami mikoryzowymi, w analizowanych fragmentach korzeni występowały struktury świadczące o obecności DSE – mikrosklerocja oraz ciemne, septowane strzępki, które nie wybarwiły się na niebiesko, lecz pozostały brązowe. Obrazy mikroskopowe struktur DSE przedstawiono na rysunku 9.



Rys. 9. Ciemnostrzępkowe endofity (DSE): a) mikrosklerocja (Ms) i septowane strzępki DSE (Sh) w korzeniu miskanta olbrzymiego; b) strzępki DSE w korzeniu spartiny preriowej, w tle widoczne pęcherzyki (V) arbuskularnych grzybów mikoryzowych

4. WNIOSKI

Przeprowadzone badania mikroskopowe umożliwiły sformułowanie następujących wniosków:

1. Wszystkie badane gatunki roślin energetycznych (miskant olbrzymi, proso różgowe, spartina preriowa) uprawiane na terenie zanieczyszczonym metalami ciężkimi tworzą związki mikoryzowe z grzybami z gromady *Glomeromycota*.
2. O obecności mikoryzy arbuskularnej w badanych fragmentach korzeni świadczy występowanie struktur charakterystycznych dla tego typu symbiozy: arbuskul i pęcherzyków.
3. Poza występowaniem arbuskularnych grzybów mikoryzowych, w korzeniach badanych roślin stwierdzono także obecność innych grzybowych endofitów – DSE.
4. Dobór odpowiednich metod przygotowania, trawienia, barwienia i przechowywania materiału korzeniowego oraz sporządzania preparatów mikroskopowych z tego materiału umożliwia uzyskanie wysokiej jakości obrazów mikroskopowych i ułatwia poprawne rozpoznanie struktur mikoryzowych.

Przedstawione wyniki zostały wykonane w Instytucie Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w ramach pracy finansowanej z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz projektu „Phyto2Energy”, realizowanego w ramach działań Marie Curie-Skłodowskiej 7 programu ramowego UE.

LITERATURA

- [1] BŁASZKOWSKI J., *Glomeromycota*, W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków 2012.
- [2] BRUNDRETT M., BOUGHER N., DELL B., GRAVE T., MALAJCZUK N., *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*, Australian Centre for International Agricultural Research, Monograph 32, Canberra 1996.
- [3] FUSCONI A., BERTA G., *Environmental Stress and Role of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*, [w:] *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, pod red. P. Ahmad, M.N.V Prasad, Springer, New York 2012, 197–214.
- [4] Główny Urząd Statystyczny, *Rocznik statystyczny rolnictwa 2014*, Warszawa 2014.
- [5] GUCWA-PRZEPIÓRA E., *Udział mikoryzy arbuskularnej w procesach fitoremediacji – mikoryzo-remediacja*, *Wiadomości Botaniczne*, 2012, Vol. 56, No. 1/2, 5–19.
- [6] GUCWA-PRZEPIÓRA E., KUCHARSKI R., SAS-NOWOSIELSKA A., *Status mikoryzowy wybranych gatunków roślin na zwale popłuczkowym ZGH „Orzeł Biały” w Piekarach Śląskich*, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2010, Vol. 545, 253–263.
- [7] JUNG S.C., MARTINEZ-MEDINA A., LOPEZ-RAEZ J.A., POZO M.J., *Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses*, *Journal of Chemical Ecology*, 2012, Vol. 38, 651–664.
- [8] KABAŁA C., KARCZEWSKA A., KOZAK M., *Przydatność roślin energetycznych do rekultywacji i zagospodarowania gleb zdegradowanych*, *Zeszyty Naukowe UP we Wrocławiu, Rol.*, XCVI, 2010, Vol. 576, 97–118.
- [9] Ministerstwo Gospodarki, *Krajowy plan działania w zakresie energii ze źródeł odnawialnych*, Warszawa 2010.
- [10] Ministerstwo Gospodarki, *Polityka energetyczna Polski do 2030 roku*, Warszawa 2010.
- [11] NEWSHAM K.K., *A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes*, *New Phytologist*, 2011, 190, 3, 783–793.
- [12] PHILLIPS J.M., HAYMAN D.S., *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection*, *Transactions British Mycological Society*, 1970, Vol. 55, 158–161.
- [13] POGRZEBA M., KRZYŻAK J., SAS-NOWOSIELSKA A., *Environmental hazards related to *Miscanthus × giganteus* cultivation on heavy metal contaminated soil*, *E3S Web of Conferences*, 2013, 1, 29006.
- [14] RABĘDA I., WOŹNY A., KRZESŁOWSKA M., *Bakterie i grzyby mikoryzowe zwiększają wydajność roślin w fitoremediacji metali śladowych*, *Kosmos*, 2011, Vol. 60, No. 3–4, 423–433.
- [15] RODRIGUEZ R.J., WHITE F.A. Jr, ARNOLD A.E., REDMAN R.S., *Fungal endophytes: diversity and functional roles*, *New Phytologist*, 2009, Vol. 182, No. 2, 314–330.
- [16] Rozporządzenie Ministra Środowiska w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi z dnia 9 września 2002 roku. *Dz. U. Nr 165, poz. 1359*.
- [17] SARAVESI K., RUOTSALAINEN A.L., CAHILL J.F., *Contrasting impacts of defoliation on root colonization by arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi of *Medicago sativa**, *Mycorrhiza*, 2014, Vol. 24, 239–245.
- [18] SATHIYADASH K., MUTHUKUMAR T., UMA E., *Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte fungal associations in South Indian grasses*, *Symbiosis*, 2010, Vol. 52, 21–32.
- [19] SIEBIELEC G., STUCZYŃSKI T., TERELAK H., FILIPIAK K., KOZA P., KORZENIOWSKA-PUCUŁEK R., ŁOPATKA A., JADCZYSZYN J., *Uwarunkowania produkcji rolniczej w regionach o dużym udziale gleb zanieczyszczonych metalami śladowymi*, *Wybrane zagadnienia systemów informacji przestrzennej i obszarów problemowych rolnictwa w Polsce*, *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2008, Vol. 12, 113–133.

- [20] SMITH S.E., READ D.J., *Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn*, Academic Press, London 2008.
- [21] SZCZUKOWSKI S., TWORKOWSKI J., STOLARSKI M., KWIATKOWSKI J., KRZYŻANIAK M., LAJSZNER W., GRABAN Ł., *Wieloletnie rośliny energetyczne: monografia*, Multico Oficyna Wydawnicza, Warszawa 2012.
- [22] TURNAU K., JURKIEWICZ A., GRZYBOWSKA B., *Rola mikoryzy w bioremediacji terenów zanieczyszczonych*, Kosmos, 2002, Vol. 51, No. 2, 185–194.
- [23] ZHAO D., LI T., SHEN M., WANG J., ZHAO Z., *Diverse strategies conferring extreme cadmium (Cd) tolerance in the dark septate endophyte (DSE), Exophiala pisciphila: Evidence from RNA-seq data*, Microbiological Research, 2015, Vol. 170, 27–35.
- [24] ZUBEK S., *Czy symbiotyczne grzyby arbuskularne mogą sprzyjać inwazji roślin?* Kosmos, 2012, Vol. 61, No. 4, 657–666.

ARBUSCULAR MYCORRHIZA OF SELECTED ENERGY CROPS CULTIVATED ON HEAVY METALS CONTAMINATED SITE

The aim of these studies was to implement methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal colonization of energy crops grown on heavy metals contaminated agricultural soil. Root samples of three perennial grasses (*Miscanthus × giganteus*, *Panicum virgatum*, *Spartina pectinata*) were collected. The samples were stained according to modified Phillips and Hayman (1970) method. Based on microscope observations of prepared samples several modifications of clearing in KOH procedure were made. Three mounting media were also tested (DPX, lactoglycerol, PVLG) and PVLG was found to be the most suitable. Selection of optimal parameters for processing, clearing, staining and storage root samples has improved the visualization of arbuscular mycorrhizal structures in field-collected roots of selected species. All three plant species examined has been found to form arbuscular mycorrhizal associations. These preliminary studies should allow to correctly quantify mycorrhizal colonization of selected energy crop species in the next stage of the research.

Dorota DOMARADZKA, Urszula GUZIK, Danuta WOJCIESZYŃSKA*

NAPROKSEN – TRUDNO DEGRADOWANY LEK PRZECIWPALNY I JEGO BIOTRANSFORMACJA PRZEZ *BACILLUS* SP. B1(2015B)

Gram-dodatni szczep *Bacillus* sp. B1(2015b) był zdolny do biotransformacji 6,0 mg/l naproksenu. W warunkach monosubstratowych biotransformacja zachodziła na poziomie 24% w ciągu 35 dni prowadzenia hodowli. Równocześnie obserwowano zmniejszenie się gęstości optycznej hodowli, co wskazywało, że naproksen nie jest wystarczającym źródłem węgla i energii dla szczepu B1 (2015b). W warunkach kometabolicznych z glukozą obserwowano całkowitą degradację leku z równoczesnym wzrostem hodowli bakteryjnej. Ponadto w hodowli zidentyfikowano O-desmetylonaproksen jako intermediat. Od 29 dnia prowadzenia hodowli obserwowano zmniejszanie się stężenia desmetylonaproksenu oraz zanik pozostałych metabolitów, co może wskazywać na całkowitą degradację naproksenu.

1. WSTĘP

Według badań GUS przeprowadzonych w okresie wrzesień–grudzień 2014 roku, niesterydowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są jednymi z najczęściej kupowanych leków bez recepty w Polsce [12]. Naproksen należy do grupy wielopierścieniowych NLPZ, pochodnych naftalenu i hamuje cyklooksygenazy (COX-1 i COX-2), które katalizują utlenienie i cyklizację kwasu arachidonowego, prowadząc do powstania czynników biologicznych takich jak prostaglandyny, prostacykliny i tromboksan. Stąd też lek ten wykazuje działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne [3, 7]. Naproksen wydalany jest w niewielkiej ilości z moczem w formie niezmienionej, natomiast większość związków ulega sprzężaniu z kwasem glukuronowym. Ponadto ok. 20% stanowią jego demetylowane pochodne, a ok. 10% ulega sprzężaniu z siarczanami [8]. Tradycyjne technologie

* Uniwersytet Śląski, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii, ul. Jagiellońska 28, 40–032 Katowice, doroteadomar@gmail.com.

oczyszczania ścieków nie eliminują tego typu zanieczyszczeń, dlatego wydalany naproksen oraz jego metabolity trafiają do wód powierzchniowych oraz wody pitnej [4, 32]. Obecność naproksenu w środowisku wodnym, która waha się w Polsce w stężeniach od 80 do 750 ng/l, nie jest obojętna dla organizmów żywych [6, 16]. Parrot i in. [22] zaobserwowali zniekształcenie jaj w pierwszym pokoleniu ryb *Pimephales promelas*, które były eksponowane na działanie mieszaniny leków (naproksen, diklofenak, gemfibrozil, triklosan, acetaminofen, kwas salicylowy) w stężeniu 100 ng/l oraz 300 ng/l. Wykazano wpływ naproksenu na wzrost i wykluwanie jaj *Jordanella floridae*, żerowanie stulbi (*Hydra attenuata*) oraz opóźnienie rozwoju larw płazów *Limnodynates peronii* [20, 21, 23]. Potencjalna bioakumulacja naproksenu w łańcuchu pokarmowym oraz toksyczność chroniczna są problemami, które wymagają rozwiązania. Znane są dwie drogi eliminacji NLPZ ze środowiska: fizyczno-chemiczna oraz biologiczna. Często stosowanymi metodami fizyczno-chemicznymi są fotodegradacja i naświetlanie promieniem gamma. Hsu i in. [15] oznaczyli 1(6-metoksy-naftalen-2-ilo) etanol, 1(6-metoksy-naftalen-2-ilo) etanon, metyl 2-(6-metoksy-naftalen-2-ilo) propionian oraz 2-etyl-6-metoksy-naftalen jako produkty fotodegradacji. Testy toksyczności wykazały, że produkty te są bardziej toksyczne od związku macierzystego. W badaniach tych wykorzystano promieniowanie słoneczne, gdyż w środowisku naturalnym naproksen prawdopodobnie podlega podobnym transformacjom do badanych toksycznych intermedatów. Zastosowanie promieniowania gamma również nie powoduje całkowitej degradacji leku, a jedynie jego dekarboksylację [35].

Alternatywą dla metod fizyczno-chemicznych jest degradacja NLPZ na drodze biologicznej. Transformację naproksenu do tej pory prowadzono głównie z udziałem grzybów: *Trametes versicolor*, *Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *C. echinulata*, *C. blakesleeana*, *Phanerochaete chrysosporium* oraz osad czynny [14, 19, 25, 36]. Fernandez-Fontaina i in. [11] wykazali całkowitą biotransformację przez osad czynny 100 µg/l naproksenu, z 1(6-metoksy-naftalen-2-ilo) etanolem jako intermedatem, w warunkach nityfikacji. Autorzy sugerują, że duża aktywność monooksygenazy amonowej podczas procesu nityfikacji przyczyniła się do wydajnej biotransformacji leku. Ostatnio pojawiły się również publikacje dotyczące biologicznej transformacji naproksenu przez izolowane szczepy: *Stenotrophomonas maltophilia* KB2, *Planococcus* sp. S5 oraz *Pseudomonas stutzeri*, w warunkach kometabolicznych. Kometabolizm jest często stosowany w układach badawczych, których celem jest mineralizacja trudno degradowanych substancji. Wprowadzenie czynnika wzrostowego przyczynia się do wzrostu biomasy mikroorganizmów, a tym samym stymuluje transformację ksenobiotyku [5, 9, 10, 29, 33].

Ze względu na dużą konsumpcję i nieefektywne usuwanie naproksenu w oczyszczalniach ścieków oraz potencjalną bioakumulację leku i jego metabolitów konieczne jest poszukiwanie mikroorganizmów, które byłyby zdolne do całkowitej mineralizacji naproksenu. Niniejsza praca jest kontynuacją badań nad biotransformacją naproksenu

w warunkach kometabolicznych, w których zastosowano gram dodatni szczep *Bacillus* sp. B1(2015b).

2. METODYKA BADAŃ

2.1. ZASTOSOWANY SZCZEP BAKTERII I WARUNKI HODOWLI

Użyty w badaniach szczep *Bacillus* sp. B1(2015b) został wyizolowany z terenów składowania odpadów poprodukcyjnych nawozów i środków ochrony roślin Zakładu Chemicznego Organika-Azot S.A. w Jaworznie. Szczep namnażano w bulionie odżywczym w temperaturze 30°C, w warunkach wytrząsania 130 rpm przez 24 h. Po tym czasie hodowle odwirowywano (5000 x g w 4°C, przez 15 min), przemywano sterylną pożywką mineralną i używano jako innokulum w dalszych badaniach. Biotransformacja naproksenu była prowadzona w układzie monosubstratowym oraz kometabolicznym, w pożywce mineralnej o składzie: Na₂HPO₄·12H₂O - 3,78 g/l; KH₂PO₄ - 0,5 g/l; NH₄Cl - 5,0 g/l; MgSO₄·7H₂O - 0,2 g/l; ekstrakt drożdżowy - 0,01 g/l (pH 7,1-7,3). Do każdego układu wprowadzano wcześniej przygotowane innokulum, w takich ilościach, aby w hodowlach monosubstratowych gęstość optyczna przy $\lambda = 600$ nm wynosiła ok. 1,0, natomiast w hodowlach kometabolicznych ok. 0,1. Naproksen, jako sól sodową w stężeniu 6,0 mg/l dodawano do każdego układu badawczego. Do hodowli kometabolicznych dodatkowo wprowadzano glukozę w stężeniu 0,5 g/l, jako substrat wzrostowy. W trakcie trwania hodowli monitorowano gęstość optyczną, poprzez pomiar absorbancji światła przy $\lambda = 600$ nm (OD₆₀₀). Jeśli wartość OD₆₀₀ była większa lub równa 1,3 w układzie kometabolicznym, to do hodowli nie dodawano substratu wzrostowego. Układy hodowlane były prowadzone w trzech powtórzeniach w warunkach wytrząsania 130 rpm, w 30°C. Hodowle monosubstratowe prowadziło przez 35 dni, natomiast kometaboliczne przez 29 dni.

2.2. OZNACZENIE STĘŻENIA SUBSTRATÓW

Stężenie naproksenu w hodowli oznaczano przy użyciu chromatografu cieczowego (Merck HITACHI) wyposażonego w kolumnę Ascentis® Express C18 (10 cm x 4,6 mm; 2,7 μ m) o odwróconym układzie faz, przedkolumnę OPTI-SOLV® EXP i detektor UV/VIS typu DAD. Faza ruchoma składała się z 1% kwasu octowego i acetonitrylu (50:50% v/v), przepływ wynosił 1 ml/min. Detekcję związku obserwowano przy długości fali $\lambda = 260$ nm. Do oznaczenia naproksenu pobierano 1,5 ml próbek i odwirowywano (14000 rpm, 20 min). Badany lek, w supernatancie, zidentyfikowano na podstawie spektrum UV-VIS roztworu wzorcowego [33]. W celu identyfikacji metabolitu pośredniego wykorzystano roztwór wzorcowy desmetylonaproksenu. Stężenie metabolitu

kontrolowano z wykorzystaniem opisanej powyżej metody do oznaczania stężenia naproksenu.

Stężenie glukozy oznaczano za pomocą metody antronej [27].

2.3. ANALIZA STATYSTYCZNA

Badanie przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Wyniki zostały zanalizowane przy użyciu programu STATISTICA PL 12.5.192.18.

3. WYNIKI I DYSKUSJA

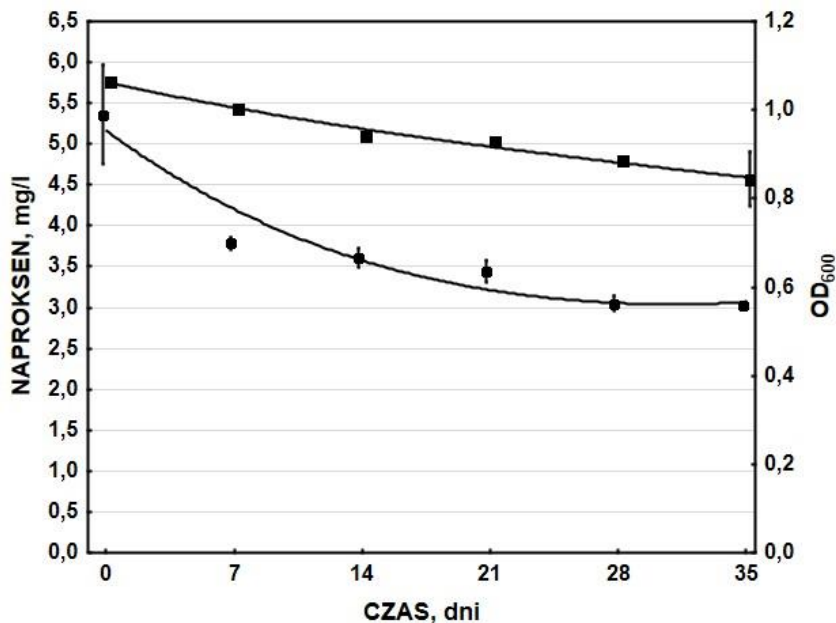
3.1. BIOTRANSFORMACJA NAPROKSENU W HODOWLACH MONOSUBSTRATOWYCH

Coraz częściej, w procesach usuwania związków ksenobiotycznych ze środowiska stosuje się metody biologiczne, z zastosowaniem mikroorganizmów posiadających wyspecjalizowane układy enzymatyczne, zaangażowane w rozkład struktury ksenobiotyku. Jest to również tańsza alternatywa dla metod fizyczno-chemicznych. Jednak wciąż konieczne jest poszukiwanie szczepów zdolnych do biotransformacji NLPZ, co umożliwiłoby w przyszłości opisanie szlaku degradacji tych farmaceutyków, jak również metod monitoringu NLPZ w środowisku [11, 24, 26, 28].

Tereny poprodukcyjne zakładu Organika-Azot S.A. w Jaworznie są silnie zanieczyszczone o czym świadczy odczyn pH, obecność fenoli, cyjanów, metali ciężkich (m.in. Zn, Hg), substancji czynnych anionowo i innych związków takich jak: sześćchlorocykloheksan, DDT, chlorfeninfos [34]. Ze względu na obecność dużej ilości związków posiadających strukturę aromatyczną i trudne warunki środowiskowe, tereny te zostały wybrane do skringingu szczepów bakterii, które byłyby zdolne transformować naproksen. Wyizolowany gram-dodatni szczep, *Bacillus* sp. B1(2015b), transformował naproksen w 24%, w układzie monosubstratowym (rys. 1).

Uznaje się, że gram-ujemne bakterie są bardziej odporne na ksenobiotyki występujące w środowisku, niż bakterie gram-dodatnie, ze względu na obecność zewnętrznej błony komórkowej, co umożliwia regulację jej przepuszczalności przez zmianę składu fosfolipidów, a także aktywne usuwanie ksenobiotyków z komórki [30, 13]. Jednakże gram-dodatnie bakterie również wykazują zdolność do degradacji związków aromatycznych. Przykładem jest biotransformacja naftalenu przez *Bacillus fusiformis* (BFN) oraz *Bacillus naphthovorans*, a także pentachlorofenolu przez *Bacillus cereus* [18, 37, 31]. Badania te potwierdzają, że bakterie z rodzaju *Bacillus* wykazują zdolność transformacji toksycznych związków aromatycznych o złożonych strukturach, takich jak naftalen i pochodne fenolu. *Bacillus* sp. B1(2015b) jest do tej pory dopiero drugim z kolei opisanym gram-dodatnim szczepem, który wykazuje zdolność biotransformacji naproksenu. Jednak w porównaniu do opisanego

wcześniej gram-dodatniego szczepu *Planococcus* sp. S5, szczep *Bacillus* sp. B1(2015b) odznaczał się większą zdolnością do degradacji oraz mniejszym zamieraniem hodowli w układach monosubstratowych [9].



Rys. 1. Biotransformacja naproksenu jako źródło węgla i energii
(• stężenie naproksenu, • gęstość optyczna)

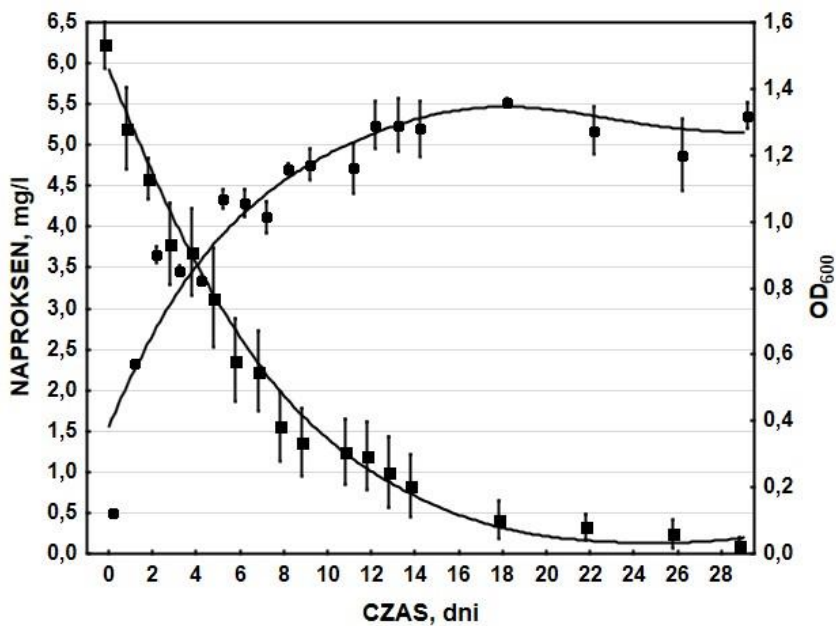
Naprosken był również biotransformowany w hodowlach bakterii gram-ujemnych oraz grzybów. Szczep *Pseudomonas* sp. CE21 transformował w 78% 0,01 mg/l oraz w 100% 0,1 mg/l naproksenu w przeciągu trzech dni, natomiast *Stenotrophomonas maltophilia* KB2 28% 6,0 mg/l przez 35 dni. Wydajniejszą biotransformację naproksenu wykazano w hodowlach grzybów. Naprosken w stężeniu 10 mg/l oraz 55 μ g/l był całkowicie eliminowany przez *Trametes versicolor* odpowiednio po 6 godz. i 5 godz. inkubacji, jak również w hodowli *Phanerochaete chrysosporium*, w stężeniu 0,001 g/l, po 4 dniach. Należy jednak zaznaczyć, że w hodowlach grzybów obserwowano akumulację farmaceutyku na ich powierzchni, której nie obserwowano w hodowlach abiotycznych bakterii [17, 19, 26, 33].

3.2. BIOTRANSFORMACJA NAPROKSENU W WARUNKACH KOMETABOLICZNYCH

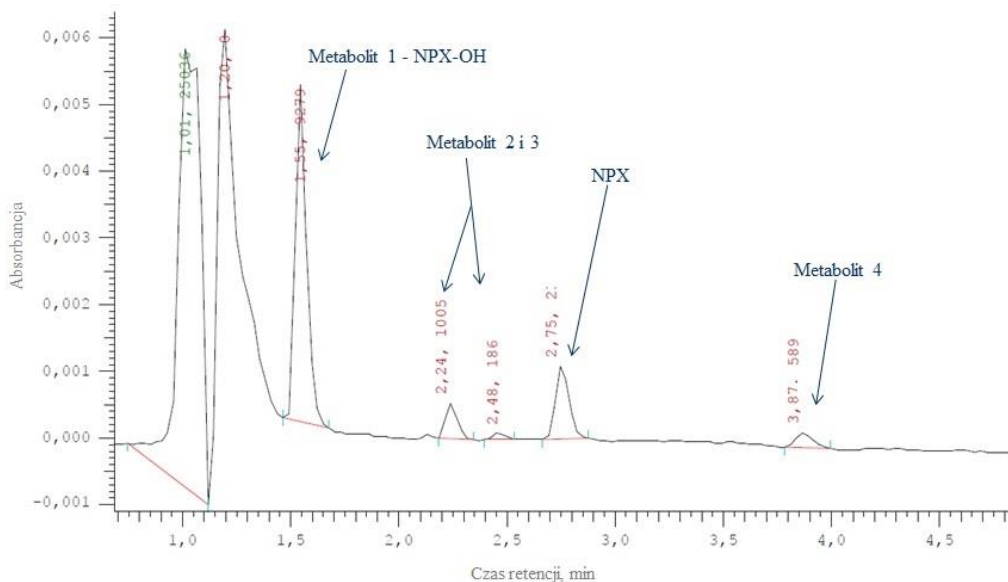
Niektóre mikroorganizmy zdolne są degradować ksenobiotyki jedynie w układach kometabolicznych. Wielopierścieniowe związki aromatyczne występują w środowisku w mieszaninie różnych substancji, łatwiej bądź trudniej biodostępnych, dlatego zastosowanie układów kometabolicznych znajduje swoje uzasadnienie [1, 2, 25]. Jedne z pierwszych badań, nad degradacją naproksenu przez osad czynny pokazały, że dodatkowe źródło węgla nie tylko zwiększa wydajność transformacji, lecz często wręcz ją umożliwia [24]. Dodatek ligninolitycznych związków do gleby, w której prowadzono biotransformację naproksenu przez *Trametes versicolor*, wpłynęło pozytywnie na produkcję lakazy, w konsekwencji zmniejszając stężenie leku w układzie badawczym [2]. W hodowli *Phanerochaete chrysosporium*, w obecności glukozy jako substratu wzrostowego, obserwowano natomiast całkowitą transformację mieszaniny farmaceutyków: naproksenu, ibuprofenu i diklofenaku [25].

Zastosowanie dodatkowego źródła węgla, w hodowlach *Stenotrophomonas maltophilia* KB2, *Planococcus* sp. S5 oraz *Pseudomonas stutzeri* zwiększyło biotransformację naproksenu. Wykazano, że glukoza jest najlepszym substratem promującym wzrost tych szczepów, czego skutkiem była duża transformacja leku: w hodowli *Stenotrophomonas maltophilia* KB2 wynosiła 78%, *Planococcus* sp. S5 - 50%, natomiast *Pseudomonas stutzeri* - 59 % w ciągu 35 dni [9, 10, 33]. W hodowlach kometabolicznych *Bacillus* sp. B1(2015b), w których użyto glukozy jako substratu wzrostowego, naproksen był transformowany w ok. 98 % (rys. 2). Glukoza była całkowicie degradowana w ciągu 20 godzin prowadzenia hodowli. Największy ubytek leku obserwowano w pierwszych dniach hodowli – do 8 dnia, któremu towarzyszył intensywny wzrost hodowli. Oprócz stężenia naproksenu monitorowano pojawiające się metabolity pośrednie, których nie obserwowano w hodowlach monosubstratowych (rys. 3). W hodowli pojawiły się cztery metabolity pośrednie, których widma UV/VIS były zbliżone do widma naproksenu. Metabolit 1, o czasie retencji 1,23, na podstawie wzorca został zidentyfikowany jako *O*-desmetylonaproksen. Najwyższe stężenie metabolitu 1 wynosiło ok. $4,431 \pm 0,096$ mg/l w 26 dniu hodowli, natomiast stężenie naproksenu w tym dniu było na poziomie ok. $0,145 \pm 0,005$ mg/l. Zmniejszeniu stężenia naproksenu w hodowli towarzyszył wzrost stężenia *O*-desmetylonaproksenu, następnie obserwowano zmniejszenie się stężenia *O*-desmetylonaproksenu i zanik pozostałych metabolitów pośrednich (rys. 4). Wskazuje to na całkowitą degradację naproksenu przez *Bacillus* sp. B1(2015b). Ponadto obecność metabolitów pośrednich pozwoli w przyszłości na opisanie szlaku degradacji naproksenu.

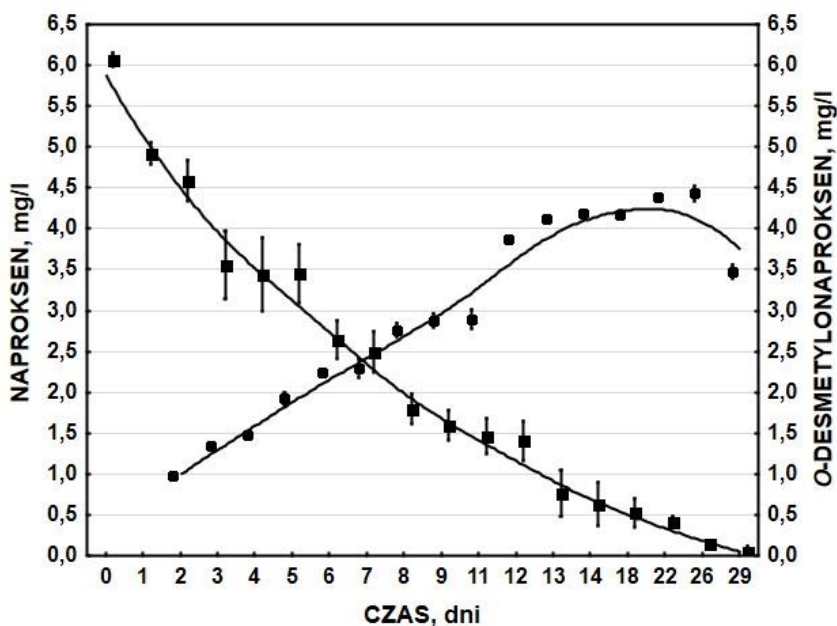
O-desmetylonaproksen jest często występującym metabolitem naproksenu podczas mikrobiologicznej transformacji leku. Jego obecność w hodowlach grzybów jest wynikiem aktywności cytochromu P-450, którego aktywność oznaczono w hodowlach *Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans* oraz *Trametes versicolor* [14, 19, 36]. W osadzie czynnym również dochodziło do hydroksylacji pierścienia aromatycznego w pozycji C5 [24].



Rys. 2. Biotransformacja naproksenu jako kometabolitu (■ stężenie naproksenu, ● gęstość optyczna)



Rys. 3. Chromatogram otrzymany z hodowli kometabolicznej z glukozą *Bacillus* sp. B1(2015b)



Rys. 4. Zmiany stężenia naproksenu i O-desmetylonaproksenu w układzie kometabolicznym (• stężenie naproksenu, • stężenie O-desmetylonaproksenu)

Naproksen może być w różny sposób hydroksylowany. Fernandez–Fontaina i in. [11] wykazali hydroksylację łańcuchu propionowego naproksenu w badaniach nad jego rozkładem przez osad czynny w bioreaktorach nityfikacyjnych. Przypuszczalnie wynika to z aktywności monooksygenazy amonowej. W hodowli *Aspergillus niger* oznaczono 7-hydroksynaproksen oraz 7-hydroksy–O-desmetylonaproksen. W hodowli *Stenotrophomonas maltophilia* KB2, natomiast zaproponowano szlak degradacji naproksenu, na podstawie oznaczonej aktywności enzymów, poprzez 7,8-dihydroksynaproksen i 5,7,8-trihydroksynaproksen. Hydroksylacja pierścienia naproksenu potencjalnie umożliwia jego rozszczepienie przez dioksygenazy rozszczepiające [14, 33].

3.3. PODSUMOWANIE

Bacillus sp. B1(2015b), wyizolowany z terenów poprodukcyjnych Zakładów Organika Azot S.A., całkowicie transformował naproksen w hodowlach kometabolicznych z glukozą w ciągu 29 dni. Jest to największa do tej pory obserwowana biotransformacja leku w czystych kulturach bakterii w warunkach kometabolicznych. Ponadto zidentyfikowano O-desmetylonaproksen jako metabolit naproksenu. Konieczne są jednak dalsze

badania, by można było stwierdzić, że *Bacillus* sp. B1(2015b) całkowicie degraduje naprosken.

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki (2013/09/B/NZ9/00244).

LITERATURA

- [1] ARULAZHAGAN P., SIVARAMAN C., KUMAR S.A., ASLAM M., BANU J.R., *Co-metabolic degradation of benzo(e)pyrene by halophilic bacterial consortium at different saline condition*, Journal of Environmental Biology, 2014, Vol. 35, No. 3, 445–452.
- [2] BORRAS E., LLORENS-BLANCH G., RODRIGUEZ-RODRIGUEZ C.E., SARRA M., CAMINAL G., *Soil colonization by Trametes versicolor grown on lignocellulosic materials: substrate selection and naproxen degradation*, International Biodeterioration and Bioderagation, 2011, Vol. 65, No. 6, 846–852.
- [3] BURDAN F., CHAŁAS A., SZUMIAŁO J., *Cyklooksygenaza i prostanoidy – znaczenie biologiczne*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2006, Vol. 60, 129–141.
- [4] CARMONA E., ANDREU V., PICO Y., *Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: From waste to drinking water*, Science of the total Environment, 2014, Vol. 484, No. 1, 53–63.
- [5] CORNELISSEN G., SIJM D., *An energy budget model for the biodegradation and cometabolism of organic substances*, Chemosphere, 1996, Vol. 33, No. 5, 817–830.
- [6] CRANE M., WATTS C., BOUCARD T., *Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals*, Science of the Total Environment, 2006, Vol. 367, No. 1, 23–41.
- [7] CRYER B., FELDMAN M., *Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs*, The American Journal of Medicine, 1998, Vol. 104, No. 5, 413–421.
- [8] CZUBA E., KLIMOWICZ A., BIELECKA-GRELA S., KACALAK-RZEPKA A., *Wpływ wybranych izoenzymów cytochromu P-450 na niesterydowe leki przeciwpalne*, Postępy Dermatologii i Alergologii, 2009, Vol. 26, No. 6, 529–532.
- [9] DOMARADZKA D., GUZIK U. HUPERT-KOCUREK K., WOJCIESZYŃSKA D., *Cometabolic degradation of naproxen by Planococcus sp. strain S5*, Water, Air and Soil Pollution, 2015, Vol. 9, 226–297.
- [10] DOMARADZKA D., GUZIK U., WOJCIESZYŃSKA D., *Biotransformacja naproskenu przez szczep Pseudomonas stutzeri*, Interdyscyplinarne Zagadnienia w Inżynierii i Ochronie Środowiska, 2014, Vol. 4, 173–182.
- [11] FERNANDEZ-FONTAINA E., GOMES I.B., AGA D.S., OMIL F., LEMA J.M., CARBALLA M., *Biotransformation of pharmaceuticals under nitrification, nitrataion and heterotropic conditions*, Science of the Total Environment, 2016, Vol. 541, No 1439–1447.
- [12] GŁÓWNY URZĄD STATYSTYCZNY, *Zdrowie i zachowanie zdrowotne mieszkańców Polski w świetle Europejskiego Ankietowego Badania Zdrowia (EHIS) 2014 r.*, Warszawa 2015, 1–12.
- [13] GREŃ I., GAŚCZAK A., BARTELEMUS G., LABUŹEK S., *Diversity of mixed microorganism population after screening in the presence of selected VOCs*, Proceedings of ECOpole, 2010, Vol. 4, No. 1, 55–60.
- [14] HE A., ROSAZZA J.P.N., *Microbial transformations of S-naproxen by Aspergillus niger ATCC 9142*, 2003, Pharmazie, Vol., 58, No. 6, 420–422.

- [15] HSU Y.H., LIOU Y.B., LEE J.A., CHEN C.Y., WU A.B., *Assay of naproxen by high-performance liquid chromatography and identification of its photoproducts by LC-ESI MS*, Biomedical chromatography, 2006, Vol. 20, No. 8, 787–793.
- [16] KOWALSKI B., *Oznaczanie wybranych leków z różnych grup terapeutycznych w wodach powierzchniowych z zastosowaniem technik chromatograficznych*, [w:] Rozprawa doktorska, Politechnika Śląska, Gliwice 2011, 6–122.
- [17] LIN B., LYU J., LYU X.J., YU H.Q., HU Z., LAM J.C., *Characterization of cephalixin degradation capabilities of two Pseudomonas strains isolated from activated sludge*, Journal of Hazardous Materials, 2015, Vol. 282, 158–164.
- [18] LIN C., GAN L., CHEN Z.L., *Biodegradation of naphthalene by strain Bacillus fusiformis (BFN)*, Journal of Hazardous Materials, 2010, Vol. 182, No. 1/3, 771–777.
- [19] MARCO-URREA E., PÉREZ-TRUJILLO M., BLÁNQUEZ P., VICENT T., CAMINAL G., *Biodegradation of the analgesic naproxen by Trametes versicolor and identification of intermediates using HPLC-DAD-MS and NMR*, 2010, Bioresource Technology, Vol. 101, No. 7, 2159–2166.
- [20] MELVIN S.D., *Oxidative stress, Energy storage, and swimming performance of Limnodynastes peronii tadpoles exposed to a sub-lethal pharmaceutical mixture throughout development*, Chemosphere, 2015, doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.09.034.
- [21] NESBITT R., *Effects of chronic exposure to ibuprofen and naproxen on Florida flagfish (Jordanella floridae) over one complete life-cycle*, Master of Science in Applied Bioscience, University of Ontario Institute of technology, Oshawa 2011, 1–153.
- [22] PARROT J., BENNIE D.T., *Life-cycle exposure of Fathead minnows to a mixture of six common pharmaceuticals and triclosan*, Journal of Toxicology and Environmental Health, 2009, Vol. 72, No. 10, 633–641.
- [23] QUINN B., GAGNE F., BLAISE C., *An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, Hydra attenuate*, Science of the Total Environment, 2008, Vol. 389, No. 3, 306–314.
- [24] QUINTANA J.B., WEISS S., REEMTSMA T., *Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by membrane bioreactor*, Water Research, 2005, Vol. 39, No. 12, 2654–2664.
- [25] RODARTE-MORALES A.I., FEIJOO G., MOREIRA M.T., LEMA M.J., *Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus Phanerochaete chrysosporium in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supply*, Biodegradation, 2012, Vol. 23, No. 1, 145–156.
- [26] RODARTE-MORALES A.I., FEIJOO G., MOREIRA M.T., LEMA M.J., *Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, Vol. 27, No. 8, 1839–1846.
- [27] ROE J.H., *The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent*, The Journal of Biological Chemistry, 1955, Vol. 212, No. 1, 335–343.
- [28] SAGRISTA E., LARSSON E., EZODDIN M., HIDALGO M., SALVADO V., JONSSON J.A., *Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in sewage sludge by direct hollow fiber supported liquid membrane extraction and liquid chromatography-mass spectrometry*, Journal of Chromatography A, 2010, Vol. 1217, No. 40, 6153–6158.
- [29] SCHMIDT S., SCOW K., ALEXANDER M., *Kinetocs of p-nitrophenol mineralization by a Pseudomonas sp. Effects of second substrates*, Applied and Environmental Microbiology, 1987, Vol. 53, No. 11, 2617–2623.
- [30] SEGURA A., DUQUE E., MOSQUEDA G., RAMOS J.L., JUNKER F., *Multiple responses of Gram-negative bacteria to organic solvents*, Environmental Microbiology, 1999, Vol. 1, No. 3, 191–198.

- [31] SINGH S., SINGH B.B., CHANDRA R., PATEL D.K., RAI V., *Synergistic biodegradation of pentachlorophenol by Bacillus cereus (DQ002384), Serratia marcescens (AY927692) and Serratia marcescens (DQ002385)*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, Vol. 25, No. 10, 1821–1828.
- [32] TERNES T., *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*, Water Research, 1998, Vol. 32, No. 11, 3245–3260.
- [33] WOJCIESZYŃSKA D., DOMARADZKA D., HUPERT-KOCUREK K., GUZIK U., *Bacterial degradation of naproxen – undisclosed pollutant in the environment*, Journal of Environmental Management, 2014, Vol. 145, 157–161.
- [34] WOJEWODA ŚLĄSKI, WOJEWÓDZKI INSPEKTORAT OCHRONY ŚRODOWISKA W KATOWICACH, *Centralne składowisko odpadów „Rudna Góra”, zakłady Chemiczne „organika Azot” SA w Jaworznie*, [w:] Ocena stanu środowiska w rejonie obiektów objętych monitoringiem lokalnym, na terenie województwa śląskiego, Katowice 2012, 43–46.
- [35] ZHENG B., ZHENG Z., ZHANG J., LIU Q. WANG J., LUO X., WANG L., *Degradation kinetics and by-products of naproxen in aqueous solutions by gamma irradiation*, Environmental Engineering Science, 2012, Vol. 29, No. 6, 386–391.
- [36] ZHONG Z.D.F., SUN L.L., HUANG H.H., *Microbial transformation of naproxen by Cunninghamella species*, 2003, Acta Pharmacologica Sinica, Vol. 24, No. 5, 442–447.
- [37] ZHUANG W.Q., TAY J.H., MASZENAN A.M., KRUMHOLZ L.R., TAY S.T.L., *Importance of Gram-positive naphthalene-degrading bacteria in oil-contaminated tropical marine sediments*, Letters in Applied Microbiology, 2003, Vol. 36, No. 4, 25–257.

NAPROXEN – THE HARD DEGRADE NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUG AND ITS BIOTRANSFORMATION BY *BACILLUS* SP. B1(2015B)

Isolated *Bacillus* sp. B1(2015b) completely biotransforms 6,0 mg/l of naproxen. Naproxen was transformed in 24 % in mono-substrate conditions during 35 days. Naproxen was not sufficient carbon and energy source for *Bacillus* sp. B1(2015b) strain because culture optical density decrease was observed. Whereas naproxen biotransformation was complete in cometabolic conditions with glucose and culture growth was noticed. In addition *O*-desmethylnaproxen was identified as one of naproxen's metabolites. *O*-desmethylnaproxen concentration was decreased and another metabolites was disappeared since 29 day of experiment.. This fact suggests that naproxen is completely degraded.

Anna GAYER, Dominika MUCHA*

NARAŻENIE NA ZANIECZYSZCZENIA PYŁOWE POWIETRZA W TRAKCIE UPRAWIANIA AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ W ŚRODOWISKU MIEJSKIM – BADANIA WSTĘPNE

Dbłość o zdrowie jest główną przyczyną, dla której coraz więcej osób uprawia aktywność fizyczną na zewnątrz. W warunkach dobrej jakości powietrza, którym oddychamy można zakładać, że cel zdrowotny zostanie osiągnięty. Należy jednak rozważyć również sytuację, w której normy jakości powietrza nie są dochowane. W Warszawie przekroczenia poziomów dopuszczalnych stężeń zanieczyszczeń w powietrzu są częste i mogą budzić powszechną wątpliwość czy warto uprawiać sport na zewnątrz oraz/lub w jaki sposób zminimalizować negatywny wpływ zanieczyszczeń na zdrowie. Wyniki badań prowadzonych przez szerokie grono naukowców są w tej tematyce często sprzeczne i pozwalają sądzić, że nie została do tej pory wypracowana metodyka, wedle której można byłoby jednoznacznie oszacować wpływ uprawiania sportu w środowisku o niskiej jakości powietrza. Niniejsza praca zawiera podsumowanie wyników dotychczas prowadzonych badań, jak i uwzględnia wstępne wyniki pomiarów personalnych prowadzonych na terenie Warszawy. Mobilne pomiary pyłu zawieszonego PM_{2,5} były wykonywane przez osobę aktywną fizycznie w różnych warunkach lokalizacyjnych (w centrum miasta, na przedmieściach, przy ruchliwych ulicach oraz z dala od szlaków komunikacyjnych) na początku 2016 roku. Wyniki te zostały porównane ze wskazaniami stacjonarnych stacji pomiarowych (komunikacyjnych i tła miejskiego) wchodzących w skład miejskiego systemu oceny jakości powietrza.

1. WSTĘP

Wzrastająca świadomość społeczna dotycząca pozytywnych efektów zdrowotnych uprawiania aktywności fizycznej prowadzi do zwiększenia się liczby osób uprawiających sport na zewnątrz. Wśród najczęściej wybieranych przez Polaków dyscyplin sportowych znajdują się jazda na rowerze (51% ankietowanych), bieganie (18%), turystyka piesza

* Politechnika Warszawska, Wydział Instalacji Budowlanych, Hydrotechniki i Inżynierii Środowiska, ul. Nowowiejska 20, 00-653 Warszawa, anna.gayer@is.pw.edu.pl.

(16%), nordic walking (5%) [4]. Władze miejskie oraz tworzone polityki transportowe zachęcają do zmiany wybieranych środków transportu w mieście tj. rezygnacji z transportu samochodowego na rzecz rowerowego czy też pieszego [6]. Nie istnieją jednak jednoznaczne przesłanki dające odpowiedź czy uprawianie sportu w warunkach niskiej jakości powietrza obecnego w miastach w rzeczywistości przyczynia się do poprawy czy pogorszenia stanu zdrowia osoby wybierającej taką aktywność [14–16].

Wyniki badań epidemiologicznych [8, 3] potwierdzają, że krótko i długoterminowa ekspozycja na zanieczyszczenia pyłowe powietrza zwiększa ryzyko zachorowalności na choroby układu oddechowego, krążeniowo-sercowego oraz nerwowego. Narażenie na podwyższone poziomy stężenie zanieczyszczeń powietrza mogą również prowadzić do przedwczesnych zgonów [13].

Istotnym jest zatem rozważanie czy korzyści płynące z uprawiania sportu kompensują zagrożenia związane z przebywaniem w zanieczyszczonym powietrzu w trakcie treningu. Podczas ćwiczeń fizycznych zachodzi szereg zmian fizjologicznych, które mogą potencjalnie nasilać wpływ zanieczyszczenia powietrza na zdrowie. Należą do nich zmiany częstotliwości respiracji oraz niekiedy ograniczanie funkcji obronnych śluzówki nosa poprzez zmianę z nosowego na oddychanie przez usta [11]. Podczas aktywności fizycznej wymienianie podlega od 10 do 20 razy więcej powietrza niż podczas spoczynku [1]. Zwiększona wentylacja powoduje zwiększenie się udziału ultradrobnych cząstek pyłu oraz ich depozycję w drogach oddechowych. Daigle i in. [5] określili, że łączna liczba osadzonych cząstek pyłu wynosiła ponad 4,5-krotnie więcej podczas wykonywanych ćwiczeń fizycznych niż w trakcie spoczynku badanych osób. Ekspozycja na pył zawieszony może powodować stres oksydacyjny, zwiększenie reaktywności oskrzeli, wzrost liczby komórek zapalnych dróg oddechowych, co może wpływać na czynność płuc [9].

Nyhan i in. [12] zbadali zależność między rodzajem wybranego transportu miejskiego a skutkami zdrowotnymi narażenia na pył zawieszony w środowisku miejskim. Na większe dawki wdychanego pyłu zawieszono osoby wybierające transport pieszego bądź rowerowy w stosunku do tych które podróżowały autobusem lub pociągiem. U pieszych i rowerzystów odnotowano również negatywne skutki zdrowotne takie jak obniżenie zmienności rytmu serca (HRV).

W 2013 roku Weichenthal i in. [18] przebadali 53 zdrowych, nie palących tytoniu rowerzystek. Wyniki wskazują na związek między wyeksponowaniem na wysokie stężenia zanieczyszczeń powietrza (w tym $PM_{2,5}$) w trakcie przejazdów rowerem a krótkotrwałymi zmianami w ciśnieniu krwi oraz autonomicznej regulacji rytmu serca. Podobne wyniki uzyskali Giles i in. [7], którzy badali wpływ ekspozycji na spaliny z silnika Diesla przed treningiem kolarzy. Narażenie na wysokie stężenie zanieczyszczeń znajdujących się w spalinach spowodowało zmianę czynności oddechowej i zwiększoną częstotliwość akcji serca u osób badanych.

Badania przeprowadzone przez zespół McConell [10] wskazują że u dzieci, które wykonywały ćwiczenia fizycznie (gry zespołowe) w środowisku miejskim o dużym

stężeniu ozonu zdecydowanie częściej diagnozowano astmę niż w przypadku dzieci nie narażonych na stężenia tego zanieczyszczenia powietrza. W przypadku innych zanieczyszczeń (w tym pyłowych) nie wystąpiła korelacja pomiędzy ekspozycją a zachorowalnością na astmę.

Istnieje jednak szereg doniesień potwierdzających tezę o przeważających korzyściach zdrowotnych płynących z podejmowania aktywności fizycznej nawet w warunkach niskiej jakości powietrza w stosunku do jej braku.

Ocena ryzyka zdrowotnego mieszkańców Barcelony wykonana (wg. metodyki Health Impact Assessment) przez zespół Rojas–Rueda [15] wykazała, że korzyści zdrowotne ze względu na wzrost poziomu aktywności fizycznej są na ogół większe niż ryzyko związane ze zwiększeniem się dawek wziewnych zanieczyszczenia powietrza podczas jazdy na rowerze.

Anderson i in. [2] zbadali 52061 pacjentów, w wieku 50–65 lat, z dwóch największych duńskich miast Aarhus i Kopenhagi. Wyniki badań wskazują, że długość życia osób aktywnych fizycznie, uprawiających sport na zewnątrz była dłuższa w stosunku do osób nieaktywnych. Istotny jest jednak fakt, że jakość powietrza w Danii jest wyższa niż w innych miastach Europy.

Opublikowane w *Medicine and Science in Sports and Exercise* w 2012 roku przez Vieira [17] badania na myszach poddanych wpływowi zanieczyszczeń powietrza wskazują, że stan zdrowia myszy aktywnych fizycznie był wyższy niż nieaktywnych. Myszy nieaktywne fizycznie wykazywały pogorszenie stanu zdrowia np. przez zachorowalność na zapalenie płuc.

W przypadku badań oceniających wpływ zanieczyszczeń powietrza na zdrowie wiele wątpliwości budzi sposób oceny rzeczywistej ekspozycji osobistej. Dla osoby chcącej podjąć aktywność fizyczną na zewnątrz nie jest również pewne, czy obecna w danej chwili jakość powietrza w mieście nie zagraża jej zdrowiu podczas treningu.

Obecnie ze względu na ochronę zdrowia poziomy dopuszczalne pyłów respirabilnych, do jakich zalicza się m.in. $PM_{2,5}$, określone są dla wartości stężeń średniorocznych (zob. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 sierpnia 2012 r. w sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu (Dz. U z 2012 r., poz. 1031). Nie istnieją zatem wytyczne prawne określające poziomy bezpieczne dla wartości chwilowych np. średnich jednogodzinnych.

Rozważania nad narażeniem na zanieczyszczenia pyłowe powietrza w trakcie uprawiania aktywności fizycznej w środowisku miejskim i ich wpływu na zdrowie ludzkie powinny skupiać się zatem nad odpowiedziami na następujące pytania:

1. Czy korzyści płynące z aktywności fizycznej kompensują potencjalne negatywne skutki zdrowotne wynikające z uprawiania jej w środowisku miejskim o niskiej jakości powietrza?
2. Jaki poziom stężeń zanieczyszczeń pyłowych powietrza, na jaki narażona jest osoba uprawiająca sport na zewnątrz, wiąże się z ryzykiem wystąpienia negatywnych skutków zdrowotnych?

3. Jak określić ekspozycję osobistą na pył zawieszony w powietrzu w trakcie treningu?

W odpowiedzi na ostatnie wymienione pytanie badawcze opracowano pilotażowy projekt, którego wyniki prezentowane są w przedmiotowym artykule.

2. CEL I ZAKRES PRACY

Celem głównym niniejszego badania było określenie ekspozycji osobistej na zanieczyszczenia pyłowe powietrza osoby uprawiającej bieganie na zewnątrz. Celem szczegółowym było określenie czy wartości stężeń pyłu $PM_{2,5}$ odczytane w trakcie pomiarów personalnych odpowiadają wynikom pomiarów ze stacji monitoringu powietrza (niemobilnych, oddalonych do 15 km od miejsca treningu). Nie jest bowiem nadal wystarczająco zbadane, czy narażenie personalne wynikające ze zmienności miejsca przebywania (w tym oddalenia od emitorów pyłu takich jak droga o dużym natężeniu ruchu pojazdów) danej osoby zmienia się wraz z dynamiką zmian czy o jej narażeniu można wnioskować z pomiarów stacjonarnych jakości powietrza.

Niniejsza praca stanowi przyczynek do zaplanowania kampanii pomiarowej wchodzącej w skład badań nad narażeniem na pył zawieszony w powietrzu w otoczeniu osoby uprawiającej aktywność fizyczną oraz oszacowania skutków zdrowotnych z tym związanych.

3. MATERIAŁY I METODY

Pomiary stężenia drobnego pyłu zawieszonego ($PM_{2,5}$) odbywały się na terenie aglomeracji warszawskiej w trakcie miesięcy zimowych w styczniu i lutym 2016 roku. Ze względu na pilotażowy charakter projektu w badaniu wziął udział jeden biegacz uprawiający regularnie wysiłek fizyczny na zewnątrz. Przeprowadzono łącznie dwadzieścia godzinnych treningów w różnych terminach. Pomiar $PM_{2,5}$ podczas treningu wykonywano pyłomierzem SidePak AM510 firmy TSI. Zapis danych odbywał się z krokiem 1-minutowym. Na potrzeby dalszych obliczeń stężenia $PM_{2,5}$ uśredniono dla jednej godziny, a ze względu na jakość danych do analiz wzięto pod uwagę osiem wyników pomiarów.

Wartości średnie jednogodzinne ekspozycji biegacza na zanieczyszczenia pyłem drobnym porównano z średnimi jednogodzinnymi stężeniami zarejestrowanych w tym czasie przez stacje monitoringu powietrza. Porównania dokonano na podstawie danych pochodzących ze stacji monitoringu jakości powietrza wchodzących w skład Państwowego Monitoringu Powietrza i należących do Wojewódzkiego Inspektoratu

Ochrony Środowiska w Warszawie. W analizach uwzględniono wyniki pomiarów z tzw. stacji komunikacyjnych zlokalizowanych w centralnej części miasta (przy ul. Niepodległości oraz przy ul. Marszałkowskiej) oraz stacji tła miejskiego zlokalizowanych w dzielnicy północnej miasta (Targówek) oraz dzielnicy południowej miasta (Ursynów). Wyniki pomiarów uśredniono dla tych dwóch kategorii stacji monitoringu jakości powietrza.

4. WYNIKI

Poniższa tabela zawiera dane szczegółowe prezentujące porównanie wyników pomiarów personalnych wykonanych przez biegacza oraz wyników pomiarów rejestrowanych przez stacje monitoringu powietrza. W celu uściślenia lokalizacji trasy treningu przyjęto następujące oznaczenia: C – centrum miasta; P – przedmieścia; U – trasa zlokalizowana przy ruchliwej ulicy; NU – trasa zlokalizowana w większej odległości od ruchliwej ulicy.

Tabela 1. Porównanie pomiarów personalnych wykonanych podczas godzinnego treningu z pomiarami ze stacji monitoringu powietrza

Lp.	Data	Godzina	Pomiar personalny	Pomiar ze stacji komunikacyjnych	Pomiar ze stacji tła miejskiego	Lokalizacja trasy treningu
			średnie stężenie PM _{2,5} , µg/m ³			
1	5.01.2016	13–14	57	74,5	62,2	C, NU
2	8.01.2016	12–13	120	45,2	40,5	C, U
3	18.01.2016	10–11	92	77,1	47,1	C, U
4	20.01.2016	13–14	99	66,3	61,3	P, U
5	25.01.2016	21–22	39	28,8	32,0	C, NU
6	24.02.2016	8–9	28	22,4	19,3	P, C, U
7	25.02.2016	16–17	21	19,2	10,4	P, NU
8	26.02.2016	17–18	60	44,0	32,1	C, U

Wyniki badań wskazują na wysoką korelację między wynikami pomiarów personalnych wykonywanych przez biegacza a wynikami pomiarów z urządzeń stacjonarnych. ($r = 0,65$ dla stacji komunikacyjnych, $r = 0,66$ dla stacji tła miejskiego). Należy zwrócić uwagę, że wartości znacząco wyższe odnotowano na trasach zlokalizowanych przy ruchliwych ulicach (Lp: 2, 3, 4, 8). Nie ma jednak wyraźnej różnicy między poziomami stężeń PM_{2,5} odnotowanymi na trasach biegu w centrum miasta czy też przedmieściach. Widoczne jest zaś, że przy złej jakości powietrza w mieście (odczytanej na podstawie badań ze stacji monitoringu) (Lp: 1, 2, 3, 4) narażenie biegacza było zdecydowanie większe (nawet na dwukrotnie wyższą wartość stężenia pyłu) niż gdy jakość powietrza w mieście była lepsza.

5. DYSKUSJA I PODSUMOWANIE

Wnioski z badań nad wpływem ekspozycji na zanieczyszczenia powietrza osób uprawiających aktywność fizyczną na zewnątrz są często sprzeczne i pozwalają sądzić, że nie została do tej pory wypracowana metodyka, wedle której można byłoby jednoznacznie oszacować korzyści i zagrożenia związane z uprawianiem sportu w środowisku o niskiej jakości powietrza. Niniejsza praca zawiera podsumowanie wyników dotychczas prowadzonych światowych badań, jak i uwzględnia wstępne wyniki pomiarów personalnych prowadzonych na terenie Warszawy.

Uzyskane wyniki wstępne wskazują, że narażenie na różne poziomy $PM_{2,5}$ osób uprawiających aktywność fizyczną na zewnątrz warunkowane jest: odległością miejsca treningu od ciągów komunikacyjnych o dużym natężeniu ruchu pojazdów oraz ogólnym stanem jakości powietrza w mieście podczas treningu. Należy jednak pamiętać, że pył zawieszony jest jednym z wielu zanieczyszczeń powietrza obecnych w środowisku miejskim. W ocenie wpływu jakości powietrza na zdrowie osób wykonujących aktywność fizyczną na zewnątrz należy zatem brać pod uwagę współwystępowanie innych zanieczyszczeń takich jak tlenki azotu, ozon i tlenek węgla.

Dodatkowo, w badaniu jakości powietrza istotne jest uwzględnienie czynników meteorologicznych warunkujących zmienność poziomów stężeń $PM_{2,5}$, czego nie wykonano we wstępnych badaniach prezentowanych w niniejszym rozdziale.

Ze względu na pilotażowy charakter projektu dopuszczono również brak systematyczności w wykonywaniu pomiarów. We właściwym projekcie, aby można było porównywać obserwacje należy wykonywać pomiary o stałych porach oraz w ustalonych lokalizacjach.

Wyniki niniejszych badań oraz obserwacje poczynione w trakcie wykonywania pomiarów pozwolą na zaplanowanie pełnej kampanii pomiarowej. Celem właściwego projektu będzie analiza wpływu zanieczyszczeń pyłowych na zdolność oddechową osoby uprawiającej aktywność fizyczną na zewnątrz.

LITERATURA

- [1] AIR RESOURCES BOARD, California Environmental Protection Agency, *Short-Term Health Effects Associated with Exposure to Air Pollution During Exercise*, California 2008, 2.
- [2] ANDERSEN Z.J., DE NAZELLE A., MENDEZ M.A., GARCIA-AYMERICH J., HERTEL O., TJØNNELAND A., OVERVAD K., RAASCHOU-NIELSEN O., NIEUWENHUIJSEN M.J., *A study of the combined effects of physical activity and air pollution on mortality in elderly urban residents: the Danish Diet, Cancer, and Health cohort*, Environmental Health Perspectives, 2015, Vol. 123, 557–563.
- [3] BRUNEKREEF B., HOLGATE S.T., *Air pollution and health*, Lancet, 2002, 360: 1233–1242.
- [4] CBOS, *Aktywność fizyczna Polaków*, Komunikat badań, 2013BS/129/2013, dostęp na 22.04.2016: http://www.cbos.pl/SPISKOM.POL/2013/K_129_13.PDF.

- [5] DAIGLE C.C., CHALUPA D.C., GIBB F.R., *Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise*, Inhalation Toxicology, 2003, Vol. 15, No. 6, 539–52.
- [6] DE NAZELLE A., NIEUWENHUIJSEN MJ, ANTÓ JM, BRAUER M, BRIGGS D, BRAUN –FAHRLANDER C., *Improving health through policies that promote active travel: a review of evidence to support integrated health impact assessment*, Environment International, 2011, Vol. 37, 766–777.
- [7] GILES L.V., CARLSTEN C., KOEHLE M.S., *The effect of pre-exercise diesel exhaust exposure on cycling performance and cardiorespiratory variables*, Inhalation Toxicology, 2012, Vol. 24, No. 12, 783–9.
- [8] HOEK G., KRISHNAN R.M., BEELEN R., PETERS A., OSTRO B., BRUNEKREEF B., *Long-term air pollution exposure and cardio-respiratory mortality: a review*, Environmental Health, 2013, Vol. 12, 43.
- [9] KELLY F.J., *Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects*. Occupational and Environmental Medicine, 2003, Vol. 60, No. 8, 612–616.
- [10] MCCONNELL R., BERHANE K., GILLILAND F., LONDON S.J., ISLAM T., GAUDERMAN W.J., *Asthma in exercising children exposed to ozone: a cohort study*, Lancet, 2002, Vol. 359, 386–391.
- [11] NIINIMAA V., COLE P., MINTZ S., *The switching point from nasal to oronasal breathing*, Respiration Physiology, 1980, Vol. 42, No. 1, 61–71.
- [12] NYHAN M., MCNABOLA A., MISSTEAR B., *Comparison of particulate matter dose and acute heart rate variability response in cyclists, pedestrians, bus and train passengers*, Science of The Total Environment, 2014, Vol. 468–469, 821–831.
- [13] RAASCHOU-NIELSEN O., SØRENSEN M., KETZEL M., HERTEL O., LOFT S., TJØNNELAND A., *Long-term exposure to traffic-related air pollution and diabetes-associated mortality: a cohort study*, Diabetologia, 2013, Vol. 56, 36–46.
- [14] ROJAS-RUEDA D., DE NAZELLE A., TAINIO M., NIEUWENHUIJSEN M.J., *The health risks and benefits of cycling in urban environments compared with car use: health impact assessment study*, The BMJ, 2011, Vol. 343.
- [15] ROJAS-RUEDA D., DE NAZELLE A., TEIXIDÓ O., NIEUWENHUIJSEN M.J., *Replacing car trips by increasing bike and public transport in the greater Barcelona metropolitan area: a health impact assessment study*, Environment International, 2012, Vol. 49, 100–109.
- [16] ROJAS-RUEDA D., DE NAZELLE A., TEIXIDÓ O., NIEUWENHUIJSEN M.J., *Health impact assessment of increasing public transport and cycling use in Barcelona: a morbidity and burden of disease approach*, Preventive Medicine, 2013, Vol. 57, 573–579.
- [17] VIEIRA R.P., TOLEDO A.C., SILVA L.B., *Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution*, Medicine & Science in Sports & Exercise, 2012, Vol. 44, No.7, 1227–1234.
- [18] WEICHTAL S., HATZOPOULOU M, GOLDBERG M.S., *Exposure to traffic-related air pollution during physical activity and acute changes in blood pressure, autonomic and micro-vascular function in women: a cross-over study*, Particle and Fibre Toxicology, 2014, Vol. 11, 70.

EXPOSURE TO FINE PARTICULATE AIR POLLUTION DURING PHYSICAL ACTIVITY IN THE URBAN ENVIRONMENT – PRELIMINARY STUDIES

Increasing public awareness of the positive health effects of physical activity leads to an increase in the number of people practicing sport outside. This paper contains a review of previous studies, and takes into account preliminary results of a study on personal exposure to fine particulate air pollution conducted in Warsaw. Mobile measurements of particulate matter (PM_{2.5}) were done by physically active persons in

a variety of conditions, location (in the city center, on the outskirts, on busy streets and away from routes) at the beginning of 2016. These results were compared with those from fixed monitoring stations included in the urban air quality assessment system. Obtained results indicate that exposure to different levels of PM_{2,5} while practicing physical activity in ambient air is depends on: the distance between the training place and routes with heavy traffic and the general state of air quality in the city during training.

Martyna GRZEGORZEK, Katarzyna MAJEWSKA-NOWAK*

ZASTOSOWANIE PROCESÓW MEMBRANOWYCH DO USUWANIA ARSENU ZE ŚRODOWISKA WODNEGO

Arsen (As) jest pierwiastkiem powszechnie występującym w środowisku. To półmetal charakteryzujący się właściwościami amfoterycznymi. W roztworach wodnych występuje na (III) oraz (V) stopniu utlenienia. Do środowiska może się przedostawać zarówno ze źródeł naturalnych, jak i antropogenicznych. Zgodnie z obowiązującymi normami zawartość arsenu w wodzie do picia nie może przekraczać $10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. As w nadmiarze prowadzi do wielu schorzeń - nowotworów, chorób naczyniowych czy też zmian skórnych. W wielu regionach świata stężenie arsenu w wodach powierzchniowych znacznie przewyższa dopuszczalny limit. Istnieje szereg metod pozwalających na usunięcie arsenu ze środowiska wodnego. Niezwykle wysoką efektywnością charakteryzują się procesy membranowe (odwrócona osmoza, elektrodializa, nanofiltracja, dializa Donnana) oraz procesy hybrydowe wykorzystujące mikrofiltrację i ultrafiltrację. Umożliwiają one zmniejszenie zawartości arsenu o ponad 90%. Głównym czynnikiem mającym wpływ na skuteczność usuwania jest forma występowania arsenu. W większości przypadków ze znacznie większą efektywnością są usuwane związki As(V) w porównaniu z As(III). Celem niniejszej pracy jest dokonanie oceny możliwości zastosowania procesów membranowych do usuwania związków arsenu z roztworów wodnych.

1. CHARAKTERYSTYKA ARSENU

Arsen (As) jest półmetalem charakteryzującym się wysoką toksycznością oraz właściwościami amfoterycznymi. Może występować na -3, 0,+3 oraz +5 stopniu utlenienia. Jego masa atomowa wynosi 33. Występuje w trzech odmianach alotropowych- α , β i γ [7, 20]. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2015 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, zawartość arsenu nie może przekraczać $10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ [9]. Światowa Organizacja Zdrowia również wyznaczyła dopuszczalne stężenie As w wodzie do picia na poziomie $10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ [1]. Arsen oraz jego związki powszech-

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Katedra Technologii Oczyszczania Wody i Ścieków, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, martyna.grzegorzek@pwr.edu.pl.

nie występują w środowisku naturalnym (gleby, wody podziemne oraz powierzchniowe, skały, organizmy zwierzęce, powietrze). Duże ilości As znajdują się w organizmach skorupiaków oraz ryb (100 $\mu\text{g/g}$). Szacuje się, że jego zawartość w skorupie ziemskiej wynosi 0,002%. Występuje on w minerałach takich, jak: arsenolit, aury pigment, arsenopiryt oraz realgar. W roztworach wodnych arsen występuje na +3 oraz +5 stopniu utlenienia w formie arsenianów(III) oraz arsenianów(V). Arseniany(V) są tworzone przez pięciotlenek arsenu (As_2O_5) – bezwodnik kwasu arsenowego pięć. Arseniany(III) są natomiast tworzone przez kwas arsenowy(III) - H_3AsO_3 . Arsenowi zazwyczaj towarzyszą złoża antymonu. Arseniany metali (m.in. wapnia) są bardzo słabo rozpuszczalne w wodzie, natomiast arseniany sodu oraz potasu łatwo ulegają rozpuszczeniu w środowisku wodnym. Na formę występowania arsenu wpływa szereg czynników m.in. pH, potencjał redoks, czy też obecność innych jonów (np. siarki, żelaza, wapnia). Istotny wpływ mają również mikroorganizmy, które mogą utleniać As(III) do As(V), bądź redukować As(V) do As(III). Należy także zwrócić uwagę, iż w warunkach beztlenowych As najczęściej występuje na III stopniu utlenienia, a w warunkach tlenowych na V stopniu utlenienia. Może on pochodzić zarówno ze źródeł naturalnych, jak i antropogenicznych. Trafia do atmosfery pod wpływem wietrzenia skał, czy też w efekcie erupcji wulkanów. Organiczne związki arsenu najpowszechniej występują w glebach. Najczęściej są to trimetyloarsyna, kwasy mono- oraz dimetyloarsenowe oraz arsenocholina. Arsen jest często spotykany w wodach powierzchniowych (zwłaszcza jeziorach) oraz w ściekach. Rzadziej jest obecny w wodach podziemnych. Do źródeł antropogenicznych zalicza się spalanie węgla brunatnego oraz drewna, insektycydy, herbicydy oraz wytopianie i wydobywanie rud metali nieżelaznych. Ponadto, odprowadzanie odpadów: kopalnianych, z przerobu wełny i bawełny, rafinowania ropy naftowej oraz z produkcji ceramiki, może prowadzić do skażenia źródeł wody arsenem. Ze względu na brak smaku, zapachu oraz barwy wykrycie As w wodzie bez przeprowadzenia szczegółowych badań jest trudne [3, 7, 8, 10, 20, 21].

Ponadnormatywne stężenia As (15–80 tys. $\mu\text{g/dm}^3$) wykazano w wodach powierzchniowych oraz podziemnych w USA [15]. Tak wysoka zawartość arsenu jest spowodowana silną działalnością geotermiczną na tym terenie. W państwach znajdujących się na obszarze Azji (Indie, Bangladesz, Chiny, Tajwan, Wietnam, Tajlandia) w wodach czerpanych ze studni stwierdzono zawartość arsenu w ilości 0,1 mg/dm^3 . W Polsce wysokie stężenia arsenu wykryto w Bieszczadach, co jest efektem występowania na tym terenie minerałów arsenowych [3, 15].

Negatywne skutki dla zdrowia mają zarówno jego organiczne, jak i nieorganiczne formy (połączenia nieorganiczne są bardziej szkodliwe niż organiczne). Twierdzi się, iż arsen(III) cechuje większa toksyczność niż arsen(V). Spożywanie nadmiernych ilości arsenu może być przyczyną wystąpienia nowotworów (nerek, płuc czy wątroby), niezłośliwych zmian skóry czy chorób naczyniowych. Dochodzi do wymiotów oraz zaburzeń pracy serca. W efekcie silnych zakłóceń w działaniu układu pokarmowego może dojść do śmierci. Skutki spożywania skażonej wody występują z opóźnieniem (nawet po 5 latach).

We krwi arsen jest głównie akumulowany w erytrocytach. Spożycie arsenu (As_2O_3) w ilości 70–180 mg (1–3 mg/kg m.c.) prowadzi do śmierci człowieka. W organizmie ludzkim arsen jest gromadzony w tkankach o dużej zawartości keratyny (skóra, paznokcie, włosy) oraz w przewodzie pokarmowym. Arsen w postaci nieorganicznej może prowadzić do zaburzeń procesów metabolicznych komórek nerek czy wątroby. Objawami świadczącymi o przewlekłym zatruciu są zmiany błon śluzowych i skóry oraz polineuropatia (uszkodzenie nerwów obwodowych). Dochodzi do wystąpienia zmian zapalnych skóry (z owrzodzeniem), a także rogowacieje naskórek dłoni oraz stóp. Na paznokciach dochodzi do wystąpienia białych, poprzecznych linii. Może również wystąpić niedokrwistość oraz zmniejszenie masy ciała. Na obszarze Tajwanu, gdzie stężenie arsenu w wodzie do picia wynosi 0,17–0,8 mg/dm³ powszechnie występuje „choroba czarnej stopy” polegająca na stopniowym zaniku krążenia w stopach oraz dłoniach [3, 4, 19, 20].

Przeprowadzono badania [3, 4–6, 10, 18, 16, 23], które wykazały, iż procesami charakteryzującymi się wysoką skutecznością usuwania związków arsenu ze środowiska wodnego są techniki membranowe.

2. PROCESY MEMBRANOWE STOSOWANE DO USUWANIA ARSENU ZE ŚRODOWISKA WODNEGO

Zazwyczaj membrana ma postać półprzepuszczalnej błony z dużą ilością porów, która zachowuje się jak selektywna bariera. Membrany są przeważnie wykonane z materiałów syntetycznych. W trakcie separacji część substancji jest w stanie migrować przez membrany, podczas gdy inne są przez nie zatrzymywane. Procesy membranowe są uważane za jedne z najbardziej efektywnych metod oczyszczania wód zanieczyszczonych arsenem i mają wiele zalet. Jedną z nich jest małe zapotrzebowanie na chemikalia oraz brak osadów poprocesowych. Z tego powodu coraz częściej zastępują procesy, które nie wykazują powyższych korzyści (adsorpcja, strącanie chemiczne czy wymiana jonowa). Do usuwania związków As można zastosować nanofiltrację (NF), ultrafiltrację (UF), odwróconą osmozę (RO), elektrodializę (ED) czy też dializę Donnana (DD). Arsen, dzięki procesom membranowym może zostać usunięty według kilku mechanizmów - adsorpcji, mechanizmu sitowego czy odpychania elektrostatycznego. W przypadku, gdy cząsteczki arsenu są większe niż pory membrany zadziała mechanizm sitowy. Należy pamiętać, iż wielkość czy kształt cząsteczki, to tylko jedno z parametrów wpływające na retencję arsenu [3, 12, 13, 22].

2.1. ODWRÓCONA OSMOZA

Jedną z metod pozwalających usunąć arsen ze środowiska wodnego jest odwrócona osmoza (RO). Umożliwia ona usunięcie substancji rozpuszczonych z roztworów. Dzięki temu, iż arsen występuje w wodzie w formie rozpuszczonej, może być efektywnie usunięty w trakcie procesu RO [3].

Ning [17] oraz Kang i in. [14] wykonali doświadczenia, w trakcie których badali wpływ pH na skuteczność usuwania arsenu oraz antymonu. Przy odczynie w zakresie pH 3–10 znacznie skuteczniej był usuwany As(V) oraz Sb(V) w porównaniu z As(III) oraz Sb(III). Większa skuteczność usuwania arsenu(V) była spowodowana tym, że występuje on w formie jonowej, natomiast As(III) jest obecny w postaci cząsteczkowej. Stwierdzono również, że usuwanie związków antymonu było praktycznie niezależne od wartości odczynu, ponieważ nawet mała zmiana pH prowadziła do utlenienia Sb(III) do Sb(V).

Wykonano również doświadczenia [18] wykorzystując moduły membranowe Koch TFC-ULP 4 (spiralny z membraną poliamidową) oraz RO Hydranautics ESPA2-4040 (moduł spiralny z poliamidowego kompozytu). Arsen usuwano z wód podziemnych czerpanych z okolic kopalni srebra. Moduł produkcji Koch cechowała wartość *cut-off* równa 100 Da. Wydajność instalacji wynosiła 10,5 dm³/m²d przy ciśnieniu roboczym 1000 kPa i stopniu odzyskania wody 15%. Urządzenie firmy Hydranautics pracowało w takich samych warunkach, jak moduł Koch. Przed modułami został zainstalowany filtr workowy. Podczas testów z modułem TFC-ULP4, przy całkowitej zawartości arsenu równej 60 µg/dm³, osiągnięto 98,5% retencję As, co odpowiadało końcowemu stężeniu arsenu na poziomie 0,9 µg/dm³. Stwierdzono, że dominującą formą arsenu w oczyszczanej wodzie był As(V). Ponadto, 70% całkowitej zawartości arsenu stanowił arsen rozpuszczony (został zatrzymany w 97%). Dodatkowo, nie stwierdzono zjawiska *foulingu* i po przeprowadzeniu hydraulicznego czyszczenia moduł odzyskiwał swoje pierwotne parametry. Zastosowanie modułu instalacji firmy Hydranautics pozwoliło na zmniejszenie zawartości arsenu całkowitego o 99,2 % (z 60 do 0,5 µg/dm³). Natomiast arsen rozpuszczony został wyeliminowany w 98% (przy czym należy zaznaczyć, że 65% arsenu całkowitego stanowił As rozpuszczony). Zawartość As(V) została zmniejszona z 35 do 0,5 µg/dm³. Stężenie arsenu(III) zmalało z 7 do 0,5 µg/dm³.

Abejón i in. [1] zastosowali do usuwania As(V) proces odwróconej osmozy. Doświadczenia prowadzili z czterema różnymi membranami (AD, BE, SW30HR, UTC80B) w zakresie ciśnień 1–4 MPa. Stężenie As(V) w roztworze zasilającym wynosiło 100 µg/dm³. Wykazano, że retencja w całym zakresie ciśnień przekraczała 90%. W przypadku ciśnienia na poziomie 4 MPa i membran BE oraz UTC stopień zatrzymania arsenu przekraczał 98%. Biorąc pod uwagę wartość strumienia permeatu oraz retencję arsenu uznano, że najlepszymi właściwościami charakteryzowała się membrana BE. Proces RO pozwala na zmniejszenie zawartości arsenu(V) poniżej wymaganych norm. Skuteczność usuwania

As(III) jest znacznie niższa, ale może być zwiększona przez przeprowadzenie wstępnego utlenienia As(III) do As(V) [3].

2.2. NANOFILTRACJA

Kolejną z technik stosowanych do usuwania arsenu z roztworów wodnych jest nanofiltracja (NF). Proces ten zapewnia wysoką retencję jonów wielowartościowych, natomiast skuteczność wobec jonów jednowartościowych jest znacznie niższa. Istotną rolę w usuwaniu związków As podczas nanofiltracji odgrywa mechanizm sitowy. Jednym z mankamentów procesu jest wysoka podatność membran na zjawisko foulingu. Z tego powodu niezwykle ważne jest przeprowadzenie wstępnego oczyszczania wody [3].

Urusea i in. [23] wykonali doświadczenia, w trakcie których badali możliwość wykorzystania NF w oczyszczaniu wód podziemnych. Zastosowano membranę NF ES-10 wykonaną z aromatycznego poliamidu o ujemnym ładunku powierzchniowym. Roztwory poddawane oczyszczaniu sporządzono dodając do badanej wody arseniany(III), arseniany(V) oraz kwas dimetyloarsenowy(V) (DMA). Skuteczność usuwania arsenianów(III) zdecydowanie zależała od wartości pH, natomiast wpływ odczynu na efektywność separacji arsenianów(V) był niewielki. Dla pH 3 i 10 retencja As(III) wynosiła odpowiednio 50 oraz 89%. Było to spowodowane faktem, że przy pH równym 10 większość arsenianów(III) miała postać jednowartościowego anionu. Z kolei dla pH równego 3, posiadały one formę jednocząsteczkowego kwasu H_3AsO_3 . Retencja arsenianów(V) wynosiła 87% (pH 3), natomiast po zmianie pH do wartości 10 retencja uległa zwiększeniu do 93%. Efektywność usuwania DMA wynosiła 98% w całym zakresie pH.

Yu i in. [26] przeprowadzili badania nad usuwaniem As(V) w procesie NF. Wykorzystali w tym celu cztery membrany nanofiltracyjne: ESNA-1-K1, NF-270, ESNA-1-LF oraz HODRA-CORE. pH testowanego roztworu wynosiło 7, a zawartość arsenu(V) – $200 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Zbadano wpływ ciśnienia transmbranowego (0,4–1,2 MPa) na efektywność procesu. Najlepsze efekty uzyskano dla membrany ESNA-1-F (retencja przewyższała 86%). Najmniejszą efektywność (poniżej 50%) uzyskano stosując membranę HODRA-CORE. Badano również wpływ materii organicznej na skuteczność procesu. Do roztworów dawkowano kwasy humusowe (KH) w ilości 20 oraz $40 \text{ mg}/\text{dm}^3$. Najlepsze rezultaty uzyskano również dla membrany ESNA-1-LF – retencja wynosiła 96,9–97,8% w obecności KH w stężeniu $40 \text{ mg}/\text{dm}^3$. Membrana HODRA-CORE również w tym wypadku wykazała się najsłabszym działaniem. Zastosowanie tej membrany pozwoliło na zmniejszenie zawartości As(V) o 44,5% (bez dodatku KH) oraz o 34,9% w obecności $40 \text{ mg KH}/\text{dm}^3$. Zmniejszenie skuteczności procesu przez substancje organiczne może być spowodowane zmniejszeniem potencjału powierzchniowego, co prowadzi do zmniejszenia intensywności odpychania elektrostatycznego pomiędzy membraną a separowanymi jonami.

Przeprowadzono badania [16] nad usuwaniem związków arsenu z wykorzystaniem membrany nanofiltracyjnej NE 90 o ujemnym ładunku powierzchniowym. Oczyszczaniu poddawano roztwory modelowe zawierające mieszaninę 1 mN NaHCO_3 , 10 mN NaCl oraz arsen w różnych stężeniach. Po zwiększeniu zawartości As(V) z 20 do 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ skuteczność separacji wzrosła z 89 do 96%. Odwrotna sytuacja miała miejsce w przypadku arsenu(III). Po zwiększeniu jego stężenia z 20 do 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ efektywność procesu zmalała z 44 do 41%. Badano również wpływ ciśnienia na wartość retencji arsenu. Zmiana ciśnienia ze 138 do 552 kPa zwiększyła efektywność usuwania As o około 3% (zarówno arsenu(III), jak i As na V stopniu utlenienia).

2.3. NISKOCIŚNIENIOWE PROCESY MEMBRANOWE – ULTRAFILTRACJA I MIKROFILTRACJA

Niskociśnieniowe procesy membranowe takie, jak mikro- (MF) czy ultrafiltracja (UF) charakteryzują się wysoką efektywnością w przypadku arsenu występującego w formie nierozpuszczonej (bez wstępnej koagulacji). Nie są one jednak zalecane do usuwania As w postaci rozpuszczonej. Zaobserwowano, że możliwe jest osiągnięcie wysokiej retencji związków arsenu, które mają rozmiar o jeden/dwa rzędy mniejszy od rozmiaru porów membran, co wskazuje na inny mechanizm usuwania arsenu, niż tylko fizyczne odsiewanie [3].

W przypadku MF czynnikami mającymi determinujący wpływ na efektywność procesu jest początkowe stężenie arsenu oraz procentowa zawartość As w postaci rozpuszczonej (mechanizm usuwania ma charakter sitowy). W wodach podziemnych arsen całkowity w postaci drobnych zawiesin występuje w mniej niż 10%, natomiast w wodach powierzchniowych wartość ta może wynosić od 0 nawet do 70% [3].

Chen i in. [6] stwierdzili, że filtr membranowy o wielkości porów 0,45 μm pozwolił na usunięcie ponad połowy arsenu całkowitego w 30% badanych instalacji, w których poddawano oczyszczaniu zarówno wody powierzchniowe, jak i podziemne. W niektórych przypadkach proces UF lub MF pozwolił na zmniejszenie stężenia arsenu o 90%.

Amy i in. [2] przeprowadzili badania pilotowe wykorzystując proces UF do usuwania związków arsenu. Badania wykonano dla wód podziemnych różniących się zawartością rozpuszczonego węgla organicznego (RWO) - 1 i 11 mg/dm^3 , a także dla wody powierzchniowej, do której dawковано związki arsenu. Rezultaty badań wykazały, że wzrost RWO prowadził do zwiększenia efektywności procesu. Dla zawartości RWO na poziomie 1 i 11 mg/dm^3 skuteczność procesu wynosiła odpowiednio 30% i 70%. Prawdopodobnie jest to efekt zmniejszenia intensywności odpychania elektrostatycznego w wyniku adsorpcji materii organicznej na powierzchni membrany. Zwiększenie wartości retencji nie jest spowodowane przez tworzenie kompleksów materii organicznej z arsenem, ponieważ nie zaobserwowano zmniejszenia zawartości substancji organicznych (oznaczanych poprzez pomiar absorbancji permeatu).

2.4. PROCESY HYBRYDOWE

2.4.1. KOAGULACJA - MIKROFILTRACJA/ULTRAFILTRACJA

Często stosowaną metodą usuwania As z wód powierzchniowych i podziemnych jest koagulacja/współstrącanie jonami żelaza. Proces hybrydowy łączący koagulację z filtracją membranową może być wykorzystywany przy zmiennej jakości wody (wysoka mętność, duża zawartość żelaza, azotanów(V), siarczanów(VI) oraz manganu). W charakterze koagulantu stosuje się $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ lub FeCl_3 . Po dodaniu koagulantu i przeprowadzeniu szybkiego mieszania woda jest kierowana na membranę filtracyjną, której średnica porów wynosi około 0,1 μm . Zastosowanie MF i UF zmniejsza ryzyko przeciążenia złoża, co może mieć miejsce w przypadku filtrów ze złożem ziarnistym. Główne czynniki wpływające na skuteczność procesu, to odczyn, czas kontaktu oraz dawka koagulantu. Membrany zatrzymują powstałe kompleksy arsenu(V) i żelaza powstałe w trakcie koagulacji. Z tego powodu okresowo musi być prowadzone przemywanie wsteczne, które prowadzi do usunięcia arsenu i kłaczków koagulantu z powierzchni membran [3].

Cecol i in. [5] do usunięcia arsenu(V) zastosowali ultrafiltrację micelną (MEUF). W badaniach zastosowano roztwory modelowe, a instalacja pracowała w układzie przepływu jednokierunkowego. Do badań wykorzystano membranę celulozową (RC) oraz polieterosulfonową (PES) o *cut-off* 5 i 10 kDa. Stężenie arsenu wynosiło 0–221 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, zaś pH roztworów- 5,5 oraz 8. Wykazano, że As(V) był skuteczniej usuwany przez membranę polieterosulfonową, co wynikało przede wszystkim z jej ujemnego ładunku powierzchniowego. Jednak końcowe stężenie As przekraczało 10 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Dodanie kationowego surfaktantu CPC (chlorku cetylopirydynowego) znacznie zwiększyło skuteczność procesu. Arsen został całkowicie usunięty, kiedy jego stężenie wynosiło 22 i 43 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ i zostały zastosowane membrany PES 5 kDa oraz RC 10 kDa, a pH roztworu miało wartość 8.

Przeprowadzono również badania [4], w trakcie których oczyszczano wodę podziemną o zawartości arsenu na poziomie 33–39 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Charakteryzowała się ona również podwyższoną zawartością żelaza oraz manganu. Proces oczyszczania polegał na dawkowaniu koagulantu żelazowego (PIX 112), a następnie przeprowadzeniu napowietrzania i mikrofiltracji. W badaniach wykorzystano membrany mikrofiltracyjne XP 201/04/SIN (wytworzone z PVDF) o *cut-off* równym 400 kDa. Zakres ciśnień roboczych wynosił 0,1–0,2 MPa. Przeprowadzenie samego procesu MF pozwoliło uzyskać stopień zatrzymania As na poziomie 55–67%. Zastosowanie PIX 112 w ilości 0,5 g Fe/dm^3 oraz procesu mikrofiltracji nie zapewniło obniżenia zawartości As poniżej dopuszczalnych norm. Zwiększenie dawki koagulantu powyżej 2 g m^3 doprowadziło do zmniejszenia zawartości As poniżej 10 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (retencja wynosiła 76%). Najlepsze rezultaty uzyskano stosując koagulant w ilości 9,7 g m^3 - końcowe stężenie arsenu wynosiło 5,3 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

2.4.2. UTLENIANIE-MIKROFILTRACJA

Zastosowanie utleniania przed filtracją membranową powoduje zamianę As(III) w trudniej rozpuszczalny As(V), co z kolei prowadzi do zwiększenia skuteczności procesu strącania/współstrącania. Utlenianie może być przeprowadzone przez ozonowanie, fotoutlenianie, napowietrzanie bądź poprzez dodawanie do wody reagentów takich, jak nadmanganian potasu, nadtlenek wodoru czy nadchloran sodu. Oczyszczanie wód podziemnych poprzez utlenienie Fe(II) do Fe(III) oraz Mn(II) do Mn(IV), a następnie przeprowadzenie mikrofiltracji jest ekonomicznie racjonalne, ponieważ jednocześnie zachodzi usuwanie związków arsenu. W trakcie stosowania wstępnego napowietrzania efektywność usuwania As(III) nie jest zależna od odczynu (w zakresie pH od 6,5–8) [3].

W porównaniu z samym napowietrzaniem zastosowanie utleniania nadmanganianem potasu prowadzi do dodatkowego usunięcia As(III), gdyż kiedy w wodzie znajdują się duże ilości żelaza, napowietrzanie jedynie częściowo utleni As(III) do As(V). Całkowite utlenienie arsenu(III) jest możliwe dzięki zastosowaniu nadmanganianu potasu. As(V) występuje w postaci anionowej, która znacznie łatwiej przyłącza się do wodorotlenku żelaza(III) w porównaniu z As(III), który ma formę obojętną. W przypadku zastosowania nadmanganianu potasu do utleniania istotny wpływ na usuwanie As ma pH. Większą retencję arsenu obserwuje się przy pH wynoszącym 7 niż 8. Mimo to, przy stężeniu KMnO_4 wynoszącym $0,5 \text{ mg/dm}^3$ stężenia As w permeacie są zbliżone dla obu wartości pH. Jest to spowodowane tym, że odczyn ma wpływ na skuteczność utleniania żelaza/manganu, ale również wpływa na adsorpcję arsenu. Przy pH wynoszącym 8 dochodzi do większego usunięcia manganu(II), a tym samym efektywniej zachodzi adsorpcja As(V). Wykazano, że przy odczynie obojętnym, usuwanie arsenu(III) zachodziło z wysoką skutecznością, bez względu na ilość usuniętego manganu [3].

Można stwierdzić, iż proces hybrydowy utlenianie-MF jest zalecany do oczyszczania wód podziemnych, które charakteryzują się zwiększonym stężeniem Fe/Mn oraz arsenu. Jest to technika znacznie łatwiejsza w eksploatacji niż konwencjonalna koagulacja. Dodatkową zaletą jest niskie zapotrzebowanie na chemikalia, dzięki temu, że związki Fe zawarte w oczyszczanej wodzie są jednocześnie adsorbentem arsenu [3].

2.5. ELEKTRODIALIZA ORAZ ELEKTRODIALIZA ODWRACALNA

Powstało stosunkowo niewiele publikacji traktujących o zastosowaniu procesu elektrodializy (ED) do usuwania arsenu z roztworów wodnych. ED pozwala jedynie na usunięcie zanieczyszczeń w formie zdysocjowanej, z tego względu skuteczność usuwania As(III) jest niska. Natomiast, dodanie utleniaczy do oczyszczanych roztworów mogłoby mieć niekorzystny wpływ na trwałość membran. W porównaniu do RO

membrany ED są bardziej tolerancyjne wobec wody o dużej zawartości substancji organicznych i krzemionki oraz podwyższonej twardości [25].

Przeprowadzono badania [11], w trakcie których zastosowano elektrodializę odwracalną (EDR) do usuwania arsenu. Instalacja pozwalała osiągnąć 85% stopień odzyskania wody (dzięki recyrkulacji wewnętrznej). Zastosowano również wstępne oczyszczanie obejmujące filtr z wkładem o uziarnieniu 10 μm oraz kolumnę z granulowanym węglem aktywnym (GAC). W trakcie badań stosowano wodę powierzchniową zawierającą mieszaninę As(III) i As(V) oraz wody podziemne, w których głównym składnikiem był arsen(III). Stopień usunięcia As z wody podziemnej wynosił zaledwie 28% (stężenie zmniejszono z 188 do 136 $\mu\text{g As/dm}^3$). W przypadku wody powierzchniowej uzyskano znacznie lepsze rezultaty i ilość usuniętego As ogólnego dochodziła do 73%, a zawartość arsenu(III) została zmniejszona o 60%, co również jest zadowalającym efektem.

Fidaleo i in. [10] zastosowali proces ED do zmniejszenia zawartości As w wodach pobranych ze studni w trzech różnych włoskich miejscowościach. W trakcie procesu wykorzystano stos membranowy złożony z 9 membran kationowymiennych (CMX-Sb, Neosepta) oraz 8 anionowymiennych (AMX-Sb, Neosepta). W pierwszej z prób całkowite stężenie As zostało zmniejszone z 22,5 do 9,7 $\mu\text{g/dm}^3$. W kolejnej z wód stężenie zmalało z 40,7 do 19,2 $\mu\text{g/dm}^3$. W przypadku ostatniego roztworu proces pozwolił uzyskać końcowe stężenie As na poziomie 13 $\mu\text{g/dm}^3$ (początkowa zawartość wynosiła 29,5 $\mu\text{g/dm}^3$).

2.6. DIALIZA DONNANA

Jedną z metod pozwalających usunąć arsen jest dializa Donnana (DD). Zhao i in. [27] sprawdzili przydatność DD do zmniejszania zawartości arsenu. Roztwór zasilający zawierał As(V) w ilości 500 $\mu\text{g/dm}^3$. Jako roztwór odbierający zastosowano roztwór soli kuchennej (12 g/dm^3). W trakcie pierwszych 13 dni procesu 90% arsenu obecnego w roztworze zasilającym trafiło do roztworu odbierającego.

Wykonano również badania [28] nad usuwaniem arsenu w procesie DD z wykorzystaniem membran JAM oraz YAM. W charakterze roztworu zasilającego zastosowano 100 mmol NaCl/dm³. Ponadto, odczyn roztworu zasilającego oraz odbierającego został skorygowany do takich samych wartości poprzez dodanie 0,1 m HCl bądź NaOH. Stężenie arsenu(V) wynosiło 1000 $\mu\text{g/dm}^3$. Po 12 godzinach prowadzenia procesu stężenie As zostało zmniejszone o 90% po zastosowaniu membrany JAM. Nieco mniejszą skutecznością cechowała się membrana YAM, która pozwoliła na usunięcie 80% arsenu.

3. PODSUMOWANIE

Arsen jest pierwiastkiem powszechnie występującym w środowisku naturalnym. Może on pochodzić zarówno ze źródeł antropogenicznych, jak i naturalnych. W nadmiarze prowadzi do wielu nieprawidłowości w funkcjonowaniu organizmów. W wielu regionach świata wykryto ponadnormatywne stężenia As. Udowadnia to, że problem zanieczyszczenia wód związkami arsenu jest realny i należy podjąć kroki w celu jego wyeliminowania. Niezwykle wysoką skutecznością charakteryzują się procesy membranowe. Wpływa na to wiele czynników. Jednym z najważniejszych jest forma występowania arsenu. W większości przypadków znacznie skuteczniej usuwany jest As(V) w porównaniu do As(III). Ponadto, na wydajność procesów membranowych mają wpływ takie parametry, jak *cut-off* zastosowanej membrany, ciśnienie robocze, obecność jonów towarzyszących i wartość pH. Przy odpowiednich warunkach prowadzenia techniki te pozwalają zmniejszyć zawartość arsenu o ponad 90%, a końcowe stężenie nie przekracza dopuszczalnej normy 10 µg/dm³.

Praca została zrealizowana w ramach działalności statutowej Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej (zlecenie nr S50-518).

LITERATURA

- [1] ABEJÓN A., GAREA A., IRABIEN A., *Arsenic removal from drinking water by reverse osmosis: Minimization of costs and energy consumption*, Separation and Purification Technology, 2015, Vol. 144, 46–53.
- [2] AMY G.L., EDWARDS M., BENJAMIN M., CARLSON K., CHWIRKA J., BRANDUBER P., MCNEILL L., VAGLIASINDI F., *Arsenic treatability options and evaluation of residuals management issues*, AWWARF Draft Report, April 1998.
- [3] BODZEK M., KONIECZNY K., *Usuwanie zanieczyszczeń nieorganicznych ze środowiska wodnego metodami membranowymi*, Seidel-Przywecki, Warszawa 2011.
- [4] BRAY R.T., *Usuwanie arsenu z wody podziemnej w zintegrowanym procesie koagulacja/mikrofiltracja*, Ochrona Środowiska, 2013, Vol. 35, 33–37.
- [5] CECOL H., ERGICAN E., FUCHS A., *Molecular level separation of arsenic(V) from water using cationic surfactant micelles and ultrafiltration membrane*, Journal of Membrane Science, 2004, Vol. 241, 105–119.
- [6] CHEN H.W., FREY M. M., CLIFFORD D., MCNEILL L. S., EDWARDS M., *Arsenic treatment considerations*, Journal AWWA, 1999, Vol. 91, No. 3, 74–85.
- [7] DZIUBEK J., *Badania technologiczne nad usuwaniem związku arsenu ze ścieków przemysłowych*, Ochrona Środowiska, 2006, Vol. 28, 41–44.
- [8] DZIUBEK J., *Usuwanie wysokich stężeń arsenu ze ścieków przemysłowych w procesach chemicznego strącania*, Ekotechnika, 2006, Vol. 40, 16–20.
- [9] Dz.U.2015.1989, *Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2015 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi*.

- [10] FIDALEO M., STAZI S.R., VINCIGUERRA V., CELLUCCI P., MARABOTTINI R., MORESI M., *Assessment of the energy needs for the arsenic remediation of drinking water by electro-dialysis*, Desalination and Water Treatment, 2015, 1–13.
- [11] HERING J. G., CHEN B.Y., WILKIE J. A., ELIMELECH M., *Arsenic removal from drinking water during coagulation*, Journal of Environmental Engineering, 1997, Vol. 9, 800–807.
- [12] HSIEH L.-H. CH., WENG Y.-H., HUANG CH.-P., LI K.-CH., *Removal of arsenic from groundwater by electro-ultrafiltration*, Desalination, 2008, Vol. 234, 402–408.
- [13] IQBAL J., KIM H.-J., YANG J.-S., BAEK K., YANG J.-W., *Removal of arsenic from groundwater by micellar-enhanced ultrafiltration (MEUF)*, Chemosphere, 2007, Vol. 66, 970–976.
- [14] KANG M., KAWASAKI M., TAMADA S., KAMEI T., MAGARA Y., *Effect of pH on the removal of arsenic and antimony using reverse osmosis membranes*, Desalination, 2000, Vol.131, 293–298.
- [15] KOŁTUNIEWICZ A.B., E. DRIOLI, *Membranes in clean technologies*, Wiley-VchVerlag GmbH, Weinheim 2008.
- [16] NGUYEN C.M., BANG S., CHO J., KIM K-W., *Performance and mechanism of arsenic removal from water by a nanofiltration membrane*, Desalination, 2009, Vol. 245, 82–94.
- [17] NING R.Y., *Arsenic removal by reverse osmosis*, Desalination, 2002, Vol. 143, 137–241.
- [18] PAWLAK Z., ŻAK S., ZABŁOCKI L., *Removal of hazardous metals from groundwater by reverse osmosis*, Polish Journal of Environmental Studies, 2006, Vol. 15, 579–583.
- [19] PIOTROWSKI J.K., *Podstawy toksykologii*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2006.
- [20] SEŃCZUK W., *Toksykologia*, PZWL, Warszawa 2005.
- [21] SHARMA A.K., TJELL J. CH., SLOTH J. J., HOLM P. E., *Review of arsenic contamination, exposure through water and food and low cost mitigation options for rural areas*, Applied Geochemistry, 2014, Vol. 41, 11–33.
- [22] SINGH R., SINGH S., PARIHAR P., SINGH V.-P., PRASAD S.-M., *Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, Vol. 112, 247–270.
- [23] URASEA T., OH J.I., YAMAMOTO K., *Effect of pH on rejection of different species of arsenic by nanofiltration membrane*, Desalination, 1998, Vol. 117, 11–18.
- [24] VAGLIASINDI F., *Arsenic treatability options and evaluation of residuals management issues*, AWWARF Draft Report, April 1998.ANN., *Technologies and Costs for Removal of Arsenic from Drinking Water*, United States Environmental Protection Agency Report EPA 815-R-00-028, December 2000.
- [25] XU P., CAPITO M., CATH T. Y., *Selective removal of arsenic and monovalent ions from brackish water reverse osmosis concentrate*, Journal of Hazardous Materials, 2013, Vol. 260, 885–891.
- [26] YU Y., Z. ZHAO CH., WANG Y., FAN W., LUAN Z., *Effects of ion concentration and natural organic matter on arsenic(V) removal by nanofiltration under different transmembrane pressures*, Journal of Environmental Science, 2013, Vol. 25, No. 2, 302–307.
- [27] ZHAO B., ZHAO H., DOCKKO S., NI J., *Arsenate removal from simulated groundwater with a Donnan dialyzer*, Journal of Hazardous Materials, 2012, Vol. 215, 159–165.
- [28] ZHAO B., ZHAO H., NI J., *Modeling of the Donnan dialysis process for arsenate removal*, Chemical Engineering Journal, 2010, Vol. 160, 170–175.

USE OF MEMBRANE PROCESSES FOR ARSENIC REMOVAL FROM WATER ENVIRONMENT

Arsenic (As) is a chemical element which commonly occurs in the environment. It is the semimetal characterized by amphoteric properties. In water solutions it occurs as As(III) and As(V). Arsenic migrates

to environment from natural and anthropogenic sources. According to WHO guidelines As content in drinking water cannot be higher than $0.10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Exceeding amounts of As lead to many health problems – cancer, vascular disease or changes on skin. In many regions As content in ground water is above permissible level. There are many methods which allow to remove arsenic from water environment. High efficiency can be achieved with the use of membrane techniques (RO, ED, NF, DD and hybrid techniques with UF and MF). They allow to obtain high arsenic retention – over 90%. The main factor which influences the removal efficiency is arsenic form. In general, As(V) is removed easily and more efficiently in comparison to As(III). The aim of this paper is to evaluate the possibility of the use of membrane processes in arsenic removal from aqueous solutions.

Agnieszka GRZELKA, Izabela SÓWKA*

OCENA UDZIAŁU ŹRÓDEŁ POWIERZCHNIOWYCH W CAŁKOWITEJ EMISJI ODORÓW EMITOWANYCH PODCZAS WYBRANYCH PROCESÓW PRODUKCJI CUKRU

Cukrownie są obiektami przemysłowymi, które mogą stanowić przyczynę skarg ludności zamieszkującej tereny do nich przyległe na generowaną przez nie nadmierną uciążliwość zapachową. Na wielkość emisji z zakładów mogą mieć wpływ zarówno procesy produkcyjne i operacje im towarzyszące oraz poprodukcyjne procesy w zakresie gospodarki wodno-ściekowej, w tym magazynowanie ścieków oraz osadów. W pracy dokonano oceny wielkości stężeń zapachowych oraz określono emisję związków złoŹonnych ze źródeł punktowych i powierzchniowych z wybranych instalacji produkcji cukru. Z przeprowadzonej analizy wynika dominujący udział emisji odorów ze źródeł powierzchniowych.

1. WPROWADZENIE

W ostatnich dziesięcioleciach przemysł cukrowniczy stracił swoją pozycję branży strategicznej dla polskiej gospodarki, jednak produkcja cukru nadal stanowi istotną gałąź przemysłu w Polsce [4]. Na popyt na cukier składa się konsumpcja bezpośrednia w gospodarstwach domowych i zużycie w przetwórstwie żywności [3]. W Polsce roczne zużycie cukru przypadające na jednego mieszkańca od kilku lat kształtuje się na poziomie ok. 14–14,5 kg. Pod względem ilości produkowanego cukru, Polska plasuje się na trzecim miejscu w odniesieniu do innych państw członkowskich UE. Produkcja cukru w kampanii cukrowniczej 2014/2015 we wszystkich krajowych cukrowniach wyniosła ponad 2 miliony ton i wykorzystano do niej 13 milionów ton buraków cukrowych. Wielkość produkcji była większa w stosunku do poprzednich lat [6].

Rynek cukru w Polsce jest normowany przez narzucane przez Komisję Europejską kwoty produkcji cukru, których zadaniem jest utrzymywanie wielkości jego produkcji

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Wybrzeże S. Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, 186555@student.pwr.edu.pl

na opłacanym poziomie oraz poprawa konkurencyjności rynku cukru UE w stosunku do rynku światowego [3]. W Tabeli 1. zostały przedstawione aktualnie obowiązujące kwoty produkcji cukru dla poszczególnych państw członkowskich UE. Kwota obowiązująca dla Polski jest trzecią pod względem wielkości w porównaniu do pozostałych członków [13].

Tabela 1. Kwoty produkcji cukru obowiązujące dla państw członkowskich UE [13]

Państwo	Kwota, ton/rok
Francja	3 437 031
Niemcy	2 898 256
Polska	1 405 608
Wielka Brytania	1 056 474
Holandia	804 888
Belgia	676 235
Włochy	508 379
Hiszpania	498 480
Republika Czeska	372 459
Dania	372 383
Austria	351 027
Szwecja	293 186
Chorwacja	192 877
Grecja	158 702
Słowacja	112 320
Węgry	105 420
Rumunia	104 689
Litwa	90 252
Finlandia	80 999
Portugalia	9 953
Razem UE-28	13 529 618

Nadzorowaniem wywozu cukru pozakwotowego zajmuje się Agencja Rynku Rolnego. W roku 2014 Polska wyeksportowała 460 tys. ton cukru, z czego 311 tys. ton trafiło do odbiorców z UE. Głównym nabywcą polskiego cukru były Niemcy. Powodem, przez który znaczna większość eksportu skierowana jest na kraje unijne są istotnie wyższe ceny skupu produktu niż w przypadku innych państw. Z kolei import cukru do Polski w 2014 r. wyniósł 204 tys. ton i większa jego część, ze względu na niższe ceny sprzedaży, pochodziła z krajów spoza UE. Największe ilości cukru Polska zakupiła od Sudanu i Niemiec [14]. W tabeli 2 zestawiono procentowy udział poszczególnych państw w imporcie i eksporcie cukru w Polsce.

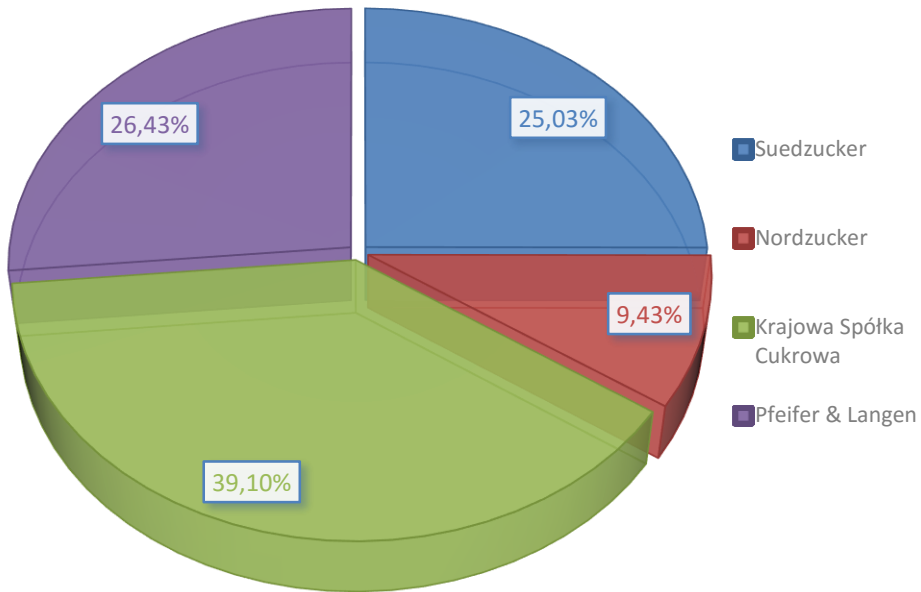
Tabela 2. Kierunki importu i eksportu cukru w Polsce [14]

Państwo	Udział w imporcie/eksporcie, %
Import	
Sudan	26
Niemcy	17
Mozambik	12
Zimbabwe	12
Francja	9
Litwa	5
Pozostałe kraje UE	13
Pozostałe kraje spoza UE	6
Eksport	
Niemcy	24
Izrael	9
Litwa	9
Kazachstan	8
Węgry	8
Słowacja	8
Czechy	6
Łotwa	5
Rosja	4
Pozostałe kraje UE	11
Pozostałe kraje spoza UE	8

Na terenie kraju funkcjonuje 18 cukrowni, podlegających pod cztery główne grupy kapitałowe, z których największy udział w rynku ma Krajowa Spółka Cukrowa S.A. W ramach spółki działa 7 zakładów produkcyjnych. Na rysunku 1 zaprezentowana procentowy udział grup kapitałowych w polskiej produkcji cukru w sezonie 2013/2014.

Cukrownie stają się często przyczyną uciążliwości zapachowych, które mogą skutkować pojawianiem się skarg ludności głównie ze względu na długi czas trwania procesów technologicznych i operacji realizowanych zarówno w okresie kampanii buraczanej, jak i sokowej. Ponadto, do powstawania nadmiernej emisji odorów przyczynia się także całoroczne magazynowanie osadów powstających podczas wstępnej obróbki surowca oraz ilość prowadzonych operacji i procesów, zmierzających do uzyskania produktu finalnego, jakim jest cukier.

W pracy dokonano przeglądu technologii produkcji cukru oraz oceny wielkości stężenia zapachowego z wybranych źródeł emisji w ciągu technologicznym produkcji cukru. Oceniono również udział emisji ze źródeł punktowych i powierzchniowych w emisji całkowitej odorów emitowanych podczas procesów produkcyjnych oraz gospodarki wodno-ściekowej i osadowej w zakładach produkcji cukru.



Rys. 1. Udział grup kapitałowych w produkcji cukru w Polsce w sezonie 2013/2014 [6]

2. CHARAKTERYSTYKA TECHNOLOGII PRODUKCJI CUKRU POD KĄTEM EMISJI ODORÓW

W Polsce surowcem, z którego pozyskuje się cukier krystaliczny są buraki cukrowe, które zawierają do 27% suchej masy, której około 20% stanowi sacharoza. W celu uzyskania cukru z buraków przeprowadza się ich ługowanie wodą, a w następnych etapach procesu produkcyjnego z powstałego roztworu uzyskuje się cukier. W ujęciu rocznym produkcję można podzielić na dwa okresy: kampanię cukrową, przebiegającą w ostatnim kwartale roku i kampanię sokową, trwającą w okresie od maja do czerwca [7, 10]. W trakcie przebiegu kampanii cukrowej dochodzi do emisji odorów w wyniku przebiegu różnych etapów procesu produkcyjnego. Stężenie zapachowe gazów, które są w tym czasie emitowane z cukrowni mieści się zwykle w szerokich granicach 30–1800 ou_E/m³, co może stanowić przyczynę skarg ludności na uciążliwość zapachową zakładu [11].

Procesy, które mają istotny wpływ na emisję uciążliwych zapachów z cukrowni można podzielić na procesy produkcyjne i operacje im towarzyszące oraz poprodukcyjne procesy związane z realizacją gospodarki wodno-ściekowej, w tym magazynowanie ścieków oraz osadów.

Pierwszym procesem technologicznym, który bardzo często jest przyczyną emisji odorów do atmosfery jest płukanie buraków. Na tym etapie buraki pozbawia się takich zanieczyszczeń, jak przylepiona do bulw gleba, pozostałości liści, czy nitkowate korzenie. Zanieczyszczenia te podlegają procesom gnilnym i rozkładowi materii organicznej, a odprowadzone w postaci np. popłuczyn do lokalnej (przemysłowej) oczyszczalni ścieków mogą przyczyniać się do uwalniania odorów do powietrza [1, 7, 10].

Kolejnym elementem ciągu technologicznego produkcji cukru, który może powodować uciążliwość zapachową jest transport taśmowy wysłodków, które są produktem ubocznym powstającym w procesie ługowania, inaczej nazywanym wysładzaniem, którego celem jest wydobycie soku komórkowego z miąższu buraków. Wysłodki charakteryzują się specyficznym zapachem, który może być klasyfikowany przez ludzi jako nieprzyjemny.

Sok surowy, będący głównym produktem ługowania poddaje się następnie procesom defekacji. W związku z następującym w przebiegu procesu rozkładem związków azotowych, dochodzi do emisji amoniaku, który w wysokich stężeniach może wpływać na intensyfikację wrażeń węchowych i przyczyniać się do negatywnego ich odbioru. W procesie defekacji do emisji zapachów może dochodzić także w wyniku rozkładu niecukrów, głównie amidów kwasowych i inwertu.

Oczyszczony sok po defekacji trafia do komór saturacji, w których odbywa się usunięcie nadmiaru wapna z roztworu. W trakcie trwania procesu saturacji również możliwe jest wydzielanie się amoniaku, szczególnie w przypadku przerobu nadgnitych buraków. W procesie produkcji cukru nadmierne ilości amoniaku mogą powstawać również w pompach próżniowych, które odpowiadają za wytwarzanie próżni w warnikach, w których odbywa się krystalizacja cukru. Próżnia powoduje odciąg gazów ze skraplaczy barometrycznych, a zanieczyszczone powietrze, zawierające amoniak, odprowadzane jest do atmosfery [1, 7, 10].

Źródłem emitującym zapachy do atmosfery przez cały rok są osadniki wód spławiających. Gromadzony jest w nich szlam, który zawiera glebę i drobne cząstki buraków. Procesy fermentacji beztlenowej, oraz tlenowego rozkładu materii organicznej, które przebiegają w osadnikach są przyczyną emisji nieprzyjemnych zapachów praktycznie przez cały rok. Uciążliwość nabiera mocy latem, w czasie występowania wysokich temperatur, dużego nasłonecznienia oraz przez kilka dni w okresie wiosennym, kiedy z osadników usuwany jest osad [5].

3. METODYKA BADAŃ

W celu określenia wielkości emisji odorów ze źródeł punktowych i powierzchniowych na terenie cukrowni dokonano poboru próbek w wyselekcjonowanych punktach zgodnie z metodyką opisaną w normach VDI 3880:2011 [12] i PN-EN 13725:2007 „Jakość powietrza. Oznaczanie stężenia zapachowego metodą olfaktometrii dynamicznej” [8]. Próbki pobierano do bezwonnych worków z PTFE, które wcześniej kondycjonowano. Pomiaru stężenia w próbkach dokonano w czasie nieprzekraczającym jednej doby od czasu ich poboru przy zastosowaniu olfaktometrii dynamicznej na olfaktometrze TO8 ECOMA. Zespół pomiarowy złożony był z czterech oceniających, wyselekcjonowanych zgodnie z zaleceniami normy PN-EN 13725:2007 i operatora. Zadaniem zespołu pomiarowego było sygnalizowanie, czy wyczuwają zapach w prezentowanym im strumieniu gazów. Gazy rozcieńczano bezwonnym powietrzem, a początkowe stężenie było dobrane w taki sposób, aby prezentowany zapach był niewyczuwalny. Rozcieńczenia prezentowano w sposób malejący, na jeden pomiar składały się 4 serie. Wśród prezentowanych próbek znajdowały się tzw. „ślepe próby”, które zamiast ocenianego zapachu prezentowały czyste, bezwonne powietrze. Uzyskane wyniki zostały obliczone w postaci średniej geometrycznej dla zespołu pomiarowego przez oprogramowanie komputerowe i wyrażone w europejskich jednostkach zapachowych w metrze sześciennym ou_E/m^3 (wymiarem stężenia zapachowego jest jednostka zapachowa ou - *odour unit* odniesiona do jednego m^3). Do analiz wykorzystano również wyniki stężenia zapachowego oraz wartości emisji dostępnych z wcześniejszych wyników badań przeprowadzonych w wybranych Zakładach produkcji cukru [5, 9, 11]. Wartości stężenia zapachowego ocenione zostały dla kilku procesów technologicznych na podstawie pomiarów z sześciu źródeł punktowych (E1-E6) oraz szesnastu źródeł powierzchniowych (E7-E22). W celu oceny udziału poszczególnych źródeł (punktowych i powierzchniowych) w całkowitej emisji zapachu emisje jednostkowe z analizowanych źródeł powierzchniowych (ou_E/m^2s) przeliczono na strumień emisji zapachu (ou_E/s).

4. WYNIKI BADAŃ I ICH DYSKUSJA

Na terenie badanych instalacji wyselekcjonowanych zostało 6 potencjalnych źródeł punktowych oraz 16 źródeł powierzchniowych, mogących mieć istotny wpływ na wartość całkowitej emisji odorów z procesów produkcji cukru. Zestawienie uzyskanych wartości stężenia zapachowego oraz całkowitej wartości emisji dla wyselekcjonowanych źródeł zestawiono w tabeli 3.

Z przeprowadzonej analizy danych wynika iż udział emisji odorów z procesów produkcji cukru oraz instalacji towarzyszących (E1-E6) obejmujących m.in. procesy saturacji oraz defekacji w całkowitej emisji z cukrowni wyniósł niespełna 16 %. Jako źródła

emisji zapachów z 84% udziałem w emisji całkowitej zapachu z badanych instalacji zidentyfikowano źródła powierzchniowe (E7-E22) związane przede wszystkim z gospodarką wodno-ściekową oraz osadową. Ewentualne przedsięwzięcia mające na celu ograniczenie emisji odorów z zakładów produkcji cukru, głównie za względu na odkryty charakter powierzchni, powinny zatem uwzględnić rozwiązania techniczno-technologiczne dla tego typu grupy źródeł.

Tabela 3. Zestawienie wartości stężenia zapachowego oraz całkowitej emisji odorów ze źródeł punktowych oraz powierzchniowych

Źródło emisji	Stężenie zapachowe, ouE/m ³	Całkowita emisja zapachu, ouE/s
Źródła punktowe		
E1	2705	5950
E2	2705	3922
E3	183904	382520
E4	197033	204914
E5	20786	777
E6	38	6
Źródła powierzchniowe		
E7	1579	376
E8	69	229
E9	63	311
E10	10048	354861
E11	10048	709722
E12	160	4807
E13	2083	65400
E14	2083	43600
E15	2083	125350
E16	153	24000
E17	153	36000
E18	153	37000
E19	2083	827119
E20	2083	978875
E21	1281	2765
E22	8980	2443

5. PODSUMOWANIE

Procesy produkcyjne mogą być istotnymi źródłem emisji odorów przyczyniając się do obniżenia jakości zapachowej powietrza. W wyniku ich realizacji powstają również ścieki i osady, których powstawanie i magazynowanie może również przyczyniać się

do powstawania emisji zapachów. Ze względu na to iż w gospodarce wodno-ściekowej dominujący udział mają otwarte źródła powierzchniowe emitowane zapachy mogą znacząco wpływać na zapachową jakość powietrza na obszarach przyległych do zakładów produkcyjnych, szczególnie w okresach wysokich temperatur oraz warunków stagnacyjnych w atmosferze. Istotnym jest zatem aby w ocenie zapachowego oddziaływania oraz planowanych działaniach ograniczających emisję odorów uwzględniać nie tylko emisje ze źródeł punktowych, ale również powierzchniowych, które m.in. ze względu na zajmowane rozległe powierzchnie mogą stanowić znaczący udział w emisji całkowitej zapachu z obiektu przemysłowego.

LITERATURA

- [1] DOBRZYCKI J., *Automatyzacja w przemyśle cukrowniczym*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1991.
- [2] DOBRZYCKI J., *Chemiczne podstawy technologii cukru*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1984.
- [3] HRYSZKO K., SZAJNER P., *Sytuacja na światowym rynku cukru i jej wpływ na możliwości uprawy buraków cukrowych w Polsce*, Konkurencyjność Polskiej Gospodarki Żywnościowej w Warunkach Globalizacji i Integracji Europejskiej, Warszawa 2013.
- [4] KONDRATKIEWICZ T., *Determinanty rozwoju przemysłu cukrowniczego*, Barometr regionalny, 2008, Vol. 13, No. 3, 65–75.
- [5] KOŚMIDER J., MAZUR-CHRZANOWSKA B., WYSZYŃSKI B., *Odory*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002.
- [6] MUCHA M., *Wyniki kampanii cukrowniczej 2014/2015*, Burak cukrowy, 2015, No. 2, 12–13.
- [7] NIKIEL S., *Cukrownictwo*, WSiP, Warszawa 1996.
- [8] Norma PN-EN 13725: Jakość powietrza. Oznaczanie stężenia zapachowego metodą olfaktometrii dynamicznej.
- [9] SÓWKA I., *Ocena zasięgu oddziaływania zapachowego zakładu przemysłowego na przykładzie wybranej cukrowni*, Ochrona Środowiska, 2011, Vol. 33, No. 1, 31–34.
- [10] SZAŁATA Ł., ZWOŹDZIAK J., CUSKE M., KWIECIŃSKA K., MAŃCZAK M., SÓWKA I., PACHURKA Ł., BEZYK Y., MILLER U., SOBCZYŃSKI P., *Przegląd ekologiczny dla Cukrowni*, listopad 2015.
- [11] SZYŃKOWSKA M.I., ZWOŹDZIAK J., *Współczesna problematyka odorów*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2010.
- [12] VDI guidelines - 3880, Olfactometry - Static sampling. 2009. Berlin, Beuth Verlag.
- [13] www.ec.europa.eu/agriculture/markets-and-prices/market-statistics/pdf/2014/d03-1-43_en.pdf Data pobrania pliku: 14.03.2016.
- [14] www.pigmiur.pl/plik,1039,miesieczna-02-15-cu-pdf.pdf. Data pobrania pliku: 18.02.2016.

EVALUATION OF CONTRIBUTION OF AREA SOURCES IN TOTAL ODOR EMISSIONS FROM SOME SUGAR PRODUCTION PROCESS

Sugar factories are industrial facilities that may be the cause of the odor nuisance complaints of the population living in areas adjacent to them. On the total emission value from industrial plants can influence,

both, production processes and operations and the accompanying post-production processes in the term of water and wastewater management, including storage of wastewater and sludge. The paper presents an assessment of odor concentrations and emissions values from point and area sources of the selected sugar production plants. The analysis shows dominant contribution of odor emissions from area sources.

Łukasz JAŁOWIECKI, Joanna CHOJNIAK, Grażyna PŁAZA*

ANALIZA ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI W BAKTERYJNYCH SZCZEPACH ŚRODOWISKOWYCH

Nadmierne i niewłaściwe stosowanie antybiotyków zarówno w medycynie, rolnictwie czy weterynarii skutkuje pojawieniem i rozprzestrzenianiem się oporności szczepów bakterii na antybiotyki. Wyróżnia się dwa rodzaje oporności, wrodzoną i nabytą. Oporność wrodzona to naturalna cecha danego gatunku lub grupy bakterii, która nie niesie ze sobą ryzyka przeniesienia oporności na inny gatunek. Oporność nabyta występuje u początkowo niewrażliwych na dany chemioterapeutyków szczepów, które na skutek mutacji nabyły cech oporności. Do najważniejszych mechanizmów oporności bakterii zaliczana jest modyfikacja miejsca docelowego działania antybiotyku, enzymatyczna hydroliza leków, zmiana przepuszczalności osłon komórkowych, wykształcenie alternatywnej drogi z pominięciem etapu wrażliwego na działanie antybiotyku czy aktywne usuwanie substancji czynnych z komórek za pomocą pomp np. MDR. Jednym z najważniejszych etapów diagnostyki mikrobiologicznej jest oznaczenie oporności na leki, w tym antybiotyki. W artykule scharakteryzowano wybrane metody identyfikacji oporności, od prostych testów fenotypowych do bardziej skomplikowanych metod, wykorzystujących techniki biologii molekularnej, stosowane w diagnostyce lekoopornych szczepów bakteryjnych.

1. WSTĘP

Konsumpcja antybiotyków, zarówno w leczeniu szpitalnym jak i otwartym, systematycznie wzrasta. W 1997 roku Światowa Organizacja Zdrowia zaliczyła narastający problem antybiotykooporności do grupy największych zagrożeń w dziedzinie zdrowia publicznego [8]. Niewłaściwe i nadmierne stosowanie antybiotyków jest jednym z głównych czynników odpowiedzialnych za powstawanie i rozprzestrzenianie się mechanizmów oporności drobnoustrojów [2, 14]. Antybiotyki stosowane są nie tylko w medycynie, ale również w rolnictwie, hodowli zwierząt i weterynarii. Zawie-

* Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Mikrobiologia Środowiskowa, ul. Kossutha 6, 40-844 Katowice, jalowiecki@ietu.katowice.pl.

siną antybiotyków opylane są również owoce. Presja selekcyjna antybiotyków przyspiesza rozwój antybiotykooporności również w środowisku. Dwie główne drogi rozprzestrzeniania się lekoopornych szczepów to odpady biologiczne powstające w rolnictwie i bezpośrednia (kontakt zwierząt i ludzi, np. hodowców zwierząt) lub pośrednia droga przenoszenia patogenów ze zwierząt na ludzi (spożycie skażonego mięsa). W Polsce monitorowanie stosowania antybiotyków w różnych dziedzinach życia odbywa się w ramach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków utworzonego w 2004 roku [1, 4].

Oporność rozpatrywana jest na poziomie genotypowym, fenotypowym, pochodzenia i typu bakterii. Brak jednak jednoznacznej definicji określającej niewrażliwość mikroorganizmów na czynniki antybakteryjne. Jedna z nich, opracowana jest Europejską Agencją do Oceny Produktów Medycznych wyróżnia oporność mikrobiologiczną, w której jako odporne definiowane są mikroorganizmy posiadające jakiegokolwiek mechanizmy oporności lub geny warunkujące oporność. Drugi typ oporności to oporność kliniczna, w której miarą lekooporności jest brak lub wystąpienie reakcji danej bakterii na zadaną terapię [4, 5, 9].

2. ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ

2.1. ODPOWIEDŹ MIKROORGANIZMÓW NA ANTYBIOTYKI

Wyróżnia się dwa typy antybiotykooporności, wrodzoną (ang. *intrinsic*) i nabytą (ang. *acquired*). Oporność wrodzona jest naturalną cechą szczepu lub gatunku i nie stanowi ryzyka w przenoszeniu oporności na inne bakterie. Przykładem oporności wrodzonej jest niewrażliwość pałeczek Gram-ujemnych na działanie makrolidów oraz penicyliny G czy oporność bakterii beztlenowych na aminoglikozydy. Oporność wrodzona nie oznacza jednak całkowitego braku reakcji na dany antybiotyk. W przypadku pałeczek Gram-ujemnych niewrażliwych na penicylinę obserwowana jest zmiana kształtu i wielkości pałeczek, które przechodzą w tzw. formy L [5, 15, 19].

Oporność nabyta występuje u organizmów, które początkowo były wrażliwe na dany antybiotyk, ale na skutek zmian zachodzących w genomie, głównie w wyniku mutacji spontanicznych, nabyły cech oporności. Jednym z najważniejszych mechanizmów nabywania antybiotykooporności jest horyzontalny transfer genów. Geny warunkujące oporność, w procesach koniugacji, transdukcji i transformacji, mogą zostać przekazane antybiotykowrażliwym szczepom. Do mobilnych elementów zawierających geny oporności należą plazmidy, integrony i transpozony. Wertykalne przeniesienie genów oznacza dziedziczenie niewrażliwości przez potomne klony bakterii [18].

Innym typem reakcji bakterii na zastosowany antybiotyk jest tzw. tolerancja wobec leku. W tym typie odpowiedzi bakterie nie rosną i nie dzielą się, a wartość CFU (jednostka tworzenia kolonii; CFU – ang. *colony forming unit*) w wysiewach nie spada. W wyniku długotrwałego kontaktu mikroorganizmów z antybiotykiem pewna część populacji, zwykle mniejsza niż 0,1%, zdolna do przeżycia odpowiada za tzw. zjawisko przetrwania. Ważnym zjawiskiem jest również efekt poantybiotykowy (PAE – ang. *post-antibiotic effect*), który polega na zahamowaniu wzrostu bakterii w wyniku krótkotrwałego stosowania antybiotyku. Efekt PAE utrzymuje się zwykle tylko przez kilka godzin i jest częstym źródłem nieprawidłowego dawkowania antybiotyków [4, 10].

2.2. MECHANIZMY ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI

Antybiotykooporność drobnoustrojów uwarunkowana jest kilkoma głównymi mechanizmami. Do najczęściej występujących zaliczyć możemy modyfikację miejsca docelowego (ang. *target*) antybiotyku, m.in. białek rybosomalnych, co skutkuje zahamowaniem procesów translacji. Rozwojem oporności skutkuje również modyfikacja prekursorów mureiny czy podjednostek gyrazy. Drugim najważniejszym mechanizmem warunkującym antybiotykooporność jest enzymatyczna inaktywacja leków, np. hydroliza wiązania C-N w pierścieniu β -laktamowym cefalosporyn czy inaktywacja erytromycyny przez esterazy. Epidemia lekooporności w znacznym stopniu obniżyła użyteczność terapeutyczną β -laktamów, dotychczas uważanych za jedną z najbezpieczniejszych grup antybiotyków [10, 11]. Kolejnym mechanizmem uniemożliwiającym działanie terapeutyczne leków jest zmiana przepuszczalności błon komórkowych bakterii. Zmiany obejmują m.in. pogrubienie warstwy mureinowej czy modyfikację struktury i liczby poryn. Mechanizm ten determinuje oporność na wankomycynę, gdzie w mureinie alanina ulega zmianie na mleczan [10, 19]. Bardzo ważnym mechanizmem warunkującym lekooporność jest zjawisko „efflux”, polegające na aktywnym usuwaniu antybiotyków z komórki dzięki aktywności pomp błonowych. Pompy charakteryzują się zróżnicowanym zakresem substratowym i specyficznością. Przykładem antybiotyków usuwanych dzięki syni antyporterom lub dzięki energii uzyskanej z hydrolizy wysokoenergetycznych wiązań ATP są tetracykliny [6]. Oporność mikroorganizmu na dany antybiotyk lub grupę antybiotyków może być również wynikiem działania systemu dwuskładnikowego, czyli modyfikacji w systemach regulacyjnych niezaangażowanych bezpośrednio w działanie antybiotyku powszechnie występujących w komórkach bakteryjnych. Na rozwój lekooporności wpływa również zmniejszenie poziomu aktywności enzymów (np. reduktazy nitrofuranowej) katalizującej przejście nieczynnej formy antybiotyku do formy aktywnej wewnątrz komórki. Pozostałe strategie zmniejszające wrażliwość na chemioterapeutyki to m.in. zwiększanie stężenia antagonistów inhibitora czy zmniejszenie potrzeb mikroorganizmu na produkt szlaku hamowanego przez antybiotyk. Ważnym mechani-

zmem determinującym oporność jest również reakcja „by-pass” polegająca na wykształceniu innej drogi umożliwiającej ominięcie etapu wrażliwego na lek, np. alternatywne szlaki metaboliczne syntezy kwasu diaminopimelinowego [10].

3. METODY OCENY ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI

Wzrastające zużycie antybiotyków i rozprzestrzenianie się zjawiska lekooporności bakterii wymaga opracowania i wprowadzenia standaryzowanych procedur określających oporność mikroorganizmów na chemioterapeutyki. Oznaczenie lekowrażliwości szczepów jest podstawą opracowywania skutecznej terapii, ograniczającej nadmierne lub niewłaściwe stosowanie leków. Analiza antybiotykooporności obejmuje metody hodowlane i molekularne, które niezależnie od zastosowanego testu powinny charakteryzować się czułością, swoistością i powtarzalnością [5, 17]. Podział wybranych metod przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Metody analizy antybiotykooporności

Lp.	Metody hodowlane	Metody molekularne
1.	Krażki dyfuzyjne	Reakcja PCR
2.	E-Testy	PCR-RFLP
3.	Biolog® System (płytki PM 11,12,13,14)	RT-PCR
4.	Metoda mikrorozcieńczeń	Sekwencjonowanie Sangera
5.		Western Blot
6.		Mikromacierze

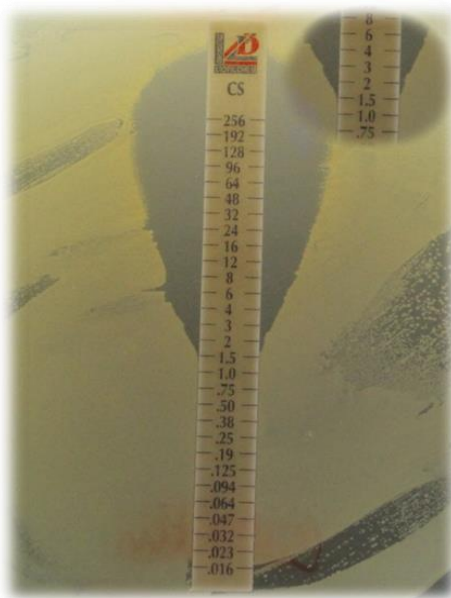
3.1. WYBRANE METODY HODOWLANE

Podstawową i jedną z najczęściej stosowanych metod jakościowych jest metoda dyfuzyjno-krażkowa zwana również metodą Kirby-Bauera. W metodzie tej miarą antybiotykowrażliwości jest strefa zahamowania wzrostu danego mikroorganizmu, wyrażona w milimetrach, wokół krążka nasączonego antybiotykiem umieszczonego na podłożu stałym z zawiesiną bakterii o określonej gęstości. Substancja czynna antybiotyku dyfunduje promieniście, co skutkuje powstaniem stref zahamowania wzrostu zgodnych z gradientem stężeń. Wielkość strefy jest wprost proporcjonalna do wrażliwości drobnoustroju na daną substancję, które na podstawie wielkości strefy i przyjętych standardów określa się jako odporne, średniowrażliwe i wrażliwe. Czynniki mające istotny wpływ na wynik testu to przede wszystkim wartość pH pożywki oraz gęstość inokulum. Optymalna wartość pH podłoża stosowanych do oceny oporności powinna wynosić ok. 7,2–7,4. Niższe pH skutkuje utratą aktywności antybiotyków np. makrolidów i chinolonów (fałszywa oporność) lub zwiększoną aktywność tetracyklin

(fałszywa wrażliwość). Fałszywie pozytywne lub negatywne wyniki mogą być spowodowane również zbyt małą lub dużą gęstością inokulum. Optymalny czas inkubacji szacowany jest na 16–18 godz., optymalna temperatura inkubacji wynosi 35 °C. Czynniki limitujące metodę krążków dyfuzyjnych w oczywisty sposób zależą również od stężenia antybiotyków w krążkach, rozmiaru zastosowanych płytek i grubości warstwy agaru. Najważniejsze ograniczenia metody dyfuzyjno-krążkowej dotyczą jej zastosowania w przypadku bakterii wolnorosnących i bezwzględnych bakterii beztlenowych [3, 13].

Drugą metodą określania oporności drobnoustrojów na antybiotyki są metody rozcieńczeniowe, pozwalające na określenie MIC (MIC- ang. *minimal inhibitory concentration*), czyli minimalnego stężenia hamującego danego antybiotyku. Identyfikację wieloopornych szczepów bakterii (MDR- ang. *multidrug resistance*) i wyznaczenie wartości MIC możliwe jest m.in. dzięki zastosowaniu systemu BIOLOG[®]. W systemie tym płytki o sygnaturze PM11-PM14 i oprogramowania Omnilog umożliwiają określenie wrażliwości szczepów bakterii na kilkadziesiąt chemioterapeutyków [7].

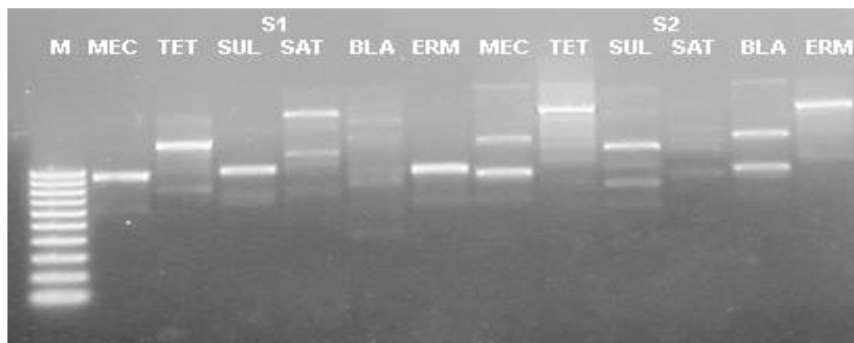
Połączeniem metody krążków dyfuzyjnych i metody rozcieńczeniowej jest metoda tzw. E-testów, opracowana w Szwecji. E-testy w postaci plastikowych pasków zawierających gradient stężenia antybiotyku umieszcza się na podłożu agarowym z wysianą zawiesiną bakteryjną o znanej gęstości. Ilościowe określenie MIC możliwe jest dzięki wyznaczeniu miejsca przecięcia strefy zahamowania wzrostu ze skalą umieszczoną po drugiej stronie E-testu (rys. 1) [3].



Rys. 1. Ilościowe określenie MIC za pomocą E- testu (badania własne)

3.2. WYBRANE METODY MOLEKULARNE

Metody molekularne wykorzystywane w diagnostyce lekooporności mikroorganizmów umożliwiają wykrycie zmian zachodzących zarówno na poziomie DNA, RNA oraz produktu ekspresji genów. Do najważniejszych metod opartych na analizie DNA zaliczana jest reakcja PCR, stosowana najczęściej w przypadku, gdy znany jest mechanizm determinujący lekooporność. Pozostałe metody pozwalające na identyfikację zmian na poziomie DNA to najczęściej modyfikacje standardowej reakcji PCR (rys. 2). Przesiewowym testem opartym na właściwościach DNA jest metoda polimorfizmu konformacyjnego pojedynczych nici PCR-SSCP (PCR-SSCP – ang. *single strand conformational polymorphism*), w której produkty reakcji PCR poddawane są denaturacji, a następnie przenoszone do środowiska niedenaturującego. W środowisku tym prawidłowe nici DNA przyjmują inną konformację niż nici zmutowane. Ocena ekspresji w reakcji PCR-SSCP powinna zostać poprzedzona reakcją odwrotnej transkrypcji [9, 21].



Rys. 2. Rozkład elektroforetyczny po amplifikacji genów oporności na antybiotyki (badania własne)
M-marker wielkości 1000-100kpz, MEC-metacylina, TET- tetracyklina, SUL- sulfonamid SAT- gentamycyna, BLA- β -laktamy, ERM- erytromycyna, S1,S2- szczepy bakterii

Kolejną techniką stosowaną do oceny lekooporności jest polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych PCR-RFLP (PCR-RFLP – ang. *polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism*). W technice tej amplifikowany fragment DNA poddaje się trawieniu enzymem restrykcyjnym. Jeśli w analizowanym fragmencie zaszła mutacja punktowa, w obrazie elektroforetycznym możliwe będzie wyróżnienie lekoopornych szczepów. Siłę dyskryminacyjną elektroforezy można zwiększyć poprzez zastosowanie zmiennego pola elektrycznego (PFGE - ang. *pulse-field gel electrophoresis*).

Kolejną techniką umożliwiającą identyfikację antybiotykoopornych szczepów jest dideoksy sekwencjonowanie, czyli sekwencjonowanie Sangera. Dideoksy nukleotydy nie posiadają grupy –OH w pozycji 3' deoksyrybozy, co uniemożliwia przyłączenie kolejnego nukleotydu do nowosyntetyzowanej nici DNA. Otrzymane fragmenty będą się więc różnić o 1 nukleotyd. Następnie, produkty reakcji rozdzielane są w żelach poliakrylamidowych.

Ocena fragmentów dokonywana jest za pomocą automatycznych sekwenatorów, które wyposażone są w detektor fluorescencji [9, 16].

Do oceny ekspresji RNA najczęściej stosowanymi technikami jest reakcja odwrotnej transkrypcji RT-PCR (RT-PCR – ang. *reversed-transcriptase PCR*) i reakcja PCR w czasie rzeczywistym qPCR (qPCR – ang. *quantitative PCR*). W pierwszej reakcji komplementarne DNA (cDNA) syntetyzowane jest przy udziale enzymu odwrotnej transkryptazy na matrycy mRNA. Najczęściej stosowanym starterem jest starter oligo dT, komplementarny do ogona poliA, dodawanego do końca 3' każdego pre-mRNA. Zsyntetyzowane cDNA poddawane są standardowej reakcji PCR, a interpretacja obrazu elektroforetycznego pozwala na identyfikację genów oporności. Reakcja qPCR wykorzystywana jest do ilościowej interpretacji ekspresji RNA. Monitorowanie przyrostu ilości kopii analizowanej sekwencji umożliwia zastosowanie wyznakowanych fluorescencyjnie sond oligonukleotydowych lub barwników fluorescencyjnych takich jak niespecyficzny SYBR Green interkalujący między zasady DNA, bromek etydyny czy jodek propidyny. Do jednych z najczęściej stosowanych sond należą sondy typu *TaqMan*, czyli krótkie oligonukleotydy, wyznakowane dwoma fluorochromami, reporterem na 3' końcu (np. FAM, NED) oraz wygaszaczem na końcu 5' (najczęściej TAMRA). Odległość między reporterem a wygaszaczem umożliwia przekazanie energii między fluorochromami. Sonda, po związaniu z komplementarną sekwencją na etapie elongacji degradowana jest przez polimerazę *Taq* posiadającą aktywność 5'-egzonukleazy, co umożliwia emisję światła. Innym rodzajem sond stosowanych do oceny ekspresji RNA są oligonukleotydy typu Molecular Beacons, gdzie do wygaszenia fluorescencji używane są cząsteczki nie będące fluorochromem, np. przy braku sekwencji wiążącej sonda poprzez komplementarne końce 3 i 5' tworzy strukturę tzw. spinki do włosów i nie emituje światła. Po związaniu z rozpoznawaną sekwencją dochodzi do linearyzacji sondy, co umożliwia emisję światła przez cząsteczkę reportera [16, 21].

Najważniejsze metody pozwalające na identyfikację lekoopornych szczepów na poziomie produkcji białka to Western Blot i mikromacierze (ang. *microarrays*). W technice Western Blot (immunoblotting) białka poddane elektroforezie w żelach poliakrylamidowych z dodatkiem siarczanu dodecyłu sodu (SDS), nadającego białkom ujemny ładunek, transferowane są na membranę, np. nitrocelulozową. Następnie, białka poddaje się inkubacji z przeciwciałem (metoda bezpośrednia). W metodzie pośredniej białka inkubowane są z dwoma rodzajami przeciwciał, swoistym przeciwciałem I-rzędu i wyznakowanym przeciwciałem II-rzędu. Przeciwciała II-rzędowe mogą być znakowane radioaktywnie, najczęściej jednak są one połączone z enzymem, np. z peroksydazą chrzanową (HRP) lub fosfatazą alkaliczną (AP), co pozwala na przeprowadzenie reakcji barwnej [12].

Mikromacierze, w postaci szklanych płytek, membran lub szkiełek, pozwalają na analizę molekularnych sond w postaci 25–60 oligonukleotydowych (ang. *oligo array*) lub jednoniciowych cDNA (ang. *cDNA array*). Zasadą mikromacierzy jest hybrydyzacja komplementarnych, wyznakowanych fluorochromami analizowanych sekwencji,

a odpowiednią sondą molekularną umieszczoną na mikropłytkce. Wyróżnia się kilka rodzajów mikropłytek, pozwalających, m.in. na identyfikację jednonukleotydowych polimorfizmów w DNA lub ocenę ekspresji genów na poziomie transkrypcji. Mikro-macierze pozwalają na ocenę ekspresji jakościowo, półilościowo lub ilościowo tysięcy genów jednocześnie.

Badania są realizowane w ramach projektu pt.: "Optimization of small wastewater treatment facilities (OPTITREAT)" nr 2112932-1 finansowanego przez BONUS EEIG.

LITERATURA

- [1] BARTOSZEWICZ M., MICHALSKA M., CIESZYŃSKA M., *Antybiotykooporność bakterii heterotroficznych jako skutek zanieczyszczenia środowiska*, Environmental Medicine, 2014, Vol. 17, No. 4, 38–46.
- [2] BOECKEL T., GANDRA S., ASHOK A., CAUDRON Q., GRENFELL B., LEVIN S., LAXMINARAYAN R., *Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data*, The Lancet, 2014, Vol. 14, 742–750.
- [3] BOROWSKA D., JABŁOŃSKI A., PEJSAK Z., *Metoda krążkowo-dyfuzyjna w weterynaryjnej diagnostyce bakteriologicznej – praktyczne dane*, Życie Weterynaryjne, 2014, Vol. 89, No. 2, 116–120.
- [4] BUCZEK K., MARĆ M., *Antybiotykooporność bakterii – przyczyny i skutki*, Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, 2009, Vol. 56, No. 3, 1–8.
- [5] CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA W., ZADERNOWSKA A., ŁANIEWSKA-TROKENHEIM Ł., *Fenotypowa i genotypowa oporność na antybiotyki szczepów z rodzaju Enterococcus izolowanych z żywności gotowej do spożycia fenotypowa i genotypowa oporność na antybiotyki szczepów z rodzaju Enterococcus izolowanych z żywności gotowej do spożycia*, Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków 2015, 25–34.
- [6] CHOJECKA A., JAKUBIEC K., JAKIMIĄK B., RÖHM-RODOWALD E., KANCLERSKI K., *Znaczenie zjawiska efflux jako mechanizmu oporności bakterii na substancje czynne środków dezynfekcyjnych*, Przeglądy Epidemiologiczne, 2012, Vol. 66, 39–44.
- [7] CHOJNIĄK J., JAŁOWIECKI Ł., DORGELOH E., HEGEDUSOVA B., EJHED H., MAGNÉR J., PŁAZA G., *Application of the BIOLOG system for characterization of Serratia marcescens ss marcescens isolated from onsite wastewater technology (OSWT)*, Acta Biochimica Polonica, 2015, Vol. 62, No. 4, 799–805.
- [8] EGGLESTON K., ZHANG R., ZECKHAUSER R., *The Global Challenge of Antimicrobial Resistance: Insights from Economic Analysis*, International Journal of Environmental Research and Public Health, 2010, Vol. 7, 3141–3149.
- [9] GUERRA B., JUNKER E., SCHROETER A., MALORNY B., LEHMANN S., HELMUTH R., *Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German Escherichia coli isolates from cattle, swine and poultry*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003, Vol. 52, 489–492.
- [10] KWIATKOWSKI Z., MARKIEWICZ Z., *Bakterie Antybiotyki Lekooporność*, PWN, Warszawa 2015.
- [11] KÜMMERER K., *Resistance in the environment*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2004, Vol. 54, 311–320.

- [12] OPIELA J., *Analiza ekspresji genów na poziomie białek przy użyciu techniki western-blot*, Wiadomości Zootechniczne, 2006, Vol. XLIV, 11–13.
- [13] PŁAZA P., TUREK A., SZCZYGŁOWSKA R., *Characterization of E. coli strains obtained from wastewater effluent* International Journal of Environmental Research, 2013, Vol. 2, No. 3, 67–73.
- [14] RZEPKOWSKA A., ZIELIŃSKA A., KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA D., *Antybiotykooporność bakterii z rodzaju Lactobacillus pochodzących z żywności, jako kryterium stawiane probiotykom*, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 2014, Vol. 578, 99–110.
- [15] SOSA A., BYARUGABA D., AMABILE C., HSUEH P., KARIUKI S., OKEKE I., *Antimicrobial Resistance in Developing Countries*, Hardcover, 2010, Vol. XXIII, 15–26.
- [16] SUNDSFJORD A., SIMONSEN G., HALDORSEN B., HAAHEIM H., HJELMEVOLL S., LITTAUER P., DAHL K., *Genetic methods for detection of antimicrobial resistance*, Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica, 2004, Vol. 112, 815–37.
- [17] SZCZYPA K., WILEMSKA J., HRYNIEWICZ W., SITKIEWICZ I., *Epidemiologia zakażeń Streptococcus pyogenes, struktura klonalna populacji i antybiotykooporność*, Postępy Mikrobiologii, 2013, Vol. 52, No. 3, 223–232.
- [18] TRUSZCZYŃSKI M., PEJSAK Z., *Dynamika rozwoju antybiotykooporności bakterii odzwierzęcych*, Życie Weterynaryjne, 2013, Vol. 88, No. 7, 535–538.
- [19] WASĄŻNIK A., GRINHOLC M., BIELAWSKI K., *Czynne usuwanie leku z komórki jako jeden z mechanizmów oporności bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe i metody jego zwalczania*, Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej, 2009, Vol. 63, 123–133.
- [20] WASYL D., OSEK J., *Monitorowanie występowania oporności na antybiotyki u szczepów Salmonella i Campylobacter izolowanych od zwierząt*, Życie Weterynaryjne, 2008, Vol. 83, No. 2, 107–109.
- [21] ŻEBROWSKA M., SAŁAGACKA A., MIROWSKI M., BALCERCZAK E., *Techniki molekularne wykorzystywane w diagnostyce lekooporności związanej z transporterami nadrodziny ABC*, Journal of Laboratory Diagnostics, 2011, Vol. 47, No. 2, 205–209.

METHODS FOR DETECTION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF ENVIRONMENTAL BACTERIA

Excessive and inappropriate use of antibiotic both in medicine and agriculture results in the appearance and spread of antibiotic-resistant bacteria. We can distinguish two types of resistance, intrinsic and acquired. First of them is a natural feature of a strains or group of bacteria, which does not carry the risk of transfer of resistance genes to other bacterial species. Acquired resistance occurs in initially resistance species which due to the mutations acquired resistance features. The most important mechanisms responsible for resistance of bacteria to antibiotics include: modification of antibiotic target, enzymatic hydrolysis of drugs, changes in membrane permeability, formation of an alternative metabolic pathways without step sensitive to antibiotic and presence of transporters involved in active extrusion of antibiotics from within cells to into the external environment. Analysis of multidrug resistance bacteria include both culture and molecular methods. In this paper short characteristics of selected methods used in diagnosis of multidrug resistance bacteria are presented.

Tomasz KIEŁBASA*

DEZODORYZACJA GAZÓW ODLOTOWYCH EMITOWANYCH NA TERENIE OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW METODĄ FOTOKATALITYCZNEGO UTLENIANIA

Emisja związków odorotwórczych na terenie oczyszczalni ścieków jest zagadnieniem bardzo złożonym, a przez to kontrola oddziaływania zapachowego w obrębie obiektu, jak i poza nim jest trudna w zastosowaniu praktycznym. Wzrastająca świadomość społeczna w zakresie ochrony środowiska oraz urbanizacja terenów podmiejskich, przyczyniają się do wzrostu skarg zgłaszanych na zapachową jakość powietrza z obiektów gospodarki komunalnej. Problem emisji zapachu z terenów oczyszczalni ścieków powinien być zagadnieniem priorytetowym dla eksploatatorów. Ograniczanie oddziaływania zapachowego może być realizowane poprzez zapobieganie emisji lub dezodoryzację gazów odlotowych. Klasyczne metody dezodoryzacji bardzo często wymagają dużych nakładów finansowych, które rosną wraz z kosztami utrzymania personelu czy zakupu chemikaliów. Proces obróbki odorów pozwalający na ograniczenie kosztów inwestycyjnych, jak i eksploatacyjnych przy zachowaniu dużej niezawodności jest charakterystyczny dla nowej metody eliminacji odorów z gazów odlotowych.

W niniejszym artykule przedstawiono proces fotokatalitycznego utleniania odorów w urządzeniu PCO (*ang. photocatalytic oxidation*) polegający na wykorzystaniu czynników utleniających generowanych in situ poprzez wiele reakcji fizykochemicznych oraz wykorzystanie konwertera katalitycznego wspomagającego procesy utleniania związków zapachowych.

1. WPROWADZENIE

Minimalizowanie oddziaływania zapachowego oczyszczalni ścieków na tereny przyległe jest zagadnieniem o rosnącym znaczeniu zarówno dla społeczeństwa, jak i eksploatatorów. Jedną z głównych przyczyn skarg zgłaszanych przez ludność na zapachową jakość powietrza są oczyszczalnie ścieków [5, 13, 14]. Brak uwarunkowań prawnych ograniczających emisję związków odorotwórczych dodatkowo nie sprzyja

* Politechnika Białostocka, Katedra Systemów Inżynierii Środowiska ul. Wiejska 45E, 15–351 Białystok, t.kielbasa@pb.edu.pl.

rozwiązaniu problemu zapachowej jakości powietrza w Polsce [8]. W konsekwencji kontrola emisji odorantów, która spełni wymagania zapachowej jakości powietrza stawiane przez społeczeństwo powinna być zagadnieniem priorytetowym związanym z eksploatacją oczyszczalni ścieków [10].

Złożoność takich obiektów jak oczyszczalnie ścieków ze względu na ilość i różnorodność potencjalnych źródeł emisji, utrudnia efektywną kontrolę zapachowej jakości powietrza w obrębie, jak i poza zakładem. W trakcie transportu ścieków surowych, procesów technologicznych oczyszczania ścieków czy zagospodarowania osadów, dochodzi do emisji odorów, jak i innych zanieczyszczeń powietrza [5, 14]. Czynniki przyczyniające się do powstawania problemów z zapachowym oddziaływaniem obiektów obejmują: postępujący proces urbanizacji terenów podmiejskich, w następstwie którego zmniejsza się odległość źródeł emisji odorów do terenów zamieszkałych, przyłączanie do istniejącego systemu kanalizacyjnego nowych obiektów przemysłowych, jak i mieszkalnych, procesy technologiczne oczyszczania ścieków i zagospodarowania powstających w ich wyniku odpadów, rosnąca świadomość społeczna w zakresie ochrony środowiska [10].

Ograniczanie zapachowego oddziaływania oczyszczalni ścieków może być realizowane poprzez zapobieganie emisji odorantów i/lub dezodoryzację gazów odlotowych. W sytuacji kiedy mamy do czynienia z nową inwestycją, pod uwagę powinny być brane takie czynniki, jak wybór technologii i projektowanych urządzeń pod kątem potencjalnej emisji zapachu, jak również hermetyzacja obiektu, która niejednokrotnie stanowi poważny koszt inwestycyjny w przypadku już istniejących obiektów. Drugą możliwością jest dezodoryzacja gazów odlotowych, która może polegać na: usuwaniu, przekształcaniu, maskowaniu lub neutralizowaniu związków mających negatywne oddziaływanie zapachowe [8, 10,13].

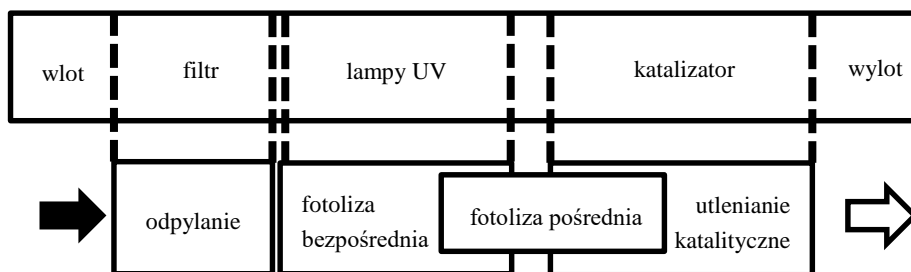
Popularne techniki usuwania odorantów z gazów odlotowych obejmują takie metody jak: absorpcja w wodzie, absorpcja z reakcją chemiczną, ozonowanie, utlenianie termiczne, adsorpcja, metoda kondensacyjna czy metody biologiczne [8]. Wymagania stawiane metodom oczyszczania gazów ze związków o charakterze zapachowym to wysoka skuteczność dezodoryzacji w połączeniu z niskim kosztem inwestycyjnym oraz eksploatacyjnym. W praktyce spełnienie wszystkich wymienionych warunków przy obecnym stanie wiedzy wydaje się być niemożliwe, stąd tendencja do poszukiwania alternatywnych metod unieszkodliwiania substancji o charakterze zapachowym [14]. W niniejszym artykule przedstawiono nową technikę fotokatalitycznej dezodoryzacji gazów odlotowych realizowaną w urządzeniu PCO, polegającą na wykorzystaniu czynników utleniających generowanych in situ poprzez wiele reakcji fizykochemicznych oraz wykorzystanie konwertera katalitycznego wspomagającego procesy utleniania związków zapachowych.

2. OPIS PROCESU FOTOKATALITYCZNEGO UTLENIANIA

Jedną z obiecujących metod niszczenia związków o potencjale zapachowym jest proces fotokatalitycznego utleniania nazywany również fotojonizacją [12, 15]. Metoda fotokatalitycznego utleniania znalazła dotychczas zastosowanie w usuwaniu takich związków uciążliwych zapachowo jak: siarkowodór, amoniak, metanotiol, siarczek dimetylu, disulfid dimetylowy, 2-metylobutan, propanon, siarczek dimetylu, dwusiarczek węgla, 2-metylofuran, n-butanol, disiarczek dimetylu, fenylometanol [1–4, 11]. Produktami końcowymi fotokatalitycznego utleniania są: dwutlenek węgla, azot, siarka i woda [2].

Metoda PCO jest procesem dwuetapowym obejmującym wykorzystanie światła na bazie UV oraz utleniania katalitycznego. Uproszczony schemat oczyszczania gazów odlotowych oraz budowę urządzenia PCO przedstawiono kolejno na rys. 1 oraz 2.

Zanieczyszczony gaz poprzez wlot wprowadzany jest do urządzenia za pomocą wentylatora. Przechodzi przez filtr tkaninowy mający za zadanie ochronę przed zanieczyszczeniem pyłowymi elementami aparatu. Następnie gazy traktowane są światłem ultrafioletowym w komorze lamp UV i w dalszej kolejności trafiają na złożę z tzw. konwerterem katalitycznym. Oczyszczone powietrze odprowadzane jest za pomocą wentylatora na zewnątrz urządzenia.



Rys. 1. Uproszczony schemat dezodoryzacji gazów w urządzeniu PCO (źródło: opracowanie własne)

Promieniowanie ultrafioletowe oraz różnego rodzaju czynniki o charakterze utleniającym znalazły szerokie zastosowanie w oczyszczaniu wody, w tzw. metodach zaawansowanego utleniania chemicznego (*ang. advanced oxidation processes, AOT*) w wyniku, których zanieczyszczenia występujące w fazie ciekłej rozkładane są do prostych związków takich, jak dwutlenek węgla, woda oraz sole mineralne [9, 15]. Promieniowanie UV posiada właściwości utleniania związków odorotwórczych poprzez mechanizm bezpośredniej fotolizy, w wyniku której może nastąpić: rozerwanie wiązań cząsteczkowych, całkowita degradacja substancji organicznych lub ich przekształcenie oraz pośrednio poprzez inicjowanie powstawania takich czynników utleniających, jak wolne rodniki np. rodniki hydroksylowe, anionorodniki ponadtlenkowe ($O_2^{\cdot -}$), rodniki

związków organicznych oraz reaktywne formy tlenu np. ozon, tlen singletowy [1, 6, 12].

Zakres długości fali wytwarzanej przez sekcję lamp UV stosowanej w metodzie PCO jest objęty tajemnicą handlową. Jednak pewnych wskazówek odnośnie zakresu pracy lamp UV dostarcza praca Wang i in. [15], w której badano zastosowanie fotoutleniania związków organicznych w fazie gazowej światłem UV. Długość fali 185 nm generuje w układzie ozon, który w powietrzu jest prekursorem powstawania rodników hydroksylowych. W wyniku absorpcji przez wodę fali o długości od 175–190 nm powstają między innymi reaktywne formy tlenu oraz wspomniane rodniki hydroksylowe. Fala o długości 254 nm rozkłada ozon do cząsteczki tlenu oraz tlenu atomowego. Razem wymienione czynniki będą stanowiły potencjał utleniający dla reakcji fotolizy pośredniej i późniejszego utleniania katalitycznego.

Zastosowanie drugiego etapu oczyszczania gazów z tzw. konwerterem katalitycznym pozwala na wydłużenie czasu kontaktu czynników utleniających ze związkami o charakterze zapachowym, w konsekwencji zachodzą dalsze reakcje chemiczne, które dodatkowo są wspomagane przez utlenianie katalityczne. Zastosowanie katalizatora stanowi pewnego rodzaju rezerwar w sytuacjach nagłego wzrostu stężenia związków odorotwórczych w oczyszczanych gazach oraz zapobiega emisji ozonu do atmosfery. Spośród możliwych do zastosowania katalizatorów, stosowane są takie rozwiązania jak: powlekany węgiel aktywny lub niepowlekany (bez właściwości adsorpcyjnych) oraz tlenki metali. Wybór stosowanego konwertera katalitycznego uzależniony jest od stopnia obciążenia gazów odlotowych odorami oraz parametrów fizycznych strumienia gazów odlotowych [2, 16].

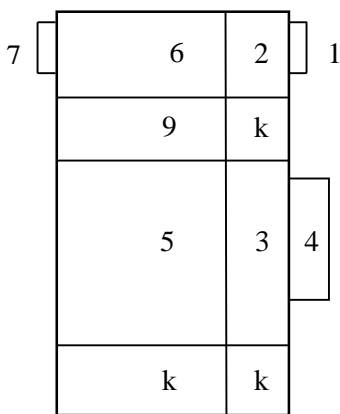
Zaletami stosowania techniki fotokatalitycznego utleniania są: możliwość dezodoryzacji gazów o wysokim stężeniu odorantów np. kilkaset ppm siarkowodoru, brak spadku efektywności oczyszczania gazów przy znacznych wahaniami stężeń odorantów [1], brak wpływu temperatury oraz wilgotności względnej na proces oczyszczania gazów, rozsądne koszty kapitałowe oraz operacyjne, stabilność procesu dzięki zastosowaniu metod fizyko-chemicznych, brak stosowania chemikaliów czy wody, stosunkowo niskie zapotrzebowanie energetyczne biorąc pod uwagę stosowanie lamp UV, możliwość okresowej pracy instalacji, niskie nakłady roboczogodzin przeznaczonych na konserwację oraz interwencje operatora, możliwość odzyskania ciepła generowanego przez promieniowanie UV, stosunkowo niewielki ślad węglowy instalacji (*ang. carbon footprint*) [11, 12, 17].

3. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA URZĄDZENIA PCO

Urządzenie PCO charakteryzuje się budową modułową, co zapewnia dużą elastyczność w dobrze konfiguracji poszczególnym elementom pod kątem charakterystyki

oczyszczanych gazów. Budowę urządzenia oraz zdjęcie aparatu PCO przedstawiono kolejno na rys. 2 oraz 3.

Urządzenia wykonane są z stali nierdzewnej, o podwójnych izolowanych ściankach, co pozwala pracować urządzeniu PCO w zakresie temperatur od -30 do 50 °C [12, 17]. Wydajność projektowanych instalacji w zależności od potrzeb może wynosić od ok. 130 m³/h do nawet 57000 m³/h. Obserwowane skuteczności redukcji zanieczyszczeń o charakterze zapachowym wahają się od 45% dla n-butanolu do blisko 100% dla siarczku dimetylu, 2-metylofuranu, fenylometanolu. Najszerszej zbadanym odorantem jest siarkowodór, dla którego skuteczność dezodoryzacji wynosi od 99 do 100% [1, 3, 12]. Dla małych aparatów do ok. 3400 m³/h emisja hałasu jest niewielka, ze względu na umieszczenie wentylatora w górnej izolowanej komorze. Jeśli zachodzi taka potrzeba istnieje możliwość montażu dodatkowych elementów redukujących emisję hałasu. Celem maksymalnego wyeliminowania niezorganizowanej emisji odorów układ pracuje w warunkach podciśnienia. Nakład czasu pracy operatora związany z konserwacją oraz kontrolą urządzenia został sprowadzony do minimum [12]. Kontrola konserwacyjna aparatu obejmuje sprawdzenie stanu: filtra przeciwpyłowego, lamp UV, katalizatora powinna po upływie 6 miesięcy. Natomiast ewentualna wymiana ww. elementów po upływie ok. 9000 h pracy lub jednym roku. Z pozostałych czynności kontrolno-konserwacyjnych należy wymienić cotygodniową kontrolę ogólnego stanu aparatu, pracy wentylatora oraz wskazań manometrów modułów [7].



Rys. 2. Schemat budowy urządzenia PCO. 1 – Wlot zanieczyszczonego gazu, 2 – filtr przeciwpyłowy, 3 – komora lamp UV, 4 – panel zasilająco-sterujący, 5 – katalizator, 6 – wentylator, 7 – wylot oczyszczonych gazów, k – otwory konserwacyjno-kontrolne (źródło opracowanie własne na podstawie [7])



Rys. 3. Instalacja PCO dezodoryzująca gazy odlotowe emitowane w punkcie podnoszenia ścieków surowych (fot. T. Kielbasa)

4. PODSUMOWANIE

Kontrola oddziaływania zapachowego oczyszczalni ścieków jest zagadnieniem złożonym. W związku ze wzrostem ilości skarg społeczeństwa na zapachową jakość powietrza jest to aktualny problem wielu eksploatorów wspomnianych obiektów. Ograniczanie emisji związków odorotwórczych może być realizowane na drodze dezodoryzacji gazów odlotowych. Współcześnie stosowane metody eliminacji odorów z fazy gazowej stanowią kompromis pomiędzy kosztami inwestycyjnymi, eksploatacyjnymi oraz stopniem redukcji niepożądanych substancji o charakterze zapachowym. W związku z powyższym istnieje potrzeba poszukiwania alternatywnych metod dezodoryzacji gazów. Ostatnimi czasy, obserwuje się wzrost zainteresowania wykorzystaniem metod fotokatalitycznych do dezodoryzacji gazów odlotowych, które mogą stanowić alternatywę dla obecnie popularnych metod [12, 14, 15]. Jedną z obiecujących technik jest fotokatalityczne utlenianie realizowane w aparatach PCO. Metoda ta jest procesem dwuetapowym opartym o wykorzystanie promieniowania UV generującego potencjał utleniający w postaci takich czynników, jak: wolne rodniki oraz reaktywne formy tlenu oraz utleniania katalitycznego. Zaletami metody jest wysoka efektywność

oczyszczania gazów z substancji o charakterze zapachowym, przy zachowaniu stosunkowo niskich kosztów inwestycyjnych oraz eksploatacyjnych. Dodatkowo na korzyść tej techniki przemawiają brak stosowania chemikaliów i wody do prowadzenia procesu oraz niskie nakłady roboczogodzin związanych z eksploatacją oraz konserwacją urządzeniem PCO. Wyniki prezentowane w literaturze przedmiotu zdają się potwierdzać przydatność metody fotokatalitycznego utleniania do dezodoryzacji gazów odlotowych z takich obiektów jak oczyszczalnie ścieków.

LITERATURA

- [1] AUGUSTIN O., BARTKOWSKA I., DZIENIS L., *Odour control by photo catalytic ionisation: initial successful applications*, [w:] Moving forward wastewater biosolids sustainability: technical, managerial, and public synergy, pod red. R.J. LeBlanc, P.J. Laughton, T. Rajesh, GMSC, New Brunswick 2007, 1045–1050.
- [2] AUGUSTIN O., *New new off-gas treatment technologies based on photo-catalytical treatment and ionization discussion of first positive results from Europe*, Proceedings of the Water Environment Federation, Residuals and Biosolids Management, 2005, 1132–1140.
- [3] AUGUSTIN O., *Odour control and off-Gas treatment based on Photo-Catalytical Oxidation*, 4th CIWEM Annual Conference, Newcastle Upon Tyne 2006.
- [4] BARTKOWSKA I., WAWRENTOWICZ D., *Analiza skuteczności dezodoryzacji powietrza metodą fotokatalitycznego utleniania*, Gaz, Woda i Technika Sanitarna, 2014, 27–29.
- [5] BELGIORNO V., NADDEO V., ZARRA T., *Odour Impact Assessment Handbook*, Chichester: John Wiley a. Sons, 2013, 125–168, 205–216.
- [6] DĄBROWSKA D., KOT-WASIK A., NAMIEŚNIK J., *Degradacja związków organicznych w środowisku*, [w:] Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym, pod red. J. Namieśnik, W. Chrzanowski, P. Szpinek, Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2003, 702–707.
- [7] *Dokumentacja urządzenia do dezodoryzacji powietrza w pompowni ścieków p2 w Elku* dostarczona przez: BSK BIOGEST Spółka z o.o.
- [8] KOŚMIDER J., MAZUR-CHRZANOWSKA B., WYSZYŃSKI B., *Odory*, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002, druk na żądanie wersja II, 156–179, 206–211.
- [9] NAWROCKI J., *Zaawansowane procesy utleniania w oczyszczaniu wody*, Ochrona Środowiska, 1999, Vol. 74, No. 3, 31–36.
- [10] *Odor Control Chapter 13*, Operation of Municipal Wastewater Treatment Plants; Management and Support Systems; Manual of Practice No 11, Water Environment Federation, 2007, 1–47.
- [11] PARKER R., HARSHMAN J., MORANO D., *Pilot Test of a UV-enhanced Biological Odor Control System*, Proceedings of the Water Environment Federation, Odors Air Pollutants, 2014, 1–10
- [12] PRIDE C., *Photoionisation: A Superior Odor-Control Technology*, Proceedings of the Water Environment Federation, 2014, 1–11
- [13] SOBCZYŃSKI P., SÓWKA I., NYCH A., *Emisja siarkowodoru jako wskaźnik uciążliwości zapachowej oczyszczalni ścieków*, [w:] Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska. Tom 4, pod red. T.M. Traczewskiej i B. Kaźmierczaka, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2014, 760–769.
- [14] SZYŃKOWSKA M.-I., ZWOŹDZIAK J., *Współczesna problematyka odorów*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2010, 14–33, 166–167.

- [15] WANG J.-H., RAY M.-B., *Application of ultraviolet photooxidation to remove organic pollutants in the gas phase*, Separation and Purification Technology, 2005, Vol. 19, 11–20.
- [16] www.biogest.pl/index.php?page=dezodoryzacja-powietrza data wizyty: 01-02-2016.
- [17] www.neutralox.de/en/photoionisation.php data wizyty: 01-02-2016.

OFF-GAS DEODORIZATION EMITTED FROM WASTEWATER TREATMENT PLANT BASED ON PHOTOCATALYTICAL OXIDATION

Odor emissions in wastewater treatment plants is a very complex and therefore odors control within the facility and beyond it is difficult in practical application. Increasing public attention to environmental protection problems and urbanization of suburban areas, contribute to the growth of complaints on air quality in the context of odor. Reducing negative impact can be realized by preventing the emission of waste gases or deodorization. Classical methods often require immense maintenance demand and may cause health hazards due chemical applied. Low investment and operating costs while maintaining high reliability is a characteristic of the new odor control method. This article present the process of photocatalytic oxidation of odor in the unit PCO (Photocatalytic oxidation) based on the use of the oxidizing agents generated in situ by many physical and chemical reactions and the use of a catalytic converter supporting processes of oxidation of aromatic compounds.

Aleksandra KLIMONDA, Izabela KOWALSKA*

ZASTOSOWANIE TECHNIK MEMBRANOWYCH DO ODSALANIA WÓD KOPALNIANYCH

Wody słone i słonawe są coraz częściej wykorzystywane do zaopatrywania ludności i przemysłu w wodę. Na rynku odsalania dominują techniki membranowe. W niniejszej pracy dokonano przeglądu technik membranowych mających zastosowanie w procesach odsalania wód kopalnianych. Omówiono podstawy procesów separacji membranowej mających największe znaczenie gospodarcze – odwróconej osmozy i elektrodializy oraz przedstawiono przykłady aplikacji procesów membranowych w instalacjach odsalania wód dołowych w Polsce oraz koncepcje instalacji opartych na technikach membranowych. Przykłady zostały omówione zarówno pod kątem technologicznym, jak i ekonomicznym.

1. WSTĘP

Zrzut wód kopalnianych do naturalnych odbiorników wodnych niesie za sobą konsekwencje zarówno ekologiczne, jak i gospodarcze. Wprowadzenie do rzek silnie zmineralizowanych wód dołowych, powoduje ich zasolenie, co skutkuje zaburzeniem równowagi środowiska wodnego – między innymi przyczynia się do degradacji populacji mikroorganizmów odpowiedzialnych za procesy samooczyszczania wód. Kolejną konsekwencją zasolenia wód w rzekach jest uniemożliwienie wykorzystania tych rzek jako źródeł wód powierzchniowych do zaopatrzenia ludności i przemysłu w wodę. Wiąże się to z poniesieniem dużych kosztów uzdatniania wody. Zważając na fakt, iż zasoby wody są ograniczone, a jej zużycie coraz większe, wszelkie działania mające na celu ochronę zasobów wodnych na Ziemi są bardzo ważne. Odsalanie wód dołowych niesie za sobą

* Politechnika Wrocławska, Wydział Inżynierii Środowiska, Wybrzeże S. Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, aleksandra.klimonda@student.pwr.edu.pl.

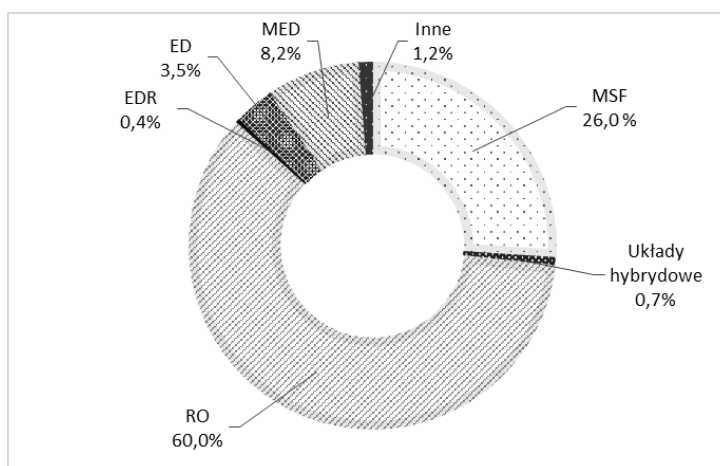
korzyści związane z ochroną odbiorników, ale także, co istotne pod względem finansowym - daje możliwość pozyskania źródeł wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi oraz na cele przemysłowe.

W Polsce problem związany z odprowadzaniem wód dołowych do cieków powierzchniowych jest szczególnie poważny, gdyż gospodarka energetyczna kraju opiera się na górnictwie węgla kamiennego i brunatnego, a intensywnemu wydobywaniu tych surowców towarzyszy odprowadzanie z drenowanych górotworów znacznych ilości wód kopalnianych (tabela 1) [8]. Położenie Górnośląskiego Zagłębia Węglowego w zlewni dwóch największych rzek w Polsce w ich początkowych biegach powoduje że zrzut dużych ilości zasolonych wód dołowych z tego rejonu wpływa na złą jakość wody nie tylko w miejscach zrzutu, ale również w dalszych odcinkach rzek.

Tabela 1. Odprowadzanie ścieków z górnictwa węgla kamiennego do wód powierzchniowych [8]

Rok	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Zrzut wód dołowych [m^3/min]	372,2	375,0	379,7	375,6	363,7	369,9	400,5
Zasolenie $\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-}$ [tys. ton]	1361	1440	1526	1453	1290	1383	1474

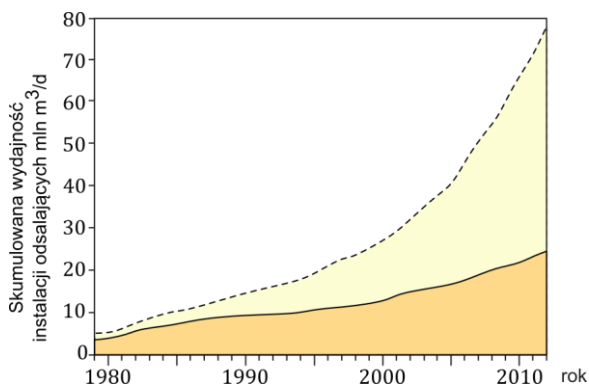
W celu ograniczenia szkód związanych ze zrzutem wód dołowych do rzek, należy poddać je procesowi odsalania. Najważniejsze znaczenie w otrzymywaniu wody do picia i na potrzeby gospodarcze mają procesy separacji oparte na metodach termicznych i na metodach membranowych [5]. Ze względu na niższe zużycie energii w porównaniu do technik termicznych, na rynku odsalania dominują techniki membranowe (rys. 1) [1, 2, 5].



Rys. 1. Rynek odsalania (rok 2012) z uwzględnieniem stosowanych metod. RO: odwrócona osmoza, ED: elektrodializa, EDR: elektrodializa odwracalna, MED: odparowanie wielokrotne, MSF: wielostopniowa destylacja równowagowa [wg 1]

Szacowane koszty odsolenia 1 m³ wody słonej z uwzględnieniem kosztów inwestycyjnych, ceny energii elektrycznej oraz ciepłej, kosztu zakupu membran, chemikaliów oraz zatrudnienia obsługi wynoszą kolejno: 0,76 USD w procesie RO, 0,83 USD w procesie MED oraz 1,07 USD w instalacji MSF [2, 10].

W ciągu ubiegłych 35 lat odnotowano duży wzrost wydajności instalacji odsalających na świecie, zarówno wykorzystujących metody termiczne, jak i membranowe (rys. 2).



Rys. 2. Rozwój wydajności termicznych i membranowych instalacji odsalania w latach 1980–2012, ciemny– metody termiczne, jasny– metody membranowe [wg 14]

Za intensywny wzrost liczby instalacji stosujących membranowe metody odsalania po roku 2000 odpowiada ulepszenie dostępnych technologii, a także obniżenie kosztów inwestycyjnych i eksploatacyjnych tych systemów [14] – na rynku pojawiają się moduły o coraz większych powierzchniach membran, pracujące przy coraz niższych ciśnieniach [3]. W roku 2007 całkowita wydajność instalacji odsalających wynosiła 47,6 mln m³/d, w 2008 – 58 mln m³/d, w 2011 roku wzrosła do 65,2 mln m³/d, w roku 2012 – 74,8 mln m³/d, zaś na rok 2015 szacowana była wydajność 97,5 mln m³/d [2, 10]. W odniesieniu do całkowitej wydajności instalacji odsalających na świecie, odsalanie wody morskiej stanowi 60% tej wydajności, natomiast wód słonawych – 21% [2].

2. TECHNIKI MEMBRANOWE STOSOWANE DO ODSALANIA WÓD SŁONAWYCH

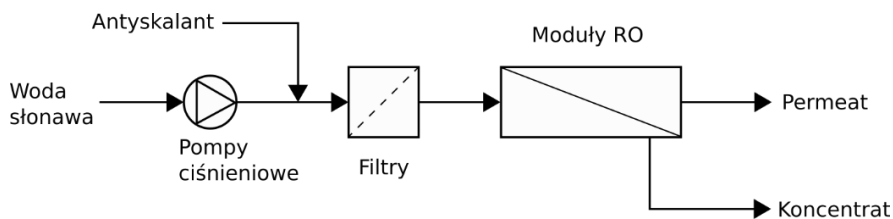
Procesami membranowymi stosowanymi do odsalania wód kopalnianych o największym znaczeniu gospodarczym są odwrócona osmoza i elektrodializa. Do procesów o mniejszym znaczeniu gospodarczym bądź będących w fazie badań zaliczane są elektrodializa odwracalna, nanofiltracja, dializa Donnana oraz destylacja membranowa [4].

Odwrócona osmoza jest najczęściej stosowanym procesem membranowym do odsalania wód. W procesie tym siłą napędową jest różnica ciśnień (ΔP) po obu stronach membrany. Membrany wykorzystywane do RO są przepuszczalne dla wody, nie przepuszczają zaś soli; charakteryzują się strukturą nieporowatą, w związku z czym ich oporność hydrauliczna jest wysoka i wymagane jest zastosowanie wysokiego ciśnienia transmembranowego – przy odsalaniu wody słonawej wymagane jest ciśnienie transmembranowe rzędu 2 MPa [5].

Typowy układ technologiczny odsalania wód słonawych (rys. 3) w procesie RO obejmuje wstępne oczyszczanie wody, które stosowane jest w celu ochrony systemu membranowego przed foulingiem (zjawiskiem blokowania powierzchni i/lub porów membrany) oraz przedłużenia żywotności membran [5, 6]. Wstępne oczyszczanie zwykle obejmuje dawkowanie kwasów oraz antyskalantów (długołańcuchowych polimerów) do ochrony membran RO przed wytrąceniem osadów mineralnych [6, 12] oraz filtrację pośpieszną stosowaną do usunięcia z wody substancji zawieszonych. Odsalanie zachodzi na modułach RO pracujących w układach jedno-, dwu- i trójstopniowych. Do odsalania wód słonawych stosuje się instalacje jednostopniowe, natomiast dla wód o wyższym zasoleniu, stosowane są układy dwu- i trójstopniowe [6].

Permeat z procesu RO ze względu na niską mineralizację nie spełnia standardów wody do picia, dlatego wymagane jest końcowe uzdatnianie wody odsolonej [5]. W celu zwiększenia zawartości substancji rozpuszczonych w permeacie, miesza się strumień permeatu z pewną częścią wody przed procesem odsalania.

Woda, która ma być przeznaczona do picia i na potrzeby gospodarcze powinna być poddana korekcie pH i chlorowaniu [5].



Rys. 3. Układ technologiczny odsalania wód słonawych w procesie RO [wg 5, 7]

Drugim procesem membranowy mającym znaczenie gospodarcze, choć znacznie rzadziej stosowanym jest elektrodializa. ED stanowi membranową technikę rozdziału składników roztworów ciekłych, w której wykorzystuje się transport jonów przez membrany zachodzący pod wpływem zewnętrznego pola elektrycznego [5, 6].

W procesie elektrodializy stosowane są membrany wykonane z żywic jonowymiennej, które umożliwiają transport jonów o odpowiednich ładunkach – membrany anionowymienne przepuszczają tylko aniony, zaś kationowymienne – wyłącznie kationy [12]. Membrany jonoselektywne umieszczane są w polu elektrycznym w postaci stosów

elektrodialitycznych. Stosy składają się z kilkuset membran zainstalowanych równolegle. Membrany kationo- i anionowymienne oddzielone są przekładkami dystansującymi, tworząc komory o grubości ok. 1 mm. Membrany jonowymienne ułożone naprzemiennie dzielą elektrodializer na komory odsalania i zateżniania roztworu [5, 12]. Elektrody znajdują się na końcach stosu membranowego w pojedynczych komorach, zwanych komorami elektrodowymi.

Pod wpływem pola elektrycznego jony migrują w kierunku odpowiednich elektrod. Membrany selektywnie je zatrzymują lub przepuszczają, rozdzielając strumień nadawy na koncentrat zawierający sól oraz roztwór odsolony [5].

Wstępne oczyszczanie wody przed procesem ED polega na dawkowaniu kwasów lub polifosforanów w celu zapobiegania wytrącania się osadów na membranach oraz usunięcia substancji nie ulegających jonizacji (krzemionki, bakterii, rozpuszczonych związków organicznych) [5]. Ograniczenie wstępnego oczyszczania możliwe jest przy zastosowaniu elektrodializy odwracalnej [1, 12]. Metoda ta polega na zmianie kierunku przepływu prądu co kilkanaście minut, co wpływa na zmianę ruchu jonów, w efekcie czego komory zateżniania stają się komorami odsalania i na odwrót. Dzięki temu usuwane są koloidy i świeżo wytrącane osady, co zapobiega blokowaniu membran. Elektrodializa odwracalna wydłuża czas eksploatacji membran i ogranicza koszty prowadzenia procesu, umożliwiając jednocześnie zastosowania elektrodializy dla wód bardziej zanieczyszczonych [5].

Woda po procesie ED nie wymaga końcowego uzdatniania poza dezynfekcją. Jeśli w trakcie wstępnego przygotowania wody surowej użyto kwasu, należy wodę przywrócić do stanu równowagi węglanowo-wapniowej [12].

3. INSTALACJE I KONCEPCJE INSTALACJI DO ODSALANIA WÓD KOPALNIANYCH

3.1. STACJA UZDATNIANIA WODY DOŁOWEJ PRZY KWK „POKÓJ”

Stacja Uzdatniania Wody Dołowej (SUWD) KWK „Pokój” w Rudzie Śląskiej eksploatowana jest od 2000 roku [11]. Stacja zlokalizowana jest na terenie kopalni przy istniejących stawach osadowych [5]. Uzdatniana woda jest ujmowana w ilości 1600–1700 m³/d z poziomu 450 m z likwidowanego rejonu „Wawel”. Układ technologiczny składa się m.in. z filtrów żwirowych ze złożem katalitycznym, filtrów dokładnych oraz ze stacji odwróconej osmozy, gdzie usuwany jest nadmiar jonów siarczanych, wapniowych i magnezowych [5, 11]. Woda po procesie RO mieszana jest z wodą surową w celu zwiększenia zawartości składników mineralnych, których stopień usunięcia w procesie RO dochodzi nawet do 100%. Parametry wody surowej, wody po

procesie odwróconej osmozy, a także po wymieszaniu wody surowej z wodą po RO przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Skład wody surowej oraz z poszczególnych stopni uzdatniania w kopalni „Pokój” [5]

Parametr	Woda surowa	Woda po RO	Woda do picia
Przewodność, $\mu\text{S}/\text{cm}$	3550	59	185,5
Twardość, $\text{g CaCO}_3/\text{m}^3$	2565	8,35	7,25
Siarczany, $\text{g SO}_4^{2-}/\text{m}^3$	2070	< 10	17,73
Chlorki, $\text{g Cl}^-/\text{m}^3$	60,62	8,86	85,4
Wapń, $\text{g Ca}^{2+}/\text{m}^3$	499,0	1,88	21,75
Magnez, $\text{g Mg}^{2+}/\text{m}^3$	320,8	0,89	18,46
Substancje rozpuszczone, g/m^3	3590	32,0	127,0

Uzdatniona woda przeznaczana jest do spożycia jako woda zasilająca sieć kopalnianą, co pozwala na ograniczenie, bądź w przyszłości – na wyeliminowanie dostaw do kopalni wody z sieci wodociągowej. Koszt produkcji 1 m^3 wody do picia w SUWD KWK „Pokój” wynosi 3,98 zł, natomiast przy zakupie wody z sieci komunalnej 1 m^3 kosztuje kopalnię 5,66 zł/ m^3 [11]. Różnica pomiędzy kosztami wody otrzymywanej w procesie RO a jej zakupu z sieci komunalnej pozwala kopalni zaoszczędzić około 100 000 zł rocznie. Ponadto, dzięki zmniejszeniu zrztu zasolonych wód dołowych do odbiorników naturalnych, a co za tym idzie zmniejszeniu wydatków związanych z opłatami ponoszonymi za wprowadzanie ładunków soli do rzeki, kopalnia oszczędza około 400 000 zł rocznie. Zatem sumaryczny zysk KWK „Pokój” wynosi około pół miliona złotych rocznie [15].

W wyniku działalności SUWD KWK „Pokój” zrzt ładunku jonów chlorkowych i siarczanowych do odbiornika – rzeki Czerniawki został zmniejszony o 3,52 t/d, co stanowi spadek o około 24% względem ładunku jonów zrzuconych przed uruchomieniem zakładu [5].

3.2. KONCEPCJA INSTALACJI PRZY KWK „WESOŁA”

Dla kopalni węgla kamiennego KWK „Wesoła” została opracowana koncepcja instalacji odsalania wód dołowych oparta na układzie hybrydowym: elektrodializa–nanofiltracja–metody wyparne. Oprócz odsalania wód kopalnianych, działalność zakładu obejmować ma również produkcję soli warzonej [17].

W zależności od poziomu wydobycia, tym samym od zasolenia (tab. 3), wody trafiają do dwóch ciągów technologicznych. Woda z poziomu 665 m o stężeniu jonów chlorkowych wynoszącym $35,5 \text{ g}/\text{dm}^3$ poddawana jest procesowi nanofiltracji z wykorzystaniem membran Osmonics Desal 5-L charakteryzujących się niską retencją NaCl, przy jednocześnie wysokim poziomie zatrzymania kationów wapnia i magnezu oraz anionów siarczanowych.

Tabela 3. Ilość i zasolenie wód dołowych z KWK „Wesoła” z podziałem na poziomy wydobycia [9]

Poziom, m	Dopływ, m ³ /d	Stężenie, g/dm ³		Ładunek Cl ⁻ i SO ₄ ²⁻	
		Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	t/rok	Udział, %
230	3600	0,10	0,300	525,6	1,1
465	7100	2,25	0,524	7188,8	15,1
665	3050	35,50	0,408	39974,6	83,8
Razem	13750	-	-	47689,0	100,0

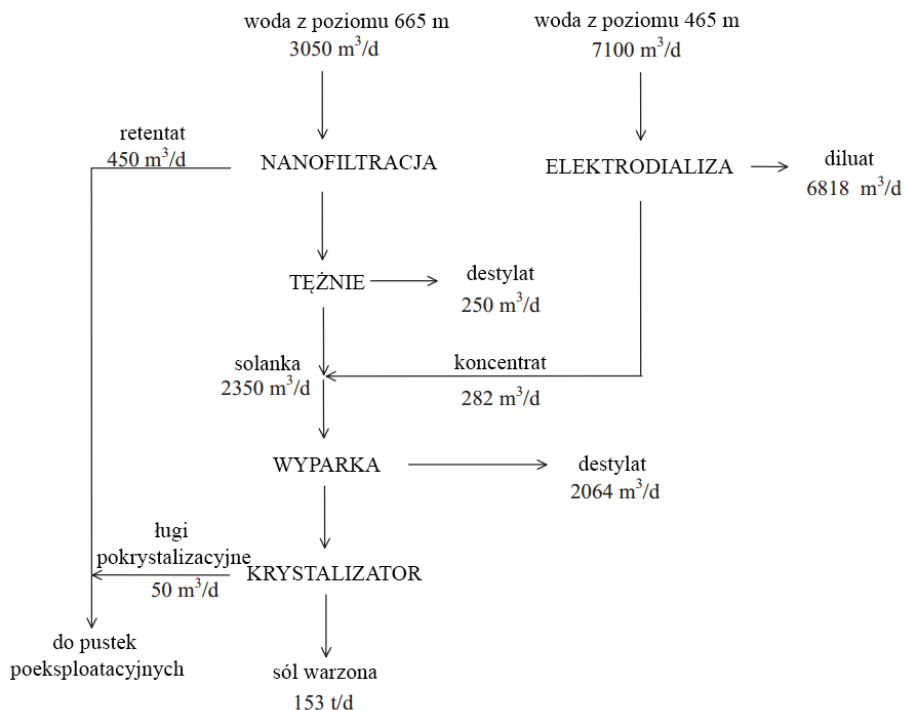
Po procesie nanofiltracji, woda jest zatężana w tężniach, skąd odbierane są dwa strumienie: destylat w ilości 250 m³/d oraz solanka w ilości 2350 m³/d. Parametry poszczególnych strumieni procesu nanofiltracji zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Skład strumieni w procesie NF z 85% odzyskiem wody [9]

Strumień	Stężenie, g/dm ³			
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻
Nadawa	1,52	0,899	0,41	35,45
Permeat	0,80	0,44	0,01	33,87
Retentat	5,61	3,50	2,64	44,33

Woda dołowa z poziomu 456 m odsalana jest w procesie ED, w wyniku którego produkowane jest około 6800 m³/d diluatu o stężeniu anionów chlorkowych i siarczanowych zbliżonym do ich stężenia w wodzie pochodzącej z poziomu 280 m, a także 280 m³/d koncentratu, który łączony jest z solanką powstałą w procesie nanofiltracji. Koncentrat z ED wraz z solanką z NF poddawany jest procesowi zatężania. Z wyparki odprowadzany jest destylat i solanka o stężeniu NaCl wynoszącym 300 kg/m³, która kierowana jest do krystalizatora w celu dalszego zatężania z pozyskiwaniem soli warzonej [9,17]. Schemat instalacji przedstawiono na rys. 4.

Oprócz oczywistych pozytywnych aspektów zastosowania wyżej opisanej instalacji utylizacji wód kopalnianych związanych z ekologią, ważnym czynnikiem jest efektywność ekonomiczna. Szacowany zysk ze sprzedaży soli może wynosić nawet 1,68 mln USD rocznie (przy założeniu ceny soli 30 USD/t) i jest porównywalny z kosztami ponoszonymi przez kopalnię na utylizację wód dołowych (1,71 mln USD rocznie). Biorąc pod uwagę fakt, że kopalnia nie będzie ponosić opłat za zrzut ładunku chlorków i siarczanów do rzeki, szacuje się że roczny zysk wyniesie 3,45 mln USD [9].



Rys. 4. Schemat instalacji dla KWK „Wesoła” [wg 9]

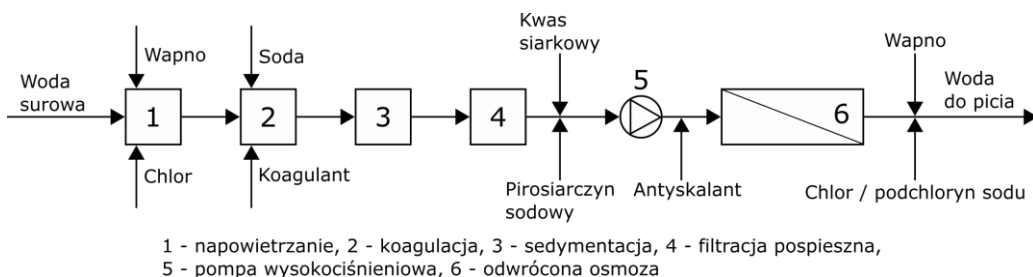
3.3. KONCEPCJA INSTALACJI PRZY KOPALNI GROOTVLEI

Z kopalni złota Grootvlei w RPA wyłaczane jest średnio 80–100 tys. m³ wód dołowych w ciągu doby, które trafiają do rzeki Blesbokspruit. Zawartość substancji rozpuszczonych w wodach pochodzących z tej kopalni zawiera się w przedziale 2700–3800 g/m³, dodatkowo wody te charakteryzują się wysoką zawartością żelaza (150–300 g/m³), manganu (8 g/m³), siarczanów (1700–2300 g/m³), chlorków (190–240 g/m³), a także wapnia (240–340 g/m³), magnezu (150–200 g/m³) i sodu (270–320 g/m³) [16]. Ze względu na zasolenie rzeki będącej jednym z głównych zasobów wodnych tego rejonu, Schoeman i Steyn [16] opracowali dwie koncepcje odsalania wód dołowych z kopalni Grootvlei w oparciu o procesy RO i EDR.

Schemat instalacji odsalania z wykorzystaniem procesu RO został przedstawiony na rys. 5. Wstępne oczyszczanie wody dołowej przed modułami RO rozpoczyna się procesem napowietrzania wspomaganym chlorowaniem, w celu utlenienia jonów żelaza (II) do jonów żelaza (III). Następnie do wody dawkuje się wapno i soda. Zastosowanie tych chemikaliów umożliwia wytrącenie wapnia w postaci węglanu wapnia. Dodatkowo, dawki sodu umożliwia strącanie żelaza, manganu i glinu oraz pozwala

obniżyć stężenie baru i krzemionki. W dalszym etapie oczyszczania zaproponowano koagulację, sedymentację, a następnie filtrację na filtrach piaskowych oraz korektę odczynu wody kwasem siarkowym do wartości $\text{pH} = 7,5\text{--}8,0$.

Odsalanie na modułach RO zostało poprzedzone dawkowaniem antyskalantów. Do procesu odsalania przy zastosowaniu odwróconej osmozy założono wykorzystanie spiralnych modułów membranowych. Po odsoleniu na modułach RO, woda ma być poddawana końcowemu uzdatnieniu, które polegać ma na korekcie pH poprzez dawkowanie wapna oraz na dezynfekcji podchlorynem sodu bądź chlorem.



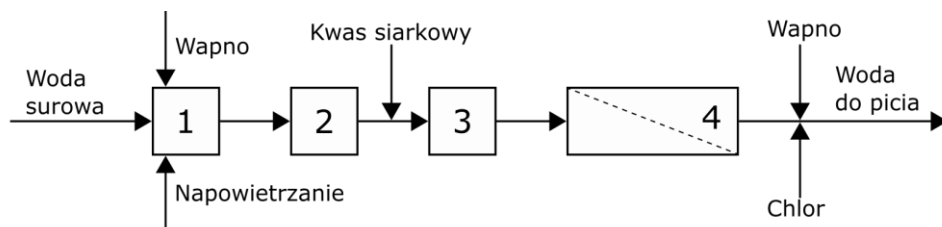
Rys. 5. Uproszczony schemat odsalania wód dołowych z kopalni Grootvlei w procesie RO [wg 16]

W tabeli 5 zestawiono skład strumieni procesowych w projektowanej instalacji. Oszacowano, że proces pozwoli na 97,8% obniżenie stężenia substancji rozpuszczonych, stopień obniżenia stężenia siarczanów wyniesie 98,3%, chlorków – 94,4%, wapnia – 98,4%, a magnezu – 98,2%.

Tabela 5. Skład strumieni procesowych w instalacji z RO [16]

Parametr	Nadawa	Permeat	Koncentrat
Siarczany, g $\text{SO}_4^{2-}/\text{m}^3$	2887,0	49,0	16920,0
Chlorki, g Cl/m^3	272,0	14,0	2838,0
Wapń, g $\text{Ca}^{2+}/\text{m}^3$	49,0	0,8	326,0
Magnez, g $\text{Mg}^{2+}/\text{m}^3$	11,0	0,2	73,0
Substancje rozpuszczone, g/ m^3	4920,0	113,0	32590,0

Do odsalania wód dołowych z kopalni Grootvlei zaproponowano także układ oparty na instalacji EDR (rys. 6) [16]. Wstępne przygotowanie wody przed instalacją EDR polega na obniżeniu stężenia magnezu, żelaza, glinu i manganu w procesie napowietrzania poprzedzonego alkalizacją wapnem, a następnie obejmuje filtrację i korektę pH przy użyciu kwasu siarkowego. Końcowe uzdatnianie strumienia wody po EDR polega na korekcie pH poprzez dawkowanie wapna oraz na dezynfekcji przy użyciu chloru. Skuteczność procesu zestawiono w tab. 6.



1 - wstępne oczyszczanie, 2 - filtracja pospieszna, 3 - podgrzewanie, 4 - instalacja EDR

Rys. 6. Uproszczony schemat odsalania wód dołowych z kopalni Grootvlei w procesie EDR [wg 16]

Tabela 6. Skład strumieni procesowych w instalacjach opartych na EDR [16]

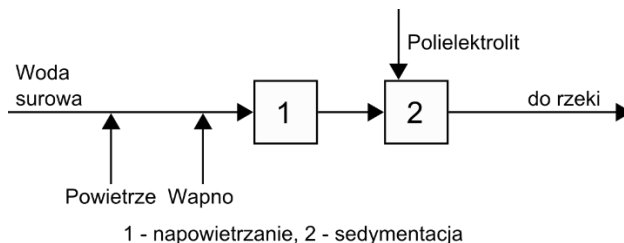
Parametr	T= 25°C, proces dwustopniowy			T = 35°C, proces czterostopniowy		
	Nadawa	Permeat	Koncentrat	Nadawa	Permeat	Koncentrat
Siarczany, g SO ₄ ²⁻ /m ³	2660,0	943,5	6665,1	2660,0	207,4	7214,8
Chlorki, g Cl/m ³	287,0	116,5	684,9	287,0	30,1	764,0
Wapń, g Ca ²⁺ /m ³	650,0	211,3	1673,6	650,0	44,6	1774,3
Magnez, g Mg ²⁺ /m ³	200,0	73,9	494,4	200,0	16,0	541,8
Substancje rozp., g/m ³	4178,0	1519,1	10382,2	4178,0	245,5	11295,4

W procesie EDR, stopnie usunięcia zanieczyszczeń były następujące: 94,1% dla substancji rozpuszczonych, dla siarczanów – 92,2%, w przypadku chlorków – 89,5%, stężenie kationów wapniowych zostało obniżone o 93,1%, a kationów magnezowych – 92,0%.

W przypadku RO, koszty inwestycyjne oszacowano na 31,8 mln USD (13,9 mln USD wstępne oczyszczanie, 17,9 mln USD odsalanie), zaś koszty produkcji wody – na 0,88 USD/m³.

Instalacja oparta na EDR charakteryzuje się wyższymi kosztami inwestycyjnymi – 53,3 mln USD (50% wstępne oczyszczanie), jednak koszty eksploatacyjne są niższe – koszt produkcji 1 m³ wody wynosi 0,47 USD/m³. W porównaniu do kosztu produkcji 1 m³ wody w procesie RO, w wariantcie konkurencyjnym, koszt ten jest o 55% niższy, a skuteczność odsalania porównywalna.

Wykorzystanie obu wariantów skutkowało osiągnięciem oczekiwanego składu permeatu, jednak ze względu na niższe koszty eksploatacyjne autorzy rekomendowali wariant z wykorzystaniem EDR. Pomimo zaawansowania prac koncepcyjnych, stacja odsalania wody dołowej przy kopalni Grootvlei Proprietary Mines Ltd nie została uruchomiona, a eksploatowany układ oczyszczania obejmuje napowietrzanie, wapnowanie oraz sedymentację (rys. 7). Zastosowany układ pozwala na obniżenie zawartości żelaza i manganu, nie zmienia jednak zasolenia, czego skutkiem jest odprowadzanie dużych ładunków soli do rzeki Blesbokspruit [13].



Rys. 7. Uproszczony schemat oczyszczania wód dołowych z kopalni Grootvlei [wg 13]

4. PODSUMOWANIE

Techniki membranowe są z powodzeniem stosowane w wielu instalacjach do odsalania wód kopalnianych, a działające w Polsce i na świecie obiekty są przykładami i wzorami dla kolejnych planowanych inwestycji. Doświadczenia nabyte podczas projektowania i eksploatacji systemów odsalania wód kopalnianych będą w przyszłości pomocne w realizacji kolejnych tego typu projektów.

Rynek membranowych technik odsalania wód słonawych zdominowany jest przez instalacje wykorzystujące proces odwróconej osmozy oraz elektrodializy ze względu na niskie koszty odsalania oraz dostępną szeroką gamę produktów oferowanych przez producentów. Rozwój technologii separacji membranowej skutkuje obniżeniem kosztów eksploatacyjnych oraz coraz lepszymi parametrami membran. W związku z powyższym, w najbliższych latach utrzymana będzie obecna tendencja wzrostowa wydajności instalacji odsalania zarówno wód słonawych, jak i słonych.

LITERATURA

- [1] AMY G.L., GHAFFOR N., *Technical review of the economics of water desalination: current and future challenges for better water supply sustainability*, Desalination, 2013, Vol. 309, 197–207.
- [2] BENNET A., *Desalination: 50 years of progress*, Filtration + Separation, 2013, Vol. 50, 32–39.
- [3] BENNET A., *Cost effective desalination: Innovation continues to lower desalination costs*, Filtration + Separation, 2011, Vol. 24, 24–27.
- [4] BOBIK M., LABUS K., *Metody odsalania wód kopalnianych w praktyce – stan obecny technologii i nowe wyzwania*, Przegląd Górniczy, 2014, No. 4, 99–105.
- [5] BODZEK M., KONIECZNY K., *Usuwanie zanieczyszczeń nieorganicznych ze środowiska wodnego metodami membranowymi*, Seidel-Przywecki Sp. z o.o., Warszawa 2011.
- [6] BODZEK M., BOHDZIEWICZ J., KONIECZNY K., *Techniki Membranowe w Ochronie Środowiska*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 1997.
- [7] BOYSEN B., HENTHORNE L., *State-of-the-art of reverse osmosis desalination pretreatment*, Desalination, 2015, Vol. 356, 129–139.

- [8] DULEWSKI J., WALTER A., *Gospodarka wodami kopalnianymi w górnictwie węgla brunatnego na tle całego przemysłu wydobywczego*, Warsztaty z cyklu: Zagrożenia naturalne w górnictwie, Katowice 2007, 29–38.
- [9] DYDO P., SURMA A., TUREK M., *Zero discharge utilization of saline water from “Wesola” coal-mine*, *Desalination*, 2005, Vol. 185, 275–280.
- [10] GUDE V.G., *Desalination and sustainability – an appraisal and current perspective*, *Water Research*, 2016, Vol. 89, 87–106.
- [11] KORCZAK K., KOROL J., *Wykorzystanie wód zasolonych do produkcji wody pitnej – studium przypadku*, *Biuletyn Wdrożeń Czystszej Produkcji*, 2013, Vol. 52, 3–4.
- [12] KOWAL A.L., ŚWIDERSKA-BRÓŹ M., *Oczyszczanie wody*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000.
- [13] LEA I., MERWE W., *Towards sustainable mine water treatment at Grootvlei mine*, 8th International Mine Water Association Congress, Johannesburg, 2003.
- [14] LI F., LIKHACHEV D.S., *Large-scale water desalination methods: a review and the perspectives*, *Desalination and Water Treatment*, 2013, Vol. 51, 2836–2849.
- [15] MAGDZIORZ A., SEWERYŃSKI J., *The use of membrane technic in mineralised water treatment for drinking and domestic purposes at “Pokoj” coal mine district under liquidation*, 7th International Mine Water Association Congress, Ustroń 2000.
- [16] SCHOEMAN J., STEYN A., *Investigation into alternative water treatment technologies for the treatment of underground mine water discharged by Grootvlei Proprietary Mines Ltd into the Blesbokspruit in South Africa*, *Desalination*, 2001, Vol. 133, , 13–30.
- [17] TUREK M., *Odsalanie wód powierzchniowych i podziemnych*, *Wodociągi i Kanalizacja*, 2007, No. 4, 42–45.

THE USE OF MEMBRANE TECHNOLOGY IN BRACKISH WATER DESALINATION

Seawater and saline brackish water are being used for municipal and industrial water supplies. The global market of desalination is dominated by membrane techniques – mainly by reverse osmosis. This paper contains basic theory of membrane techniques used for brackish water desalination – reverse osmosis and electro dialysis. In the study there is also included examples of application of the membrane processes in working desalination plants and examples of conceptions of using membrane separation techniques for saline water desalination. Examples has been described in terms of technology and economics.

Ariel MARCHLEWICZ, Urszula GUZIK, Danuta WOJCIESZYŃSKA*

WPLYW DWUWARTOŚCIOWYCH JONÓW KADMU NA DYNAMIKĘ ROZKŁADU IBUPROFENU PRZEZ SZCZEP *BACILLUS* SP. B1(2015b)

Szczep *Bacillus* sp.B1(2015b), wyizolowany z gleby skażonej odpadami poprodukcyjnymi z zakładów chemicznych „Organika-Azot” w Jaworzni, charakteryzuje się zdolnością do degradacji ibuprofenu. Celem badań była ocena wpływu jonów kadmu na szybkość rozkładu ibuprofenu przez szczep B1, gdyż jednym z problemów bioremediacji, jest obecność innych zanieczyszczeń wraz z zanieczyszczeniami farmaceutycznymi, szczególnie metali ciężkich, które nie ulegają biodegradacji. Układy badawcze prowadzone były w pożywce mineralnej z glukozą w stężeniu 1 g/l oraz ibuprofenem w stężeniu 10 g/l. Szczep B1 w układzie kometabolicznym degradował ibuprofen w ciągu 36 godzin. Zastosowanie kadmu w stężeniach 0,15 i 0,32 mM nie wpłynęło na wzrost biomasy, niemniej czas degradacji leku został wydłużony, odpowiednio, do 60 i 69 godzin. Stężenia 0,5 i 1,0 mM kadmu zahamowało wzrost biomasy o 23,15% oraz 35,22% a degradacja leku wyniosła 102 i 174 godziny. Kadm powyżej 1,0 mM powodował flokulację bakterii.

1. WSTĘP

Szeroko pojęta ochrona zdrowia, oprócz hospitalizacji, interwencji lekarskich oraz prewencji chorób obejmuje także gigantyczny rynek farmaceutyczny. Obecnie jego ogromną część stanowią leki dostępne bez recepty (*ang. over-the-counter*), których spożycie nie jest w żaden sposób kontrolowane. Wśród tych leków szczególne miejsce zajmują niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) będące jednymi z najczęściej, a zarazem najchętniej spożywanymi lekami. Najpopularniejszymi NLPZ są ibuprofen, kwas acetylosalicylowy i jego pochodne czy wykazujący głównie działanie przeciwgorączkowe, jednak często zaliczany do NLPZ, paracetamol. Na tle tej zróżnicowanej grupy leków

* Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii, ul. Jagiellońska 28, 40–032 Katowice, amarchlewicz@us.edu.pl.

wyróżnia się ibuprofen. W 2000 roku spożycie ibuprofenu w Polsce wyniosło 58 ton co przekłada się na 290 mln tabletek. W Niemczech spożycie ibuprofenu sięgnęło 300 ton [27]. Jednocześnie lek ten nie jest metabolizowany w organizmie lecz ulega przemianom I i II fazy detoksykacji. Obejmują one oksydację alkilowej części leku do hydroksylowanych lub karboksylowanych pochodnych, takich jak 1-hydroksyibuprofen, 2-hydroksyibuprofen czy *p*-karboksy-2-propionian. Głównym czynnikiem uczestniczącym w tym etapie jest kompleks cytochromu P-450. II faza detoksykacji obejmuje sprzężanie z glukuronianami, tauryną, siarczanami, aminokwasami oraz glutationem. Głównym produktem w reakcjach sprzężania w organizmie człowieka jest glukuronian ibuprofenu stanowiący 87% wszystkich wydalanych form ibuprofenu. Produkty sprzężania metabolitów I fazy pod wpływem mikroorganizmów bytujących w środowisku ulegają stosunkowo łatwej hydrolizie, w wyniku której ibuprofen lub jego pochodna zostaje uwolniona do środowiska. Fakt ten w połączeniu z wyjątkowo dużym spożyciem powoduje, że lek ten jest coraz częściej wykrywany, farmaceutycznym zanieczyszczeniem [3, 8,–10, 16, 35]. Niemniej, mimo rosnącej ilości komunikatów dokumentujących występowanie ibuprofenu w środowisku nie tworzą one spójnej i ciągłej całości poprzez brak uwarunkowań prawnych określających konieczność monitorowania stężeń NLPZ w środowisku.

W wielu krajach lek ten jest także wykrywany w ściekach oczyszczonych oraz w wodach powierzchniowych takich jak jeziora czy rzeki [20, 23, 29, 31, 32, 34–36]. Również w Polsce wykryto obecność ibuprofenu, między innymi w Bałtyku, zlewniach Wisły i Odry, a także jeziorach województwa pomorskiego [6, 26]. Głównymi źródłami zanieczyszczenia ibuprofenem są ścieki komunalne i szpitalne. Obecnie stosowane metody biologicznego oczyszczania ścieków w wielu przypadkach okazują się niewystarczające do całkowitego usunięcia farmaceutyków ze ścieków. Zaobserwowano także wahania stężeń ibuprofenu w zależności od pory roku, w której pobierane były próbki. Zauważalny wzrost ilości farmaceutyków, w tym ibuprofenu, w wodach i ściekach odnotowano w miesiącach jesienno-zimowych. Może być to spowodowane zwiększoną zachorowalnością na grypę i przeziębienie, a przez to intensywniejszym spożyciem NLPZ. Ponadto, niższe temperatury dobowe wpływają na zmniejszenie aktywności metabolicznej mikroorganizmów zaangażowanych w degradację NLPZ [6, 30].

Pomimo dobrze opisanego szlaku jakim przebiega detoksykacja ibuprofenu w organizmie ludzkim, wciąż stosunkowo niewiele wiadomo na temat mikrobiologicznego rozkładu tego leku. Jedyne nieliczne mikroorganizmy wykazują potencjał biodegradacyjny lub biotransformacyjny w stosunku do ibuprofenu. Jedyne do tej pory zaproponowany szlak rozkładu tego leku opisano u bakterii *Sphingomonas* spp. Ibu-2, zdolnej do wykorzystania ibuprofenu jako źródła węgla i energii. Szlak przebiega poprzez tioestryfikację ibuprofenu z udziałem ligazy-CoA, poprzedzającej wprowadzenie tlenu do struktury pierścienia aromatycznego, dzięki enzymowi z klasy dioksygenaz. Wprowadzenie cząsteczki tlenu do pierścienia aromatycznego leku zachodzi z jednoczesnym

usunięciem łańcucha propionowego. W wyniku tych reakcji powstaje główny intermediat – izobutylokatechol, kierowany w dalszych etapach do ekstradiolowego rozczepienia pierścienia [14, 18]. Godnym uwagi jest fakt, iż w przedstawionym szlaku nie występują hydroksylowane czy karboksylowane pochodne, które wykrywano w środowisku wodnym. Stawia to zatem pod znakiem zapytania istotność opisanego szlaku w środowisku naturalnym. Podobnie jak szczep Ibu-2, szczep *Nocardia* sp. NRRL5646 charakteryzował się biotransformacją ibuprofenu do unikalnych metabolitów – ibuprofenolu i octanu ibuprofenolu [5]. W 2013 roku opisano także szczep *Patulibacter* sp. I11 [1] zdolny do biotransformacji ibuprofenu, jednak nie wykazujący wzrostu na leku jako źródle węgla. Drugą grupą mikroorganizmów wykazującą zdolność do biotransformacji ibuprofenu są lignolityczne gatunki grzybów, takie jak *Bjerkandera* sp. R1, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Irpex lacteus* czy *Ganoderma lucidum* [17, 24]. Głównym metabolitem wykrytym w trakcie hodowli tych szczepów były hydroksylowane pochodne ibuprofenu – 1-hydroksyibuprofen, 2-hydroksyibuprofen oraz 1,2-dihydroksyibuprofen. Należą one do jednych z najczęściej wykrywanych metabolitów, zarówno w hodowlach, jak i w środowisku [21, 23, 38]. Produkty te odznaczają się większą toksycznością w stosunku do macierzystego związku [17]. Pojawienie się hydroksylowanych metabolitów w hodowlach grzybów sugerowało zaangażowanie lakaz, peroksydaz bądź systemu cytochromu P-450 w biotransformacji ibuprofenu, nie zostało to jednak udokumentowane doświadczalnie [17].

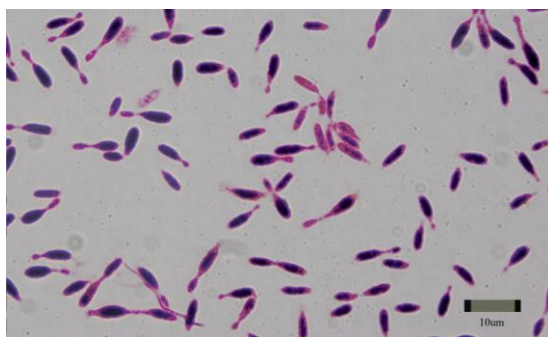
Na wydajność biodegradacji ibuprofenu wpływa wiele czynników środowiskowych. Na uwagę zasługują związki pochodzenia antropogenicznego, w tym metale ciężkie. Stanowią one poważne zagrożenie, wywierając wpływ na mikroorganizmy, rośliny, a także zwierzęta bytujące w zanieczyszczonym środowisku, szczególnie, że nie ulegają biodegradacji i mają zdolność do akumulowania się w tkankach. Część z nich spełnia pewne funkcje biologiczne np. żelazo, cynk czy miedź, stąd w niewielkich stężeniach są konieczne. Pozostałe, takie jak kadm, nie spełniają, żadnej funkcji biologicznej w organizmach i cechują się wysoką toksycznością [33]. Kadm jedynie u niektórych organizmów morskich jak np. okrzemka *Thalassiosira weissflogii* może pełnić funkcje fizjologiczne, prawdopodobnie zastępując cynk w jego niedoborach [28]. W większości przypadków jednak, stanowi poważne zagrożenie. Wykazano między innymi, że jony kadmu mogą wiązać się z enzymami łańcucha oddechowego, powodować stres oksydacyjny czy utrudniać naprawę DNA [2, 13, 19].

2. MATERIAŁY I METODY

Celem badań było określenie wpływu jonów Cd^{2+} na dynamikę rozkładu ibuprofenu przez szczep *Bacillus* sp. B1(2015b). Zanieczyszczenia farmaceutyczne często występują wraz z zanieczyszczeniami innego typu, stąd też istotne jest określenie wpływu innych związków na rozkład ibuprofenu.

2.1. WYKORZYSTANY SZCZEP

Szczep *Bacillus* sp. B1(2015b) (rys. 1) został wyizolowany z gleby skażonej odpadami poprodukcyjnymi pochodzącymi z zakładów chemicznych Organika-Azot w Jaworznie, w wyniku składowania odpadów z produkcji środków ochrony roślin. W 2012 roku na terenie składowania odpadów w dolinie rzeki Wąwolnicy zinventaryzowano ponad 200 tys. ton odpadów, wśród których zidentyfikowano takie jak: dichlorodifenylotrichloroetan (DDT) oraz produkty jego rozpadu – dichlorodifenylodichloroetan (DDE) oraz dichlorodifenylodichloroetylen (DDD), heksacykloheksan (HCH) czy dieldrynę. Występowanie wśród wykrytych zanieczyszczeń związków o budowie aromatycznej (np. DDT) stało się przesłanką do poszukiwań szczepów bakterii zdolnych do metabolizowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Spośród uzyskanych szczepów, *Bacillus* sp. B1(2015b) charakteryzował się najkorzystniejszymi właściwościami podczas kometabolicznego rozkładu NLPZ, w szczególności ibuprofenu. Szczep był przechowywany na agarze odżywczym w 4°C oraz przesiewany w odstępach czterogodniowych.



Rys. 1. Szczep *Bacillus* sp. B1(2015b)

2.2. WARUNKI HODOWLI

Hodowle mikroorganizmów prowadzono w zmodyfikowanym podłożu mineralnym wg Kojima i in. o pH ustalonym na poziomie 7,2 [15]. Hodowle prowadzono

w kolbach szklanych z wytrząsaniem (130 rpm) w temperaturze 30°C. Ibuprofen podano w postaci soli sodowej (Sigma-Aldrich) w stężeniu 10 mg/l. Ibuprofen, zastosowany jako jedyne źródło węgla i energii nie indukował wzrostu mikroorganizmów, stąd w eksperymencie zastosowano glukozę w stężeniu 1 g/l jako substrat wzrostowy. Do inokulacji układów użyto 24-godzinnej hodowli mikroorganizmów w pożywce mineralnej z glukozą. Biomasa bakteryjna została odwirowana oraz dwukrotnie przepłukana sterylną pożywką mineralną w celu oczyszczenia z resztek poprzedniego medium hodowlanego. Następnie zainokulowano układy do uzyskania gęstości optycznej 0,1 przy $\lambda = 600$ nm, co stanowiło 0,053 mg/l mokrej masy komórek. Pożywkę suplementowano jonami Cd^{2+} w postaci CdSO_4 w stężeniach 0,15; 0,32; 0,50; 1,0; 1,5 oraz 2,0 mM. Układy założone zostały w trzech powtórzeniach.

2.3. ANALIZY CHEMICZNE I MIKROBIOLOGICZNE

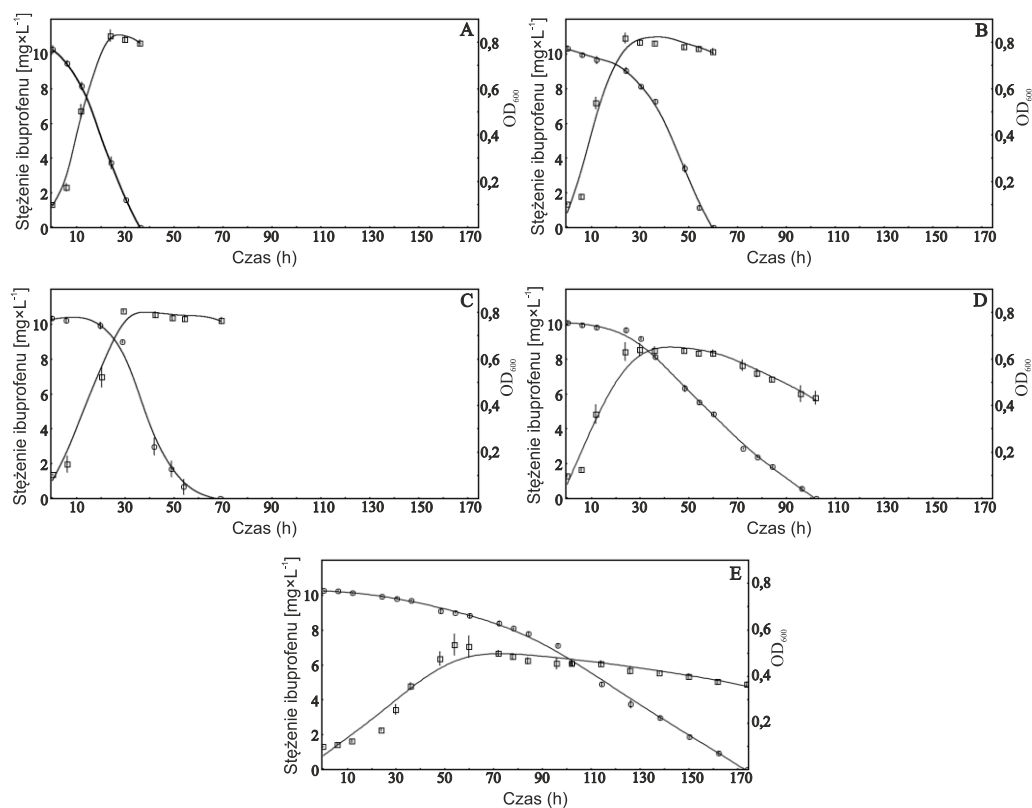
Kontrolę pH w pożywkach przeprowadzono z zastosowaniem pH-metru (Mettler Toledo EL20). Wzrost mikroorganizmów monitorowany był poprzez pomiar spektrofotometryczny gęstości optycznej hodowli przy długości fali 600nm. Stężenie glukozy oznaczono z wykorzystaniem metody antronowej [25], natomiast pomiary koncentracji ibuprofenu wykonywane były przy użyciu techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz i detektorem DAD. Chromatograf zaopatrzony był w kolumnę Ascentis C18 (Sigma-Aldrich), o wymiarach 150mm x 4.6mm i średnicy ziarna równej 5 μm . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitrylu (Sigma-Aldrich) i 1% kwasu octowego (Sigma-Aldrich) w stosunku objętościowym 50:50 i przepływie 1ml/min. Detekcji ibuprofenu dokonywano przy długości fali $\lambda = 230$ nm.

3. WYNIKI I WNIOSKI

3.1. PRZYROST BIOMASY

Układy, w których zastosowano stężenie kadmu wynoszące 1,5 oraz 2,0 mM zaobserwowano flokulację mikroorganizmów po inokulacji. Nie zaobserwowano wzrostu. Układy kontrolne oraz zawierające 0,15–1,0 mM kadmu wykazały zróżnicowany przyrost biomasy oraz szybkość degradacji leku (rys. 2). Średnia, maksymalna gęstość optyczna hodowli kontrolnych wyniosła $0,829 \pm 0,024$ w 24 godzinie (rys. 2A). Kadm w stężeniach 0,15 oraz 0,32 mM nie wpłynął na przyrost biomasy, w obu przypadkach najwyższa gęstość hodowli została osiągnięta po 24 godzinach i wynosiła odpowiednio $0,818 \pm 0,004$ i $0,806 \pm 0,006$ (ryc. 2B, C). Obecność wyższych stężeń kadmu natomiast znacząco wpłynęła na szybkość wzrostu biomasy bakteryjnej. 0,5 mM Cd^{2+} spowodowało zmniejszenie przyrostu biomasy o 23,15% względem kontroli, 1,0 mM natomiast

zahamował wzrost o 35,22% (rys. 2D, E). W stężeniu 1,0 mM zaobserwowano także wydłużenie fazy adaptacyjnej, intensywny wzrost nastąpił dopiero po około 24 godzinach hodowli. Castillo-Zacarias i in. [4] również odnotowali podobny efekt u bakterii *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* i *Pseudomonas aeruginosa*. Podczas fazy adaptacyjnej komórki bakteryjne wykazują wzmożony pobór jonów manganu. Jednocześnie jony kadmu mogą przedostawać się do komórki poprzez system transportu dla magnezu bądź manganu, wpływając negatywnie na kondycję komórki i wydłużając fazę adaptacyjną [12]. Zmniejszenie przyrostu biomasy bakterii pod wpływem jonów kadmu było obserwowane także przez innych autorów [7, 33].



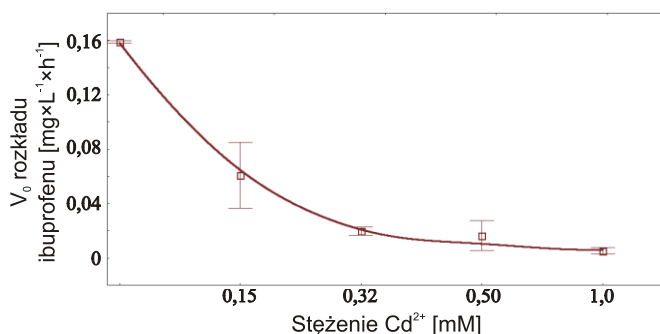
Rys. 2. Rozkład ibuprofenu i przyrost biomasy w układach kometabolicznych z glukozą jako źródłem węgla. (● – stężenie ibuprofenu, □ – gęstość optyczna)

A. Układ kontrolny, B. Cd^{2+} 0,15 mM, C. Cd^{2+} 0,32 mM,

D. Cd^{2+} 0,50 mM, E. Cd^{2+} 1,0 mM

3.2. SZYBKOŚĆ DEGRADACJI IBUPROFENU

W układach odniesienia, niezawierających kadmu, 10 mg/l ibuprofenu zostało zdegradowane w czasie 36 godzin. Początkowa szybkość rozkładu leku była największa i wynosiła $0,159 \pm 0,001$ mg/l·h. Wraz z wzrastającym stężeniem jonów Cd^{2+} szybkość początkowa degradacji oraz całkowity czas metabolizowania leku wydłużał się. Kolejno dla zastosowanych stężeń kadmu: 0,15; 0,32; 0,5 i 1,0 mM szybkość początkowa wynosiła $0,061 \pm 0,024$; $0,020 \pm 0,003$; $0,016 \pm 0,011$ oraz $0,005 \pm 0,002$ mg/l·h (rys. 3). Czas całkowitej degradacji w układach zawierających 0,15 i 0,32 mM kadmu nie różnił się znacząco i wynosił 60 oraz 69 godzin. Natomiast w hodowlach suplementowanych 0,5 i 1,0 mM kadmu znacząco wydłużył się czas całkowitej degradacji leku i wyniósł odpowiednio 102 oraz 174 godziny. Hoffman i in. zaobserwowali negatywny wpływ kadmu na rozkład naftalenu przez szczep *Comamonas testosteroni* [11]. Także Yeom i Yoo [37] przedstawili niekorzystny wpływ jonów metali ciężkich, w tym kadmu, na degradację benzenu i toluenu przez szczep *Alcaligenes xyloxydans* Y234. W trakcie prowadzenia eksperymentu jako intermediat pojawiała się hydroksylowana pochodna ibuprofen- 2-hydroksyibuprofen. Być może obserwowany spadek szybkości degradacji ibuprofen w układach z kadmem wiązał się z jego inhibującym wpływem na monooksygenazę odpowiedzialną za hydroksylację pierścienia [22].



Rys. 3. Szybkość początkowa rozkładu ibuprofenu przez szczep *Bacillus* sp. B1 (2015b) w obecności wybranych stężeń Cd^{2+}

W układach zawierających 0,15; 0,32 mM Cd^{2+} zaobserwowano szybsze zanikanie 1-hydroksyibuprofenu w stosunku do układów kontrolnych, mimo niekorzystnego działania kadmu na szybkość degradacji samego ibuprofenu. Hupert-Kocurek i in. zidentyfikowali 2,3-dioksygenazę katecholową wyizolowaną ze szczepu *Variovorax* sp. 12S wykazującą większą aktywność w obecności jonów kadmu [12]. Zwiększenie aktywności enzymu z klasy dioksygenaz może być jedną z możliwych przyczyn szybszej transformacji powstających pochodnych ibuprofenu. Sytuacja ta nie była obserwowana w wyższych stężeniach jonów Cd^{2+} być może ze względu na występujący efekt toksyczny tego jonu.

4. PODSUMOWANIE

Podsumowując, obecność jonów kadmu znacząco wpływała na spadek szybkości degradacji ibuprofenu przez szczep *Bacillus* sp. B1(2015b), również w układach, w których nie odnotowano inhibicji wzrostu. Zauważalne zwiększenie czasu degradacji leku z jednoczesnym brakiem zamierania mikroorganizmów może być spowodowane oddziaływaniem jonów kadmu na system enzymatyczny zaangażowany w rozkład ibuprofenu. Ponadto szczep B1(2015b) odznacza się znaczną opornością na obecność kadmu. Daje to możliwość potencjalnego wykorzystania szczepu w tworzeniu szczepionek mikrobiologicznych dla oczyszczalni ścieków, również przydomowych, a także w środowiskach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ9/00244.

LITERATURA

- [1] ALMEIDA B., KJELDAL H., LOLAS I., KNUDSEN A.D., CARVALHO G., NIELSEN K.L., BARRETO CRESPO M. T., STENSBALLE A., NIELSEN J. L., *Quantitative proteomic analysis of ibuprofen-degrading Patulibacter sp. strain III*, Biodegradation, 2013, Vol. 24, No. 5, 615–630.
- [2] BANJERDKIJ P., VATTANAVIBOON P., MONGKOLSUK S., *Exposure to cadmium elevates expression of genes in the OxyR and OhrR regulons and induces cross-resistance to peroxide killing treatment in Xanthomonas campestris*, Applied and Environmental Microbiology, 2005, Vol. 71, No. 4, 1843–1849.
- [3] BUSER H.R., POIGER T., MULLER M.D., *Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater*, Environmental Science and Technology, 1999, Vol. 33, No. 15, 2529–2535.
- [4] CASTILLO-ZACARIAS C.J., SUAREZ-HERRERA M.A., GARZA-GONZALEZ M.T., SANCHEZ-GONZALEZ M., LOPEZ-CHUKEN U.J., *Biosorption of metals by phenol-resistant bacteria isolated from contaminated industrial effluents*, African Journal of Microbiology Research 2011, Vol. 5, No. 18, 2627–2631.
- [5] CHEN Y., ROSAZZA J.P.N., *Microbial transformation of ibuprofen by a Nocardia species*, Applied and Environmental Microbiology, 1994, Vol. 60, No. 4, 1292–1296.
- [6] DEBSKA J., KOT-WASIK A., NAMIESNIK J., *Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in water samples using liquid chromatography coupled with diode-array detector and mass spectrometry*, 2005, Journal of Separation Science, Vol. 28, No. 17, 2419–2426.
- [7] DOYLE J.J., MARSHALL R.T., PFANDER W.H., *Effects of cadmium on the growth and uptake of cadmium by microorganisms.*, Journal of Applied Microbiology, 1975, Vol. 29, No. 4, 562–564.
- [8] GUZIK U., HUPERT-KOCUREK K., MAZUR A., *Biotransformacja wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych w środowisku*, Bromalogia i Chemia Toksykologiczna, 2013, Vol. 46, No. 1, 105–112.
- [9] HALLING-SORENSEN B., NIELSEN S.N., LANZKY P.F., INGERSLEV F., HOLTEN LUTZHOFT H.C., *Occurrence, fate and effects of pharmaceuticals substance in the environment – A review*, Chemosphere, 1998, Vol. 36, No. 2, 357–393.

- [10] HEBERER T., *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data*, Toxicology Letters, 2002, Vol. 131, 5–17.
- [11] HOFFMAN D.R., OKON J.L., SANDRIN T.R., *Medium composition affects the degree and pattern of cadmium inhibition of naphthalene biodegradation*, Chemosphere, 2005, Vol. 59, No. 7, 919–927.
- [12] HUPERT-KOCUREK K., SACZYŃSKA A., PIOTROWSKA-SEGET Z., *Cadmium increases catechol 2,3-dioxygenase activity in *Variovorax* sp. 12S, a metal-tolerant and phenol-degrading strain*, Antonie Van Leeuwenhoek, 2013, Vol. 104, No. 5, 845–853.
- [13] JIN Y.A., CLARK A.B., SLEBO R.J., AL-REFAI H., TAYLOR J.A., KUNKEL T.A., RESNIK M.A., GORDENIN D.A., *Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair*, Nature Genetics, 2003, Vol. 34, No. 3, 239–241.
- [14] KAGLE J., PORTER A.W., MURDOCH R.W., RIVERA-CANCEL G., HAY A.G., *Biodegradation of Pharmaceutical and Personal Care Products*, Advances in Applied Microbiology, 2009, Vol. 67, No. 8, 65–108.
- [15] KOJIMA Y., ITADA N., HAYAISHI O., *Metapyrocatechase: a new catechol-cleaving enzyme*, The Journal of Biological Chemistry, 1961, Vol. 236, No. 8, 2223–2228.
- [16] MARCHLEWICZ A., GUZIK U., WOJCIESZYŃSKA D., *Over-the-Counter Monocyclic Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs in Environment—Sources, Risks, Biodegradation*, Water, Air, & Soil Pollution, 2015, Vol. 226, No. 10, 355.
- [17] MARCO-URREA E., PÉREZ-TRUJILLO M., VICENT T., CAMINAL G., *Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor**, Chemosphere, 2009, Vol. 74, No. 6, 765–772.
- [18] MURDOCH R. W., HAY A.G., *Formation of catechols via removal of acid side chains from ibuprofen and related aromatic acids*, Applied and Environmental Microbiology, 2005, Vol. 71, No. 10, 6121–6125.
- [19] NIES D.H., *Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes*, FEMS Microbiology Reviews, 2003, Vol. 27, No. 2–3, 313–339.
- [20] ÖLLERS S., SINGER H.P., FÄSSLER P., MÜLLER S.R., *Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water*, Journal of Chromatography A, 2001, Vol. 911, No. 2, 225–234.
- [21] QUINTANA J., WEISS S., REEMTSMA T., *Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor*, Water Research, 2005, Vol. 39, No. 12, 2654–2664.
- [22] PLEWKA A., PLEWKA D., NOWACZYK G., BRZÓZKA M., KAMIŃSKI M., MONIUSZKO-JAKONIUK J., *Effects of chronic exposure to cadmium on renal cytochrome P450-dependent monooxygenase system in rats*, Archives of Toxicology, 2004, Vol. 79, 194–200.
- [23] ROBERTS P., THOMAS K., *The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment*, Science of the Total Environment, 2006, Vol. 356, No. 1–3, 143–153.
- [24] RODARTE-MORALES A.I., FEJOO G., MOREIRA M.T., LEMA J.M., *Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus *Phanerochaete chrysosporium* in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supply*, Biodegradation, 2012, Vol. 23, No. 1, 145–156.
- [25] ROE J.R., *The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent*, The Journal of Biological Chemistry, 1955, Vol. 212, No. 1, 335–343.
- [26] RZEPA J., *Oznaczenie leków i pestycydów w wodach powierzchniowych*, [w:] Postępy Chromatografii, pod red. B. K. Głoda, Wydawnictwo UPH, Siedlce 2009, 67–77.
- [27] SOSNOWSKA K., STYSZKO-GROCHOWIAK K., GOŁAŚ J., *Leki w środowisku-źródła, przemiany, zagrożenia*, IV Krakowska Konferencja Młodych Uczonych, 2009, 395–404.
- [28] STRASDEIT H., *The First Cadmium-Specific Enzyme*, Angewandte Chemie International Edition in English, 2001, Vol. 40 No. 4, 707–709.

- [29] TERNES T.A., *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and Rivers*, Water Research, 1998, Vol. 32, No. 11, 3245–3260.
- [30] TIXIER C., SINGER H.P., OELLERS S., MÜLLER S.R., *Occurrence and fate of carbamazepan, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and naproxen in surface water*, Environmental Science & Technology, 2003, Vol. 37, No. 6, 1061–1068.
- [31] TOGOLA A., BUDZINSKI H., *Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples*, Journal of Chromatography A, 2008, Vol. 1177, No. 1, 150–158.
- [32] VIENO N.M., TUHKANEN T., KRONBERG L., *Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water*, Environmental Science & Technology, 2005, Vol. 39, No. 21, 8220–8226.
- [33] VIG K., *Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review*, Advances in Environmental Research, 2003, Vol. 8, No. 1, 121–135.
- [34] WEIGEL S., KUHLMANN J., HÜHNERFUSS H., *Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea*, The Science of the Total Environment, 2002, Vol. 295, No. 1–3, 131–141.
- [35] WINKLER M., LAWRENCE J. R., NEU T.R., *Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 13, 3197–3205.
- [36] WINKLER M., LAWRENCE J.R., NEU T.R., *Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 13, 3197–3205.
- [37] YEOM S.H., YOO Y.J., *Overcoming the inhibition effects of metal ions in the degradation of benzene and toluene by *Alcaligenes xylosoxidans* Y234*, Korean Journal of Chemical Engineering, 1997, Vol. 14, No. 3, 204–208.
- [38] ZWIENER C., SEEGER S., GLAUNER T., FRIMMEL F., *Metabolites from the biodegradation of pharmaceutical residues of ibuprofen in biofilm reactors and batch experiments*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2002, Vol. 372, No. 4, 569–575.

INFLUENCE OF DIVALENT CADMIUM IONS ON THE IBUPROFEN DEGRADATION DYNAMICS BY STRAIN *BACILLUS* SP. B1 (2015B)

Progress in the field of medicine and health protection occurs that many light ailments could be cured with use of over-the-counter drugs. Pain, fever or inflammation can be controlled by non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). These drugs are relatively safe, easily available and low priced. Consumption of NSAIDs, such as ibuprofen, is tens or even hundreds of tons per annum. Simultaneously the drug is not metabolized, it is eliminated from the body as an almost unchanged form which makes it regularly detected as environmental pollution. Although, ibuprofen is detected in small amounts in the range of $\mu\text{g/l}$ – mg/l , as a medicine it is modifying the physiological processes. That makes it an extremely dangerous contamination. Unfortunately, little is known about the metabolism of ibuprofen in the environment. So far were described only a few microorganisms capable to biodegrade or biotransform ibuprofen. The most of them are ligninolytic species of fungi. Isolated by researchers from the Department of Biochemistry, strain *Bacillus* sp. B1 (2015b) characterized by the very well ability to degrade ibuprofen. One of the problems of bioremediation is the presence of other contaminants, particularly heavy metals which are not biodegradable. Presented part of the study shows the effect of the presence of cadmium ions on the dynamics of degradation of ibuprofen.

Stanisław Miodoński, Mateusz Muszyński-Huhajło*

OCENA MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA MECHANICZNIE ZAGĘSZCZONEGO OSADU NADMIERNEGO DO ROZRUCHU PROCESU SKRÓCONEJ NITRYFIKACJI. BADANIA WSTĘPNE

Przedstawiono wyniki wstępnych badań mających na celu ocenę przydatności osadu nadmiernego przed oraz po zagęszczaniu mechanicznym w rozruchu procesu skróconej nitryfikacji, prowadzonej na strumieniu odcieków z odwadniania osadów po procesie fermentacji metanowej. W obu strumieniach przeprowadzono szereg testów laboratoryjnych szybkości zużycia azotu amonowego (AUR). Badania wykazały znaczne różnice w dynamice szybkości ubytku azotu amonowego na korzyść osadu niezagęszczonego. Podjęto próbę wskazania przyczyn znacznej dysproporcji wartości AUR pomiędzy badanymi strumieniami osadów. Określono wytyczne dalszych badań.

1. WSTĘP

1.1. WPROWADZENIE

Przeprowadzenie sprawnego rozruchu procesów biologicznych prowadzonych w układach korzystających z technologii osadu czynnego jest niezwykle cenną umiejętnością podczas długotrwałej eksploatacji rzeczywistych obiektów, ale również może okazać się przydatne w przypadku prowadzenia badań naukowych.

Niespodziewane awarie elementów infrastruktury znajdującej się wewnątrz komór osadu czynnego (KOCz), czy też planowane remonty, są w wielu przypadkach (np. awarie systemu dystrybucji powietrza) związane z koniecznością opróżniania całego reaktora, a co za tym idzie, jego ponownym rozruchem po zakończeniu prac napraw-

* Katedra Technologii Oczyszczania Wody i Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej, Plac Grunwaldzki 9, 50-377 Wrocław, stanislaw.miodonski@pwr.edu.pl, mateusz.muszynski-huhajlo@pwr.edu.pl.

czych. Takie działania niewątpliwie zaburzają pracę całej oczyszczalni ścieków, powodując zwiększenie obciążenia pozostałych sprawnych bloków biologicznych i mogą prowadzić do niekorzystnych zmian w jakości ścieków oczyszczonych, dlatego też niezwykle istotne jest maksymalne ograniczenie czasu trwania takich niekorzystnych zjawisk. Również eksploatacja procesów biologicznych oczyszczania ścieków o specyficznym składzie (np. ścieki przemysłowe, odcieki ze składowisk) może nastęrczać kłopotów ze stabilnością zaawansowanych procesów, często wielostopniowych lub bazujących na grupach bakterii wrażliwych na toksyczne działanie niektórych zanieczyszczeń (np. proces ANAMMOX) [6]. W takich sytuacjach tym bardziej cenna wydaje się umiejętność przeprowadzenia sprawnego rozruchu technologicznego i przywrócenia właściwej pracy układu.

W przypadku prowadzenia doświadczalnych prac badawczych w skali większej niż laboratoryjna, ryzyko załamania się stabilności procesu podczas badania wpływu różnych czynników na analizowany proces jest duże i wiąże się bardzo często z koniecznością ponownego uruchamiania procesu osadu czynnego w instalacji badawczej. Nie bez znaczenia pozostaje również fakt, że ogromna ilość mikroorganizmów, składająca się na bogatą biocenozę osadu czynnego, posiada zdolności adaptacyjne zarówno pod kątem struktury gatunkowej (wypieranie poszczególnych gatunków), jak również duże zdolności adaptacji poszczególnych szczepów bakterii [12], stąd w wielu przypadkach zasadne wydaje się korzystanie z osadu stanowiącego swoistą grupę kontrolną na każdym etapie prowadzonego doświadczenia. Wiąże się to nie tylko z dodatkowymi kosztami wynikającymi z konieczności zdobycia „świeżego” osadu do dalszych badań, lecz przede wszystkim z często kłopotliwym wydłużeniem czasu prowadzonych doświadczeń. Na tym polu rozruch procesu osadu czynnego jest nieodłączną czynnością i może być powtarzany o wiele częściej niż na rzeczywistych obiektach, jednak w znacznie mniejszej skali.

1.2. CEL PRACY

Poniższa praca opisuje doświadczenia zdobyte podczas prac doświadczalnych w skali pilotowej, wymuszających konieczność kilkukrotnego rozruchu procesów związanych z biologicznym usuwaniem azotu ze strumienia odcieków z odwadniania osadów przefermentowanych. W dalszej części artykułu zaprezentowano wyniki badań wstępnych, mających na celu określenie przydatności mechanicznie zagęszczonego osadu nadmiernego z dużej oczyszczalni ścieków komunalnych (powyżej 500 000 RLM) do celów związanych ze wspomnianą tematyką. Z uwagi na wstępny charakter opisywanych badań, sformułowano również szereg hipotez, które wymagają weryfikacji w dalszych badaniach.

2. ŹRÓDŁO OSADU CZYNNEGO – KLUCZOWY ELEMENT ROZRUCHU

Prowadzenie rozruchu nowo wybudowanego obiektu wiąże się z koniecznością dostarczenia inokulum osadu czynnego z innej oczyszczalni, często oddalanej o wiele kilometrów. O ile w przypadku badań w skali laboratoryjnej kubatura instalacji nie wymusza zaangażowania specjalnych środków transportu, tak w kwestii rozruchu bloku biologicznego na rzeczywistym obiekcie w pełnej skali technicznej operacja dostarczenia inokulum staje się złożonym i kosztownym przedsięwzięciem logistycznym, które musi być odpowiednio przygotowane. Jak podaje Davies [2], osad stanowiący zaszczerp nowego bloku biologicznego powinien pochodzić ze stabilnie pracującego obiektu, oczyszczającego ścieki o maksymalnie zbliżonej charakterystyce do ścieków trafiających do układu, w którym prowadzony jest rozruch. Z ekonomicznego punktu widzenia, najrozsądniejsze wydaje się dostarczenie osadu o jak najwyższej zawartości zawieszin w celu obniżenia objętości, jaką należy przetransportować. Autor podaje również, że prawdopodobnie najkorzystniejszy do omawianych celów jest osad nadmierny po zagęszczaczu flotacyjnym, wykazujący zawartość suchej masy na poziomie 5–6%. Oczywiście osad może być pozyskiwany z innych źródeł, przykładowo ze strumienia osadu nadmiernego – w takim przypadku należy liczyć się z zawartością suchej masy na poziomie 0,8–1,3%, a co za tym idzie 75 razy większą objętością, którą należy przetransportować tym samym wyraźnie zwiększając koszty transportu. Aby lepiej zobrazować rozmiar wielkości z jakimi mamy do czynienia, wystarczy przytoczyć, że do rozruchu komunalnej oczyszczalni ścieków o przepływie dobowym 100 000 m³/d wymagał dostarczenia około 600 ton s.m. osadu czynnego [4]. W literaturze opisana jest możliwość przeprowadzenia rozruchu w oparciu o osad usuwany w osadnikach wstępnych [13], jednak taka metodyka odnosi się wyłącznie do rozruchu technologicznego rzeczywistych obiektów i nie znajdzie ona zastosowania w prowadzeniu badań naukowych z powodu braku powtarzalności charakterystyki uzyskiwanego w ten sposób osadu.

W odróżnieniu od rozruchu procesu osadu czynnego mającego służyć oczyszczaniu ścieków komunalnych, dużo większą wrażliwością wykazują się układy przeznaczone do oczyszczania odcieków pochodzących z odwadniania osadów przefermentowanych [11]. Wynika to ze specyficznego charakteru cieczy nadosadowej, która zawiera przede wszystkim wysokie stężenia azotu amonowego zazwyczaj w przedziale 500–1500 mg N-NH₄/dm³, co przekłada się nawet na 15–25% całego dobowego ładunku azotu dopływającego do oczyszczalni [3, 5, 9, 10]. Tak duże stężenia, mogą prowadzić do akumulacji azotu amonowego, co w połączeniu z alkalicznym odczynem może powodować wzrost stężenia wolnego amoniaku i tym samym inhibicji nityfikantów II, a przy dalszej akumulacji również nityfikantów I fazy [1]. Te i inne czynniki zwiększają ryzyko niepowodzenia rozruchu, co w efekcie musi przekładać się na właściwe przygotowanie procedury rozruchowej w oparciu o powolne, stopniowe zwiększanie obciążenia wraz ze wzbogaceniem biocenozy osadu czynnego w mikroorganizmy gatunków zdolnych prowadzić proces nityfikacji [7].

W obliczu takiego zagrożenia, kluczowa dla początkowych etapów rozruchu może być aktywność dostarczonego osadu, mającego stanowić zaczątek biocenozy uruchamianego układu. W pracy przeanalizowano aspekt wykorzystania zagęszczonego osadu nadmiernego w kontekście wykorzystania go jako źródła biomasy dla rozruchu procesu skróconej nityfikacji mającej stanowić element dwustopniowej deamonifikacji prowadzonej w reaktorze SBR w skali pilotowej. Celem określenia przydatności tego źródła osadu na etapie badań wstępnych wykonano szereg wsadowych testów szybkości zużycia azotu amonowego w reaktorach laboratoryjnych, zarówno dla osadu zagęszczonego, jak i dla osadu nadmiernego. Odnotowane wyniki stanowiły cenną wskazówkę w kwestii wykorzystania określonego typu osadu podczas późniejszego rozruchu skróconej nityfikacji.

3. CHARAKTERYSTYKA BADANEGO OSADU NADMIERNEGO

W opisywanych badaniach zdecydowano się na porównanie dwóch źródeł osadu mającego stanowić materiał rozruchowy procesu skróconej nityfikacji, różniącego się stopniem zagęszczenia, a mianowicie osadu nadmiernego pobieranego bezpośrednio z pompowni nadawy na zagęszczacze taśmowe oraz osadu po kondycjonowaniu flokulantem organicznym i zagęszczaniu na zagęszczaczu taśmowym. W tabeli 1 przedstawiono charakterystyczne wartości stężenia zawiesin ogólnych oraz udziału frakcji mineralnej i organicznej (dla osadu nadmiernego z KOCz), a także zawartość suchej masy oraz udziału frakcji mineralnej i organicznej (dla osadu zagęszczonego z KOCz). Wykorzystanie różnych oznaczeń wynika z braku możliwości oznaczenia stężenia zawiesin w osadzie zagęszczonym.

Tabela 1. Charakterystyka osadu wykorzystanego podczas badań

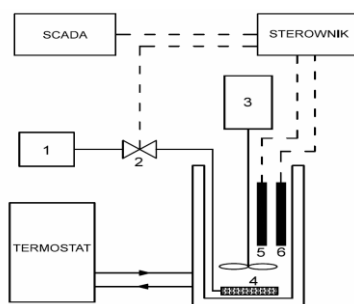
	Osad nadmierny z KOCz			Osad zagęszczony			Stopień zagęszczenia
	Zawiesiny ogólne	Zawiesiny organiczne	Zawiesiny mineralne	Sucha masa	Sucha masa organiczna	Sucha masa mineralna	
	kg/m ³	%	%	kg/m ³	%	%	
Średnia	9,0	71,6	28,4	65,7	71,2%	28,8	7,5
Minimum	6,0	70,6	29,4	48,3	70,8%	29,2	4,2
Maksimum	12,0	72,5	27,5	83,4	71,8%	28,2	13,0
Liczba wyników	25	6	6	25	6	6	23

Parametry osadu nadmiernego z KOCz oraz osadu zagęszczonego były monitorowane przez (40 dób). Bezpośrednie obserwacje wskazują brak zmienności udziału masy

organicznej w okresie badań. Również udział masy organicznej przed i po zagęszczeniu praktycznie nie uległ zmianie. Analiza danych szczegółowych wykazała brak korelacji pomiędzy suchą masą osadu nadmiernego i zagęszczonego. Efekty zagęszczania były niezależne od stężenia zawiesin osadu nadmiernego. Bezpośrednio z powyższego wynika zróżnicowanie stopnia zagęszczenia wyrażonego jako stosunek suchej masy osadu zagęszczonego do stężenia zawiesin osadu nadmiernego. Wartość ta zmieniała się w zakresie 4,2 do 13 przy średniej na poziomie 7,5.

4. MATERIAŁY I METODY

W związku z planowanym rozruchem procesu skróconej nityfikacji uznano, że kluczowym kryterium wyboru źródła pozyskiwania osadu będzie jego potencjał nityfikacyjny. W tym celu wykorzystano zmodyfikowaną na własne cele procedurę testów szybkości zużycia azotu amonowego [8] (AUR, ang. *Ammonia uptake rate*), jako pomocną w szacowaniu szybkości nityfikacji w warunkach odpowiadających docelowemu wykorzystaniu badanego osadu. Osad przed zagęszczeniem pobierano z króćca pompy nadawy osadu nadmiernego na zagęszczacze mechaniczne, natomiast osad zagęszczony pobierano z końca taśmy zagęszczacza mechanicznego taśmowego. Pobierany osad zagęszczony był rozcieńczany wodą wodociągową w celu uzyskania finalnego stężenia około 1% s.m. natomiast osadu przed zagęszczaniem mechanicznym nie rozcieńczano. Testy dla obu rodzajów osadu wykonywano równolegle, po 1–2 testy dziennie dla każdego z nich. Źródłem azotu amonowego do testów wsadowych były odcieki z pras taśmowych odwadniających osad prefermentowany z tej samej oczyszczalni, a więc docelowe ścieki na których miał być przeprowadzony planowany rozruch.



Rys. 1. Schemat stanowiska laboratoryjnego: 1. dmuchawa laboratoryjna, 2. zawór regulacyjny, 3. mieszadło mechaniczne, 4. dyfuzor napowietrzający, 5. sonda tlenu rozpuszczonego, 6. elektroda pH/REDOX

Testy prowadzono na dwóch identycznych stanowiskach laboratoryjnych wyposażonych w reaktory o pojemności 4 dm³ wyposażonych w mieszadła mechaniczne zapewniające odpowiednie wymieszanie zawartości, a także dyfuzor pozwalający na ich napowietrzanie. Reaktory posiadały płaszcz wodny, którego podłączenie do ultratermostatu pozwala na stabilizację temperatury na pożądanym poziomie. Za kontrolę parametrów procesowych podczas trwania doświadczeń była odpowiedzialna aparatura pomiarowa, która zapewniała monitoring *on-line* następujących parametrów: stężenie tlenu rozpuszczonego (pomiar optyczny sondą Endress-Hauser); pH, REDOX oraz temperatura (zintegrowana sonda Endress-Hauser). Dane z tych urządzeń gromadzone były w systemie SCADA (ang. *Supervisory Control And Data Acquisition*), pozwalając na ich odczyt z minimalnym interwałem równym 1 sekundę. Schemat stanowiska badawczego przedstawiono na rysunku 1.

Oznaczenia chemiczne wykonywane na potrzeby doświadczeń były realizowane głównie przy wykorzystaniu testów kuwetowych Hach z użyciem spektrofotometru DR3900 firmy Hach. W ramach prezentowanych doświadczeń wykorzystywano następujące rodzaje fotometrycznych testów: azot amonowy LCK303 (2–47 mg N-NH₄/dm³) oraz LCK302 (47–130 mg N-NH₄/dm³), azot azotanowy(V) LCK340 (5–35 mg N-NO₃/dm³), azot azotanowy (III) LCK342 (0,6–6 mg N-NO₂/dm³). Oznaczenia zawiesin w badanych ściekach wykonywano metodą wagową bezpośrednią, natomiast oznaczenia suchej pozostałości według PN-78/C-04541.

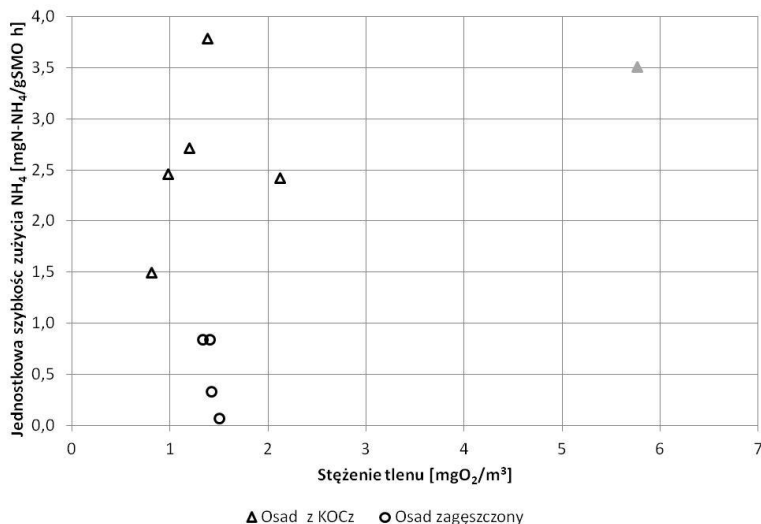
5. WYNIKI

W ramach badań wstępnych poprzedzających rozruch procesu skróconej nityfikacji w pilotowym reaktorze SBR wykonano łącznie 10 testów AUR dla osadu po i przed zagęszczeniem mechanicznym. W tabeli 2 zestawiono szybkości zużycia azotu amonowego w kolejnych testach. Cztery z testów były wykonywane równolegle, kiedy osad nadmierny oraz osad zagęszczony pobierany był w zbliżonym czasie. Pomimo tego stwierdzono znaczne zróżnicowanie w jednostkowych wartościach szybkości nityfikacji. Średnie wartości były prawie 3 krotnie niższe w osadzie zagęszczonym względem osadu z KOCz. Na obecnym etapie wiedzy trudno jest zidentyfikować przyczynę zaobserwowanego zjawiska. Pomiar szybkości nityfikacji realizowano w tym samym czasie z osadu pobieranego bezpośrednio przed zagęszczarką, a następnie bezpośrednio po zagęszczarce. Czas przebywania osadu w urządzeniu zagęszczającym (z uwzględnieniem flokulatora) to nie więcej niż kilka minut. Jedną z możliwych przyczyn niskiej szybkości nityfikacji osadu zagęszczonego upatrywano w zróżnicowanym stężeniu tlenu rozpuszczonego podczas wyznaczania szybkości nityfikacji. Na rysunku 2 przedstawiono zależności jednostkowej szybkości nityfikacji od średniego stężenia tlenu rozpuszczonego podczas testu. Większość testów realizowana była w przedziale stężenia tlenu rozpuszczonego pomiędzy

1–2 mg O₂/m³. W tym przedziale osad nadmierny z KOCz miał wyraźnie wyższą szybkość nityfikacji od osadu zagęszczonego. Odnotowano jeden wyniki dla osadu z KOCz przy bardzo wysokim stężeniu tlenu (5,8 mg O₂/m³), jednak był on zbliżony do pozostałych wyników. Również jeden wyniki szybkości nityfikacji osadu zagęszczonego był dość wysoki i na poziomie wartości dla osadu nadmiernego, jednak średnie stężenie tlenu podczas testu było tylko nieznacznie wyższe niż w pozostałych testach (2,6 mg O₂/m³).

Tabela 2. Szybkość zużycia azotu amonowego w kolejnych testach

Numer testu	Osad z KOCz			Osad zagęszczony		
	Stężenie osadu podczas testu		Szybkość zużycia N-NH ₄	Stężenie osadu podczas testu		Szybkość zużycia N-NH ₄
	kg s. m./m ³	kg s. mo./m ³	mg N-NH ₄ /gSMO·h	kg s. m./m ³	kg s. mo./m ³	mg N-NH ₄ /gSMO·h
1	11,6	8,6	2,72	7,3	5,2	0,84
2	-	-	-	7,1	5,0	3,12
3	8,4	6,2	3,79	9,5	6,8	0,85
4	10,3	7,6	2,42	-	-	-
5	11,6	8,6	1,50	12,7	9,0	0,33
6	10,5	7,8	2,46	15,7	11,2	0,07
7	7,9	5,8	3,50	-	-	-
Średnia			2,73			1,04
Minimum			1,50			0,07
Maksimum			3,79			3,12



Rys. 2. Uzyskane wartości AUR dla osadu nadmiernego przed i po zagęszczaniu mechanicznym przy różnych stężeniach tlenu rozpuszczonego podczas testów

6. PODSUMOWANIE: POTENCJALNE PRZYCZYNY ZAOBSEROWANEGO ZJAWISKA I KIERUNKI DALSZYCH DZIAŁAŃ

W toku rozważań i analiz wyszczególniono potencjalne możliwe przyczyny tak znacznego zróżnicowania szybkości nityfikacji w osadzie nadmiernym oraz zagęszczonym.

- **Zbyt niskie stężenie tlenu podczas testu AUR.** Badania wykazały istotne różnice w szybkości zużycia azotu amonowego przez osad przed i po zagęszczeniu, pomimo zbliżonych wartości stężenia tlenu rozpuszczonego podczas testów. Wynika z tego, że zbyt niskie stężenie tlenu nie może być jedyną przyczyną takiego zróżnicowania pod względem aktywności biomasy autotroficznej, niemniej jednak ten wątek powinien być poddany dalszym analizom.
- **Wpływ polielektrolitu na transfer tlenu.** Osad zagęszczony kondycjonowany był polielektrolitem w celu lepszego oddzielenia wody wolnej i poprawy efektów zagęszczania. Można przypuszczać, że dzięki flokulacyjnym działaniom polielektrolitu osad zagęszczony tworzył znacznie większe kłaczkę o bardziej zwartej strukturze, co dodatkowo mogło pogarszać transfer tlenu na skutek zwiększenia oporów dyfuzji. Stosunkowo niskie stężenie tlenu podczas testów skutkowało niewielkim gradientem stężeń wewnątrz kłaczkę i w fazie ciekłej, co przy zwiększonych oporach dyfuzji mogło zmniejszać jego dostępność dla nityfikantów znajdujących się wewnątrz struktury kłaczków osadu.
- **Toksyczne działanie polielektrolitu.** Hipoteza uznana za najmniej prawdopodobną. W tym przypadku przyczyną jest toksyczne działanie polielektrolitu na wrażliwe mikroorganizmy jakimi są bakterie autotroficzne. Na tym etapie należy tę przyczynę wstępnie odrzucić. Analiza kart charakterystyk wybranych polielektrolitów wskazuje na brak znaczącej toksyczności tych środków chemicznych.

Głównym celem dalszych badań będzie potwierdzenie różnicy aktywności osadu przed i po zagęszczeniu pod kątem szybkości zużycia azotu amonowego. W przypadku potwierdzenia postawionej hipotezy niezbędne jest zidentyfikowanie czynnika decydującego o tak znacznym obniżeniu wartości uzyskiwanych w testach AUR w osadzie po zagęszczeniu mechanicznym kondycjonowanym polielektrolitem. W tym celu przewiduje się serię długotrwałych testów mających na celu sprawdzenie zależności wartości AUR od stężenia tlenu w szerokim spektrum wartości, jak również od dawki polielektrolitu. W przypadku uzyskania potwierdzenia wpływu stężenia tlenu i/lub dawki polielektrolitu przewiduje się określenie wpływu na pozostałe organizmy osadu czynnego poprzez wykonanie testów poboru tlenu (OUR) i szybkości zużycia azotu azotanowego(V) (NUR - ang. *nitrate uptake rate*).

Przeprowadzone badania wstępne wykazały znaczące różnice w aktywności osadu czynnego przed i po zagęszczeniu, co znacząco wpłynęło wybór źródła osadu mającego stanowić inokulum dla procesu skróconej nityfikacji podczas prowadzonych badań. Obserwacje te sugerują, że pomimo oczywistych korzyści płynących z możliwości

transportowania mniejszej objętości wsadu początkowego do uruchamianego procesu niezbędne jest każdorazowe weryfikowanie aktywności wybranego do tego celu osadu czynnego pod kątem pożądanych parametrów.

LITERATURA

- [1] ANTHONISEN A.C., LOEHR R.C., PRAKASAM T.B.S., SRINATH E.G., *Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid*, Journal (Water Pollution Control Federation), 1976, Vol. 48, No. 5, 835–852.
- [2] DAVIS G.M., *Startup and initial operation procedures for activated sludge facilities for treatment of a complex wastewater*, [w:] Engineering Technical Reports Collection, Purdue University 1976, 953–964.
- [3] HILL C.B., EAKALAK K., *A Comparative Study of Immobilized Nitrifying and Co-Immobilized Nitrifying and Denitrifying Bacteria for Ammonia Removal from Sludge Digester Supernatant*, Water Air and Soil Pollution, 2008, Vol. 195, 23–33.
- [4] HUANG P., QIN S., ZHAO Q., GUO X., *Quick start-up of Mudanjiang wastewater treatment plant and factors influencing phosphorous removal*, Global Nest Journal, 2006, Vol. 8, 1–8.
- [5] JARDIN N., THOLE D., WETT B., *Treatment of sludge return liquors: Experiences from the operation of full-scale plants*, Proceedings of the Water Environment Federation, 2006, Vol. 7, 5237–5255.
- [6] JIN R.C., YANG G.F., YU J.J., ZHENG P., *The inhibition of the Anammox process: a review*, Chemical Engineering Journal, 2012, Vol. 197, 67–79.
- [7] JUBANY I., CARRERA J., LAFUENTE J., BAEZA J. A., *Start-up of a nitrification system with automatic control to treat highly concentrated ammonium wastewater: experimental results and modeling*, Chemical Engineering Journal, 2008, Vol. 144, No. 3, 407–419.
- [8] KRISTENSEN G.H., JORGENSEN P.E., HENZE M., *Characterization of functional microorganism groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR*, Water Science and Technology, 1992, Vol. 25, No. 6, 43–57
- [9] THORND AHL U., *Nitrogen Removal from Returned Liquors*, Water and Environment Journal, 2007, Vol. 7, No. 5, 492–496
- [10] VAN DONGEN U., JETTEN M. S. M., VAN LOOSDRECHT M. C. M., *The SHARON®-Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater*, Water Science and Technology, 2001, Vol. 44, 153–160.
- [11] VAN HULLE S., VAN DEN BROECK S., MAERTENS J., VILLEZ K., DONCKELS B., SCHELSTRAETE G., VOLCKE E., VANROLLEGHEM P., *Construction, start-up and operation of a continuously aerated laboratory-scale SHARON reactor in view of coupling with an Anammox reactor*, WATER SA, 2005, Vol. 31, No. 3, 327–334.
- [12] VILLAVERDE S., FDZ-POLANCO F., GARCIA P.A., *Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters. Start-up influence*, Water Research, 2000, Vol. 34, No. 2, 602–610.
- [13] WAN Q., PENG D., WANG S., SUN H., *Quick start-up activated sludge system by inoculating primary sludge*, International Symposium Water Resource and Environmental Protection, 2011, Vol. 2, 1554–1557.

POTENTIAL OF MECHANICALLY THICKENED WASTE SLUDGE USE FOR SHORTCUT NITRIFICATION PROCESS START-UP. PRELIMINARY TESTS

Paper presents results of preliminary tests, conducted for, evaluation of waste activated sludge after mechanical thickening use for shortcut nitrification process start-up. According to higher popularity of reject water treatment processes a proper start-up methodology is required. Very important element of start-up is selection of activated sludge inoculum source. A series of ammonia uptake rate test (AUR) were conducted simultaneously in waste sludge before and after a belt thickener. Authors achieved surprising results due to huge disproportion in AUR rate between tested sludge sources. In all test, AUR rate was higher in sludge before thickening, 2,5 times higher than sludge after thickening. Authors discussed potential reasons that may cause this phenomenon and proposed further experimental methodology to verify stated hypothesis. Based on preliminary test results, non-thickened waste sludge was chosen for shortcut nitrification start-up, which was successfully performed later (data not attached).

Stanisław MIODOŃSKI, Mateusz MUSZYŃSKI-HUHAJŁO*

ZMIENNOŚĆ SZYBKOŚCI ZUŻYCIA AZOTU AMONOWEGO (AUR) PODCZAS ROZRUCHU PROCESU SKRÓCONEJ NITRYFIKACJI

W artykule zaprezentowano możliwości wykorzystania sond jonoselektywnych azotu amonowego oraz azotu azotanowego(V) do rozruchu procesu skróconej nityfikacji, prowadzonej na strumieniu odcieków z odwadniania osadów po procesie fermentacji metanowej. Sondę jonoselektywną wykorzystano do wyznaczania szybkości ubytku azotu amonowego. Przed przystąpieniem do rozruchu wykonano wstępną walidację wartości AUR (ang. *Ammonia Uptake Rate*), wyznaczonej za pomocą sondy jonoselektywnej. Rozruch procesu skróconej nityfikacji przeprowadzono z powodzeniem osiągając wysoki poziom akumulacji azotanów(III) w ciągu 6 dni przy pełnym utlenieniu azotu amonowego. Uzyskane wyniki wskazywały jednoznacznie na wywołanie selektywnej inhibicji bakterii prowadzących II fazę nityfikacji (NOB – ang. *Nitrite Oxidizing Bacteria*), zapewniając jednocześnie warunki dla rozwoju nityfikantów I fazy (AOB – ang. *Ammonia Oxidizing Bacteria*). Kontrola parametru AUR pozwoliła na uzyskanie stabilnych i wysokich wydajności wykorzystania azotu amonowego po około 2 tygodniach prowadzenia rozruchu, a także stanowiła informację na temat potencjalnych możliwości dalszego zwiększania obciążenia reaktora.

1. WSTĘP

Potencjalne zaostrenie wymagań dotyczących jakości ścieków oczyszczonych związane ze zmianami prawnymi lub rosnące obciążenie ładunkiem zanieczyszczeń poszczególnych oczyszczalni ścieków sprawia, że coraz większą rolę przykłada się do rozwoju zaawansowanych technologii usuwania biogenów, stanowiących korzystną inwestycyjnie alternatywę dla rozbudowy bloków biologicznych, a co za tym idzie całego obiektu. W przypadku biologicznego usuwania azotu ze ścieków wspomniane trendy

* Katedra Technologii Oczyszczania Wody i Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej, Plac Grunwaldzki 9, 50-377 Wrocław, stanislaw.miodonski@pwr.edu.pl, mateusz.muszynski-huhajlo@pwr.edu.pl.

uzasadniają wzmożone zainteresowanie procesami pozwalającymi zmniejszyć obciążenie głównego ciągu technologicznego ładunkiem azotu, poprzez procesy pozwalające na zagospodarowanie bocznego strumienia odcieków pochodzących z procesów fermentacji metanowej, które (na przykładzie danych z Niemieckich oczyszczalni ścieków) mogą wносить od 15–25% dobowego ładunku N dla całego obiektu [4]. Spośród szeregu technologii pozwalających na usuwanie azotu ze strumienia odcieków, na największą uwagę zasługuje proces ANAMMOX, pozwalający na autotroficzne utlenienie azotu amonowego przy wykorzystaniu azotanów(III) [9]. Aby proces mógł przebiegać prawidłowo, niezbędne jest dostarczenie ścieków o odpowiedniej proporcji azotu amonowego i azotanów(III) [12], a co za tym idzie, efektywne prowadzenie procesu skróconej nitryfikacji, czy to w oddzielnym reaktorze (deamonifikacja dwustopniowa) czy też w tym samym zbiorniku, w którym znajdują się mikroorganizmy prowadzące proces ANAMMOX (deamonifikacja jednostopniowa) [1]. Wraz z rosnącą ilością tego typu instalacji konieczne jest posiadanie szerokiej wiedzy z zakresu rozruchu wspomnianych procesów, zwłaszcza w formie łatwej do przyswojenia dla osób bezpośrednio odpowiedzialnych za obsługę rzeczywistych instalacji. Zdolność do ponownego szybkiego rozruchu instalacji oraz umiejętność radzenia sobie w przypadku sytuacji awaryjnych są niezwykle istotne biorąc pod uwagę specyficzny skład oczyszczanych odcieków, a także wrażliwość bakterii autotroficznych prowadzących deamonifikację, na różne czynniki środowiskowe [6].

1.1. URZĄDZENIA POMIAROWE A ROZWÓJ TECHNOLOGII OCZYSZCZANIA ŚCIEKÓW

Rozwój zaawansowanych i coraz bardziej złożonych technologii nie byłby możliwy bez rozwoju na rynku produktów pozwalających mierzyć i gromadzić informacje dotyczące prowadzonego procesu w postaci szeregu zaawansowanych czujników, systemów pomiarowych i algorytmów sterowania. Koniec lat 90. XX w. przyniósł wyraźną zmianę w sposobie kontroli procesów w oczyszczalniach ścieków – wraz z pojawieniem się dopracowanych czujników szeregu wielkości fizycznych i chemicznych, a także wcześniejsze rozpowszechnienie się systemów SCADA (ang. *Supervisory Control and Data Acquisition*) stało się możliwe mierzenie w czasie rzeczywistym praktycznie wszystkich możliwych parametrów na każdym etapie oczyszczania ścieków [13]. Dla optymalizacji usuwania azotu z odcieków niezwykłą przydatność wykazały sondy jonoselektywne (ISE, ang. *Ion-Selective Electrodes*) zapewniające rzeczywisty pomiar stężenia azotu amonowego i azotanów(V) oraz dopracowane sondy tlenu rozpuszczonego, które w połączeniu z algorytmami sterowania pozwoliły na optymalizację napowietrzania i tym samym ograniczenie energochłonności nitryfikacji [2, 5]. Bezpośredni pomiar stężenia związków azotu pozwala w sposób precyzyjny monitorować i kontrolować przebieg biologicznych przemian azotu, co jest powszechnie wykorzystywane zarówno do sterowania w głównym ciągu technologicznym oczyszczalni (np. odmienne strategie napowietrzania w zależności od profilu stężenia $N-NH_4$ [11]), jak również

w technologiach wykorzystywanych do oczyszczania bocznego strumienia odcieków (np. kontrola długości fazy tlenowej w celu uzyskania odpowiedniego stosunku $N-NH_4/N-NO_2$ do procesu Anammox). Oczywistą korzyścią płynącą ze stosowania czujników *in-situ* jest szybkie pozyskiwanie informacji na temat stężeń substancji istotnych dla prawidłowego działania instalacji oraz ich automatyczne gromadzenie. Mierniki *ex-situ* wymagają instalacji do poboru próbek oraz bardzo często wymagają jej przygotowania (zwykle filtracji) przed dokonaniem pomiaru, co zwiększa poziom złożoności instalacji pomiarowej i wydłuża czas od poboru próbki do uzyskania informacji. Specyfika obu metod wykonywania pomiarów sprawia, że pod kątem kosztów obsługi i konserwacji czujniki *in-situ* są korzystniejsze finansowo, wymagają jednak regularnej kalibracji oraz weryfikacji ich wskazań [7, 14].

1.2. CEL PRACY

Celem pracy jest wyznaczenie zmienności szybkości zużycia azotu amonowego (AUR, ang. *Ammonia Uptake Rate*) podczas rozruchu procesu skróconej nityfikacji w reaktorze SBR w skali półtechnicznej wykorzystywanej jako pierwszy stopień deamonifikacji prowadzonej na strumieniu odcieków pochodzących z odwadniania osadów przefermentowanych rzeczywistego obiektu. Wartości AUR wyznaczano na podstawie zmienności stężenia azotu amonowego, mierzonego przy użyciu sond jonoselektywnych, w celu wykazania przydatności czujników *on-line* na etapie rozruchu wspomnianego procesu, jak również podczas występowania problemów z eksploatacją reaktora.

2. MATERIAŁY I METODY

Opisywane doświadczenia prowadzono w instalacji pilotowej wyposażonej w 4 stanowiska badawcze w postaci reaktorów SBR wraz z osprzętem. W jednym z reaktorów przeprowadzono rozruch procesu skróconej nityfikacji na strumieniu odcieków z odwadniania osadów po fermentacji metanowej, którego celem jest nitytacja dostarczonego ładunku azotu amonowego, a powstałe na tym etapie odcieki bogate w azotany(III) stanowiły materiał do przygotowywania odcieków (po zmieszaniu z odciekami surowymi w odpowiedniej proporcji) na cele procesu Anammox prowadzonego w sąsiednim reaktorze (dane nie zamieszczone).

2.1. STANOWISKO BADAWCZE – REAKTOR SBR

Reaktor SBR, w którym prowadzono rozruch, ma kształt prostopadłościennego zbiornika o objętości czynnej 150 dm³. Na kompletny reaktor, poza zbiornikiem, składa się również osprzęt w postaci elementów wykonawczych i kontrolnych (rysunek 1):

- elementy wykonawcze:

mieszadło mechaniczne o wale pionowym, układ napowietrzania (dmuchawa, elektryczny zawór upustowy, talerzowy dyfuzor membranowy), grzałka elektryczna, pompa odcieków surowych, pompa odcieków oczyszczonych, pompa osadu nadmiernego, pompa dozująca roztwór NaOH (połączona ze zbiornikiem roztworu NaOH),

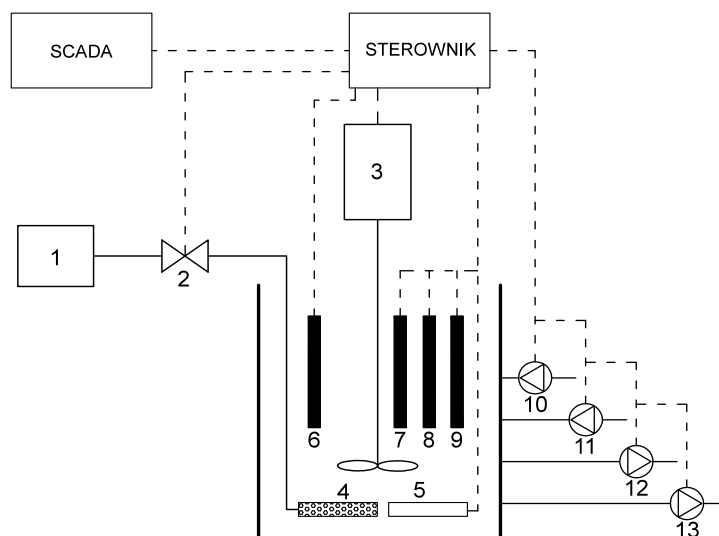
- elementy pomiarowe:

hydrostatyczna sonda poziomu, sonda tlenu rozpuszczonego (optyczna sonda Endress Hauser), sonda pH/REDOX (zintegrowana sonda Endress Hauser z pomiarem temperatury), rotametr (przepływ powietrza), czujnik temperatury (w sondzie pH/REDOX), sonda jonoselektywna N-NH₄ i N-NO₃ (AN-ISE firmy Hach).

Za kontrolę nad elementami wykonawczymi układów do kontroli pH oraz stężenia tlenu rozpuszczonego odpowiadały regulatory PID. Napełnianiem/dekantacją reaktora sterował algorytm opierający się na pomiarach poziomu zawartości reaktora. Cykle pracy reaktorów skonstruowano w oparciu o predefiniowane przez użytkownika interwały czasowe pomiędzy poszczególnymi fazami cyklu, na które składały się: napełnianie, reakcja (mieszanie i napowietrzanie), sedymentacja oraz dekantacja. Osad nadmierny pobierano pod koniec fazy reakcji jako mieszaninę osadu czynnego i ścieków. Wszystkie dane gromadzone są poprzez system SCADA (ang. *Supervisory Control And Data Acquisition*) z minimalnym interwałem 1 s.

2.2. JONOSELEKTYWNA SONDA N-NH₄ I N-NO₃ (AN-ISE HACH)

Ze względu na istotną rolę w prowadzonych badaniach, autorzy zdecydowali się przybliżyć charakterystykę wykorzystywanego urządzenia. Stanowisko badawcze jest wyposażone w pojedynczą sondę jonoselektywną do ciągłego pomiaru stężenia N-NH₄ i N-NO₃ w ściekach. Prowadzony pomiar ma charakter potencjometryczny i bazuje na elektrodach jonoselektywnych (ISE).



Rys. 1. Schemat stanowiska laboratoryjnego, 1 – dmuchawa powietrza, 2 – zawór regulacyjny, 3 – mieszadło mechaniczne, 4 – dyfuzor napowietrzający, 5 – grzałka, 6- sonda NH₄/NO₃, 7 – sonda tlenu rozpuszczonego, 8 – sonda pH/REDOX, 9 – sonda hydrostatyczna poziomu, 10 – pompa odcieków surowych, 11 – pompa roztworu NaOH (korekta pH), 12 – pompa osadu nadmiernego, 13 – pompa odcieków oczyszczonych

Tabela 1. Dane techniczne sondy N-NH₄ i N-NO₃ [3]

Parametr	Wartość	Uwagi
Zakres pomiarowy	0–1000 mg/dm ³	N-NH ₄ , N-NO ₃ , K ⁺ , CL ⁻
Dokładność	± 5% + 0,2 mg/dm ³	% mierzonej wartości
Czas odpowiedzi	< 3 min	-
Zakres pH	5–9	-
Temperatura próbki	2–40°C	-

Głowica sondy wyposażona jest w 4 elektrody pomiarowe oraz elektrodę referencyjną, którą jest elektroda dyferencyjna pH. Potasowa elektroda ISE jest stosowana do korekty wskazań stężenia azotu amonowego pod względem obecności jonów potasowych, natomiast chlorkowa elektroda ISE stosowana jest do korekty stężenia azotanów pod względem obecności jonów chlorkowych (rysunek 2). Czystość elektrod zapewniana jest poprzez układ sprężonego powietrza, który okresowo przedmuchiwa głowicę pomiarową sondy usuwając nagromadzone zanieczyszczenia. Ponadto sonda była czyszczona ręcznie raz w tygodniu. Zgodnie z zaleceniami producenta, okresowo wykonywano jednopunktową kalibrację matrycy dla wszystkich parametrów – decyzję o kalibracji podejmowano na podstawie codziennej weryfikacji wskazań sondy przy

użyciu metody referencyjnej (test kuwetowy – metoda z błękitem indofenolowym). Tabela 1 prezentuje wybrane parametry czujnika podawane przez producenta [3].

2.3. METODYKA WYKORZYSTANYCH OZNACZEŃ CHEMICZNYCH

Aby potwierdzić przydatność pomiaru za pomocą sondy jonoselektywnej do wyznaczenia wartości AUR, wykonano test AUR, który przeprowadzono w reaktorze, w którym zamontowano sondę w warunkach eksploatacyjnych typowych dla prowadzonego procesu. Była to zmodyfikowana na własne cele procedura przedstawiona w [8]. Źródłem azotu amonowego do testu były rzeczywiste odcieki z pras taśmowych odwadniających osad przefermentowany, które stanowiły źródło zasilania reaktora przez cały analizowany w pracy okres.

Oznaczenia chemiczne wykonywane na potrzeby doświadczeń były realizowane przy wykorzystaniu testów kuwetowych i spektrofotometru DR3900 firmy Hach. W ramach prezentowanych doświadczeń wykorzystywano następujące typy fotometrycznych testów: azot amonowy LCK303 (2–47 mg N-NH₄/dm³) oraz LCK302 (47–130 mg N-NH₄/dm³), azot azotanowy(V) LCK340 (5–35 mg N-NO₃/dm³), azot azotanowy(III) LCK342 (0,6–6 mg N-NO₂/dm³).

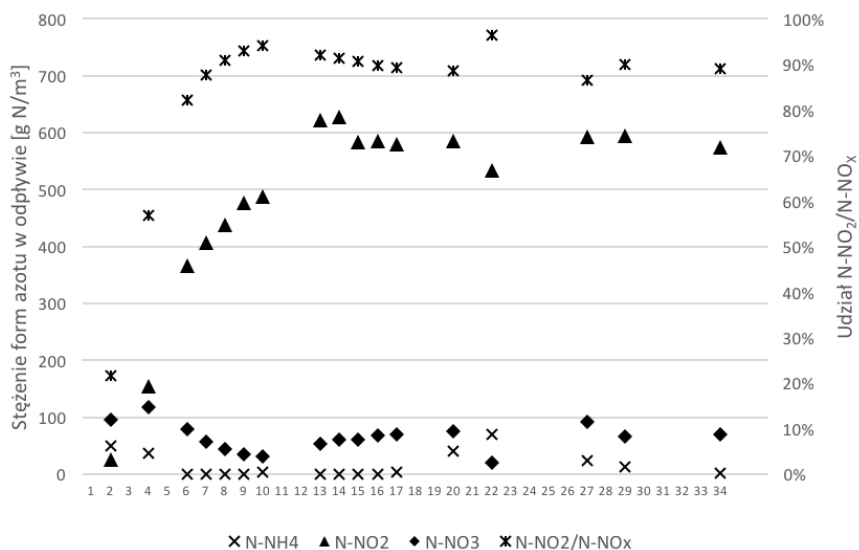
3. WYNIKI

3.1. ROZRUCH SKRÓCONEJ NITRYFIKACJI

Dane, na podstawie których obliczono wartości AUR, zbierano podczas rozruchu procesu skróconej nitryfikacji. Inokulum procesu był osad nadmierny pochodzący z komunalnej oczyszczalni ścieków o RLM > 500 000 mieszkańców równoważnych. Efekt selektywnej inhibicji II fazy nitryfikacji osiągnięto poprzez właściwie kontrolowanie wartości wybranych parametrów, takich jak niski wiek osadu, wysoka temperatura, alkaliczny odczyn skutkujący wysokim stężeniem wolnego amoniaku oraz niskie stężenie tlenu. Szerszy opis mechanizmów inhibicji na bazie doniesień literaturowych przedstawiono w [10].

Warunki eksploatacyjne utrzymywane podczas rozruchu pozwoliły osiągnąć wyraźną inhibicję bakterii NOB (prowadzących II fazę nitryfikacji), na co wskazywała wyraźna akumulacja azotu azotanowego(III) w odciekach oczyszczonych (od 6 doby utrzymywała się wyraźnie powyżej 80% ogółu utlenionych form azotu). W odpływie z reaktora nie odnotowywano istotnych ilości azotu amonowego, poza niewielkimi problemami natury technicznej, które zakłóciły pracę reaktora w okolicach 24 doby eksperymentu. W trakcie prowadzenia eksperymentu następowało sukcesywne zwiększanie

obciążenia reaktora z około $0,2 \text{ kg N-NH}_4/\text{m}^3 \text{ d}$ w ciągu pierwszego tygodnia do poziomu około $0,4\text{--}0,5 \text{ kg N-NH}_4/\text{m}^3 \text{ d}$ po 18. dniu prowadzonego doświadczenia. W czasie prowadzonego rozruchu reaktor pracował na ogół stabilnie (problemy jedynie od 20. do 24. doby), a założone cele procedury rozruchowej procesu skróconej nityfikacji zostały osiągnięte: osiągnięto wyraźną akumulację azotu azotanowego(III) oraz praktycznie pełne utlenienie azotu amonowego. Parametry odcieków oczyszczonych w opisywanym okresie przedstawiono na rysunku 2.



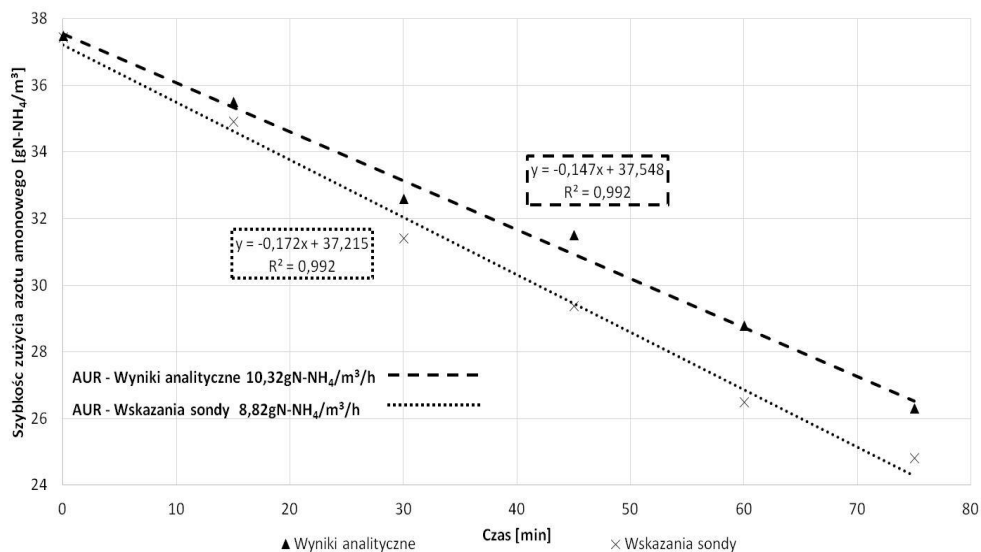
Rys. 2. Stężenia form azotu oraz poziom akumulacji azotanów(III) w odpływie z reaktora podczas rozruchu

3.2. WALIDACJA WSKAZAŃ SONDY – TEST AUR

Pierwszym etapem było wyznaczenie początkowej szybkości zużycia azotu amonowego osadu wykorzystanego do rozruchu. Powyższe działanie miało na celu uzyskanie dwóch efektów: kolejności wyznaczenia początkowych parametrów obciążenia reaktora, jak również weryfikację wskazań sondy jonoselektywnej. Na rysunku 3 przedstawiono zestawienie szybkości uzyskanej podczas testu AUR wykonywanego metodą analityczną oraz na podstawie wskazań sondy.

Pomimo kalibracji udało się uzyskać jedynie zbliżone wyniki, jednak rozbieżność poniżej 15% uznano za akceptowalną do zastosowań inżynierskich. W dalszej części rozruchu AUR kontrolowany był jedynie za pomocą sondy jonoselektywnej.

Faktyczny rozruch, rozumiany jako zmiana parametrów osadu w reaktorze od wartości początkowych do stabilnych wartości końcowych, trwał około 10–12 dób. W tym czasie odnotowano sukcesywny i znaczący wzrost szybkości nityfikacji I fazy (na co jednoznacznie wskazywał wzrost wartości AUR) przy jednoczesnym niewielkim spadku nityfikacji II fazy (rozumianej jako NPR – ang. *Nitrate Production Rate*). Rysunek 4 przedstawia zmienność czasową wartości AUR i NPR.

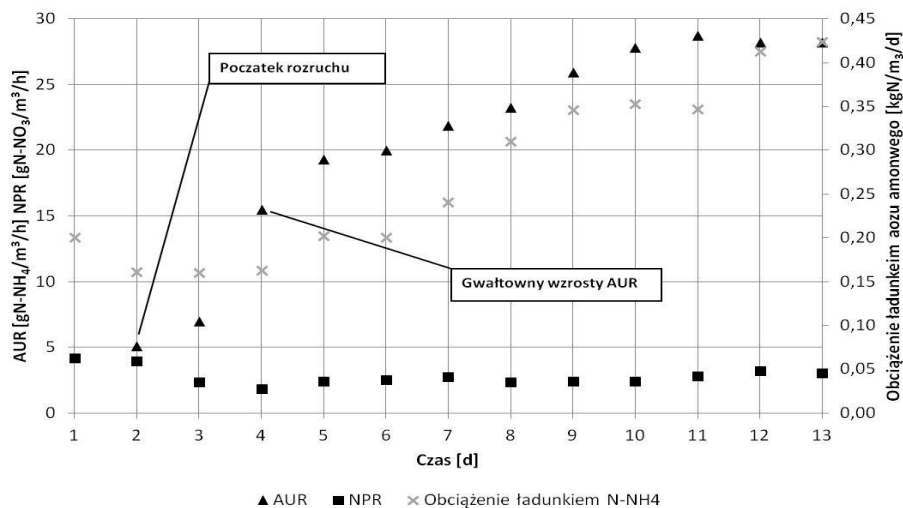


Rys. 3. Stężenie azotu amonowego podczas pomiaru AUR w celu walidacji wskazań sondy

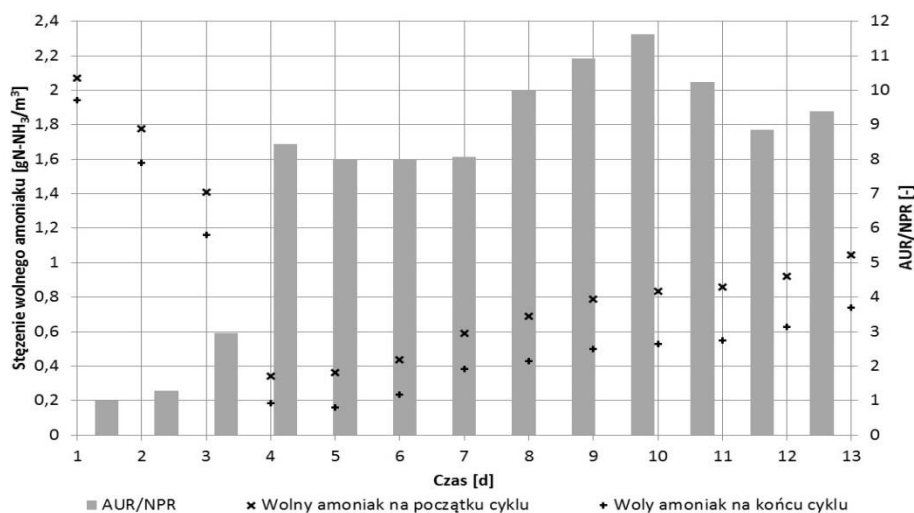
Dobę po rozpoczęciu rozruchu różnica pomiędzy wartościami AUR i NPR była zauważalna i w kolejnych dniach powiększała się. W 4 dobie zaobserwowano gwałtowny wzrost AUR, który postępował sukcesywnie do 10 doby eksperymentu, po której rozpoczęła się stabilizacja.

Gwałtowna zmiana dynamiki zużycia azotu amonowego (4. doba badań) przełożyła się na drastyczne obniżenie stężenia azotu amonowego i dalej - również na obniżenie stężenia wolnego amoniaku (FA, ang. *Free Ammonia*), co nie pozostało bez wpływu na dalszy rozruch procesu. Na rysunku 5 przedstawiono zmianę stosunku szybkości I oraz II fazy nityfikacji (rozumianej jako stosunek AUR/NPR) na tle stężenia wolnego amoniaku w reaktorze. Jak widać, w początkowych dobach stężenie wolnego amoniaku było stosunkowo wysokie i przekraczało próg inhibicji dla bakterii NOB. Znaczne przyspieszenie procesu (tj. I. fazy nityfikacji), bez odpowiednio radykalnego zwiększenia obciążenia reaktora, spowodowało gwałtowny spadek stężenia FA do poziomu, przy którym inhibicja nityfikantów II fazy była wyraźnie słabsza. W kolejnych dniach podjęto decyzję o zwiększeniu obciążenia reaktora, niemniej jednak stosunek szybkości I. i II

fazy nityfikacji pozostawał na zbliżonym poziomie (około 8). Wraz ze wzrostem stężenia wolnego amoniaku do poziomu około $0,6\text{--}0,7\text{ g N-NH}_3/\text{m}^3$ nastąpiła zmiana stosunku AUR/NPR (w wyniku rosnącego udziału bakterii AOB), osiągając w najwyższym punkcie wartość ponad 11 razy większą, niż wzrost stężenia azotu azotanowego(V) powstałego na skutek aktywności bakterii NOB.



Rys. 4. Wartości AUR oraz NPR wg wskazań sondy jonoselektywnej



Rys. 5. Stężenie wolnego amoniaku na początku i pod koniec pojedynczego cyklu pracy SBR (OŚ główna), stosunek AUR/NPR (oś pomocnicza)

4. DYSKUSJA I PODSUMOWANIE

Na podstawie analizy danych można stwierdzić, że przyjęta strategia pozwala na uruchomienie kompletnego procesu częściowej nityfikacji w czasie nie przekraczającym dwóch tygodni. Zaobserwowana akumulacja azotu azotanowego (III) świadczy o znacznym wzroście udziału nityfikantów I fazy w biocenozie osadu czynnego obecnego w reaktorze. Niewielkie stężenia azotu azotanowego(V) wskazują, że przyjęte parametry eksploatacyjne zapewniły wyraźną inhibicję bakterii NOB.

Przeprowadzona walidacja sondy jonoselektywnej wykazała niewielkie rozbieżności względem wyników analitycznych skutkujących zaniżeniem rzeczywistej wartości AUR o około 15%. Rozbieżność ta jest efektem wybranej metody kalibracji matrycy sondy. Kalibracje wykonywano metodą jednopunktową, która charakteryzuje się wysoką dokładnością wskazań w bezpośrednim sąsiedztwie wartości na którą skalibrowano miernik. W takim przypadku błąd wskazań rośnie wraz ze wzrostem różnicy pomiędzy wartością mierzoną, a wartością kalibracyjną (zależność widoczna na rysunku 3). Alternatywą dla przyjętej metodologii może być kalibracja dwupunktowa, która powinna zapewnić stałą wartość błędu w szerszym zakresie mierzonych wartości, a co za tym idzie większą dokładność przy wyznaczaniu wskaźników takich, jak AUR. Wynika to z faktu, że tego typu parametry bazują na zmienności w czasie i nie wymagają pomiaru rzeczywistej wartości z dużą dokładnością.

Na podstawie wskazań sondy jonoselektywnej udało się z powodzeniem wyznaczać szybkość ubytku azotu amonowego oraz przyrostu azotu azotanowego(V). Określenie zmienności powyższych wartości w czasie pozwala na sprawne kontrolowanie procesu skróconej nityfikacji, jak również wyznaczanie zmienności obciążenia reaktora ładunkiem azotu amonowego w kolejnych dobach rozruchu. Rozważanym kierunkiem dalszych badań będzie próba optymalizacji czasu rozruchu oraz eksploatacji reaktora do procesu częściowej nityfikacji w oparciu o dynamiczne wyznaczanie obciążenia ładunkiem azotu amonowego na podstawie zmiany wartości AUR.

LITERATURA

- [1] ALI M., OKABE S., *Anammox-based technologies for nitrogen removal: advances in process start-up and remaining issues*, Chemosphere, 2015, Vol. 141, 144–153.
- [2] ÅMAND L., OLSSON G., CARLSSON B., *Aeration control – a review*, Water Science and Technology, 2013, Vol. 67, No. 11, 2374–2398.
- [3] AN-ISE sc: *Kombinowana sonda do pomiaru zawartości amonu i azotanów*, broszura informacyjna firmy Hach (<http://pl.hach.com/asset-get.download.jsa?id=25593616575>, dostęp 1.02.2016).
- [4] JARDIN N., THÖLE D., WETT B., *Treatment of sludge return liquors: experiences from the operation of full-scale plants*, Proceedings of the Water Environment Federation, 2006, Vol. 7, 5237–5255.
- [5] JENKINS, D., WANNER, J., *Activated sludge: 100 years and counting*, IWA Publishing, 2014.

- [6] JIN, R.C., *The inhibition of the Anammox process: a review*, Chemical Engineering Journal, 2012, Vol. 197, 67–79.
- [7] KAELIN D., EUGSTER J., ROTTERMANN K., BANNINGER C., SIEGRIST H., *Potential of in-situ sensors with ion-selective electrodes for aeration control at wastewater treatment plants*, Water Science and Technology, 2008, Vol. 58, No. 3, 629.
- [8] KRISTENSEN G.H., JORGENSEN P.E., HENZE M., *Characterization of functional microorganism groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR*, Water Science and Technology, 1992, Vol. 25, No. 6, 43–57.
- [9] LACKNERS., *Full-scale partial nitrification/anammox experiences—an application survey*, Water Research, 2014, Vol. 55, 292–303.
- [10] MUSZYŃSKI-HUHAJŁO M., *Częściowa nitryfikacja jako istotny element nowoczesnych metod usuwania azotu ze ścieków*, [w:] Interdyscyplinarne Zagadnienia w Inżynierii i Ochronie Środowiska. Tom 5, praca zbiorowa pod red. J. Wiśniewskiego, M. Kutylowskiej, A. Trusz-Zdybek, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 2015, 254–263.
- [11] SIEGRISTH., RIEGER L., FUX C., WEHRLI M., *Improvement of nitrogen removal at WWTP Zurich Werdhoezli after connection of WWTP Zurich-Glatt*, Water Science and Technology, 2004, Vol. 50, No.7, 35–43.
- [12] STROUS M., KUENEN J.G., JETTEN M.S.M., *Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation*, Applied and Environmental Microbiology, 1999, Vol. 65, No. 7, 3248.
- [13] TSAGARAKIS K.P., STAMATELATOU K., *Sewage Treatment Plants: Economic Evaluation of Innovative Technologies for Energy Efficiency*, International Water Assn, 2015.
- [14] WINKLER S., RIEGER L., SARACEVIC E., PRESSL A., GRUBER, G., *Application of ion-sensitive sensors in water quality monitoring*, Water Science and Technology, 2004, Vol. 50, No.11, 105–114.

AMMONIA UPTAKE RATE (AUR) VARIABILITY DURING A NITRITATION PROCESS START-UP

Nitrification process start-up in a pilot-scale SBR reactor treating real reject water from sludge dewatering was successfully accomplished. AUR (ammonia uptake rate) and NPR (nitrate production rate) values were calculated during the start-up phase based on ammonia nitrogen and nitrate nitrogen concentration changes measured with an ion-selective electrode (ISE) sensor. Results have shown that a significant AUR rate improvement was observed during first 10 days of plant operation. Process conditions such as: short SRT (solids retention time), low dissolved oxygen level and high free ammonia concentrations provided an effective inhibition of nitrite oxidizing bacteria which was confirmed by low NPR rates, which were significantly lower than AUR rates. Collected data confirmed that ISE sensors could be an important element of start-up and operation methodology for biological N-removal processes.

Lidia NIEKRAŚ*

UDZIAŁ GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* SP. W ROZKŁADZIE BIODEGRADOWALNYCH OPAKOWAŃ FOLIOWYCH

W przeprowadzonym doświadczeniu badano możliwość udziału grzybów z rodzaju *Trichoderma* w procesie rozkładania biodegradowalnych opakowań foliowych. W tym celu, w szalkach Petriego, na odpowiednio zróżnicowanych pożywkach, umieszczono niewielkie fragmenty pociętych worków, których kompostowalność potwierdzona była przez producenta odpowiednim certyfikatem. Do tak przygotowanych 10 próbek wprowadzono inokulum grzyba *Trichoderma* sp. i obserwowano jego wzrost i rozwój. Zauważono, że niezależnie od składu pożywki rozrastająca się grzybnia *Trichoderma* sp. nie tylko nie traktuje worka jako potencjalnego źródła węgla, ale wyraźnie go unika. Wyniki te sugerują niezdolność *Trichoderma* sp. do aktywnego uczestniczenia w procesie kompostowania biodegradowalnych worków foliowych albo brak deklarowanej przez producenta biodegradowalności samego worka.

1. WPROWADZENIE

W grudniu 2008 roku Polska ratyfikowała unijną dyrektywę o odpadach, której główną idą jest tworzenie środków prawnych promujących zasadę „społeczeństwa recyklingu” zmierzającego w swych działaniach do redukcji produkcji odpadów i ponownego ich użycia [17]. W związku z tym w polskich gminach od kilku lat wprowadza się liczne zmiany dotyczące składowania i odbierania odpadów komunalnych oraz gospodarowania nimi. Zjawisko to, nazywane również kolokwialnie „rewolucją śmieciową”, poza wymiernym zyskiem, wynikającym m.in. z powtórnego wykorzystania posegregowanych śmieci, odgrywa także kluczową rolę w podnoszeniu świadomości ekologicznej konsumentów.

* Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, ul Kominka 6a, 45-032 Opole, lniekras@wp.pl.

Unijna dyrektywa o odpadach zawiera szczegółowe regulacje dotyczące zasad postępowania z określonymi kategoriami odpadów, w tym również z bioodpadami, o których wiadomo, że stanowią szczególne zagrożenie dla środowiska [7, 17]. W dyrektywie nr 1999/31WE wyznaczono w tej kwestii szczegółowy cel – zobowiązanie Polski i innych krajów unijnych do sukcesywnego obniżania odprowadzania odpadów łatwo degradowanych na składowiska o 25% do 2010, następnie o 50% do 2013 i 65% do 2020 r. w stosunku do poziomu masy odpadowej wytworzonej w 1995 r. [13]. Osiągnięcie takiego spadku wydaje się trudne. Jeśli jednak w większości gospodarstw domowych prowadzona będzie selektywna zbiórki bioodpadów, a następnie odpady te będą składowane w przydomowym lub domowym kompostowniku do czasu uzyskania sfermentowanej biomasy, realizacja założonego w dyrektywie poziomu wydaje się możliwa.

1.1. OPAKOWANIA BIODEGRADOWALNE W DOMOWYM KOMPOSTOWNIKU

Od pewnego czasu można zakupić na rynku plastikowe pudła przeznaczone na kompostownik. Są one dostępne w różnej wielkości i charakteryzuje je obecność licznych otworów, niezbędnych do właściwego przewietrzania zgromadzonej wewnątrz przyzmy. Wyłożenie folią pojemnika od wewnątrz powoduje, że składowanie w nim m.in. bioodpadów kuchennych, takich jak obierki, torebki od herbaty czy skorupki jaj, wydaje się higieniczne. Worek uniemożliwia wypłynięcie potencjalnych odcieków, zaś ażurowa konstrukcja zapewnia odpowiedni dopływ tlenu i minimalizuje wydzielanie do pomieszczenia przykrego zapachu. Obserwacje ilości zanieczyszczeń z bioodpadów, w zależności od wielkości zastosowanego biopojemnika, dowodzą tymczasem, że zamiana biopojemnika z większego na mniejszy wpływa korzystnie na zmniejszenie ilości bioodpadów odprowadzanych na składowiska [8]. W jednym z powiatów niemieckich ograniczenie udziału tych zanieczyszczeń w następstwie zmiany pojemnika z objętości 1100 l na 240 l spowodowało spadek ilości odprowadzanych na składowiska bioodpadów z poziomu 5,8 % do 2,7% [12].

Dostępne w sprzedaży worki służące do wykładania wnętrza kompostownika to według deklaracji producentów worki biodegradowalne. Wykorzystywanie ich do tego celu wydaje się jak najbardziej słuszne, ponieważ wykonanie ich z tworzyw opartych m.in. na skrobi, kwasie polimlekowym, celulozie czy ligninie powinno skutkować szybkim ich rozkładem pod wpływem czynników fizycznych i biologicznych występujących w środowisku kompostownika [6, 8].

Rozkład biodegradowalnych opakowań odbywa się w dwóch etapach: w pierwszym materiał powinien stracić swoją wytrzymałość fizyczną i ulec fragmentacji, a w drugim odpowiednie mikroorganizmy, metabolizując pozostałe cząsteczki, powinny doprowadzić do zjawiska mineralizacji (procesu przetwarzania materii organicznej na formy nieorganiczne) [4]. Produktem końcowym takiej biodegradacji powinna być biomasa, CO₂ i woda [4, 8]. Należy tu jednak zwrócić uwagę na fakt, iż

warunki i czas trwania procesu biodegradacji nie są określone, w przeciwieństwie do procesu kompostowania. Dla niego zarówno jedno, jak i drugie odgrywa istotną rolę [6]. Stąd też tworzywa kompostowalne są jednocześnie biodegradowalne, ale już tworzywa biodegradowalne nie zawsze będą kompostowalne. Aby dany materiał został poddany procesowi kompostowania, musi spełniać wymogi normy BS-EN 13432, w której m.in. czas przeznaczony na rozpad materiału to 12 tygodni, zaś okres na proces mineralizacji to 6 miesięcy [6]. Świadome operowanie pojęciami kompostowalność i biodegradowalność ma zasadnicze znaczenie dla sposobu utylizacji odpadów, których bezpieczne usuwanie ma bezpośredni wpływ na środowisko naturalne.

Dlatego też ważnym wydaje się ustalenie, czy worki na śmieci, deklarowane przez producenta jako biodegradowalne i wykorzystywane jako „wyściółka” w domowym kompostowniku, są de facto kompostowalne czy tylko biodegradowalne. Czy podatność ich na ten proces ogranicza się tylko do rozkładu w przemysłowym reaktorze? Istnieje bowiem zasadnicza różnica między domowym a przemysłowym kompostowaniem [6] i wyroby ulegające rozkładowi w przemysłowym reaktorze najprawdopodobniej nigdy nie ulegną rozkładowi w domowym czy przydomowym kompostowniku, wobec czego osiągnięcie założonego w dyrektywie poziomu wydaje się niemożliwe.

1.2. UDZIAŁ GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* SP. W PROCESIE KOMPOSTOWANIA

Spośród mikroorganizmów uczestniczących w procesie kompostowania wymienia się grzyby z rodzaju *Trichoderma* [2, 9, 16, 17]. Cechą, która spowodowała, że organizmy te mają zastosowanie jako mikrobiologiczne preparaty optymalizujące proces kompostowania, jest ich zdolność do produkcji licznych enzymów [2, 17, 19]. Prowadzone na przestrzeni kilkudziesięciu lat badania wykazały, że grzyby te produkują takie enzymy jak: proteazy, fosfatazy, celulazy, ksylanaza, lipazy oraz amylazy, [2, 15], pektynazy czy hemicelulazy [16]. Zespół Bari N. M, prowadzący w 2007 roku badania nad oceną liczebności i efektywności wybranych gatunków mikroorganizmów w procesie degradacji materii organicznej pochodzącej z odpadów kuchennych, wykazał, że *T. harzianum* jest tym gatunkiem, którego obecność najmocniej wpłynęła na ubytek kompostowanej biomasy [1]. Z kolei w innym doświadczeniu udowodniono skuteczność *Trichoderma* sp. w ograniczaniu rozwoju patogenów glebowych, co znalazło zastosowanie w produkcji komercyjnych biopreparatów w uprawach polowych [9, 17]. Również w trakcie realizacji projektu badawczego: Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych, opracowano kilka technologii zastosowania tych grzybów w produkcji rolniczej i wytwarzaniu kompostu [16, 17].

1.3. CEL BADAŃ

Celem badań była wstępna weryfikacja hipotezy zakładającej, że worki biodegradowalne, zgodnie z deklaracją producenta, ulegną rozkładowi do dwutlenku węgla i biomasy w ciągu ok. 45–60 dni. Badania przeprowadzono z udziałem grzybów z rodzaju *Trichoderma*.

2. MATERIAŁY I METODY

Wstępną ocenę udziału grzybów z rodzaju *Trichoderma* sp. w rozkładzie opakowań biodegradowalnych przeprowadzono z wykorzystaniem worków firmy BioBag. Worki te, na podstawie opinii producenta, są wolne od polietylenu i zgodnie z normą EN 13432:2002, powinny rozkładać się do dwutlenku węgla i biomasy w ciągu ok. 45–60 dni [20].

Tabela 1. Skład podłoży użytych w badaniu możliwości utylizowania worków BioBag przez *Trichoderma* sp.

Nr próbki	Skład procentowy podłoży [% obj.]				
	pożywka PDA [%]	sól fizjologiczna [%]	pepton [%]	dotatkowa woda [%]	worki
1. (kontrola A)	100	-	-	-	-
2. (kontrola B)	80	20	-	-	-
3. (kontrola C)	50	25	25	-	-
4.	100	-	-	-	tak
5.	50	-	-	50	tak
6.	40	10	-	50	tak
7.	25	12,5	12,5	50	tak
8.	-	25	25	50	tak
9.	-	50	-	50	tak
10.	-	-	-	100	tak

Podstawą składu podłoży próbek badawczych była sproszkowana żywka PDA (BioCorp) używana zgodnie z zaleceniem producenta. W zależności od wariantu doświadczenia żywkę wzbogacono o sól fizjologiczną, pepton i dodatek folii firmy BioBag. PDA zaspokajała wstępne zapotrzebowanie rozwijającej się grzybni na węgiel, zaś pepton miał stanowić źródło N i innych podstawowych aminokwasów koniecznych do budowy białka. Aby zachować stałą objętość żywki, dodano wodę (tab. 1). Hodowle kontrolne stanowiły próby bez dodatku worków, za to w celu oceny wzrostu i rozwoju *Trichoderma* sp. w warunkach zmniejszającej się ilości węgla w podłożu, w hodowlach tych obniżono procentową zawartość PDA (tab. 1, próbki

B i C). Składy pożywek hodowli doświadczalnych skomponowano analogicznie do pożywek z hodowli kontrolnych z tą różnicą, że wzbogacono je o dodatek folii firmy BioBag, zakładając, że to ona będzie stopniowo zastępowała źródło węgla z pożywki PDA (tab. 1). Worki przed wyłożeniem w szalkach pocięto na fragmenty o tej samej wielkości, a następnie poddano je powierzchniowemu, kilkukrotnemu przepłukaniu w sterylnej, demineralizowanej wodzie. Celowo zrezygnowano z innej, np. termicznej formy sterylizacji wykorzystanej do doświadczenia folii, aby nie zmieniać jej właściwości fizycznych i w ten sposób obserwować rozwój *Trichoderma* sp. w otoczeniu worka wykorzystywanego do wyłożenia domowego kompostownika. Efektem ubocznym tego było jednak pojawienie się w hodowlach doświadczalnych pospolitego mikroorganizmu, jakim jest *Penicillium*, którego płukanie najprawdopodobniej nie wyeliminowało z powierzchni worka. Tak przygotowane podłoża inokulowano centralnie krążkiem tygodniowej grzybni *Trichoderma* sp. o średnicy 5 mm, pochodzącej z kolekcji Katedry Biotechnologii Uniwersytetu Opolskiego. Doświadczenie przeprowadzono na szalkach Petriego, w 10 wariantach doświadczalnych, każdy w 4 powtórzeniach. Inkubację prowadzono w ciemności w temperaturze pokojowej. W trakcie doświadczenia obserwowano kolor i wielkość grzybni oraz termin i intensywność jej zarodnikowania.

3. WYNIKI I DYSKUSJA

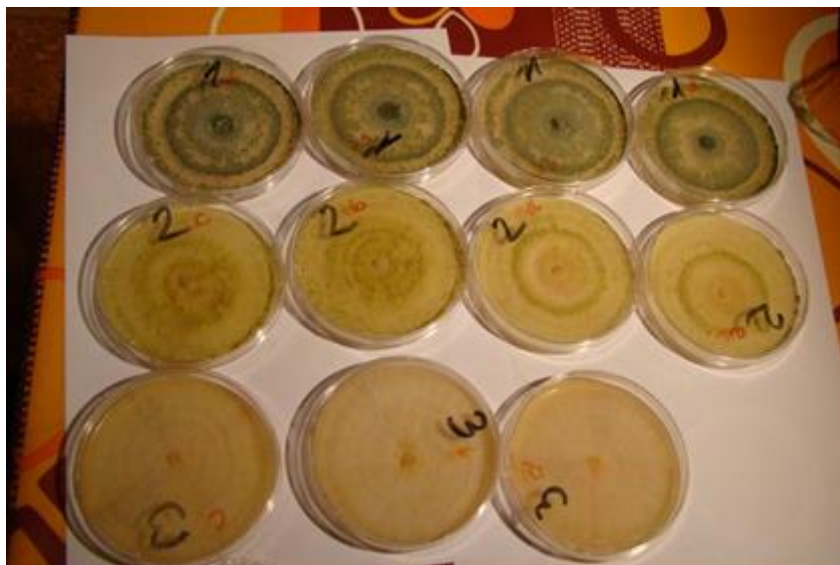
Analiza porównawcza w obrębie samych próbek kontrolnych wykazała, że największy wzrost, a przede wszystkim najszybsze zarodnikowanie osiągnęła grzybnia wzrastająca na 100% pożywce PDA. Dodatek do PDA 20% soli fizjologicznej wzrost ten spowalnia i dodatkowo opóźnia proces zarodnikowania o kilka dni. Natomiast dodanie 25% peptonu do 50% PDA i 25% soli fizjologicznej nie dość, że istotnie spowolniło rozrost grzybni, to całkowicie uniemożliwiło zarodnikowanie (rys. 1).

Wynik uzyskany z hodowli doświadczalnych był zaskakujący, ponieważ bez względu na skład pożywki, na każdej z szalek obserwowano zjawisko unikania przez grzybnię wyłożonego na pożywkę worka, zarówno przez *Trichoderma* sp., jak i przez, *Penicillium* które również rozwijały się na płytkach (rys. 2). Wynik ten może sugerować: albo brak możliwości zakładanych zdolności do rozkładania przez *Trichoderma* sp. tworzyw biodegradowalnych, albo brak biodegradowalności samego worka. To ostatnie sugerować może fakt, że według Okoth i innych [11] liczebność grzybów z rodzaju *Trichoderma* maleje wraz ze wzrostem ilości substancji nieorganicznej w kompostowanych odpadach, co również potwierdziły przeprowadzone obserwacje, zaś dostępność materii organicznej *de facto* decyduje o jej zagęszczeniu. W wyniku rozkładu tworzyw biodegradowalnych z założenia do środowiska wydzielane powinny

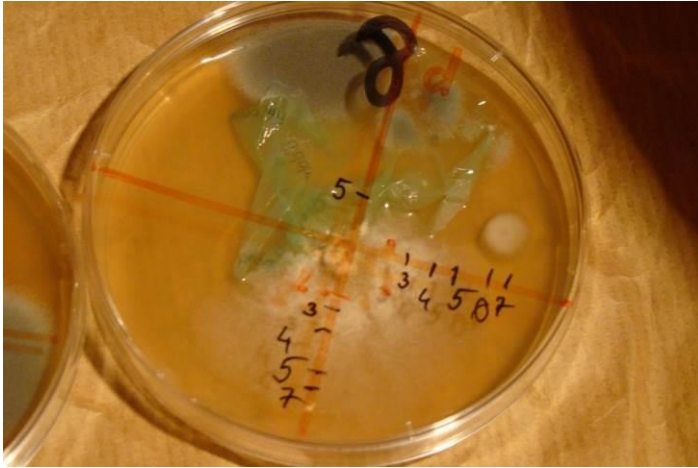
być związki organiczne i woda [4, 11]. Skoro więc *Trichoderma* sp. nie rozwijał się zgodnie z oczekiwaniem, może to sugerować brak tych związków w otoczeniu.

Opublikowane w 2011 roku badania Dach J. i inni, w których autorzy ci wstępnie oceniali stopień rozkładu jednorazowych, biodegradowalnych opakowań w procesie kompostowania i fermentacji, także wskazywały na brak efektów biodegradowalności mierzonych procentowym ubytkiem masy kompostowanego opakowania [5]. Tymczasem w przeciwieństwie do tego rozkład opakowań papierowych, nawet tych zanieczyszczonych, jest w podobnych warunkach prawie całkowity. Stąd też korzystniejsze dla procesu domowego kompostowania wydaje się wykładanie kompostownika od wewnątrz workiem papierowym, bowiem papier ulega częściowej biodegradacji i nie stanowi zanieczyszczenia bioodpadów [5, 8].

Natomiast fakt „uciekania” *Trichoderma* sp. od worka może być spowodowana jego negatywnym oddziaływaniem na procesy rozwojowe grzybni poprzez zaburzenie równowagi środowiska, niezbędnej dla prawidłowego ich przebiegu. Proces kompostowania to proces, w którym biorą udział różnorodne drobnoustroje pochodzące z materiału kompostowanego, wobec tego może ich brak powoduje „ucieczkę” szczepu grzyba od materiału foliowego. Zweryfikowanie dwóch powyższych hipotez stanowi obecnie przedmiot naszych kolejnych doświadczeń.



Rys. 1. Obraz tygodniowych grzybni wzrastających w warunkach kontrolnych (fot. L. Niekraś)



Rys. 2. Obraz tygodniowej grzybni wzrastającej w warunkach obecności biodegradowalnego worka – jasna grzybnia położona centralnie (fot. L. Niekraś)

LITERATURA

- [1] BARI M., BEGUM M., SARKER K., RAHMAN M., KABIR A., ALAM M., *Mode of action of Trichoderma spp. on organic waste for bioconversion*, Plant Environment Development, 2007, No. 1, 61–66.
- [2] BENITEZ T., RINCON A.M., LIMON M.C., CODON A.C., *Biocontrol mechanism of Trichoderma strains*, International Microbiology, 2004, No. 7, 249–260.
- [3] BŁASZCZYK K., SIWULSKI M., SOBIERALSK K., LISIECKA J., JĘDRYCZKA M., *Trichoderma spp. – application and prospects for use in organic farming and industry*, Journal of Plant Protection Research, 2014, Vol. 54, No. 4.
- [4] BORUSZKO D., *Badania i ocena wartości nawozowej kompostów i wermikompostów*, Rocznik Ochrona Środowiska, Annual Set The Environment Protection, 2011, No. 13, 1417–1428.
- [5] DACH J., PILARSKI K., MARCINKOWSKA A., ANDRZEJEWSKA E., *Preliminary estimation of degradation level of non-returnable packings offered by trading networks in the composting and fermentation processes*, Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2011, Vol. 56, No. 2, 32–36.
- [6] EMBLEM A., EMBLEM H., *Opakowannictwo z zrównoważony rozwój*, [w:] Technika opakowań, pod red. A. Emblem, H. Emblem, PWN, Warszawa 2014, 88–117.
- [7] GÓRSKI M., *Zasady postępowania z odpadami...czyli nowa dyrektywa ramowa w sprawie odpadów*, http://www.ekoskop.rzeszow.pl/abecadlosmieciadlo/CD/index_pliki/Page380.htm [data dostępu 29.10.2015].
- [8] JĘDRCZAK A., *Biologiczne przetwarzanie odpadów*, PWN, Warszawa 2007.
- [9] KOSICKA D., WOLNA-MURAWKA A., TRZECIAK M., *Aspekty stosowania Trichoderma sp. W ochronie roślin i rozkładzie materii organicznej*, Kosmos, 2014, Vol. 63, No. 4, 635–642.
- [10] maw/PAP, *Koniec foliowych torebek w Unii? Newsweek Polska*, 18.11.2014, <http://biznes.newsweek.pl/koniec-foliowych-torebek-w-unii-europejskiej-newsweek-pl,artykuly,352048,1.html> [data dostępu: 29.10.2015].

- [11] OKOTH S., ROIMEN H., MUTSOTSO B., MUYA E., KANHINDI J., OWINO J., OKHOT P., *Land use systems and distribution of Trichoderma species in Emburegion, Kenya*, Tropical and Subtropical Agroecosystems, 2007, Vol. 7, 105–112.
- [12] RUTHE K., *Aufkommen und Zusammensetzung biogener Siedlungsabfälle*, [w:] Müll – Handbuch. Kennzahl 1780, Erich Schmidt Verlag, Berlin 1998.
- [13] SMOLIŃSKA U., GOŁĘBIEWSKA E., KOWALSKA B., KOWALCZYK W., SZCZECH M., *Materiały odpadowe jako nośniki antagonistycznych grzybów Trichoderma*, Inżynieria i Ochrona Środowiska, 2014, Vol. 17, No. 1, 5–20.
- [14] ŠPRAJCAR M., HORVAT P., KRŽAN A., *Biopolimery i biotworzywa. Tworzywa zgodne z naturą*, 2012, http://www.plastice.org/fileadmin/files/Polish_WEB.pdf [data dostępu: 29.10.2015].
- [15] STRAKOWSKA J., BŁASZCZYK L., CHEŁKOWSKI J., *The significance of cellulolytic enzymes produced by Trichoderma in opportunistic lifestyle of this fungus*, Journal of Basic Microbiology, 2014, Vol. 54, No. 1, 2–13.
- [16] SZCZECH M., *Grzyby Trichoderma – dlaczego warto się nimi zainteresować?*, http://trichoderma.inhort.pl/?d=informacje_o_trichoderma&id=117 [data dostępu: 29.10.2015].
- [17] SZCZECH M., *Trichoderma w uprawie roślin z zagospodarowaniu odpadów organicznych – badania i rezultaty projektu*, http://trichoderma.inhort.pl/ufiles/file/materiały_konf_2014.pdf [data dostępu: 29.10.2015].
- [18] VAVERKOVA M., ADAMCOVA D., KOTOVICOVA J., TOMAN T., *Evaluation of biodegradability of plastics bags in composting conditions*, Ecological Chemistry and Engineering, 2014, Vol. 21, No. 1, 45–57.
- [19] WOJTKOWIAK-GEBAROWSKA E., *Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju Trichoderma*, Postępy Mikrobiologii, 2006, Vol. 45, No. 4, 261–273.
- [20] www.biobag.pl/, data dostępu: 21.01.2016.

TPRELIMINARY STUDIES ON THE USE OF TRICHODERMA SP. IN THE PROCESS OF DECOMPOSITION OF BIODEGRADABLE PACKAGING

Conducted experiment examined the possible participation of Trichoderma fungi in the process of dissolution of biodegradable plastic containers. Small cut pieces of plastic bags, with accordingly certified composting properties, were placed on Petri dish with diversified media. Trichoderma inoculum was implemented onto 10 samples. After that, growth and development of fungi was observed. Independently of media type, Trichoderma not only doesn't use the plastic bag as a potential source of carbon, but also avoids it. The findings may suggest either Trichoderma incapability of active participation in composting biodegradable plastic bags, or lack of declared by the producer biodegradable properties of the bag itself.

Iwona Kinga PISZCZATOWSKA*

FLOKULACJA W PROCESIE ODWADNIANIA OSADÓW ŚCIEKOWYCH

Zastosowanie flokulantu przy odwadnianiu osadów ściekowych skutecznie poprawia wydajność procesu oraz parametrów osadu. Głównym celem przeróbki osadu jest pozabawienie agresywnego charakteru wobec środowiska, tendencji do zagniwania, wtórnego uwalniania zanieczyszczeń, a także zmniejszenie objętości. Dobór rodzaju i dawki flokulantu musi być odniesiony do rodzaju osadu, oraz stosowanego urządzenia. Osady są substancjami trudnoodwadnialnymi, bez udziału flokulantu nie osiągnie się dużego efektu ani stopnia rozdziału fazy rozpraszającej od fazy rozproszonej. W niniejszym artykule opisano doświadczenia białostockiej oczyszczalni ścieków w stosowaniu flokulantów przy odwadnianiu osadów ściekowych na prasach taśmowych.

1. WPROWADZENIE

1.1. ŚCIEKI W BIAŁOSTOCKIEJ OCZYSZCZALNI

Do białostockiej oczyszczalni ścieków, poprzez system kanalizacji rozdzielczej i ogólnospławnej, dopływają ścieki komunalne z terenu Białegostoku pochodzące z gospodarstw domowych, zakładów użyteczności publicznej i zakładów produkcyjno-usługowych oraz gmin przyległych do granic administracyjnych miasta, pochodzące z gospodarstw domowych. W ogólnym składzie ścieki przemysłowe stanowią tylko 20%. Kanalizacją ogólnospławną do oczyszczalni dopływają także wody opadowe, które podczas intensywnych opadów deszczowych lub w okresach roztopowych mieszają się ze ściekami bytowymi. Oczyszczalnia stosuje biologiczne metody oczyszczania ścieków w oparciu o technologię osadu czynnego z podwyższonym usuwaniem

* Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Katedra Systemów Inżynierii Środowiska, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok, ipiszczatowska@wobi.pl.

związków biogenych. Przepustowość oczyszczalni wynosi 100000 m³/dobę, jednak aktualnie do oczyszczalni dopływają ścieki komunalne w ilości ogólnej około 6 0000 m³/d. Podczas oczyszczania ścieków powstają duże ilości osadów ściekowych. Osad surowy odbierany jest ze ścieków w osadnikach wstępnych. W zależności od ilości przyjmowanych ścieków oraz ładunku, ilość wytwarzanych osadów surowych waha się od 2300 m³/d do 3000 m³/d, o zawartości 2,5%–3% suchej masy. Następnie osad ten pompowany jest do zagęszczaczy grawitacyjnych celem jego zagęszczenia do 5%–10% suchej masy. Osad surowy bardzo dobrze zagęszcza się grawitacyjnie. Podczas biologicznego oczyszczania ścieków generowany jest także osad nadmierny. Zagęszczany jest on w zagęszczarkach taśmowych przy współdziałaniu flokulantów. Osad odwadniany jest na taśmie do około 5% suchej masy. Bardzo dużą rolę przy odwadnianiu osadu na prasach taśmowych odgrywiają flokulanty.



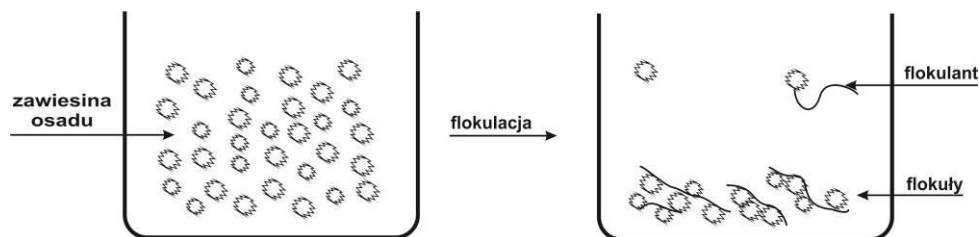
Rys. 1. Osad odwodniony na prasie taśmowej

1.2. ZNACZENIE FLOKULANTÓW

Flokulanty mają zastosowanie w wielu dziedzinach związanych z inżynierią środowiska. Produkty końcowe oczyszczania ścieków – osady, otrzymywane są w stanie zawiesiny wodnej. Przedmiotem dalszego zagospodarowania mogą być wyłącznie produkty odwodnione. Zachodzi zatem konieczność poddania osadów procesowi

odwodnienia, który z punktu widzenia inżynierii chemicznej jest czynnością separacji fazy stałej od ciekłej. Agregacja cząstek z zawiesiny, czy osadu może opierać się na dwóch odmiennych zjawiskach: koagulacji i flokulacji. Powszechniej stosowanym i znacznie bardziej wydajnym sposobem agregacji cząstek i przyspieszania ich sedymentacji jest flokulacja. Flokulacja jest procesem tworzenia agregatów z cząstek fazy stałej na drodze oddziaływania i wiązania ich powierzchni za pośrednictwem zaadsorbowanego na niej makrocząsteczki specjalnego związku polimerowego zwanego flokulantem. Flokulantami najczęściej używanymi w procesie flokulacji są polimery nieorganiczne, na przykład krzemionka aktywowana oraz polimery naturalne takie, jak skrobia, algina, żelatyna itp. Zastosowanie flokulantów syntetycznych często także powoduje zmniejszenie ilości osadu. Ich zastosowanie prowadzi do tworzenia się bardzo gęstego osadu, który jest w dalszej części poddawany działaniu urządzeń odwadniających.

Jako flokulanty syntetyczne najczęściej stosuje się poliakrylamidy, kwasy poliakrylowe, tlenek polietylenu, kwasy poliakrylowe, tlenek polietylenu, alkohol poliwinylowy i ich pochodne [3]. Związki te muszą być rozpuszczalne w wodzie, ich ciężar cząsteczkowy jest wysoki - ponad milion g/mol, a długość cząsteczki na tyle duża aby polimer mógł jednocześnie ulegać sorpcji na kilku ziarnach ciała stałego. Powstałe ciężkie i porowate agregaty zwane flokułami, które zaczynają być posłuszne siłom grawitacji i zaczynają opadać, a prędkość ich sedymentacji opisuje prawo Stokesa [1]. Opadające flokuły tworzą porowaty osad o dużej objętości.



Rys. 2. Zasada działania flokulantu

Spotykane w praktyce przemysłowej zawiesiny są tak różnorodne, że konieczne jest stosowanie różnych flokulantów. Produkuje się flokulanty o ciężarach cząsteczkowych od jednego do kilkunastu milionów g/mol o charakterze anionowym, kationowym lub obojętnym. Przy klarowaniu i odwadnianiu zawiesin mineralnych zwłaszcza w ośrodkach z odczynem zasadowym lub obojętnym przydatne będą flokulanty anionowe. W przeróbce węgla, soli i rud największe zastosowanie będą miały flokulanty obojętne. Natomiast flokulanty kationowe będą miały zastosowanie przy klarowaniu zawiesin substancji organicznych, zwłaszcza w metalurgii, przy klarowaniu zawiesin charakteryzujących się kwaśnym odczynem. W wielu procesach produkcyjnych w przemyśle,

w procesach odwadniania i zagęszczania osadów ściekowych, wspomaganie oczyszczania ścieków komunalnych i przemysłowych, klarowaniu osadników wtórnych oraz w uzdatnianiu wody pitnej i technologicznej znajdują zastosowanie polielektrolity o różnych ciężarach molekularnych oraz zróżnicowanym ładunku jonowym. Mają one zastosowanie we wszystkich procesach technologicznych, w których operuje się wodą, czyli w górnictwie, metalurgii, przemyśle chemicznym, papiernictwie, cukrownictwie i innych dziedzinach przemysłu spożywczego. Flokulanty z powodzeniem można zastosować tam, gdzie zachodzi potrzeba selektywnego rozdzielenia dwóch różnych substancji mineralnych rozproszonych w zawieszynie. Przy odpowiednim doborze flokulanta można doprowadzić do selektywnej flokulacji, umożliwi to selektywne sorbowanie tylko na jednym rodzaju ziaren w przypadku gdy zawieszina wodna zawiera więcej niż jeden składnik mineralny. W ten sposób mamy również możliwość wzbogacania ziaren bardzo drobnych poprzez flokulację selektywną [5]. Flokulanty mogą mieć zastosowanie przy wzbogacaniu minerałów, modyfikacji procesu flotacji oraz ogólnie do przyspieszania opadania ziaren i polepszania filtracji.

2. ODWADNIANIE OSADÓW

2.1. STACJA MECHANICZNEGO ODWADNIANIA OSADU PRZEFERMENTOWANEGO

W białostockiej oczyszczalni ścieków flokulanty są stosowane przy odwodnianiu i zagęszczaniu osadów ściekowych. Produkcja osadu odwodnionego wynosi około 240 m³/d. Węzeł odwadniania osadów wykorzystywany jest w około 75% [6]. Na wyposażeniu oczyszczalni znajdują się trzy prasy taśmowe firmy Bellmer każda o wydajności $q \leq 30$ m³/h. Zasadniczo wykorzystywane są dwie prasy, natomiast trzecia jest zapasowa na wypadek awarii.

Osady są substancjami trudnoodwadnialnymi, bez udziału flokulantu nie osiągnie się dużego efektu ani stopnia rozdzielenia. Do każdego osadu należy podchodzić indywidualnie, jak wynika z praktyki eksploatatorów, nie ma typowych osadów ściekowych, do każdego osadu należy podchodzić indywidualnie. Głównym celem przeróbki osadu jest pozbawienie ich agresywnego charakteru wobec środowiska, tendencji do zagniwania, wtórnego uwalniania zanieczyszczeń, a także zmniejszenie objętości.



Rys. 3. Prasy w stacji odwadniania osadu



Rys. 4. Osad zagęszczony flokulantem bruzdowany na wejściu prasy taśmowej

2.2. WODA I MINERALIZACJA OSADÓW

Osady składają się z cząstek stałych i wody, ilość wody wpływa na konsystencję, na to w jakim stopniu jest uwodniony, jak bardzo jest płynny. Osady powstające podczas oczyszczania ścieków są układami, w których woda osadowa (wody techniczne) jest

fazą rozpraszającą, a mineralne i organiczne cząstki ciał stałych, związane często z pęcherzykami gazów, stanowią fazę rozproszoną. Proporcje między tymi fazami charakteryzują najistotniejszą cechę osadów, stanowią o ich uwodnieniu i zawartości suchej masy. Oddzielenie fazy stałej od cieczy osadowej jest możliwe poprzez usunięcie zawartej w osadzie wody. W osadzie woda ta występuje w kilku postaciach: woda wolna, półzwiązana fizycznie, związana chemicznie, biologicznie i w koloidach oraz kapilarna. Przestrzeń między cząsteczkami osadu zajmuje woda wolna, wewnątrz kłaczków osadu znajduje się woda półzwiązana fizycznie. Woda wbudowana w cząsteczki związków chemicznych jest wodą związaną chemicznie, a w komórkach mikroorganizmów – wodą związaną biologicznie. Na granicy fazy rozpraszającej i rozproszonej znajduje się woda związana w koloidach siłami elektrycznymi. Natomiast woda kapilarna związana jest siłami adhezji i kohezji. Określone formy wody można usunąć w procesach zagęszczania, odwodniania, termicznego unieszkodliwiania osadów. Tylko woda wolna oddziela się samorzutnie z osadu [4], dominuje w osadach przy odwodnieniu 80%–99%. Kolejną istotną cechą jest stopień mineralizacji osadu. W procesie zagęszczania i odwodniania osad tym łatwiej i więcej oddaje wody, im wyższy jest jego stopień.

2.3. DOZOWANIE FLOKULANTA

Stosowane flokulanty skutecznie poprawiają wydajność procesu oraz parametrów zagęszczanych i odwadnianych osadów. Dobór rodzaju i dawki flokulantu musi być odniesiony do rodzaju osadu, zaprojektowanego i stosowanego urządzenia oraz na bieżąco korygowany w warunkach eksploatacyjnych. Flokulanty w formie stałej niemal nie są używane w skali technicznej. Istotne jest aby każde ziarnko polimeru zostało natychmiast otoczone wodą inaczej powstanie „klucha” trudna do rozтворzenia. Z tego to powodu przed użyciem, dozowaniem do danego procesu, należy wykonać wodny roztwór polielektrolitu, najczęściej o koncentracji do 0,5%.

Najlepsze rezultaty uzyskuje się na maszynach pracujących na zasadzie szarżowego wykonania roztworu. Zasada pracy tego typu urządzeń polega na wstępnym przygotowaniu roztworu i pozostawieniu go na ok. 30–60 min. do dojrzwiania, po tym czasie roztwór może być dozowany. Przed punktem dozowania polielektrolit może być dodatkowo rozcieńczony wodą w stosunku 10:1. Do transportu roztworzonych polielektrolitów w instalacjach należy unikać stosowania pomp wirowych.

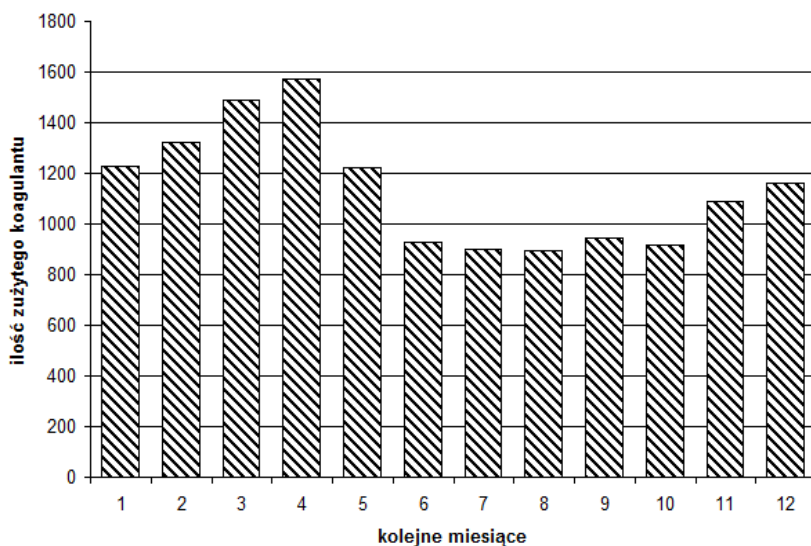


Rys. 5. Miejsce dozowania flokulantu



Rys. 6. Urządzenie do roztwarzania i dawkowania flokulantu

Zużycie ilości flokulantu zawsze będzie się wiązało z zawartością substancji organicznej w osadzie. Zatem o ilości zużytego flokulantu będzie decydowało stężenie suchej masy osadu przed wprowadzeniem na prasy taśmowe. Im większą będzie zawartość części organicznej w osadzie, tym gorzej osad będzie się odwadniał. Część organiczna w osadzie jest bardzo rozbudowana więc trudno ją zagęścić, natomiast części mineralne np. piasek są proste, łatwo z nich odcisnąć wodę. Im więcej kłaczków do skłaczkowania i im więcej cząstek stałych do skłaczkowania, tym potrzebne jest większe zużycie flokulantu do ich sklejenia. Flokulant ścina większe konglomeraty, czyli flokuluje, powstaje floc, z którego łatwiej odcisnąć wodę. Woda ta nie jest już związana, odpływa sama. Flokulant jest dodawany do osadu, jeszcze przed wprowadzeniem go na taśmę.



Rys. 7. Zużycie flokulantu [m³] w ciągu 2015 r.

Roztwory polielektrolitów są bardziej agresywne niż woda. Przy ich magazynowaniu zalecany materiał na konstrukcje mające kontakt z roztworem płynnej emulsji polielektrolitu jest stal kwasoodporna, laminaty, plastiki, szkło. Nie zaleca się stosowania stali zwykłych, miedzi lub aluminium. Z tego powodu polielektrolity wywołują podrażnienia skóry i oczu. Podczas pracy z polielektrolitami należy stosować środki ochrony osobistej w postaci rękawic i gogli [2].

3. PODSUMOWANIE

Zastosowanie flokulantu przy odwadnianiu osadów ściekowych skutecznie poprawia wydajność procesu oraz parametrów osadu. Dobór rodzaju i dawki flokulantu musi być odniesiony do rodzaju osadu, oraz stosowanego urządzenia. Ilość zużytego flokulantu będzie związana z zawartością substancji organicznej w osadzie. Osady są substancjami trudnoodwadnialnymi, bez udziału flokulantu nie osiągnie się dużego efektu ani stopnia rozdziału fazy rozpraszającej od fazy rozproszonej.

LITERATURA

- [1] http://dydaktyka.polsl.pl/rg5/slaczka/spec_w_11.html.
- [2] <http://www.brenntag.pl/oferta-branzowa/technologie-wody-i-ściekow/flokulanty-poleietrolity/>
- [3] <http://www.lenntech.pl/koagulanty-flokulanty.htm#ixzz3vbiiib1d>.
- [4] DYMACZEWSKI Z., *Poradnik eksploatatora oczyszczalni ścieków*, Seidel-Przywecki Sp. z o.o. Józefosław 2011.
- [5] OLESZKIEWICZ J., HEJDA A., KALINOWSKA E., *Podstawy oraz praktyka przeróbki i zagospodarowania osadów*, LEM s.c., Kraków 1998.
- [6] PAWEŁKO M., RUSIŁOWICZ J., *Koncepcja optymalizacji procesów w zakresie: odbioru ścieków na stacji zlewnej, odbioru skratek oraz osadów pościekowych, w tym w formie granulatu GRANBIAL*, Wodociągi Białostockie Sp. z o.o., Białystok 2014.

FLOCCULATION IN REFURBISHING PROCESS OF SEWAGE SLUDGE

Using flocculant when refurbishing sewage sludge increase efficiency of the process and parameters of sludge. Main goal of sludge processing is getting rid of its aggressive behavior towards environment, decay tendency, secondary pollution release and decreasing volume. Selection of the type and dosage of flocculant must be related to the type of sludge, and the equipment used. Sludge is a substance difficult to dehydrate, without the flocculant they will not achieve a large effect or degree of separation of the dispersion of the dispersed phase. The following article describe experiment about flocculant use in dewatering of sewage sludge belt presses, conducted Białystok sewage treatment plant.

Iwona Kinga PISZCZATOWSKA*

PRODUKCJA BIOGAZU ZE ŚCIEKÓW

Produkcja biogazu w ostatnich latach cieszy się coraz większą popularnością. Powstaje coraz liczniejsza ilość biogazowni budowanych przy oczyszczalniach ścieków. Powodowane jest to zarówno docenianiem ich pozytywnego znaczenia dla środowiska jak i korzyściami ekonomicznymi. W artykule opisano doświadczenia „Wodociągów Białostockich” Sp. z o.o. oczyszczających ścieki komunalne dopływające poprzez system kanalizacji rozdzielczej i ogólnospławnej. Dodatkowym produktem fermentacji metanowej, której poddawany jest osad ściekowy, jest biogaz, cenne paliwo gazowe, źródło energii odnawialnej.

1. ZBIORNIKI BIOGAZU

Białostocka oczyszczalnia ścieków oddana do użytku na początku lat dziewięćdziesiątych, zaprojektowana i zrealizowana została w oparciu o technologię osadu czynnego dla przepustowości 176500 m³/dobę. W wyniku modernizacji przeprowadzonej pod kątem usuwania związków biogenych przepustowość oczyszczalni została obniżona do 100000 m³/dobę. Aktualnie do oczyszczalni dopływają ścieki komunalne w ilości ogólnej około 60000 m³/d, z czego tylko 20% stanowią ścieki przemysłowe. Podczas oczyszczania ścieków powstają duże ilości osadów ściekowych. Jednym z etapów ich przeróbki jest fermentacja metanowa, której produktem ubocznym jest biogaz, cenne paliwo gazowe, źródło energii odnawialnej. Biogaz wytwarzany w komorach fermentacyjnych odprowadzany jest instalacją gazową i magazynowany w zbiornikach. Zbiorniki biogazu służą do magazynowania biogazu wytworzonego w procesie fermentacji. Powinny to być zbiorniki niskociśnieniowe, wykonane z materiałów metalowych, żelbetowych lub specjalnych elastycznych tworzyw sztucznych. Zasadniczo wśród zbior-

* Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Katedra Systemów Inżynierii Środowiska, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok, ipiszczatowska@wobi.pl.

ników wyróżnia się dwa podstawowe typy mokre oraz suche. Zbiorniki mokre są najtańszym rozwiązaniem technologicznym, montuje się je bezpośrednio nad komorą fermentacyjną. Zbiorniki suche natomiast stanowią oddzielną instalację. Montowane są najczęściej w pobliżu komór fermentacyjnych. W zależności od potrzeb mogą mieć dowolny kształt i wielkość oraz być zbudowane z tworzywa sztucznego lub gumy [2].



Rys. 1. Wydzielone komory fermentacyjne białostockiej oczyszczalni ścieków

W 2015 roku na terenie białostockiej oczyszczalni ścieków przeprowadzona została modernizacja zbiorników biogazu. W celu maksymalnego wykorzystania całej ilości generowanego płynnego paliwa zaistniała potrzeba zwiększenia jego retencji w nowym zbiorniku. Stary zbiornik [4], stalowy z uszczelnieniem wodnym, o pojemności 3000 m³ zastąpiony został nowym, sferycznym zbiornikiem gazu.

Sferyczne zbiorniki do przechowywania biogazu należą do suchego typu zbiorników i mogą mieć kształt 1/2 lub 3/4 sfery. Wykonywane są ze specjalnych powłok poliestrowych pokrytych materiałem PVC w postaci najczęściej dwu- lub trzymembranowej.

Zbiorniki te mogą mieć objętość od 10000 do 19000 m³, średnicę od 3 do 30 m, a wysokość do 20 m. Ważnym czynnikiem przy przechowywaniu biogazu w zbiornikach jest utrzymanie właściwego ciśnienia w przestrzeni międzymembranowej. W tym celu wykorzystuje się wentylatory, które w sposób ciągły wdmuchują powietrze do przestrzeni między dwiema membranami, z jednoczesną regulacją jego odpływu. Wytworzone w ten sposób nadciśnienie służy regulacji i stabilizacji ciśnienia gazu w zbiorniku [6]. Biogaz doprowadzany i odprowadzany jest przez rurociąg, wykonany ze stali kwasoodpornej. Ilość biogazu wypełniającego zbiornik regulowana jest za pomocą sondy ultradźwiękowej umieszczonej na szczycie zbiornika lub za pomocą przepływomierza.



Rys. 2. Zbiornik gazu stalowy z uszczelnieniem wodnym w białostockiej oczyszczalni ścieków

W białostockiej oczyszczalni ścieków na potrzeby zrównoważonego funkcjonowania instalacji biogazu zainstalowano zbiornik systemu SATTLER, typu B9 130/250

o pojemności 5360 m³, nadciśnieniu 15 milibarów, powłokowy, standardowy, posiadający europejski certyfikat CE, o średnicy ok. 24 m oraz wysokości ok. 18 m [1]. Zbiornik biogazu składa się z trzech powłok, posadowionych na żelbetowym fundamencie, przytwierdzonych stalowymi pierścieniami na jednym obwodzie. Elastyczna powłoka wewnętrzna ma formę pojemnika i tworzy przestrzeń gazową zmieniającą swoją pojemność. Przestrzeń pomiędzy powłoką zewnętrzną a wewnętrzną wypełniona jest powietrzem. Stabilne nadciśnienie biogazu w zbiorniku oraz stałość zbiornika jako bryły zapewniają dmuchawy dostarczające ciągły i stabilny nadmuch powietrza oraz upust regulowany zaworem klapowym. Bezpiecznik cieczowy przestrzeni gazowej zabezpiecza wewnętrzny zbiornik przed nadmiernym wzrostem ciśnienia. Poprzez wewnętrzne ciśnienie wytwarzane przez dmuchawę zapewniona jest stabilność powłoki zewnętrznej narażonej na działanie sił zewnętrznych od warunków atmosferycznych, wiatru, śniegu i deszczu oraz przestrzeni powietrznej na przestrzeń gazową. Jeżeli natężenie dopływu jest większe od poboru gazu, to przestrzeń gazowa wypełnia się. Membranowe zbiorniki gazu są przystosowane do przechowywania mediów gazowych takich jak powietrze, biogaz i inne gazy.



Rys. 3. Sferyczny zbiornik gazu w białostockiej oczyszczalni ścieków

Dodatkowo dobudowano węzeł rozdzielczo-pomiarowy. Obiekt taki budowany jest w celu umieszczenia dmuchaw, filtrów, zaworów redukcyjnych oraz pozostałej armatury w sposób komfortowy i bezpieczny dla obsługi. Węzeł taki umożliwił synchronizację instalacji istniejącej z dobudowaną oraz eksploatację wyłącznie jednego zbiornika lub obydwu jednocześnie.

Do monitorowania procesu zastosowano system CCTV z kamerami IP 3Mpx z zasilaniem POE. Cztery kamery zostały zainstalowane na słupach oświetlenia terenu. Obraz z kamer przekazywany jest do dyspozytorni oczyszczalni ścieków, gdzie prowadzony jest stały monitoring wszystkich procesów.



Rys. 4. Obraz z kamer na monitorze w dyspozytorni białostockiej oczyszczalni ścieków

2. PRODUKCJA BIOGAZU I ENERGII

2.1. BIOGAZ ZE ŚCIEKÓW

Osad odbierany ze ścieków w osadnikach wstępnych oczyszczalni ścieków określany jest jako osad surowy. W zależności od ilości przyjmowanych ścieków oraz ładunku, ilość wytwarzanych osadów surowych waha się od 2300 m³/dobę do 3000 m³/dobę o zawartości suchej masy od 2,5% do 3%. Osad pompowany jest do zagęszczaczy grawitacyjnych celem jego zagęszczenia od około 5% do 10% suchej masy. Osad surowy bardzo dobrze zagęszcza się grawitacyjnie. Produkowany jest także osad nadmierny. Jest to osad czynny produkowany podczas biologicznego oczyszczania ścieków. Zagęszczany jest on na zagęszczarkach taśmowych przy współdziałaniu flokulantów. Osad odwadnia się na taśmie do około 5% suchej masy. Produkcja jego wynosi około 240 m³/dobę. Zagęszczony osad surowy i osad nadmierny mieszany jest w pompowni II stopnia i pompowany do czterech Wydzielonych Komór Fermentacyjnych o pojemności 7300 m³ każda. Dzienna podaż osadu wynosi od 150 do 180 m³ do każdej komory.

Osad po fermentacji w ilości 600–720 m³/dobę transportowany jest z WKF do uśredniaczy, celem jego odgazowania i wystudzenia. Następnie jest odwadniany na prasach taśmowych do około 20% suchej masy. Ilość osadu odwodnionego wynosi około 100 Mg/ dobę, co w przeciągu roku daje 36500 Mg osadu. Węzeł fermentacji osadów jest obciążony w około 70%. Aktualnie czas zatrzymania w zbiornikach fermentacyjnych wynosi 40 dni. Minimalny czas fermentacji wynosi 21 dni. Związki siarki wiążą się używając koagulantu już na etapie wstępnego oczyszczania ścieków, w osadnikach wstępnych. Dzięki temu nie ulegają one dalszym przemianom w czasie fermentacji do siarkowodoru. Skład biogazu [3] umożliwia dostarczanie biogazu ze zbiornika do odbiorników bez konieczności jego odsiarczania. Norma ustawień dla agregatów pracujących w białostockiej oczyszczalni ścieków wynosi do 400 mg/m³ siarkowodoru.

Tabela 1. Skład biogazu z białostockiej oczyszczalni ścieków

Stężenie					
Metan	Dwutlenek węgla	Tlen	Azot	Siarkowodór	Amoniak
%	%	%	%	mg/m ³	mg/m ³
61,525	38,269	0,032	0,155	278	0,12

Tabela 2. Parametry fizyczne i energetyczne biogazu z białostockiej oczyszczalni ścieków

Ciśnienie	Temperatura	Wilgotność względna (φ)	Zawartość wilgoci	Gęstość (ρ)	Gęstość względna (d)	Ciepło spalania (H_0)	Wartość opałowa (H)	Liczba Wobego (W)	Liczba Wobego (W_1)
Pa	K	%	g/m ³	kg/m ³	-	kJ/m ³	kJ/m ³	kJ/m ³	kJ/m ³
3120	296	92,3	20,4	1,2	0,928	24569	22089	25500	22926

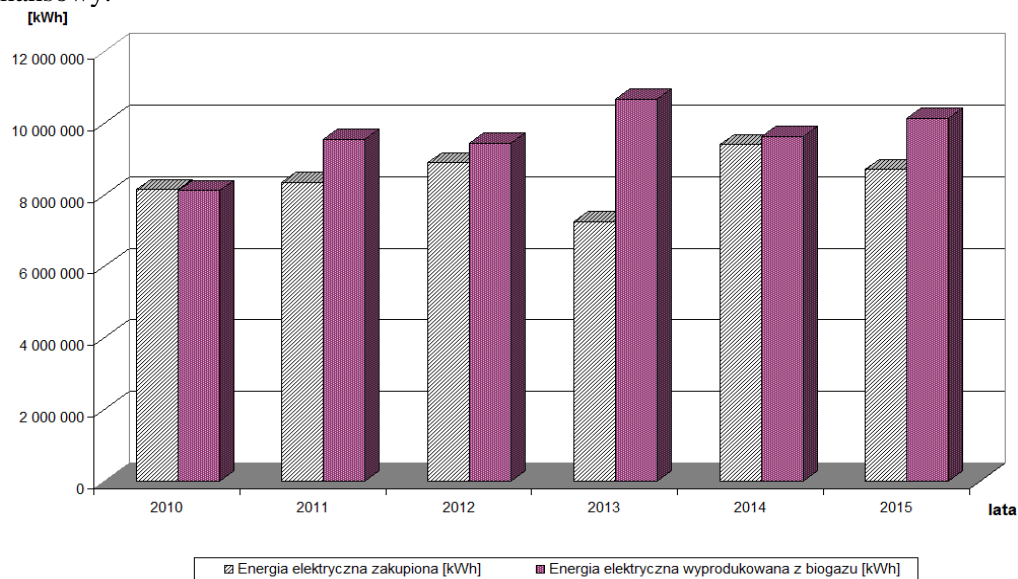
2.2. ENERGIA Z BIOGAZU

W kolejnym etapie procesu biogaz wykorzystywany jest do produkcji energii elektrycznej i ciepła w agregatach kogeneracyjnych stanowiących dodatkowe, niezależne źródło zasilania oczyszczalni. Służy także do podgrzewania oleju grzewczego w suszarni osadów, a także do ogrzewania komór fermentacyjnych i budynków na terenie oczyszczalni ścieków z lokalnej kotłowni stanowiącej szczytowe i rezerwowe źródło ciepła w układzie ciepłowniczym. Nadmiar biogazu awaryjnie spalany jest w istniejącej pochodni [5].

Tabela 3. Udział energii z biogazu w całkowitym zużyciu energii w firmie

	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Energia elektryczna zakupiona [kWh]	20 198 602	21 107 774	21 204 954	19 348 062	21 405 965	19 937 776
Energia elektryczna wyprodukowana z biogazu [kWh]	8 113 656	9 553 982	9 436 150	10 669 734	9 619 484	10 141 294
Zużycie całkowite energii elektrycznej [kWh]	28 312 258	30 661 756	30 641 104	30 017 796	31 025 449	30 079 070
Udział energii zielonej w całkowitym zużyciu [%]	28,7	31,2	30,8	35,6	31,0	33,7

Energia wyprodukowana z biogazu wykorzystywana jest na potrzeby własne oczyszczalni zaspokajając je w ponad 50%. Wykorzystywanie biogazu zmniejsza zużycie energii zakupionej, surowców konwencjonalnych oraz emisję zanieczyszczeń do atmosfery. Zielona energia wyprodukowana z biogazu jest energią czystą, nie obciąża środowiska naturalnego w takim stopniu jak wyprodukowana z paliw konwencjonalnych. Dodatkowo wpływa na ekonomikę firmy poprawiając bilans energetyczny i finansowy.



Rys. 5. Zużycie energii w białostockiej oczyszczalni ścieków kupiona/wyprodukowanej

3. PODSUMOWANIE

Zagospodarowanie osadów ściekowych jest integralnym elementem procesu oczyszczania ścieków. Fermentacja metanowa jest racjonalnym sposobem poprawy ich parametrów jakościowych, przynosząc dodatkowo efekt w postaci ciepła oraz energii elektrycznej generowanej w agregatach kogeneracyjnych. Zielona energia wyprodukowana z biogazu jest energią czystą, przyjazną środowisku naturalnemu. Poprawia bilans energetyczny i finansowy firmy, wpływa na jej ekonomikę. Rozwijając procesy związane z odnawialnymi źródłami energii można pozyskać dodatkowe środki finansowa na ich budowę, rozbudowie i modernizację z Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska.

Tabela 4. Udział energii z biogazu w stosunku do energii zużytej w oczyszczalni ścieków

	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Energia elektryczna zakupiona na potrzeby oczyszczalni [kWh]	8 144 514	8 339 039	8 892 577	7 243 152	9 397 459	8 707 676
Średnia miesięczna zakupionej energii elektrycznej na potrzeby oczyszczalni [kWh]	678 710	694 920	741 048	603 596	783 122	725 640
Energia elektryczna wyprodukowana z biogazu [kWh]	8 113 656	9 553 982	9 436 150	10 669 734	9 619 484	10 141 294
Średnia miesięczna energii wyprodukowanej z biogazu [kWh]	676 138	796 165	786 346	889 145	801 624	845 108
Całkowite zużycie energii elektrycznej w oczyszczalni [kWh]	16 258 170	17 893 021	18 328 727	17 912 886	19 016 943	18 848 970
Średnia miesięczna zużytej energii [kWh]	1 354 848	1 491 085	1 527 394	1 492 741	1 584 745	1 570 748
Udział energii zielonej w całkowitym zużyciu energii na oczyszczalni [%]	49,9%	53,4%	51,5%	59,6%	50,6%	53,8%

LITERATURA

- [1] BALA W., KASPURA J., *Projekt budowlany*, BiP W.Bala, J.Kaspura s.j, Świdnica 2015.
- [2] FLESZAR J., KALINOWSKA K., *Rodzaje zbiorników do magazynowania biogazu stosowanych w biogazowniach*, [w:] Technika Rolnicza, ogrodnicza, leśna, Przemysłowy Instytut Maszyn Rolniczych, No. 2, Poznań 2013.

- [3] GAJ K., CYBULSKA H., KNOP F., ROBASZKIEWICZ J., STEININGER M., SOKALSKA G., *Raport – Sprawozdanie z badań biogazu powstającego w komorach fermentacyjnych Białostockiej Oczyszczalni Ścieków*, Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Politechnika Wrocławska 2009.
- [4] KRĘGIEL J., *Program funkcjonalno-użytkowy*, BPBK, Wrocław 2014.
- [5] PAWEŁKO M., RUSIŁOWICZ J., JASTRZĘBSKI K., PIEKUTOWSKI H., KORZONEK E., PISZCZATOWSKA I., DĄBROWSKI M., *Koncepcja optymalizacji procesów w zakresie: odbioru ścieków na stacji zlewnej, odbioru skratek oraz osadów pościekowych, w tym w formie granulatu GRANBIAL*, Wodociągi Białostockie Sp. z o.o., Białystok 2014.
- [6] Zbiorniki biogazu. Dwumembranowy SGTc-dm, SiGa-tech. Sludge & biogas system (<http://www.sigatech.pl>).

SEWAGE IN BIOGAS PRODUCTION

Biogas production has increased significantly in latest years. There are greatest amounts of biogas plants build with sewage treatment plants. It is caused not only by their positive influence on environment but also economical benefits. Following article depicts the experiences of "Wodociągi Białostockie" Sp. z.o.o. purifying domestic sewage flowing in through the sewer system. Additional product of fermented sewage sludge is biogas -a valuable fuel gas and renewable energy source.

Marta POGORZELEC*

WPLYW UBOCZNYCH PRODUKTÓW DEZYNFEKCJI WODY NA ORGANIZMY ŻYWE

Znajdujące się w wodzie powierzchniowej związki organiczne pochodzenia naturalnego i antropogenicznego, w procesie dezynfekcji wody tworzą tzw. produkty uboczne (UPD), które stanowią jeden z czynników odpowiedzialnych za choroby nowotworowe u ludzi. W czasie chlorowania wody wodociągowej powstają takie uboczne produkty dezynfekcji jak: trihalometany (THM), kwasy halogenoocetowe, chlorofenole, halogenoketony, halogenonitryle, trichlorobenzeny, hydroksyfurany, MX, oraz halogenowe związki organiczne (AOX). Wiele z nich charakteryzuje się działaniem toksycznym, mutagennym, genotoksycznym, czy też rakotwórczym. W artykule scharakteryzowano proces dezynfekcji wody z uwzględnieniem powstających UPD w zależności od zastosowanego dezynfektanta. Omówiono także wpływ UPD na organizmy żywe oraz przedstawiono metody oceny ich genotoksyczności.

1. WSTĘP

Woda przeznaczona na cele konsumpcyjne musi być nie tylko pozbawiona szkodliwych substancji, ale też posiadać skład korzystny dla zdrowia. Dlatego wymagania w stosunku do jej jakości stale rosną [3, 4]. Na jakość zdrowotną wody wodociągowej wpływa zarówno jej czystość mikrobiologiczna, jak i występujące w niej związki chemiczne. Wśród chorób spowodowanych spożywaniem zanieczyszczonej wody dominują te wywołane przez bakterie, jednak ostatnimi czasy obserwuje się rosnącą ilość chorób wywołanych działaniem chemicznych mikrozanieczyszczeń antropogenicznych, pochodzących głównie z przemysłu i rolnictwa. Ze względu na toksyczny i mutagenny potencjał związki te mogą stanowić zagrożenie dla konsumentów, choć ich

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, marta.pogorzelec@pwr.edu.pl.

wpływ na zdrowie człowieka jest trudny do jednoznacznej interpretacji, ponieważ choroby przez nie wywoływane często ujawniają się dopiero po wielu latach narażenia. W celu zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego konieczne jest przeprowadzanie procesów uzdatniania wody przeznaczonej na cele spożywcze. Niestety nie wszystkie szkodliwe związki chemiczne udaje się podczas nich usunąć, a co więcej podczas procesu dezynfekcji wody tworzą się produkty uboczne o charakterze toksycznym lub genotoksycznym. W związku z tym, proces dezynfekcji wody przeznaczonej do picia powinien być dokładnie kontrolowany. Warunki, jakie powinna spełniać woda przeznaczona do spożycia przez ludzi, szczegółowo określa Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 29 marca 2007 [19].

2. DEZYNFEKCJA WODY

Stale udoskonalane metody oczyszczania wody poprzez modyfikacje procesów i układów technologicznych nie zapewniają utrzymania stabilności chemicznej i biologicznej wody wprowadzanej do sieci wodociągowej. Powoduje to, że jakość wody u odbiorców jest często inna niż jakość wody wprowadzanej do sieci wodociągowej, gdyż ulega ona wtórnemu zanieczyszczeniu w systemie dystrybucji.

Jednym z głównych etapów uzdatniania wody jest dezynfekcja, która pozwala pozbyć się zagrożenia bakteriologicznego. Celem dezynfekcji jest zniszczenie żywych i przetrwalnikowych form organizmów patogennych oraz zapobieganie ich wtórnemu rozwojowi w systemie dystrybucji wody. Niewystarczająco efektywna dezynfekcja lub jej brak są przyczyną chorób wodopochodnych [8].

Metody dezynfekcji wody dzieli się na fizyczne (gotowanie i pasteryzacja, promieniowanie ultrafioletowe, ultradźwięki) oraz chemiczne (zastosowanie silnych utleniaczy). Praktykowane sposoby dezynfekcji niszczą organizmy chorobotwórcze powodując:

- nieodwracalną destrukcję komórek;
- zakłócenie procesów metabolicznych, w wyniku unieczynnienia enzymów;
- zakłócenie biosyntezy i wzrostu, wywołane brakiem możliwości syntezy białek, kwasów nukleinowych, koenzymów i błony komórkowej [8].

2.1. UBOCZNE PRODUKTY DEZYNFEKCJI

Dezynfekcja wody metodami chemicznymi polega na dawkowaniu do niej silnych utleniaczy, dlatego też podczas dezynfekcji wód zawierających związki organiczne i nieorganiczne równoległe do tego procesu przebiegają procesy przemiany związków organicznych i nieorganicznych. Niestety, stosowane środki dezynfekujące (najczęściej)

chlor, ditlenek chloru lub ozon) mogą reagować z obecnymi w wodzie związkami chemicznymi, co może prowadzić do powstania wielu innych niebezpiecznych substancji, określanych jako uboczne produkty dezynfekcji wody (UPD).

2.1.1. DEZYNFEKCJA CHLOREM

Ze względu na wysoką skuteczność i niski koszt najbardziej rozpowszechnioną metodą dezynfekcji wody jest chlorowanie za pomocą chloru gazowego. Najlepiej poznaną grupą ubocznych produktów chlorowania są trihalometany (THM). Przy ich tworzeniu powstaje szereg innych związków chloroorganicznych (np. chlorofenole), co wpływa znacząco na pogorszenie właściwości organoleptycznych wody. Proces ich tworzenia trwa do momentu wyczerpania jednego ze składników reakcji: chloru lub substancji organicznej. Im gorsza jest jakość wody poddawanej dezynfekcji chlorem, tym więcej może powstawać szkodliwych trihalometanów [15, 16, 24]. Wykaz trihalometanów oraz innych związków powstających jako uboczne produkty dezynfekcji wody chlorem przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Uboczne produkty dezynfekcji wody chlorem [1]

kwasy halogenooc-towe	chlorooctowy, bromooctowy, trichlorooctowy, dibromooctowy, tribromooctowy, bromochlorooctowy, dichlorobromooctowy, wodzian chloralu
trihalometany	trichlorometan, bromodichlorometan, dibromochlorometan, tribromometan
halogenoace-tonitryle	dichloroacetonitryl, bromochloroacetonitryl, trichloroacetonitryl, dibromoacetonitryl
chlorofenole	2-chlorofenol, 2,4-dichlorofenol, 2,4,6-trichlorofenol, pentachlorofenol
chloroalde-hydy	formaldehyd, acetaldehyd, benzoaldehyd, dichloroacetaldehyd, trichloroacetaldehyd
halogenoke-tony	chloropropanon, dichloropropanon, trichloropropanon, tetrachloropropanon, heksa-chloropropanon, chlorobutanon, dihydrobutanon, trichlorobutanon, metylopentanon
inne	Trichloronitrometan, MX (3-chloro-4-dichlorometylo-5-hydroksy-2(5H)furanon)

2.1.2. DEZYNFEKCJA DITLENKIEM CHLORU

W procesie dezynfekcji zamiast chloru gazowego coraz częściej stosuje się ditlenek chloru. Pozwala on wyeliminować tworzenie się szkodliwych trihalometanów. Wadą

stosowania dwutlenku chloru jest ryzyko powstawania chloranów i chlorynów. Podejrzewa się, że związki te jako silne utleniacze mogą powodować zmiany we krwi [15, 16, 24]. Uboczne produkty dezynfekcji wody przy zastosowaniu ditlenku chloru przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Uboczne produkty dezynfekcji wody ditlenkiem chloru [1]

kwasy karboksylowe	butanowy, pentanowy, heksanowy, heptanowy, 2-etyloheksanowy, oktanowy, nonanowy, dekanowy, undekanowy, tridekanowy, tetradekanowy, heksadekanowy, 2-etylo-3-metylomaleinowy, benzoesowy
aldehydy	formaldehyd, acetaldehyd, propanal, metylopropanal, pentanal, heksanal, heptanal, oktanal, benzaldehyd
ketony	2,3,4-trimetylocyklopenten-2-on, 2,6,6-trimetylo-2-cykoheksen-1,4-dion, tetrachloropropanon, trimetylocyklopentanon
związki aromatyczne	3-etylostyren, 2-etylostyren, etylobenzoaldehyd, naftalen, 2-metylnaftalen, 1-metylnaftalen
estry	ester dioktylu

2.1.3. DEZYNFEKCJA DITLENKIEM CHLORU + CHLOREM

Tabela 3. Uboczne produkty dezynfekcji wody ditlenkiem chloru + chlorem [1]

nienalogenowe związki	kwasy: butanowy, pentanowy, heksanowy, heptanowy 2-etyloheksanowy, oktanowy, nonanowy, dekanowy, undekanowy, tridekanowy, 2-etylo-3-metylomaleinowy, ester dioktylu
haloalkany	bromodichlorometan, dibromochlorometan, bromoform, tetrachlorobutan, chlorotribromometan
halo ketony	1,1,1-trichloro-2-propanon, 1-bromo-1,1-dichloro-2-propanon, 1,1,3,3-tetrachloro-2-propanon, 1,1,1,3,3-pentachloro-2-propanon, 2-chlorocykloheksan
haloacetonitryle	dibromochloroacetonitryl, dibromoacetonitryk
haloaldehydy	dichlorobutanol
inne związki chlorowane	1-chloroetanoloctan, 3-bromopropylchlorometylo-eter, 1,4-dichlorobenzen, 2-metylo-3,3-dichloropropenylo-dichlorometylo-eter, 1-chloroetylo-dimetylobenzen

W niektórych stacjach uzdatniania wody praktykuje się zarówno dezynfekcję wody ditlenkiem chloru jak i chlorem gazowym. Przykłady UPD powstałe podczas takiego rozwiązania zestawiono w tabeli 3.

2.1.4. DEZYNFEKCJA OZONEM

Alternatywą dla dezynfekcji wody z wykorzystaniem chloru i jego związków jest wykorzystanie ozonu. Zastosowanie ozonu do dezynfekcji stosuje się wówczas, gdy zawodzi chlorowanie z powodu tworzenia chlorowych pochodnych związków organicznych lub związków nadających wodzie smak i zapach. Ozonowanie wyraźnie poprawia właściwości organoleptyczne spożywanej wody. Ozon utlenia znajdujące się w wodzie mikrozanieczyszczenia, zarówno nieorganiczne jak i organiczne.

Proces ozonowania wód jest przyczyną utleniania jednego z naturalnych ich składników, tj. bromków, w wyniku czego powstają bromiany. Na podstawie badań toksykologicznych zostały one zakwalifikowane do potencjalnych kancerogenów, czyli do związków zwiększających ryzyko zachorowania na nowotwory [15, 16, 24]. Zestawienie związków powstających podczas ozonowania przedstawia tabela 4.

Znaczącą wadą ozonu, jako dezynfektanta jest jego mała trwałość, w związku z czym ozonowana woda pozostaje aseptyczna jedynie przez krótki czas.

Tabela 4. Uboczne produkty dezynfekcji wody ozonem [1]

kwasy karboksylowe	2-metylopropionowy, pentanokarboksylowy, 2-metylopentanokarboksylowy, t-butyloaleinowy karboksyl, benzoesowy, heksadekarboksylowy
aldehydy	cyjanofomaldehyd, formaldehyd, glioksal, metyloglioksal, acetaldehyd, propanal, butanal, pentanal, heksanal, heptanal, oktanal, nonanal, dekanal, benzaldehyd
ketony	aceton, fenylobutanon, butanon, 3-metylo-2-butanon, pentanon k. metylopropylowy, 2-heksanon, 3-heksanon, heptadekadienon
nitryle	benzoacetonitryl
bromiany	

2.2. WPŁYW UPD NA ZDROWIE

Uboczne produkty dezynfekcji wody mogą charakteryzować się właściwościami toksycznymi, mutagennymi oraz kancerogennymi [6, 14, 24]. Przy stosowaniu chloru cząsteczkowego lub związków chloru powstają substancje chloroorganiczne o właściwościach genotoksycznych [7]. Do związków uznawanych za mutagenne zalicza się

m.in.: 3-chloro-4(dichlorometylo)-5-hydroksy-2(5H)-furanon (MX), bromoetan, dibromoetan, bromochloroacetonitryl, dichloroacetonitryl, 1-bromobutan, bromochlorometan, bromodichlorometan, 1,2,-dichloroetan, bromoform. Informacje dotyczące wpływu wybranych UPD, powstających po zastosowaniu chloru i jego związków na organizm ludzki przedstawiono w tabeli 5. Z kolei ozon, powoduje utlenienie złożonych związków organicznych i powstawanie nowych szkodliwych substancji.

Tabela 5. Przykładowy chromosom

UPD	Wpływ na organizm ludzki
1,1,2-trichloroetan	Silna trucizna o działaniu narkotycznym. Wpływa na układ nerwowy, powoduje nerwowość, bóle głowy, nerwobóle, rozdrażnienie, zaburzenia pracy serca, utratę apetytu, uszkodzenie wątroby, nerek, wzroku, skóry oraz anemię. Związek o stwierdzonej aktywności rakotwórczej.
chlorany i nadchlorany	Mogą powodować methemoglobinemię - chorobę polegającą na występowaniu znacznych ilości methemoglobiny zamiast hemoglobiny, co wywołuje zaburzenia czynności narządów na skutek niedotlenienia tkanek.
chlorofenole	Grupa silnych trucizn, które powodują uszkodzenia układu nerwowego, oddechowego i krwionośnego. Mogą przyczyniać się do powstawania chłoniaków, białaczek oraz zmian alergicznych.
chloroform	Charakteryzuje się silnym działaniem narkotycznym na centralny układ nerwowy, powoduje zaburzenia widzenia, stany odurzenia, zawroty głowy, nerwobóle, bóle żołądka, marskość wątroby, nowotwory wątroby i nerek. Związek o stwierdzonej aktywności rakotwórczej.
chloronaftaleny	Grupa silnych trucizn, szczególnie niebezpiecznych dla dzieci. Powodują hemolizę krwi i zaccopowanie kanalików nerkowych. Mogą prowadzić do bólów i uszkodzenia wątroby, żółtaczki, egzemy.
haloformy	Związki o bardzo dużej toksyczności i szerokim negatywnym działaniu na organizm ludzki. Większość z nich uznana jest za czynniki silnie mutagenne i kancerogenne.
jon chlorynowy i chloranowy	Powodują anemię hemolityczną na skutek utlenienia błon komórkowych erytrocytów. Ich wysokie stężenie może powodować methemoglobinemię. Uznane za toksyczne.
kwas dichlorooctowy	Powoduje neuropatię, zmniejszenie masy ciała, nowotwory wątroby.
tetrachlorek węgla	Charakteryzuje się silnym działaniem narkotycznym na centralny i obwodowy układ nerwowy, powoduje zaburzenia widzenia, stany odurzenia, zawroty głowy, nerwobóle. Może powodować powiększenie i zwyrodnienie wątroby. Uszkadza nerki. Może powodować methemoglobinemię. Związek o stwierdzonej aktywności rakotwórczej.
tetrachloroetylen	Charakteryzuje się silnym działaniem toksycznym na centralny i obwodowy układ nerwowy. Powoduje zaburzenia widzenia, stany odurzenia. Może powodować powiększenie i zwyrodnienie wątroby, uszkodzenie nerek i mięśnia sercowego. Związek o stwierdzonej aktywności rakotwórczej.

3. METODY OCENY TOKSYCZNOŚCI I GENOTOKSYCZNOŚCI

Wykrycie oraz identyfikacja substancji obecnych w wodzie wodociągowej w oparciu o analizę chemiczną jest kosztowna i wymaga zastosowania nowoczesnych technik analitycznych. Sama analiza chemiczna nie powinna być podstawą do prognozowania biologicznych skutków jakie mogą wywołać uboczne produkty dezynfekcji wody na organizmy żywe. Stąd też istnieje konieczność zastosowania w kontroli jakości środowiska wodnego, obok metod analitycznych, badań bioindykacyjnych. W badaniach tych kluczową pozycję zajmują bakteryjne testy krótkoterminowe *in vitro* [11]. Często stosowaną metodą w badaniach oceny genotoksyczności próbek wody jest bakteryjny test *Salmonella*, zwany inaczej od nazwiska jego twórcy testem Ames [10, 12, 21, 22]. Oprócz testu Ames stosuje się także inne testy pozwalające na ocenę genotoksyczności, w tym: SOS-Chromotest, Test Umu, Vitotox, Mutatox, Test bioluminescencyjny z *Vibrio harveyi* [9, 13, 18, 20, 21, 23]. W wielu przypadkach uzyskano pokrywające się wyniki różnych testów z testem Ames. Przeprowadza się także ocenę toksyczności wody przy zastosowaniu testu Microtox, wykorzystującym bioluminescencję bakterii *Vibrio fischeri* [2, 5, 17, 23] oraz ocenę cytotoksyczności z zastosowaniem linii komórkowych [2, 10, 17, 25]. Równocześnie metodami chemicznymi poszukuje się markerów odpowiedzialnych za mutagenność wody przeznaczonej do spożycia.

4. PODSUMOWANIE

Podczas uzdatniania wody przeznaczonej na cele konsumpcyjne niezbędne jest zastosowanie dezynfekcji, w celu wyeliminowania zagrożenia mikrobiologicznego. Wiele stacji uzdatniania wody zamiast podstawowego dotychczas chlorowania stosuje inne dezynfektanty, takie jak ozon, ditlenek chloru czy chloraminy. Ogranicza to tworzenie się organicznych ubocznych produktów dezynfekcji (np. trihalometanów), lecz może powodować wzrost stężeń innych substancji, takich jak: bromiany(V), chlorany(III) i chlorany(V). Niektóre z nich są klasyfikowane jako prawdopodobnie rakotwórcze dla ludzi.

Konieczne są dalsze badania w celu określenia efektów działania ubocznych produktów dezynfekcji wody. Jednakże niezależnie od tego powinno się dążyć do zmniejszania ich stężeń w wodzie. Należy jednak mieć na uwadze, że podejmowane działania nie powinny zmniejszać skuteczności dezynfekcji wody.

Praca opracowana w ramach dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich, nr zlecenia: B50557.

LITERATURA

- [1] DOJLIDO J., *Ubozne produkty dezynfekcji wody*, Wydawnictwo Zarządu Głównego Polskiego Zrzeszenia Inżynierów i Techników Sanitarnych, No. 798, 2002.
- [2] FARRÉ M.J., DAY S., NEALE P.A., STALTER D., TANG J.Y.M., ESCHER B.I., *Bioanalytical and chemical assessment of the disinfection by product formation potential: Role of organic matter*, Water Research, 2013, Vol. 47, 5409–5421.
- [3] GROMIEC M., SADURSKI A., ZALEWSKI M., ROWIŃSKI P., *Zagrożenia związane z jakością wody*, Nauka, 2014, No.1, 99–122.
- [4] *Guidlines For Drinking-Water Quality*. Third edition, Vol. 1, Recommendations, World Health Organization, Geneva 2004.
- [5] HALMI M.I.E., KAI I.P. R., JOHARI W.L.W., SHUKOR M.Y., *Toxicity Assessment of Bioluminescent Rapid Bioassays (Vibrio fischeri) on Selected DBPs*, Journal of Environmental Microbiology & Toxicology, 2014, Vol. 2. No. 2, 47–52.
- [6] KENNETH P., *Carcinogens in Drinking Water: The Epidemiologic Evidence*, Reviews on Environmental Health, 2010, Vol. 25, No. 1, 9–16.
- [7] KOIVUSALO M.T., *Drinking water mutagenicity and cancer*, Publications of the National Public Health Institute, ISBN 951-740-083-7, A8, 1998.
- [8] KOWAL A.L., ŚWIDERSKA-BRÓŹ M., *Oczyszczanie wody*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007.
- [9] KUSAMRAN W.R., TANTHASRI N., MEESIRIPAN N., TEPSUWAN A., *Mutagenicity of the Drinking Water Supply in Bangkok*, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2003, Vol. 4, 31–38.
- [10] LAH B., ŽINKO B., TIŠLER T., MARINŠEK-LOGAR R., *Genotoxicity Detection in Drinking Water by Ames Test, Zimmermann Test and Comet Assay*, Acta Chimica Slovenica, 2005, Vol. 52, 341–348.
- [11] LUK G.K., *Evaluating safety of drinking water using animal cell bioassays*, Transactions on Biomedicine and Health, 2007, Vol. 11, 127–136.
- [12] LV X., YANG X., DONG X., MA K., XIAO S., WANG Y., TANG F., *Mutagenicity of drinking water sampled from Yangtze River and Hanshui River (Wuhan section) and correlations with water quality parameters*, Scientific Reports, 2015, No. 5, 1–8.
- [13] MACOVA M., TOZE S., HODGERS L., MUELLER J.F. BARTKOW M., ESCHER B.I., *Bioanalytical tools for the evaluation of organic micropollutants during sewage treatment, water recycling and drinking water generation*, Water Research, 2011, Vol. 45, 4238–4247.
- [14] MCGREGOR D.B., *Genotoxic Chemicals in the Human Environment: Their Identification and Interaction*, Methods for Assessing the Effects of Mixtures of Chemicals, 1987, 523–542.
- [15] NAWROCKI J., *Oznaczenie ubocznych produktów dezynfekcji wody*, [w:] Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym, Rozdział 21, 2003, 445–477.
- [16] NAWROCKI J., *Ubozne produkty utlenienia i dezynfekcji wody - doświadczenia ostatnich 30 lat*, Ochrona Środowiska, 2005, Vol. 27, No. 4, 3–12.
- [17] NEALE P.A., ANTONY A., BARTKOW M.E., FARRÉ M.J., HEITZ A., KRISTIANA A., TANG J.Y.M., ESCHER B.I., *Bioanalytical Assesment of the Formtion of Disinfection Byproducts in a Drinking Water Treatment Plant*, Environmental Science & Technology, 2012, Vol. 48, 10317–10325.
- [18] PODSIADŁY T., *Genotoksyczność wody do picia w wybranych wodociągach*, Ochrona Środowiska, 1999, Vol. 3, No. 74, 45–48.

- [19] *Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U.Nr 61, poz. 417 z późn. zm.)*.
- [20] SHEN L., WU J.-Y., LIN G.-F., SHEN J.-H., WESTENDORF J., HUECHNERFUSS H., *The mutagenic potentials of ta water samples in Shanghai*, Chemosphere, 2003, Vol. 52, 1641–1646.
- [21] TRACZEWSKA T.M., *Biologiczne metody oceny skażenia środowiska*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2011.
- [22] TRUSZ-ZDYBEK A., *Prognozowanie potencjalnej mutagenności wody powierzchniowej, po jej oczyszczeniu i dezynfekcji chlorem*, Praca doktorska, Wrocław, 2009, dostępne w Internecie: http://www.dbc.wroc.pl/Content/3440/Trusz_Prognozowanie_PhD.pdf.
- [23] ZANI C., FERETTI D., BUSCHINI A., POLI P., ROSSI C., GUZZELLA L., DI CATERINO F., MONARCA S., *Toxicity and genotoxicity of surface water before and after various potabilization steps*, Mutation Research, 2005, 587, 26–37.
- [24] ZBIEĆ E., DOJLIDO J. R., *Uboczne produkty dezynfekcji wody*, Ochrona Środowiska, 1999, Vol. 3, No. 74, 37–44.
- [25] ŽEGURA B., HEATH E., ČERNOŠA A., FILIPIČ M., *Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples*, Chemosphere, 2009, Vol. 75, 1453–1460.

THE EFFECT OF WATER DISINFECTION BY-PRODUCTS ON LIVING ORGANISMS

Organic compounds, both natural and anthropogenic origin, which are present in surface water, during the process of water disinfection, form other harmful compounds, referred as water disinfection by-products (DBPs), which are one of the factors responsible for cancer in humans. During chlorination of water DBPs are formed, e.g. trihalomethanes (THM), haloacetic acids, chlorophenols, halogenated ketones, halogenated nitriles, trichlorobenzenes, hydroxyl furans, MX, and organic halogen compounds (AOX). Many of them can be potentially mutagenic, genotoxic or carcinogenic. In this paper water disinfection process has been characterized. The effect of DBP on living organism has been described as well as methods of their genotoxicity analysis.

*przemysł spożywczy,
ścieki z przemysłu owocowo-warzywnego,
kampanijność produkcji*

Monika PUCHLIK, Joanna STRUK-SOKOŁOWSKA, Elżbieta WOŁEJKO,
Urszula WYDRO*

PROBLEM OCZYSZCZANIA ŚCIEKÓW Z PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO W MAŁYCH I ŚREDNICH PRZEDSIĘBIORSTWACH

Przemysł spożywczy należy do działu gospodarki narodowej, który zajmuje się pozyskiwaniem i przetwarzaniem zasobów naturalnych. Jest jednym z ogniw gospodarki żywnościowej, która składa się z wielu członów ściśle powiązanych ze sobą. Celem artykułu było określenie problemu oczyszczania ścieków z przemysłu spożywczego w zakładach zlokalizowanych na terenach o rozproszonej zabudowie. Zaobserwowano, iż znaczna liczba zakładów przetwórstwa żywności, dotyczy głównie branży owocowo-warzywniej charakteryzującej się sezonowością produkcji, która uwarunkowana jest rodzajem produkcji, zapotrzebowaniem oraz dostępnością surowców.

1. WPROWADZENIE

Przedsiębiorstwa przemysłu spożywczego ze specyfiką poszczególnych branż mogą stanowić źródło wielu zagrożeń dla wszystkich elementów środowiska naturalnego – gleby, wody, powietrza, roślin, zwierząt i człowieka. Problematyka ochrony środowiska w przemyśle spożywczym dotyczy przede wszystkim gospodarki wodno-ściekowej. Przemysł spożywczy należy do działu gospodarki narodowej, który zajmuje się pozyskiwaniem i przetwarzaniem zasobów naturalnych. Jest jednym z ogniw gospodarki żywnościowej, która składa się z wielu członów ściśle powiązanych ze sobą. Przemysł spożywczy zajmuje centralne miejsce w gospodarce żywnościowej. Jego celem jest zaspokajanie podstawowych potrzeb ludności, które z jednej strony są wyznaczone przez potrzeby konsumenta, a z drugiej strony przez potrzeby i możliwości, przede wszystkim

* Politechnika Białostocka, Katedra Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska, ul. Wiejska 45E, 15–351 Białystok, m.puchlik@pb.edu.pl.

rolnictwa. Przemysł spożywczy cechuje silne zróżnicowanie: występuje tu zarówno wstępne przetwarzanie płodów rolnych, jak i uzyskiwanie produktów o wysokim stopniu przetworzenia.

2. PRZEMYSŁ SPOŻYWCZY W POLSCE

Podmioty należące do przemysłu spożywczego można podzielić według, Polskiej Klasyfikacji Działalności, na dwa główne działy: - produkcję artykułów spożywczych oraz produkcję napojów. Ze względu na wykorzystanie surowców do przerobu można wyróżnić przemysły spożywcze dwa segmenty: przetwórstwo produktów zwierzęcych (przetwórstwo mięsne, drobiarskie, mleczarskie i rybne) oraz przetwórstwo produktów rolnych (przetwórstwo zbożowo-makaronowe, ziemniaczane, owocowo-warzywne, cukrownicze i olejarskie). Stopień przetworzenia produktów rolnych oraz produktów zwierzęcych można zaliczyć do przetwórstwa pierwotnego, natomiast do przetwórstwa wtórnego można zaliczyć przetwórstwo piekarskie, paszowe, cukiernicze, produkcję koncentratów spożywczych oraz napojów bezalkoholowych. Zdaniem Małińskiej, znaczenie przemysłu spożywczego wzrasta w miarę postępu urbanizacji i oddalania się rejonów spożycia od rejonów rolnych oraz zwiększania produkcji rolnej [11]. Około 2/3 roślinnych płodów rolnych ulega przetworzeniu zanim staje się przedmiotem konsumpcji. Niektóre płody, rolne jak buraki, rzepak, są w całości wykorzystywane do przerobu w przemyśle spożywczym. Warzywa i owoce są częściowo spożywane w stanie świeżym, a część jest przeznaczona na przetwory: ogórki (40% udział surowców przetworzonych), pomidory (50%), jabłka (60%), truskawki (50%), porzeczki (80%). Przemysł spożywczy jest jednym z najważniejszych sektorów polskiej gospodarki. Producenci żywności są odpowiedzialni za produkcję szerokiej gamy produktów spożywczych, spełniających szereg zmieniających się potrzeb konsumentów [6,7]. Małińska podaje, iż największą wartość produkcji generowała w 2011 roku branża mięsna – 29,3% produkcji sprzedanej artykułów spożywczych. Drugą branżą co do wielkości udziału w produkcji sprzedanej był przemysł mleczarski o udziale 16,5%. Na trzeciej pozycji był przemysł owocowo-warzywny z udziałem 7,5%. Wśród przetworów owocowych produkowanych w kraju dominują mrożonki. Ich udział w produkcji przetworów owocowych wynosił średnio 40%. Stosunkowo duży udział miały także soki zagęszczone – 30% [11]. Udział dżemów oraz marmolad, powideł i przecierów wynosił ogółem 16%. Produkcja przetworów owocowych zwiększyła się o 28%: z 790 tys. ton w roku 2004/2005 do 1010 tys. ton w roku 2012/2013. W przypadku soków zagęszczonych i mrozonek wzrost ten wyniósł odpowiednio 40% i 7%, a dla soków pitnych, nektarów i napojów – 18%. Zmniejszyła się o 7% przeciętna wielkość produkcji dżemów, marmolad, powideł i przecierów [1, 6, 11].

3. GOSPODARKA WODNO- ŚCIEKOWA W PRZEMYSŁE SPOŻYWCZYM

Szacuje się, że największą ilość wody zużywa się na mycie surowców, szczególnie w przetwórstwie owocowo-warzywnym, (buraki cukrowe i ziemniaki), które może w niektórych zakładach stanowić do 50% całkowitego zużycia wody. Większość z tych zakładów nie prowadzi analiz zużycia wody w różnych etapach procesów produkcyjnych [10, 11]. Poważnym problemem są ścieki pochodzące z przedsiębiorstw przemysłu spożywczego. Powstają one na różnych etapach procesów technologicznych, np. podczas mycia i przeróbki surowców. Ilość i rodzaj ścieków z przetwórstwa żywności w dużym stopniu uwarunkowane są branżą, technologią i sezonowością produkcji jak również ilością zużywanej wody [13, 14]. Obecnie, coraz częściej procesy oczyszczania ścieków opierają się na wykorzystaniu metod biologicznych [9]. W przypadku ścieków z zakładów przetwórstwa owocowo-warzywnego, mogą one stanowić ok. 18% ilości ścieków odprowadzonych z przemysłu spożywczego, z czego 45% zostało odprowadzonych do wód powierzchniowych, 39% do kanalizacji miejskiej a 15% do ziemi lub zbiorników. Warunki jakie należy spełniać przy wprowadzeniu ścieków do wód lub do ziemi oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego określa Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 16 grudnia 2014 roku [17]. Wprowadzone do wód lub do ziemi ścieki nie powinny wywoływać zmian chemicznych, fizycznych i biologicznych. Zmiany takie utrudniałyby lub uniemożliwiały prawidłową pracę odbiornika oraz spowodowałyby nie spełnienie określonych wymagań jakościowych zgodnych z ich użytkowaniem.

Wymagany efekt oczyszczania ścieków, nazywany także stopniem oczyszczania lub sprawnością działania oczyszczalni ścieków, jest wynikiem obecności zanieczyszczeń w ściekach doprowadzanych do oczyszczalni, oraz związany jest z warunkami jakie powinny spełniać ścieki oczyszczone wprowadzane do odbiornika. Obowiązujące przepisy prawne określają, jaka powinna być jakość ścieków odprowadzanych do odbiornika.

Okolo 82% ścieków z przemysłu spożywczego wymagających oczyszczenia było poddawanych procesom mechanicznym (15%) oraz procesom biologicznego oczyszczenia (85%) [10, 11]. Problemem w sektorze owocowo-warzywnym jest ilość ścieków technologicznych powstałych średnio z 70–90% pobranej do tego celu wody. W zakładach produkujących soki i napoje ilość ta wynosi 30–60%, gdyż reszta jest odprowadzana w produkcie. Poszczególne zakłady przetwórstwa owoców i warzyw, w zależności od rodzaju przerabianego surowca i rodzaju produkcji, charakteryzują się zróżnicowanym zapotrzebowaniem na wodę. Większość to zakłady o dużej wodochłonności, do czego dochodzi problem sezonowości przerabianego surowca [2, 13]. W takich warunkach koniecznością staje się wprowadzanie wodo- oszczędnych technologii oraz prowadzenie gospodarki wodno-ściekowej w sposób optymalizujący ilość zużywanej wody i jakość odprowadzanych ścieków. Przedsiębiorstwa branży owocowo-warzywnej pobierają wodę z własnych ujęć podziemnych, którą stosuje do wytwarzania

wody kotłowej, do hydrotransportu, mycia i chłodzenia. Woda z ujęć własnych jest uzdatniana, poprzez usunięcie z niej nadmiaru żelaza i manganu oraz w procesach wymiany jonowej; rzadziej stosuje się napowietrzanie i filtrację. Około 20% zakładów pobiera wodę z sieci wodociągowej [2, 15]. Zużycie wody dla różnych rodzajów wyrobów przedstawiono w tabeli 1.

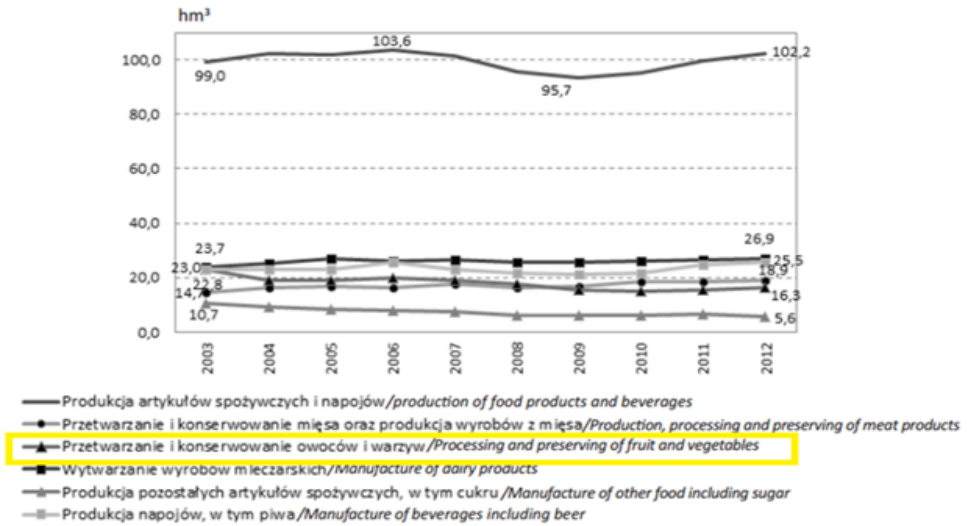
Tabela 1. Jednostkowe zużycie wody dla różnych rodzajów wyrobów [2]

Produkcja	Wskaźnik zużycia wody w m ³ /tonę
Dżem	13–25
Fasolka konserwowa	14
Fasolka mrożona	12
Kompoty	9
Konserwy warzywne	10
Mrożonki owocowe	7
Soki warzywne	16
Soki pomidorowe	13
Zagęszczone soki owocowe	40
Przeciery	6–12
Ogórki konserwowe	9

Wielkość zużycia wody zależy także od rodzaju prowadzonej produkcji, stosowanej technologii i ilości zamkniętych obiegów wody technologicznej. Przyczynami nadmiernego zużycia wody jest brak zamkniętych obiegów wody technologicznej z mycia i wody chłodzącej, nieszczelności z rurociągów, wycieki z urządzeń oraz brak nadzoru i optymalizacji zużycia wody w procesach ręcznych i mechanicznych. Średnie zapotrzebowanie na wodę (w m³/tonę produktu) do operacji jednostkowych można oszacować na poziomie: mycie owoców 1,0–4,0 m³/t, mycie warzyw 1,8–2,5 m³/t, obieranie warzyw 3,0–5,0 m³/t, blanszowanie 0,5–1,0 m³/t, chłodzenie 0,5–1,5 m³/t [2, 13]. Zużycie wody w przemyśle spożywczym w latach 2006–2012 przedstawia rysunek 1.

Według danych GUS zapotrzebowanie na wodę w przemyśle spożywczym już w 2006 roku wynosiło 106,6 hm³, przy czym ilość wody z ujęć własnych wynosiła 93,2 hm³. Z całkowitej ilości wody przemysł owocowo-warzywny zużył 19,9 hm³, a z własnych ujęć pochodziło aż 17,6 hm³. Z powyższych danych wynika, iż znaczna część zakładów korzysta z własnych ujęć, przy czym aż 73% pobieranych wód to wody podziemne [8, 13, 14].

Przetwórstwo owocowo-warzywno jest bardzo rozpowszechnione. Identyfikacja skali problemu oddziaływania zakładów przemysłu spożywczego na środowisko jest niezmiernie trudna. Wynika to między innymi ze struktury branży w Polsce, która charakteryzuje się dużym stopniem rozdrobnienia oraz kampanijnością produkcji.



Rys. 1. Zużycie wody w przemyśle spożywczym w latach 2003–2012 [8]

Obecnie w Polsce przetwórstwem owocowo-warzywnym zajmuje się ok. 2400 zakładów. Ponad 90% ogólnej liczby przetwórci to małe zakłady, które zatrudniają od 1 do 50 pracowników. Duże zakłady stanowią jedynie 6% wszystkich przetwórci zarejestrowanych w rejestrze REGON [6]. W sezonie 2013/2014 przetworzono 1015–1020 tys. ton owoców oraz 1070 tys. ton warzyw [1, 6, 7]. W tym okresie w Polsce najwięcej produkowano soków zagęszczonych, mrożonek oraz dżemów, konfitur i przecierów. Natomiast w przetwórstwie warzywnym dominowały mrożonki, konserwy oraz koncentraty, keczupy i sosy pomidorowe [2, 5].

Obecnie, owoców przetwarza się więcej niż warzyw (około 60%). Najwięcej przerabia się jabłek i truskawek, inne owoce w przetwórstwie to m.in: czarna i czerwona porzeczka, wiśnie, śliwki, maliny, aronia, agrest. Wśród warzyw dominują pomidory; przerabia się także: ogórki, kalafiory, marchew, buraki, kapustę, brukselkę, fasolkę szparagowa, groszek zielony, pory, selery, kalarepę, cebulę. Owoce i warzywa przetwarza się na bieżąco, gdyż dłuższe ich przechowywanie może spowodować pogorszenie jakości surowca. Z tego względu większość przedsiębiorstw magazynuje ten surowiec w ilości pozwalającej na utrzymanie jedno- lub dwu-dniowej produkcji. Większe zakłady prowadzą kontrolę surowca roślinnego na obecność pozostałości pestycydów, znacznie rzadziej kontrolowany jest poziom azotanów w owocach i warzywach. Większość małych podmiotów nie wykonuje takich badań. Przemysł owocowo-warzywny pozostawia stosunkowo dużo ścieków. Pochodzą one z obróbki i konserwowania wykorzystywanych surowców. W pierwszym etapie owoce i warzywa są myte, oczyszczane i/lub drylowane oraz sortowane. Ścieki z mycia owoców/warzyw są zazwyczaj wykorzystywane jednokrotnie, chociaż część zakładów zamknęło obieg wody myjącej

[2, 11, 13]. W takim wypadku jest ona podczyszczana na sitach i zrucana do kanalizacji po umyciu całej partii owoców lub warzyw, a na jej miejsce pobierana jest nowa woda. Z przerobu jednej tony owoców i warzyw powstaje od 5 do 20 m³ ścieków. Łączna ilość ścieków w kraju waha się w zależności od roku, pomiędzy 16 a 19 hm³.

Podaje się, że w roku 2014 zakłady przetwórstwa owocowo-warzywnego zużyły 17,7 hm³ wody, z czego odprowadzono 14,8 hm³ ścieków. Z tak dużej ilości ścieków tylko 48% zostaje wstępnie oczyszczona w podczyszczalniach zakładowych, reszta ścieków jest odprowadzana bezpośrednio do wód lub ziemi [1, 2]. W dużych i dobrze zorganizowanych zakładach ścieki są oczyszczane we właściwy sposób, lecz wielu podmiotach ich oczyszczanie ogranicza się do mechanicznego oczyszczania. Znacznie gorzej prezentują się sytuacja w średnich zakładach, a najgorzej w małych, gdyż odprowadzają nieczyszczone ścieki bezpośrednio do ziemi [9].

Procesom biologicznego oczyszczania poddawanych jest 79% ścieków powstających w zakładach przetwórstwa owocowo-warzywnego, a z podwyższonym usuwaniem biogenów – 17% [13]. Powstające ścieki są ubogie w azot i fosfor, charakteryzują się dużą zawartością związków mineralnych i organicznych oraz zmiennym składem, zależącym głównie od rodzaju przerabianego surowca. Wpływ na skład ścieków mają także procesy mycia oraz dezynfekcji aparatury przemysłowej [7]. W przypadku braku miejsca na oczyszczalnię ścieków, celowe jest staranne oddzielenie silniej zanieczyszczonych wód z mycia i blanszowania od mniej obciążonych wód chłodniczych i kondensacyjnych. Wstępnie ścieki oczyszczane są na kratkach i sitach. Następnie oczyszczane są chemicznie głównie przez wapnowanie w połączeniu z solami żelaza i glinu. Chemiczne oczyszczanie ścieków oraz sedymentacja obniża wartość BZT₅ o około 50% [12]. Wstępnie sklarowane ścieki mogą być oczyszczane na złożach biologicznych wraz ze ściekami bytowo-gospodarczymi. Trudnością ich wspólnego oczyszczania może być sezonowość oraz zmienny skład ścieków z przemysłu owocowo-warzywnego [3]. Trudności związane z oczyszczaniem ścieków z małych i średnich przetwórní owocowo-warzywnych, które nie mają dostępu do sieci kanalizacyjnej skłoniły do podjęcia próby ich oczyszczania przy pomocy systemów hydrofitowych. Funkcjonowanie oczyszczalni hydrofitowych opiera się na wykorzystaniu takich samych procesów fizycznych, chemicznych i biologicznych, jakie zachodzą w naturalnych ekosystemach bagiennych przy udziale różnych zespołów mikroorganizmów oraz odpowiednio dobranych roślin [18]. Usuwanie zanieczyszczeń w złożach hydrofitowych związane jest głównie z funkcjonowaniem błony biologicznej, tworzącej się podczas przepływu ścieków przez złożo [4]. Z badań Puchlik wynika, że w złożu hydrofitowym o przepływie pionowym, zmniejszenie wartości BZT₅ dochodziło do 68,2%, a ChZT_{Cr} – do 79,3% [16]. W przypadku badanych parametrów widoczna była ich znaczna zmienność wywołana sposobem realizacji procesu produkcji w małej przetwórní owoców i warzyw. Charakteryzowała się ona bowiem występowaniem okresów wzmożonej produkcji soków owocowo-warzywnych, jak i przestojów na liniach technologicznych, w czasie których prowadzono konserwację i płukanie urządzeń linii technologicznych. W ściekach z małej

przetwórní owocowo-warzywnej podstawowym zanieczyszczeniem była substancja organiczna. Z porównania stężeń związków azotu zauważono, że dominującą formą w ściekach była frakcja organiczna 91,1%. Natomiast znaczna ilość azotu organicznego była charakterystyczna dla zakładów z branży spożywczej. Stwierdzono, iż ostateczna ocena przydatności złóż hydrofitowych z przepływem pionowym do oczyszczania ścieków z małych i średnich przetwórní owocowo-warzywnych wymaga dalszych badań nad określeniem efektywności oczyszczania złóż hydrofitowych [16].

4. PODSUMOWANIE

Ze względu na strukturę przemysłu spożywczego w Polsce, która charakteryzuje się dużym stopniem rozproszenia i przeważającą liczbą małych i średnich przedsiębiorstw, identyfikacja skali problemów i potrzeb związanych z ochroną środowiska jest w pewnym stopniu utrudniona. W dużych przedsiębiorstwach przetwórstwa spożywczego, mających decydujący wpływ na stan środowiska, praktyki w zakresie gospodarki wodno-ściekowej oraz odpadowej spełniają podstawowe zalecenia i wymogi ochrony środowiska. Większość z nich cechuje kompleksowe podejście do zagadnień ochrony środowiska. Wprowadzają one działania usprawniające procesy technologiczne, posiadają niezbędne urządzenia ochronne czy też realizują inwestycje proekologiczne [13, 14]. W przypadku małych i średnich przedsiębiorstw, przestrzeganie regulacji i zaleceń dotyczących ochrony środowiska nie jest zadowalające i wymaga przyjęcia podejścia kompleksowego oraz wielu zmian dostosowawczych do przyjętych już standardów. Zakłady przemysłu spożywczego, w oparciu o analizę poszczególnych etapów produkcyjnych, powinny dążyć do zmniejszenia zużycia ilości wody poprzez wprowadzenie zamkniętych obiegów wody, a tym samym do zmniejszenia ilości produkowanych ścieków. Ścieki pochodzące z zakładów przetwórstwa żywności powinny spełniać wymagania norm krajowych lub zakładowych dla ścieków odprowadzanych do kanalizacji lub wód powierzchniowych. Przedsiębiorstwa, w których ścieki znacznie obciążają środowisko, powinny znaleźć środki na budowę własnych oczyszczalni ścieków. W dużych zakładach, o produkcji ciągłej, najpopularniejsze są złoza biologiczne i osad czynny, natomiast przy produkcji sezonowej i w mniejszych jednostkach chętnie stosuje się oczyszczalnie hydrobotaniczne [14].

W oparciu o dostępne dane, głównym kierunkiem zagospodarowywania odpadów z przetwórstwa, jak również produkcji żywności jest ich odzysk (89,0%) poprzez sprzedaż na pasze, nawozy czy też komponenty do kompostu, jak również zastosowanie odpadów do produkcji alkoholi, kwasów organicznych oraz barwników. Przyjmuje się, że pozostałe odpady są magazynowane (4,7%), składowane (4,2%) lub unieszkodliwiane poza składowaniem (2,1%). Osady ściekowe pochodzące z zakładowych oczyszczalni

ścieków zagospodarowywane są poprzez wspólne kompostowanie lub poddane biodegradacji z przeznaczeniem na cele rolnicze [2, 13].

Praca powstała w ramach realizacji pracy własnej MB/WBiIS/13/2015 w Katedrze Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska Politechniki Białostockiej.

LITERATURA

- [1] ANALIZY RYNKOWE 2014, *Rynek owoców i warzyw*, Wyd. IERiGŻ, Warszawa, 2014.
- [2] BAT-*najlepsze dostępne techniki dla przemysłu owocowo-warzywnego*, Warszawa 2004.
- [3] BARTKIEWICZ B., UMIEJEWSKA K., *Oczyszczanie ścieków przemysłowych*, Wyd. PWN 2010, 188–213.
- [4] BRIX H., *Treatment of wastewater in the rhizosphere of wetland plants – the root – zone method*, Water Science and Technology, 1987, Vol. 19.
- [5] FILIPIAK T., *Zmiany na rynku warzyw i w gospodarstwach warzywniczych w Polsce po integracji z Unią Europejską*, SGGW, Warszawa 2014.
- [6] GŁÓWNY URZĄD STATYSTYCZNY 2015, *Podmioty gospodarki narodowej zarejestrowane w rejestrze REGON, deklarujące prowadzenie działalności, według szczególnych form prawnych oraz PKD200*, Kwartalna informacja o podmiotach gospodarki narodowej w rejestrze REGON deklarujących prowadzenie działalności.
- [7] GŁÓWNY URZĄD STATYSTYCZNY, *Ochrona środowiska, Informacje i opracowania statystyczne*. Warszawa 2013–2015.
- [8] KASZTELAN A., KIEREPKA M., *Oddziaływanie przemysłu spożywczego na środowisko w Polsce*, Stowarzyszenie Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu Roczniki Naukowe, Vol. XVI, No. 2.
- [9] ŁOMOTOWSKI i in., *Nowoczesne systemy oczyszczania ścieków*, Wydawnictwo Arkady, Warszawa 2002.
- [10] MAKOSZ E., *Program działań dostosowawczych w zakresie ochrony środowiska w branży owocowo-warzywnej*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 2000, 41–43.
- [11] MALIŃSKA K., *Problemy ochrony środowiska w przedsiębiorstwach przemysłu spożywczego* <http://www.srodowiskoazdrowie.pl/wpr>.
- [12] MEINCK F., STOOF H., *Ścieki Przemysłowe*, 1975, 487–492.
- [13] NAWIRSKA A., *Gospodarka wodno-ściekowa w przemyśle owocowo-warzywnym*, Agro Przemysł 2007, 65–67.
- [14] NAWIRSKA A., *Minimalizacja zużycia wody i ilości odprowadzanych ścieków w przemyśle spożywczym*, Abrys, Poznań 2005, 12–18.
- [15] OBARSKA-PEMPKOWIAK H., *Oczyszczalnie hydrofitowe*, Politechnika Gdańska, Gdańsk 2002.
- [16] PUCHLIK M., *Application of constructed wetlands for treatment of wastewater from fruit and vegetable industry*, J. Ecol. Eng., 2016, Vol. 17, No. 1, 131–135.
- [17] ROZPORZĄDZENIE MINISTRA ŚRODOWISKA z dnia 18 listopada 2014 r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (Dz. U. z 2014 poz. 1800).
- [18] VYMAZAL J., *Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment*, Ecol. Eng., 2005, Vol. 25, No. 5.

PROBLEM OF SEWAGE TREATMENT WITH FOOD INDUSTRIES
IN SMALL AND MEDIUM ENTERPRISES

The food industry is part of the department of national economy, which is engaged in the acquisition and processing of natural resources. It is one of the links in the food economy, which is composed of many members closely related. The aim of the article was to determine the problem of wastewater from the food industry plants located in areas with dispersed development. It has been observed that a large number of food processing plants, focuses on fruit and vegetable industry is characterized by seasonality of production, which is conditioned by the type of production, demand and availability of raw materials.

Paweł REGUCKI*, Barbara ENGLER**

ANALIZA ZMIAN STĘŻENIA SIARCZANÓW W ZAMKNIĘTYM OBIEGU WODY CHŁODZĄCEJ BLOKU ENERGETYCZNEGO

W pracy przedstawiono model matematyczny opisujący zmianę stężenia jonów siarczanowych SO_4^{2-} w zamkniętym obiegu wody chłodzącej bloku energetycznego. Analizowana instalacja obejmuje układ chłodzenia, w skład którego wchodzi: skraplacze bloków energetycznych oraz chłodnie kominowe połączone systemem kanałów ssących i kolektorów tłocznych. Cyrkulująca w układzie woda jest podgrzewana w kondensatorze na skutek odbioru ciepła skraplania z przetworzonej pary wodnej za ostatnim stopniem turbiny, a następnie schładzana w chłodni kominowej. Głównym mechanizmem wymiany ciepła w chłodni jest częściowe odparowanie przepływającej przez nią wody, co powoduje jednak wzrost zawartości związków chemicznych w cyrkulującej wodzie. Jest to efekt niekorzystny, ponieważ nadmierny wzrost stężenia jonów siarczanowych SO_4^{2-} w obiegu może powodować korozję betonowych części przewodów oraz elementów konstrukcyjnych chłodni. Jedynym mechanizmem umożliwiającym obniżenie w obiegu chłodzącym stężenia niepożądanych związków chemicznych jest okresowy zrzut części wody do przyzakładowej oczyszczalni ścieków. Zgodnie z najnowszymi rozporządzeniami prawnymi; Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 18 listopada 2014 roku oraz dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/75/UE z dnia 24 listopada 2010 r. w sprawie emisji przemysłowych [1], od początku roku 2016 obowiązują nowe limity dotyczące składu chemicznego ścieków technologicznych kierowanych do zbiorników naturalnych, które wymuszają planową i oszczędną gospodarkę wodno-ściekową przedsiębiorstwa. Prezentowany model matematyczny umożliwia przewidywanie dobowego wzrostu stężenia jonów siarczanowych SO_4^{2-} w obiegu wodnym kondensatory – chłodnie kominowe oraz pozwala określić optymalny strumień objętości odprowadzanych ścieków ze względu na aktualną konfigurację pracy bloków energetycznych elektrowni zawodowej.

* Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczno-Energetyczny, Katedra Technologii Energetycznych, Turbin i Modelowania Procesów Ciepłno-Przepływowych, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, pawel.regucki@pwr.edu.pl.

** Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczno-Energetyczny, Katedra Termodynamiki, Teorii Maszyn i Urządzeń Ciepłych, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, barbara.engler@pwr.edu.pl.

1. WPROWADZENIE

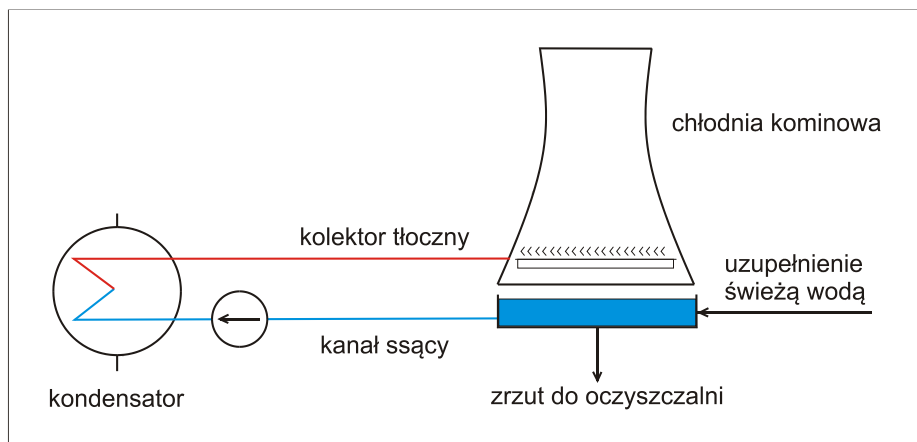
W elektrowniach zawodowych i elektrociepłowniach woda jest powszechnie wykorzystywana w szeregu procesach technologicznych obejmujących między innymi: obieg wodno-parowy kotła energetycznego, układ chłodzący boku energetycznego, instalacje chłodzące urządzenia pomocnicze kotła czy układ oczyszczania spalin. Każdy z wymienionych procesów technologicznych wymaga zapewnienia dostaw wody o odpowiednich własnościach fizyko-chemicznych w celu utrzymania ciągłości wytwarzania energii elektrycznej i ciepłej [3]. Prawidłowa gospodarka wodno-ściekowa przedsiębiorstwa musi uwzględniać najnowsze rozporządzenia prawne; Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 18 listopada 2014 roku oraz dyrektywę Unii Europejskiej [1], które nakładają z początkiem roku 2016 nowe limity dotyczące składu fizykochemicznego ścieków technologicznych kierowanych do zbiorników naturalnych. Wprowadzone ograniczenia mają szczególne znaczenie dla elektrowni zawodowych, ponieważ dobowe zapotrzebowanie na świeżą wodę w tych zakładach nierzadko sięga kilkudziesięciu tysięcy m³. Powoduje to, że są one lokalizowane przy rzekach, naturalnych jeziorach lub zbiornikach retencyjnych, do których odprowadzane są również ścieki przemysłowe w ilości od kilku do kilkunastu tysięcy m³ na dobę.

Szczególnym ważnym elementem bloku energetycznego, z punktu widzenia gospodarki wodno-ściekowej, jest zamknięty układ chłodzenia w skład którego wchodzi: skraplacze bloków energetycznych oraz chłodnie kominowe połączone systemem kanałów ssących i kolektorów tłocznych. Cyrkulująca w układzie woda najpierw jest podgrzewana w kondensatorze w skutek odbioru ciepła skraplania kondensującej pary wodnej za ostatnim stopniem turbiny, a następnie schładzana w chłodni kominowej. Głównym mechanizmem wymiany ciepła w chłodni jest częściowe odparowanie przepływającej przez nią wody, co powoduje jednak wzrost zawartości związków chemicznych w cyrkulującej wodzie. Jest to efekt niekorzystny, ponieważ na przykład nadmierny wzrost stężenia jonów siarczanowych SO₄²⁻ w obiegu może powodować korozję betonowych części przewodów oraz elementów konstrukcyjnych chłodni, zaś wzrost stężenia soli wapnia może przyspieszać proces ich odkładania na powierzchniach wymienników pogarszając tym samym proces wymiany ciepła [2, 4].

Prostym mechanizmem umożliwiającym obniżenie w obiegu chłodzącym zawartości niepożądanych związków chemicznych jest okresowy zrzut części wody do przyzakładowej oczyszczalni ścieków. W artykule przedstawiono matematyczny model opisujący dobowe zmiany stężenia jonów siarczanowych SO₄²⁻ w obiegu wodnym kondensatory – chłodnie kominowe. Zaprezentowane wyniki obliczeń pozwalają przewidywać dobowe zmiany stężenia siarczanów w zależności od strumienia objętości wody świeżej dostarczanej do układu oraz ilości odprowadzanych ścieków. Umożliwia to wyznaczenie optymalnego strumienia objętości odprowadzanych ścieków ze względu na aktualną konfigurację pracy bloków energetycznych elektrowni zawodowej.

2. ZAMKNIĘTY UKŁAD CHŁODZENIA BLOKU ENERGETYCZNEGO

Integralną częścią obiegu wodno-parowego kotła jest skraplacz, w którym zachodzi proces kondensacji pary wodnej z ostatniego stopnia turbiny [3]. Strumienie objętości wody chłodzącej przepływającej przez kondensator wynoszą, w zależności od mocy cieplnej kotła, od kilku do nawet kilkudziesięciu tysięcy m^3/h . Ze względu na specyficzny układ hydrologiczny głównych rzek Polski oraz brak dużych zbiorników wodnych, w przeważającej większości elektrociepłowni i elektrowni zawodowych stosowane jest rozwiązanie oparte na zamkniętym układzie obiegu wody chłodzącej. Podgrzana w skraplaczu woda jest ponownie schładzana w chłodniach kominowych lub wentylatorowych, głównie poprzez jej częściowe odparowanie. Wykorzystanie w procesie wymiany ciepła przejścia fazowego jest bowiem jednym z najefektywniejszych mechanizmów schładzania cieczy. Poglądowy schemat zamkniętego układu wody chłodzącej został przedstawiony na rysunku 1.



Rys. 1. Poglądowy schemat zamkniętego układu wody chłodzącej

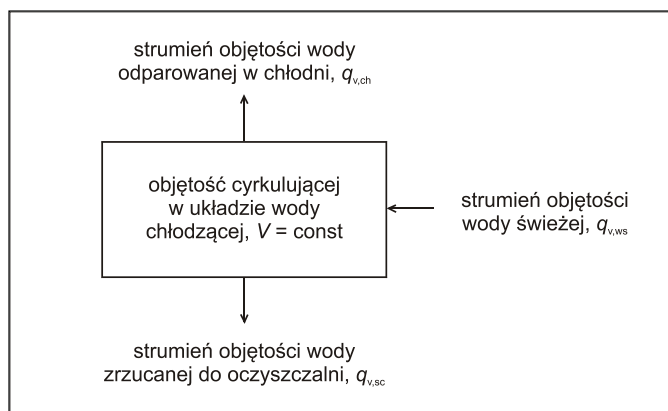
3. MATEMATYCZNY MODEL ZMIAN STĘŻENIA SIARCZANÓW W ZAMKNIĘTYM UKŁADZIE CHŁODZENIA

Przewidywanie zmian stężenia siarczanów w zamkniętym obiegu chłodzenia ma istotne znaczenie z punktu widzenia przestrzegania dopuszczalnych norm emisji ścieków, jak również optymalnego prowadzenia gospodarki wodno-ściekowej elektrowni. W tym celu monitoruje się wartości stężenia jonów SO_4^{2-} w różnych punktach pomiarowych układu. Głównym czynnikiem powodującym wzrost stężenia siarczanów w zamkniętym układzie chłodzenia jest proces częściowego odparowania wody chłodzącej w chłodni kominowej. Szacuje się, że w trakcie przepływu przez chłodnię kominową odparowuje około 1% masy

przepływającej wody chłodzącej. Jeżeli zatem w zespole chłodni całkowity strumień objętości cyrkulującej wody chłodzącej wynosi np. 200 tys. m³/h, to w ciągu doby z układu ubywa w przybliżeniu 48 tys. m³ wody. Ponadto, w celu utrzymania w układzie prawidłowego stężenia jonów SO₄²⁻, następuje rzut wody do przyzakładowej oczyszczalni w ilości około 5 tys. m³/d. Opisane ubytki uzupełniane są na bieżąco wodą świeżą w ilości 53 tys. m³/d tak, aby całkowita objętość wody chłodzącej cyrkulującej w układzie pozostała stała.

Bilansując zmianę stężenia jonów SO₄²⁻ w układzie należy uwzględnić procesy schematyczne przedstawione na rysunku 2 (przyjęto strumienie objętości wody w m³/d, stężenia siarczanów w mg/l):

- odparowanie wody w chłodniach kominowych, $q_{v,ch}$,
- zrzut wody chłodzącej do przyzakładowej oczyszczalni ścieków, $q_{v,sc}$,
- uzupełnianie układu wodą świeżą, $q_{v,ws}$.



Rys. 2. Poglądowy bilans wody chłodzącej w zamkniętym układzie wody chłodzącej

Ponieważ w zamkniętym układzie chłodzenia całkowita objętość cyrkulującej wody chłodzącej pozostaje stała ($V = \text{const}$), poszczególne strumienie masy wody muszą się bilansować:

$$q_{v,ws} = q_{v,ch} + q_{v,sc} \quad (1)$$

Powyższa analiza strat i uzupełnień czynnika pozwala na sformułowanie równania różniczkowego opisującego dobową zmianę stężenia siarczanów w postaci:

$$V \cdot \frac{d x(t)}{dt} = -q_{v,sc} \cdot x(t) - q_{v,ch} \cdot x_{ch} + q_{v,ws} \cdot x_{ws} \quad (2)$$

gdzie: $x(t)$ - aktualne stężenie siarczanów w zamkniętym układzie chłodzenia, x_{ch} - stężenie siarczanów w parze wodnej powstającej w chłodni kominowej, x_{ws} - stężenie siarczanów w

wodzie świeżej doprowadzanej do układu. Równanie (2) można rozwiązać analitycznie przyjmując, że strumienie objętości: $q_{v,sc}$ i $q_{v,ch}$ oraz stężenia siarczanów: x_{ch} i x_{ws} pozostają stałe. Uproszczona postać (2) przyjmuje wówczas formę równania różniczkowe liniowego pierwszego rzędu:

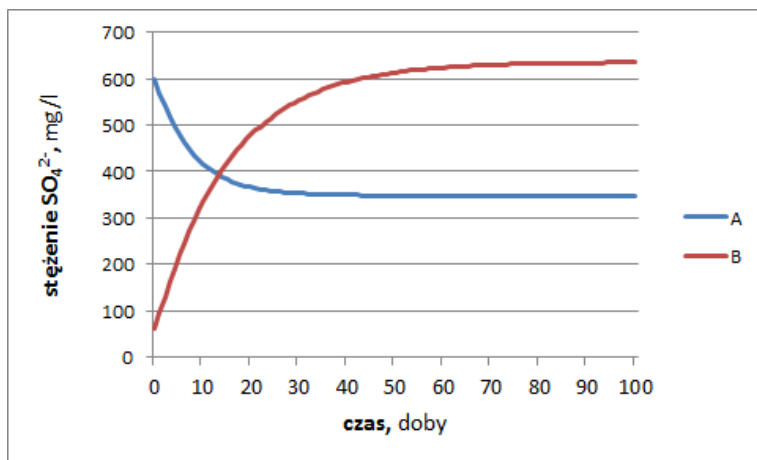
$$\frac{d x(t)}{dt} = -a \cdot x(t) + b \quad (3)$$

gdzie: $a = q_{v,sc}/V$, $b = (q_{v,ws}x_{ws} - q_{v,ch}x_{ch})/V$. Rozwiązaniem równania (3) jest funkcja określająca zależność stężenia jonów siarczanowych od czasu $x(t)$:

$$x(t) = \frac{b}{a} + \left(x_0 - \frac{b}{a} \right) e^{-at} \quad (4)$$

gdzie x_0 - początkowe stężenie jonów SO_4^{2-} w zamkniętym układzie chłodzenia. Stężenie siarczanów w wodach naturalnych wynosi od 40 do 60 mg/l zatem do modelu przyjęto stężenie siarczanów w wodzie świeżej $x_{ws} = 60$ mg/l, zaś para wodna emitowana z chłodni kominowej nie zawiera siarczanów ($x_{ch} = 0$ mg/l).

Przedstawione na rysunku 3 przykładowe rozwiązania wyznaczono przyjmując $q_{v,ch} = 48000$ m³/d dla całkowitej objętości wody w układzie chłodzenia $V = 76745$ m³.



Rys. 3. Przykładowe rozwiązania równania (4) dla przypadków: A – $x_0 = 600$ mg/l, $q_{v,sc} = 10$ tys. m³/d; B – $x_0 = 60$ mg/l, $q_{v,sc} = 5$ tys. m³/d

Analizując zaprezentowane rozwiązania można zauważyć, że dla strumienia objętości ścieków $q_{v,sc} = 10$ tys. m³/d krzywa A ma charakter malejący, zaś krzywa B, dla $q_{v,sc} = 5$ tys. m³/d, ma charakter rosnący. Wynika stąd, że można sterować stężeniem jonów

siarczanowych w zamkniętym układzie chłodzenia poprzez zmianę strumienia objętości odprowadzanych ścieków. Interesujący jest również fakt istnienia asymptotycznego rozwiązania $x(t)$ wskazujący, że nie jest możliwe dowolne obniżenie lub zwiększenie stężenia siarczanów w cyrkulującej wodzie przy zadanych parametrach strumieni objętości $q_{v,sc}$ i $q_{v,ch}$ (wartość strumienia $q_{v,ws}$ jest wówczas jednoznacznie określona na podstawie równania (1)). Dla krzywej A, przy $q_{v,sc} = 10$ tys. m^3/d , graniczna wartość stężenia jonów SO_4^{2-} wynosi $x_{gr} = 348$ mg/l, zaś dla krzywej B, parametryzowanej wartością $q_{v,sc} = 5$ tys. m^3/d , graniczna wartość stężenia jonów SO_4^{2-} wynosi $x_{gr} = 636$ mg/l. Asymptotyczne rozwiązanie x_{gr} funkcji $x(t)$ można wyznaczyć analitycznie obliczając granicę wyrażenia:

$$x_{gr} = \lim_{t \rightarrow \infty} x(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{b}{a} + \left(x_0 - \frac{b}{a} \right) e^{-at} = \frac{b}{a} \quad (5)$$

Wyrażenie (b/a) upraszcza się przy założeniu, że $x_{ch} = 0$, do postaci:

$$x_{gr} = \frac{b}{a} = \frac{(q_{v,ws} \cdot x_{ws} - q_{v,ch} \cdot x_{ch})}{V} \cdot \frac{V}{q_{v,sc}} = \frac{q_{v,ws} \cdot x_{ws}}{q_{v,sc}} = \frac{(q_{v,sc} + q_{v,ch}) \cdot x_{ws}}{q_{v,sc}} \quad (6)$$

Z formuły (6) wynika, że graniczna wartość stężenia siarczanów x_{gr} , dla zadanych wartości: strumienia objętości odprowadzanych ścieków $q_{v,sc}$ oraz stężenia jonów siarczanowych w wodzie świeżej x_{ws} , jest parametryzowana tylko liczbą pracujących chłodni kominowych (a więc strumieniem objętości $q_{v,ch}$). Przykładowe wartości stężeń granicznych x_{gr} dla $q_{v,ch} = 48$ tys. m^3/d oraz wybranych wartości strumienia objętości $q_{v,sc}$ oraz stężeń jonów SO_4^{2-} x_{ws} zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Przykładowe wartości stężeń granicznych x_{gr} dla wybranych wartości strumienia objętości $q_{v,sc}$ oraz stężeń jonów SO_4^{2-} w wodzie świeżej x_{ws} (przy ustalonym $q_{v,ch} = 48$ tys. m^3/d)

stężenie siarczanów x_{ws} , [mg/l] \ / \ strumień objętości ścieków $q_{v,sc}$, [m^3/d]	40	45	50	55	60
5000	424	477	530	583	636
7500	296	333	370	407	444
10000	232	261	290	319	348
12500	194	218	242	266	290
15000	168	189	210	231	252

Najnowsze regulacje określają limit stężenia jonów SO_4^{2-} w wodzie chłodzącej, dla powierzchni chłodzonych o temperaturze poniżej 60 °C, na 500 mg/l [1]. Z danych przedstawionych w tabeli 1 (dla wartości strumienia objętości $q_{v,ch} = 48$ tys. m^3/d) wynika, że powyższy warunek spełniony jest w przypadku albo niskich stężeń siarczanów w wodzie

świeżej $x_{ws} < 50$ mg/l lub dużych strumieni objętości odprowadzanych ścieków $q_{v,sc} \geq 7500$ m³/d.

Przedstawiony w pracy model umożliwia również wyznaczenie strumienia objętości $q_{v,sc}$, dla którego graniczna wartość stężenia SO_4^{2-} wynosi $x_{gr} = 500$ mg/l. Przekształcając wyrażenie (6) otrzymujemy:

$$q_{v,sc} = \frac{q_{v,ch} \cdot x_{ws}}{(x_{gr} - x_{ws})} \quad (7)$$

Z formuły (7) wynika, że wartość $q_{v,sc}$ zależy tylko od strumienia objętości wody odparowanej w chłodni kominowej $q_{v,ch}$ oraz stężenia siarczanów w wodzie świeżej x_{ws} . W tabeli 2 zestawiono przykładowe wartości strumieni objętości odprowadzanych ścieków $q_{v,sc}$, dla których graniczna wartość stężenia SO_4^{2-} wynosi $x_{gr} = 500$ mg/l, parametryzowane wartościami: stężenia jonów SO_4^{2-} w wodzie świeżej i strumienia objętości $q_{v,ch}$.

Tabela 2. Przykładowe wartości strumieni objętości odprowadzanych ścieków $q_{v,sc}$, dla których graniczna wartość stężenia SO_4^{2-} wynosi $x_{gr} = 500$ mg/l, w zależności od stężenia jonów SO_4^{2-} w wodzie świeżej i strumienia objętości $q_{v,ch}$

stężenie siarczanów x_{ws} , [mg/l]	40	45	50	55	60
strumień objętości $q_{v,ch}$, [m ³ /d]					
9600	835	949	1067	1187	1309
19200	1670	1899	2133	2373	2618
28800	2504	2848	3200	3560	3927
38400	3339	3798	4267	4746	5236
48000	4174	4747	5333	5933	6545

Przedstawione w tabeli 2 dane pozwalają określić minimalną wartość strumienia objętości odprowadzanych ścieków zapewniającą utrzymanie stężenia siarczanów w zamkniętym układzie chłodzenia na poziomie wymaganym przez stosowne akty prawne. Opracowany model umożliwia przewidywanie wielkości strumienia odprowadzanych ścieków w zależności od aktualnej konfiguracji pracy bloków energetycznych. Znając bowiem wydajności pomp tłoczących wodę chłodzącą do kondensatorów poszczególnych bloków energetycznych można obliczyć aktualny strumień objętości wody chłodzącej cyrkulującej w instalacji a tym samym oszacować ubytki wody na skutek odparowania w zespole chłodni kominowych. Na tej podstawie, oraz znając stężenia jonów SO_4^{2-} w wodzie uzupełniającej, można wyznaczyć bieżącą minimalną wartość $q_{v,sc}$.

4. PODSUMOWANIE

W pracy omówiono matematyczny model opisujący dobowe zmiany stężenia siarczanów w zamkniętym układzie chłodzenia obejmującym kondensatory bloków energetycznych oraz chłodnie kominowe. Na podstawie analitycznego rozwiązania uzyskano asymptotyczne wartości stężeń jonów SO_4^{2-} w zależności od strumienia objętości odprowadzanych ścieków. Analiza rozwiązania umożliwiła również określenie minimalnej wartości strumienia odprowadzanych ścieków gwarantującego dotrzymanie limitów stężenia siarczanów w układzie chłodzenia na poziomie 500 mg/l.

LITERATURA

- [1] Dyrektywa Rady 91/271/EWG z dnia 21 maja 1991 r. dotycząca oczyszczania ścieków komunalnych (Dz. Urz. WE L 135 z 30.05.1991, str. 40, z późn. zm.; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 2, str. 26), dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/75/UE z dnia 24 listopada 2010 r. w sprawie emisji przemysłowych (zintegrowane zapobieganie zanieczyszczeniom i ich kontrola) (wersja przekształcona) (Dz. Urz. WE L 334 z 17.12.2010, str. 17, z późn. zm.
- [2] HERMANOWICZ W., *Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków*, Wydawnictwo Arkady, Warszawa 2010.
- [3] LAUDYN D., PAWLIK M., STRZELCZYK F., *Elektrownie*, Wydawnictwo WNT, Warszawa 1997.
- [4] STAŃDA J., *Woda do kotłów parowych i obiegów chłodzących siłowni ciepłych*, Wydanie trzecie rozszerzone, Wydawnictwa WNT, Warszawa 1992.

ANALYSIS OF CHANGES IN SULPHATES CONCENTRATION IN CLOSED SYSTEM OF COOLING WATER CIRCULATION IN POWER UNIT

The paper presents a mathematical model describing the changes in SO_4^{2-} concentration in a closed system of cooling water circulation in a professional power plant. The analyzed installation consists of: condensers and cooling towers connected by a system of channels. At first, circulating water is heated in the condenser due to condensation of a spent steam from the last stage of the turbine, and next cooled down in the cooling tower. The main mechanism of heat transfer in the cooling tower base on partial evaporation of water, resulting in the increase of concentration of chemical components in the circulating water. This is the unfavorable effect because an excessive increase in the SO_4^{2-} concentration in the system may cause corrosion of the concrete part of the channels and cooling towers. The only mechanism to decrease concentration of undesirable chemicals in the circulating water is its periodic discharge to the sewage treatment plant. According to the latest government regulations; Regulation of the Minister of Environment dated 18 November 2014 and the Directive of the European Parliament and of the Council 2010/75 / EU of 24 November 2010 on industrial emissions [1], from the beginning of 2016 the new limits on the chemical components of a wastewater led to the natural tanks has been accepted what forced planned and cost-effective water treatment in a power plants. Presented mathematical model enables the prediction of the daily increase in the concentration of sulfate ions SO_4^{2-} in the closed cooling water system and determines the optimal volumetric flow rate of wastewater due to the current configuration of operating power units in a professional power plant.

rośliny energetyczne, kadm, ołów,
fitoremediacja, fotosynteza

Szymon RUSINOWSKI, Krzysztof SITKO**, Jacek KRZYŻAK, Dorota CISZEK,
Marta POGRZEBA*

ANALIZA WYBRANYCH PARAMETRÓW FIZJOLOGICZNYCH *MISCANTHUS X GIGANTEUS* ORAZ *SPARTINA PECTINATA* UPRAWIANYCH NA GLEBACH ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI CIĘŻKIMI

Obecność metali ciężkich w glebie głównie związana jest z działalnością człowieka. Grunty rolne zanieczyszczone metalami ciężkimi nie nadają się do uprawy na cele żywnościowe, jednakże można wykorzystać je do produkcji biomasy, co promowane jest przez dyrektywy Unii Europejskiej. Uprawa roślin energetycznych takich jak *Spartina pectinata* czy *Miscanthus x giganteus*, może przynieść podwójną korzyść, zarówno poprzez produkcję biomasy, jak i wykorzystaniu jej w procesie oczyszczania gleby (proces fitoremediacji). Celem doświadczenia była ocena wybranych parametrów fizjologicznych *Spartina pectinata* oraz *Miscanthus x giganteus* uprawianych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poddanych działaniu różnych nawozów. W doświadczeniu analizowano parametry fizyko-chemiczne gleby oraz całkowitą i biodostępną zawartość Cd i Pb. Ponadto określono zawartość Cd i Pb w liściach roślin, wpływ metali na parametry fotosyntezy (A, E, g_s, WUE, F_v/F_m) oraz stężenie chlorofilu. Nawożenie miało wpływ na biodostępność analizowanych pierwiastków, jak i na zdolności do ich akumulacji przez rośliny, a tym samym na parametry fotosyntezy. Nawożenie zwiększało wartości parametrów fotosyntezy u miskanta, jednakże miało negatywny wpływ na te same parametry u spartiny. Zarówno u spartiny, jak i miskanta, obserwowano najwyższe zawartości chlorofilu pod wpływem nawożenia chemicznego. Największe zdolności do pobierania Cd i Pb stwierdzono u miskanta, przy równoczesnym braku wpływu na aparat fotosyntetyczny, co przy jego zdolnościach do większej produkcji biomasy czyni go potencjalnie lepszym gatunkiem do uprawy na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

** Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, ul. Jagiellońska 28, 40–032 Katowice.

* Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w Katowicach, ul. Kossutha 6, 40–844 Katowice, rusinowski@ietu.katowice.pl.

1. WSTĘP

Gleba jest środowiskiem, które może być zanieczyszczone wieloma różnym związkami lub/i toksycznymi pierwiastkami. Zanieczyszczenia te mogą mieć pochodzenie antropogeniczne (huty, kopalnie, pestycydy, rafinerie) lub środowiskowe (erupcje wulkaniczne) [2]. Zanieczyszczenia w glebie stanowią poważny problem, ponieważ pośrednio mogą być szkodliwe dla człowieka wpływając na jakość i ilość produktów rolniczych [24].

Biomasa jest to materia organiczna pochodzenia roślinnego (drzewa, rośliny jednoroczne, rośliny wieloletnie, glony) powstała w wyniku fotosyntezy na drodze konwersji CO₂, wody oraz energii słonecznej w węglowodany, które są głównym składnikiem budującym strukturę tkanek roślinnych [21]. W dobie pogłębiającego się kryzysu klimatycznego i wyczerpywania paliw kopalnianych, wdrażanie każdej technologii, umożliwiającej produkcję czystej energii jest pożądane. Ograniczenie wykorzystania paliw kopalnych na rzecz biomasy, jest jedną z możliwości przeciwstawiania się globalnemu ociepleniu.

Dyrektywa Unii Europejskiej (2009/28/EC) odnosząca się do odnawialnych źródeł energii (RES) dotyczy promowania strategii proekologicznych wśród państw członkowskich [11]. Państwa te zobowiązane są do zwiększania udziału źródeł odnawialnych w gospodarce energetycznej do 20% z końcem 2020 roku. Dyrektywa ta ponadto zawiera informację na temat kategorii terenów, na których produkcja biomasy jest niewskazana - należą do niej głównie tereny bardzo żyzne oraz charakteryzujące się dużą bioróżnorodnością. Tym samym dyrektywa ta pośrednio zaleca uprawę roślin energetycznych na zanieczyszczonych glebach rolniczych oraz gruntach marginalnych niskiej klasy [27].

Uprawa roślin energetycznych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poza zagospodarowaniem gruntów nienadających się do produkcji rolnej, może również poprzez naturalne ich zdolności do pobierania metali ciężkich przyczynić się do oczyszczania gleb (proces fitoremediacji) [31]. Fitoremediacja gleb skażonych metalami ciężkimi może przebiegać w dwojaki sposób, zależnie od rodzaju zanieczyszczeń oraz uprawianego gatunku rośliny. Rośliny mogą stabilizować metale ciężkie w obrębie korzeni, tym samym ograniczając ich migrację w głąb struktury gleby, równocześnie chroniąc ją przed erozją. Alternatywnie rośliny mogą być zdolne do ekstrakcji metali ciężkich z gleby, co może być związane z poprawą jej jakości [26]. Rośliny energetyczne nie są hiperakumulatorami, jednakże dzięki swoim naturalnym zdolnościom do produkcji dużych ilości biomasy mogą całościowo ekstrahować większe ilości zanieczyszczeń [22].

Miscanthus x giganteus to wieloletnia trawa rozmnażająca się poprzez kłącza, zdolna do przeprowadzania fotosyntezy typu C₄. Miskant olbrzymi jest triploidalną sterылną hybrydą diploidalnego *Miscanthus sinensis* oraz tetraploidalnego *Miscanthus sacchariflorus* pochodzących z Japonii [34]. Należy do roślin energetycznych drugiej

generacji co oznacza, że plon nie jest wykorzystywany wyłącznie do produkcji bioetanolu i z powodzeniem po wysuszeniu może być wykorzystywany w elektrowniach i elektrociepłowniach jako paliwo. Miskant poza zdolnością do produkcji dużych ilości biomasy posiada jeszcze inne zalety - zdolność do transportu związków mineralnych do kłacza przed zimowaniem, wysoki współczynnik wykorzystania wody, a ponadto jego plon charakteryzuje się bardzo wysoką kalorycznością [30]. Uprawa miskanta w klimacie umiarkowanym wiąże się jednak z szeregiem trudności, takich jak: wysoki koszt założenia plantacji oraz niska przeżywalność sadzonek po pierwszej zimie od założenia plantacji [19].

Spartina preriowa (*Spartina pectinata*), tak jak miskant olbrzymi, jest wieloletnią trawą rozmnażającą się przez kłacza, jednak w przeciwieństwie do miskanta olbrzymiego może również rozmnażać się generatywnie. Ponadto jest rośliną przeprowadzającą fotosyntezę typu C4 [35]. Naturalnie występuje na szerokości geograficznej 61 N, na obszarze Ameryki Północnej. Rośnie najlepiej na terenach podmokłych i wykazuje tolerancję w stosunku do gleb zasadowych. *Spartina* tak, jak i miskant olbrzymi transportuje związki odżywcze do kłaczy podczas spoczynku zimowego.

Pomimo wielu podobieństw *spartina preriowa* wytwarza mniej biomasy w porównaniu do miskanta olbrzymiego, średni roczny plon z ha wynosi dla tych gatunków odpowiednio 12 t/ha oraz 25 t/ha [12].

W związku z dużym zapotrzebowaniem na produkcję roślin na cele użytkowe, na całym świecie rolnicy zaczęli stosować różne zabiegi agrotechniczne mające na celu zwiększenie ilości oraz jakości plonu. Najbardziej powszechną metodą poprawiającą jakość plonu jest stosowanie nawożenia chemicznego, którego wykorzystywanie od jego wynalezienia przez Justusa von Liebiga w 1842 r. ciągle wzrasta. Głównym celem nawozów chemicznych aplikowanych w rolnictwie jest zwiększanie przyswajalnych form związków mineralnych podczas rozwoju roślin. Ponadto nawozy mają za zadanie poprawiać parametry fizyko-chemiczne gleby. Najbardziej powszechnym nawożeniem chemicznym jest mieszanka azotu, fosforu i potasu, których proporcja w preparacie zależy od ich zawartości w glebie oraz wymagań pokarmowych uprawianej rośliny [15]. Nawożenie chemiczne ma również wiele skutków ubocznych, gdyż substancje nawozowe stosowane w nadmiarze mogą dostawać się do wód gruntowych lub migrować wraz ze spływem powierzchniowym, co w konsekwencji może prowadzić do eutrofizacji zbiorników wodnych. Alternatywą dla nawozów chemicznych są nawozy biologiczne pochodzenia naturalnego. Stosowanie tego typu nawożenia najczęściej w postaci obornika, nie jest tak wydajne jak nawożenie chemiczne. Ponadto stosowanie obornikaz nieznanego źródła może być ryzykowne w związku z potencjalnym występowaniem w nim patogenów, które mogą stanowić zagrożenie nie tylko dla roślin, ale również dla człowieka [23, 28].

Alternatywę dla chemicznych i organicznych nawozów pochodzenia naturalnego, mogą stanowić nawozy oparte na szczepionkach bakteryjnych, grzybowych lub bakte-

ryjno-grzybowych. Szczepionki tego typu zawierają selekcyjonowane szczepy mikroorganizmów posiadających cechy promujące ilość i jakość plonowania roślin. Najczęściej stosowanymi mikroorganizmami w szczepionkach są symbionty roślin. Tego typu nawożenie nie jest szkodliwe dla środowiska i jest tak samo wydajne jak nawożenie chemiczne [23]. Szczepionka przeważnie składa się z pożywki zawierającej źródło węgla, mikro- i makroelementy oraz inne związki potrzebne do rozwoju mikroorganizmów. Mikroorganizmy wykorzystywane w szczepionkach to efektywne mikroorganizmy (ang. effective microorganisms), które zostały zdefiniowane przez Higa [14], jako mieszanka naturalnie występujących mikroorganizmów, mających korzystny wpływ na środowisko glebowe oraz rośliny. Zalicza się do nich bakterie, grzyby mikroskopowe, promieniowce oraz drożdże, które stosowane są jako szczepionka mająca na celu zmianę różnorodności mikrobiologicznej oraz wpływ na interakcje w systemie gleba-roślina. Organizmy te zaangażowane są głównie w rozkład materii organicznej, co skutkuje zwiększeniem stężeń związków mineralnych wykorzystywanych przez rośliny. Szczepionki mikrobiologiczne mogą również składać się z ryzobakterii promujących wzrost roślin (eng. *Plant Growth-Promotin Rhizobacteria - PGPR*) lub/i arbuskularnych grzybów mikoryzowych (eng. *Arbuscular Mycorrhizal Fungi – AMF*), które również z powodzeniem wykorzystywane są jako indywidualne preparaty [1, 29]. Najbardziej znane szczepionki mikrobiologiczne dostępne na rynku jako preparaty probiotyczne dla roślin, składają się ze szczepów bakterii mlekowych oraz szczepów drożdży, jednakże dokładna przynależność gatunkowa wybranych szczepów jest tajemnicą handlową firm produkujących.

2. CEL I METODYKA BADAŃ

Celem doświadczenia była ocena wybranych parametrów fizjologicznych *Spartina pectinata* oraz *Miscanthus x giganteus* uprawianych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poddanych działaniu różnych nawozów.

2.1. OPIS TERENU BADAŃ

Eksperyment został przeprowadzony na poligonie doświadczalnym Instytutu Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, na obszarze rolniczym, sąsiadującym z terenami poprzemysłowymi (50°20'43.0"N 18°57'19.6"E). Zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi było spowodowane opadem pyłu emitowanego w ubiegłym wieku przez nieistniejącą obecnie hutę cynku i ołowiu „Orzeł Biały”. Na tym terenie wykazano przekroczenie norm stężeń Pb i Cd dla gleb rolniczych według rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (D.2002.

r.165 poz.1369). Wszystkie dane zostały zebrane w środku jednego sezonu wegetacyjnego (lipiec 2015). Średni opad i temperatura dla lipca według danych Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej (IMGW) wynosiły odpowiednio 65 mm, 20°C.

2.2. PLAN EKSPERYMENTU

Plantacja miskanta olbrzymiego (M) oraz spartiny (S) została założona w maju 2014 roku w trzech wariantach. Na każdym poletku doświadczalnym o wymiarach 4 m x 4 m zostało posadzonych 49 roślin. Pierwsze z poletek (M-K oraz S-K - kontrola) nie zostało poddane żadnemu nawożeniu i było kontrolą dla pozostałych wariantów doświadczenia. Na kolejnych poletkach wprowadzono nawożenie pogłównie komercyjnie dostępnym nawozem chemicznym. Nawóz stosowany był na rośliny w następujących proporcjach poszczególnych składników: M-NPK : N – 70 kg/ha; P – 30 kg/ha; K – 45 kg/ha; S-NPK: N – 80 kg/ha; P – 50 kg/ha; K – 75 kg/ha). Ostatnie z poletek (M-SCZ oraz S-SCZ) zostały poddane traktowaniu komercyjnie dostępną szczepionką mikrobiologiczną (Em Farma, Probiotics Polska). Traktowaniu poddano kłącza miskanta olbrzymiego oraz korzenie sadzonek spartiny przed posadzeniem, ponadto w sezonie wegetacyjnym raz w miesiącu szczepionka była aplikowana dolistnie (maj–październik). Prezentowane dane zostały zebrane z 3 losowo wybranych roślin na każdym z poletek.

2.3. PARAMETRY FIZYKO-CHEMICZNE GLEBY

W glebie wykonano oznaczenie odczynu ($n = 6$) w H_2O oraz przewodności elektrycznej (CPC-551, Elmetron, Polska). Pomiar wilgotności gleby wykonano metodą zaproponowaną przez Wilke [33].

Frację biodostępną Cd i Pb w glebie uzyskano poprzez ekstrakcję w 0,01M $CaCl_2$. Ekstrakcję metali prowadzono na wytrząsarce przez 2 godziny z 5 g suchej gleby w 30 ml 0,01 M $CaCl_2$. Następnie ekstrakt przesączono przez filtr bibułowy o gramaturze 84 g/m². W celu określenia całkowitej zawartości Cd i Pb próbki gleby ($n = 5$) i liści ($n = 5$) zostały poddane mineralizacji przy użyciu mineralizatora mikrofalowego (ETHOS 1, Milestone, Italy), a następnie wykonano oznaczenia przy pomocy płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (iCE 3500 FAAS, Thermo Scientific).

2.4. WYBRANE FIZJOLOGICZNE PARAMETRY ROŚLIN

2.4.1. POMIAR PARAMETRÓW WYMIANY GAZOWEJ

Na każdej z roślin został wykonany pomiar parametrów wymiany gazowej tj. intensywność fotosyntezy (A), intensywność transpiracji (E) oraz przewodność szparkowa

(g_s). Pomiary zostały wykonane na pierwszym w pełni rozwiniętym liściu pędu (trzeci od góry). Pomiar został powtórzony 3 razy na trzech różnych pędach wybranych roślin (n = 27). Wszystkie pomiary zostały wykonane przy pomocy analizatora gazu w podczerwieni (LCpro⁺, ADC Bioscientific, Wielka Brytania) przy ustalonych parametrach komory pomiarowej (T = 22 °C, PAR = 1500 μmol E x m⁻² s⁻¹). Dodatkowo obliczony został fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody jako iloraz intensywności fotosyntezy i intensywności transpiracji (WUE).

2.4.2. POMIAR ZAWARTOŚCI CHLOROFILU

Zawartość chlorofilu zmierzona została przy pomocy chlorofilomierza (CL-01, Hansatech, Wielka Brytania). Pomiary zostały przeprowadzone na pierwszym w pełni rozwiniętym liściu (2 lub 3 od góry). Pomiary wykonane zostały w jednym powtórzeniu na dziesięciu liściach, każdej analizowanej rośliny (n = 20).

2.4.3. POMIAR FLUORESCENCJI CHLOROFILU A

Pomiar fluorescencji chlorofilu wykonany został na pierwszym w pełni rozwiniętym liściu (2 lub 3 od góry), pomiar wykonano na pięciu liściach każdej analizowanej rośliny (n = 15), przy pomocy przenośnego miernika fluorescencji chlorofilu (Pocket PEA, Hansatech Instruments, Wielka Brytania).

2.5. ANALIZA STATYSTYCZNA

Wyniki w pracy przedstawione są jako średnia z pomiaru ± błąd standardowy, istotność różnic pomiędzy wariantami została zweryfikowana przy użyciu testu post-hoc ANOVA, najmniejszych istotnych różnic (*eng. Less significant differences - LSD*) Fisher'a. Wszystkie obliczenia zostały wykonane przy pomocy programu Statistica 10 (Statsoft, USA).

3. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

3.1. CHARAKTERYSTYKA GLEBY

W eksperymencie wykazano, że mierzone wartości parametrów gleby tj. wilgotność i przewodność elektryczna nie wykazały istotnych statystycznie różnic pomiędzy poletkami, jednakże na odczyn gleby miał wpływ zarówno gatunek uprawianej rośliny jak

i rodzaj stosowanego nawożenia (tab. 1). Gleba na poletkach z miskantem charakteryzowała się nieznacznie niższym odczynem. Na poletkach z miskantem wykazano obniżenie się odczynu po zastosowaniu nawożenia (M-NPK) o około 5%, w porównaniu do poletka kontrolnego (M-K). Nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy glebą z poletka M-K, a poletka M-SZC. W przypadku poletek ze spartiną niezależnie od wariantu doświadczenia stwierdzono obniżenie się odczynu gleby o około 3,5% w porównaniu do kontroli. Obniżenie odczynu gleby pod wpływem wprowadzenia nawożenia azotowego zostało wcześniej opisane w literaturze przez Czarneckiego i Durlinga [10] oraz przez Belaya i wsp. [6]. Zmiana odczynu związana jest z wykorzystaniem NH_4^+ jako źródła azotu w nawozach chemicznych, co skutkuje zakwaszeniem gleby poprzez jony H^+ [20]. Nieznaczne obniżenie pH na poletku S-SCZ mogło być związane z działalnością mikroorganizmów dostarczonych w szczepionce [17]. Różnice w pH gleby pomiędzy poletkami dwóch gatunków roślin również mogły być związane z mikroflorą korzeni [9].

W trakcie doświadczenia stwierdzono różnice pomiędzy całkowitą zawartością Cd i Pb w glebie (tab 1.) na poletkach z miskantem i spartiną. Pomędzy poletkami na których rosły rośliny tego samego gatunku nie wykazano różnic w zawartościach badanych metali. Różnice w całkowitej zawartości Pb i Cd mogą wynikać z nierównomiernego rozkładu zanieczyszczeń na badanym terenie co jest charakterystyczne dla gleb poddanych działalności hutnictwa metali nieżelaznych. Pomimo różnic w całkowitej zawartości metali w glebie (tab. 1) ich biodostępność jest zbliżona. W obrębie wszystkich analizowanych poletek stężenie biodostępnego Cd oscylowało w granicach 1 mg/kg s.m. gleby, natomiast stężenie Pb w granicach 1,4 mg/kg s.m. Obserwowano niższe zawartości biodostępnego Cd na poletkach M-K oraz M-SZC, co może świadczyć o wpływie nawożenia na zwiększenie biodostępności tego pierwiastka oraz niewątpliwym wpływie odczynu gleby. Wszystkie zawartości ołowiu, poza oznaczonymi w glebie na poletku M-K, nie różniły się pod względem statystycznym. Jenne i wsp. [16] stwierdziła, że mobilność metali ciężkich związana jest z kilkoma czynnikami w glebie, takimi jak odczyn potencjał redox, działalność mikroorganizmów oraz temperatura.

3.2. AKUMULACJA CD I PB W LIŚCIACH

Analiza kumulacji pierwiastków w liściach wykazała, że miskant w większym stopniu jest zdolny do kumulacji Cd i Pb niż spartina (tab. 2). Miskant na poletku kontrolnym (M-K) akumulował 12% więcej Cd i 45% więcej Pb niż spartina rosnąca w podobnych warunkach (S-K).

3.3. WYBRANE PARAMETRY FIZJOLOGICZNE ROŚLIN

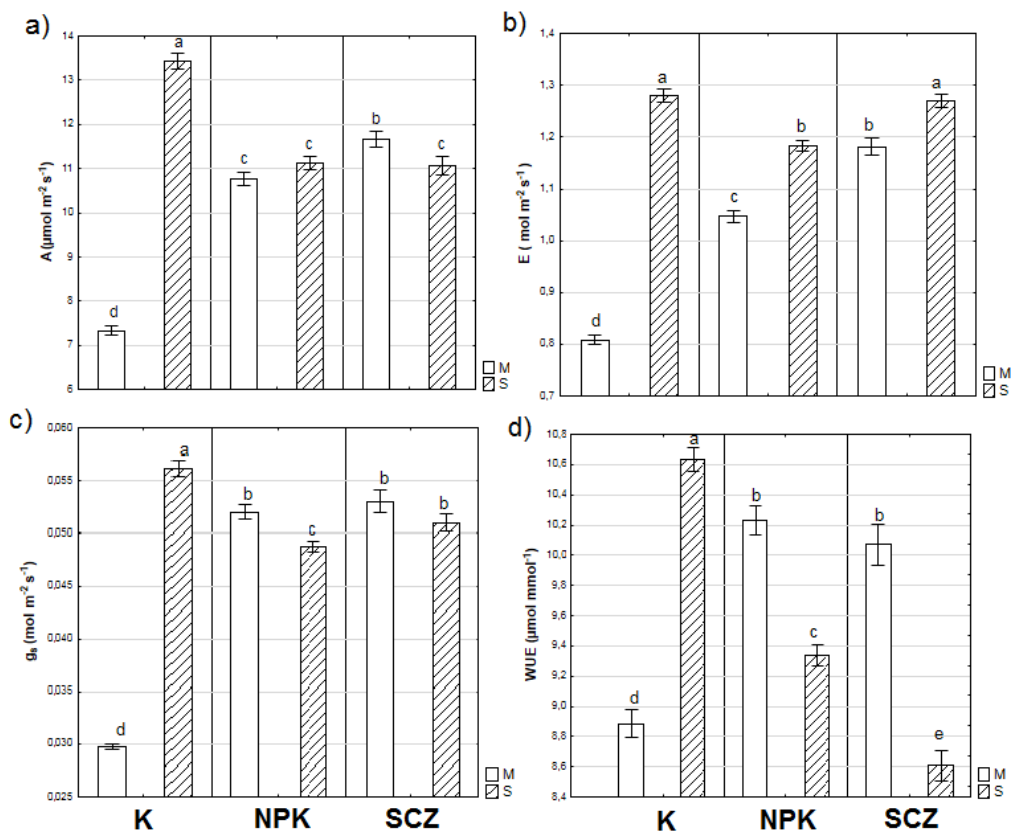
Spartina wykazywała wyższe wartości parametrów intensywności fotosyntezy, intensywności transpiracji, przewodności szparkowej oraz współczynnika wykorzystania wody (rys. 1). Na poletkach kontrolnych były one odpowiednio o 46%, 38%, 45% oraz 17% wyższe w porównaniu do miskanta. W wyniku zastosowania nawozu chemicznego jak i szczepionki dochodziło do obniżenia parametrów wymiany gazowej u *Spartiny* oraz podwyższenia wartości tych samych parametrów u miskanta. W wariantach z roślinami traktowanymi szczepionką mierzone parametry, poza intensywnością transpiracji, były wyższe u miskanta. Taką samą sytuację obserwowano na roślinach traktowanych nawożeniem chemicznym. Intensywność fotosyntezy pod wpływem nawożenia wzrosła u roślin na poletkach M-NPK i M-SCZ, odpowiednio o 47% i 60% w stosunku do kontroli. Natomiast dla *Spartiny* parametr ten uległ obniżeniu o 17% zarówno dla roślin na poletku S-NPK jak i S-SCZ. Najniższa intensywność transpiracji dla miskanta została zmierzona na poletku kontrolnym, w pozostałych wariantach obserwowano wzrost parametru o 29% dla roślin z poletka M-NPK oraz 47% dla roślin z poletka M-SCZ w stosunku do kontroli.

Tabela 1. Charakterystyka wybranych parametrów fizykochemicznych gleby oraz stężenia frakcji biodostępnej i całkowitej Cd i Pb w glebie

Parametry	WARIANTY DOŚWIADCZENIA					
	M-K	M-NPK	M-SCZ	S-K	S-NPK	S-SCZ
Całkowita zawartość Cd i Pb (mg·kg ⁻¹)						
Cd	18,32 ± 0,99a	19,49 ± 0,65a	19,37 ± 0,59a	12,64 ± 0,53b	13,04 ± 0,42b	12,96 ± 0,53b
Pb	429,89 ± 4,27a	466,29 ± 12,35a	441,51 ± 19,41a	282,13 ± 14,69b	287,49 ± 8,57b	278,45 ± 10,11b
Udział biodostępnej frakcji Cd i Pb (mg·kg ⁻¹)						
Cd	0,72 ± 0,06b	1,03 ± 0,03a	0,76 ± 0,07b	1,00 ± 0,09a	1,00 ± 0,07a	1,02 ± 0,02a
Pb	1,17 ± 0,04b	1,38 ± 0,05a	1,36 ± 0,07a	1,38 ± 0,02a	1,45 ± 0,05a	1,49 ± 0,04a
Wybrane parametry fizyko-chemiczne gleby						
Wilgotność (%)	4,54 ± 0,56b	6,06 ± 1,05ab	6,20 ± 1,32ab	8,21 ± 0,61a	6,86 ± 0,63ab	7,11 ± 0,60a
pH	6,97 ± 0,06a	6,72 ± 0,06b	7,07 ± 0,10a	6,66 ± 0,08b	6,45 ± 0,03c	6,40 ± 0,02c
EC (μS)	79,88 ± 7,12a	79,30 ± 5,24a	90,20 ± 8,95a	75,39 ± 1,34a	83,83 ± 2,05a	79,48 ± 0,41a

Tabela 2. Kumulacja Cd i Pb w liściach

	WARIANTY DOŚWIADCZENIA					
	M-K	M-NPK	M-SCZ	S-K	S-NPK	S-SCZ
Cd ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$5,09 \pm 0,14\text{b}$	$5,10 \pm 0,14\text{b}$	$5,84 \pm 0,30\text{a}$	$4,44 \pm 0,21\text{c}$	$4,97 \pm 0,35\text{b}$	$4,90 \pm 0,25\text{b}$
Pb ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$75,39 \pm 5,96\text{a}$	$75,55 \pm 2,12\text{a}$	$75,32 \pm 6,07\text{a}$	$41,21 \pm 3,84\text{b}$	$50,20 \pm 4,78\text{b}$	$65,97 \pm 2,76\text{a}$



Rys. 1. Intensywność fotosyntezy (a), Intensywność transpiracji (b), Przewodność szparkowa (c), Współczynnik wykorzystania wody (d)

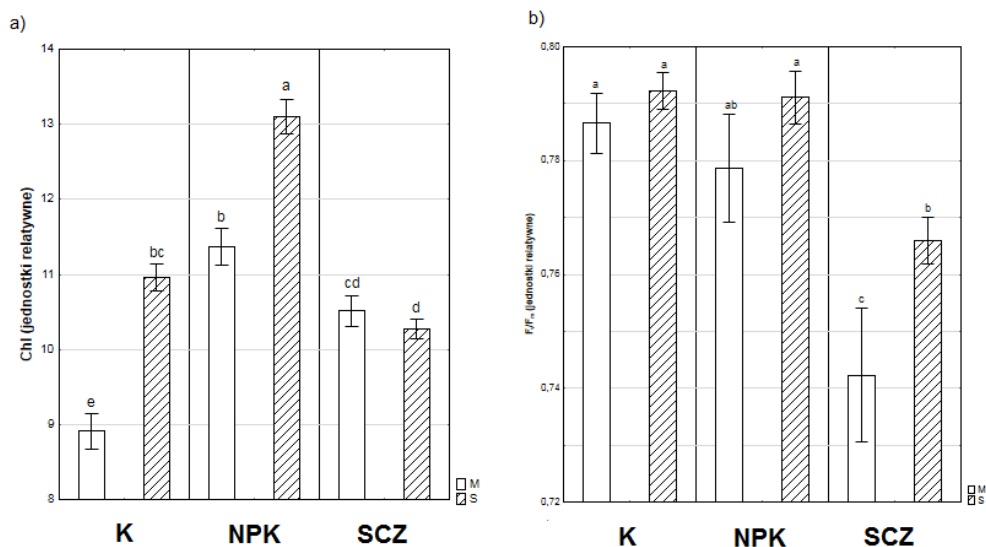
Dla spartiny nie obserwowano różnic pomiędzy wariantem kontrolnym a wariantem S-SCZ, jednakże stwierdzono niewielki (o 7%) spadek intensywności transpiracji dla roślin uprawianych na poletku S-NPK w porównaniu do kontroli. Przewodność szparkowa dla miskanta poddanego traktowaniu wzrosła o 76% w stosunku do kontroli, zarówno dla roślin na poletku M-NPK jak i M-SCZ. Dla spartiny parametr ten uległ obniżeniu pod wpływem nawożenia, o 12% na poletku S-NPK oraz o 9% na poletku S-SCZ. Współczynnik wykorzystania wody przez miskanta wzrósł pod wpływem traktowania nawozami o $1,3 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ w odniesieniu do kontroli, natomiast dla spartiny obserwowano spadek w obrębie tego parametru o $1,3 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ dla roślin na poletku S-NPK oraz o $2,1 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ dla roślin na poletku S-SCZ w odniesieniu do kontroli.

W literaturze udokumentowana jest zarówno zdolność miskanta olbrzymiego [3, 25], jak i spartiny [32, 35] do kumulacji Cd i Pb w liściach, a także podkreślany jest ich potencjał w fitoremediacji innych metali ciężkich [18]. W literaturze brak jednak informacji na temat wpływu wyżej wymienionych pierwiastków na parametry fotosyntezy u tych gatunków roślin. Jednakże istnieją doniesienia dotyczące parametrów wzrostowych, które są częściowo związane z parametrami fotosyntezy [3, 35].

W doświadczeniu obserwowano wyższe stężenie chlorofilu (rys. 2) w liściach spartiny na poletkach kontrolnych (wzrost o 22% w stosunku do kontroli) oraz traktowanych nawozem chemicznym (wzrost o 15% w stosunku do kontroli). Natomiast u roślin traktowanych szczepionką nie obserwowano różnic w stężeniu chlorofilu pomiędzy miskantem a spartiną. Stężenie chlorofilu w liściach miskanta przyjmowało najniższe wartości na poletku kontrolnym a zawartość chlorofilu u roślin na poletkach M-NPK oraz M-SCZ była wyższa odpowiednio o 28% i 18% w porównaniu do kontroli. Stężenie chlorofilu dla spartiny było niższe o 6% w liściach roślin traktowanych szczepionką, natomiast stężenie dla roślin na poletku M-NPK było wyższe o 20% w porównaniu do kontroli. Najwyższe wartości stężenia chlorofilu zarówno dla miskanta jak i dla spartiny obserwowano u rośliny traktowanych nawozem chemicznym, co świadczy o dużym znaczeniu NP w biosyntezie chlorofilu. Potwierdzają to wyniki badań przedstawione przez Bojovicia i Stojanovicia [7]. Parametr F_v/F_m (rys. 2) występuje w literaturze jako wskaźnik „żywności roślin” [13], a obliczany jest na podstawie parametrów mierzonych dla Fotosystemu II (PS II) za pomocą fluorymetru. W badaniach obserwowano brak istotnych różnic we wspomnianym parametrze dla obu gatunków na poletkach kontrolnych oraz traktowanych nawozem chemicznym. Najniższe wartości dla obu roślin parametr F_v/F_m przyjmował na poletkach traktowanych szczepionką. Przepuszczalnie zjawisko to związane jest z uszkodzeniem PS II poprzez toksyczne oddziaływanie jonów ołowiu i kadmu [4, 5, 8]. Nawijając do wyników kumulacji Cd i Pb dla roślin traktowanych szczepionką można przypuszczać, że PS II miskanta jest bardziej wrażliwy na podwyższone stężenie kadmu w liściach, natomiast PS II spartiny na podwyższone stężenie zarówno Pb, jak i Cd w stosunku do roślin rosnących na innych poletkach.

W przedstawionych wynikach dla miskanta, rysuje się znaczący wzrost parametrów fotosyntezy na poletku M-SCZ, gdzie również widoczna jest najwyższa akumulacja Cd

w liściach. Arduini i wsp. [3] wykazali promujący wpływ Cd na wzrost miskanta, kiedy wprowadzany był do pożywki w niskich dawkach. W podobnych doświadczeniach przeprowadzonych na spartynie nie wykazano jednak promującego wpływu kadmu na ilość produkowanej biomasy [35].



Rys 2. Stężenie chlorofilu (a), F_v/F_m (b)

4. WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

- Wpływ stosowanych nawozów na rośliny jest specyficzny gatunkowo, proces fotosyntezy jest intensywniejszy pod wpływem nawożenia u miskanta, podczas gdy u spartiny obserwowano zjawisko odwrotne,
- Szczepionka mikrobiologiczna wpływa na zwiększenie kumulacji Cd w liściach roślin niezależnie od gatunku,
- Nawożenie NPK w znaczącym stopniu zwiększa zawartość chlorofilu w liściach obu gatunków roślin,
- Miskant olbrzymi w większym stopniu akumuluje Cd i Pb w liściach w porównaniu do spartiny,
- Pomimo większej zawartości Cd i Pb w liściach miskanta olbrzymiego nie wykazano znaczących uszkodzeń w aparacie fotosyntetycznym,
- Większa produkcja biomasy miskanta olbrzymiego w porównaniu do spartiny świadczy o jego większym potencjale fitoremediacyjnym i zdolnościach adaptacyjnych na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

Przedstawione wyniki zostały wykonane w Instytucie Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w ramach pracy finansowanej z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz projektu „Phyto2Energy”, realizowanego w ramach działań Marie Curie – Skłodowskiej 7 Programu Ramowego UE.

LITERATURA

- [1] ADESEMOYE A.O., TORBERT H.A., KLOEPPER J.W., *Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system*, Canadian Journal of Microbiology, 2008, Vol. 54 No. 10, 876–886.
- [2] ALLOWAY B.J., *The origin of heavy metals in soils* [w:] Heavy metals in soil, pod red. B.J. Alloway, Chapman and Hall, Wielka Brytania 1995, 38–58.
- [3] ARDUINI I., MASONI A., MARIOTTI M., ERCOLI L., *Low cadmium application increase miscanthus growth and cadmium translocation*, Environmental and Experimental Botany, 2004, Vol. 52, No. 2, 89–100.
- [4] AZIZ T., AHMAD B., ASHRAF M., ARIFEEN M. Z.U., NAWAB S., NABI G.A., *Mini Review on Lead (Pb) Toxicity in Plants*, Journal of Biology and Life Science, 2015, Vol. 6, No. 2, 91–101.
- [5] BASZYŃSKI T., *Interference of Cd²⁺ in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants*, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 2014, Vol. 55, No. 2, 291–304.
- [6] BELAY A., CLAASSENS A., WEHNER F.C., *Effect of direct nitrogen and potassium and residual phosphorus fertilizers on soil chemical properties, microbial components and maize yield under long-term crop rotation*, Biology and Fertility of Soils, 2002, Vol. 35, No. 6, 420–427.
- [7] BOJOVIĆ B.M., STOJANOVIĆ J., *Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition*, Archives of Biological Sciences, 2005, Vol. 57 No. 4, 283–290.
- [8] BURZYŃSKI M., KŁOBUS G., *Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress*, Photosynthetica, 2004, Vol. 42, No. 2, 505–510.
- [9] CUTLER N.A., CHAPUT D.L., VAN DER GAST C.J., *Long-term changes in soil microbial communities during primary succession*, Soil Biology and Biochemistry, 2014 Vol. 69, 359–370.
- [10] CZARNECKI S., DÜRING R.A., *Influence of long-term mineral fertilization on metal contents and properties of soil samples taken from different locations in Hesse, Germany*, SOIL, 2015, Vol. 1, No. 1, 23–33.
- [11] Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC.
- [12] EL BASSAM N., *Energy crops guide* [w:] Handbook of bioenergy crops, pod red N. El Bassam, Earthscan, Wielka Brytania 2010, 93–399.
- [13] HIDA E.Z., ÇAKO V., BABANI F., KARAJA T., *The Influence of Stress Analyzed By The Emitted Fluorescence Changes*, IOSR Journal of Engineering, 2014, Vol. 4, No.4, 38–43.
- [14] HIGA T., PARR J., *Beneficial and effective microorganisms in a sustainable agriculture and environment*, Technology trends, 1995, Vol. 9, 1–5.
- [15] HIGNETT T.P., *History of chemical fertilizers*, [w:] Fertilizer Manual, pod red. T.P. Hignett, Springer, Holandia 1985, 3–10.
- [16] JENNE E.A., BACCINI P.J., BAULD BRUMMER G.W., CHAU Y.K., FRIMMEL F.H., GAMBLE D.S., KABATA-PENDIAS A., KANE P.F., LECKIE J.O., MULLER G.K., PROSI F.P., TOBSCHALL H.J., *Chemical species in freshwater and terrestrial systems*, [w:] The Importance of chemical “Speciation” in Environmental Processes, pod red. M. Bernhard, F.E. Brickman, P.J. Sadler, Springer-Verlag, Berlin 1984, 121–149.

- [17] JEONG S., MOON H.S., NAM K., KIM J.Y., KIM T.S., *Application of phosphate-solubilizing bacteria for enhancing bioavailability and phytoextraction of cadmium (Cd) from polluted soil*, Chemosphere, 2012, Vol. 88, No. 2, 204–210.
- [18] KORZENIOWSKA J., STANISLAWSKA-GLUBIAK E., *Phytoremediation potential of Miscanthus × giganteus and Spartina pectinata in soil contaminated with heavy metals*, Environmental Science and Pollution Research, 2015, 1–10.
- [19] LEWANDOWSKI I., CLIFTON-BROWN J.C., SCURLOCK J.M.O., HUISMAN W., *Miscanthus: European experience with a novel energy crop*, Biomass and Bioenergy, 2000, Vol. 19, No. 4, 209–227.
- [20] MAGDOFF F., LANYON L., LIEBHARDT B., *Nutrient cycling, transformations, and flows: implications for a more sustainable agriculture*, Advances in agronomy (USA) (1997).
- [21] MCKENDRY P., *Energy production from biomass (part 1): overview of biomass*, Bioresource technology, 2002, Vol. 83, No. 1, 37–46.
- [22] MEERS E., VAN SLYCKEN S., ADRIAENSEN K., RUTTENS A., VANGRONSVELD J., DU LAING G., WITTERS N., THEWYS T., TACK, F.M.G., *The use of bio-energy crops (Zea mays) for 'phytoattenuation' of heavy metals on moderately contaminated soils: a field experiment*, Chemosphere, 2010, Vol. 78, No. 1, 35–41.
- [23] MIRANSARI, M., *Soil microbes and plant fertilization*, Applied microbiology and biotechnology, 2011, Vol. 92, No. 5, 875–885.
- [24] NICHOLSON F.A., SMITH S.R., ALLOWAY B.J., CARLTON-SMITH C., CHAMBERS B.J., *An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales*, Science of the total environment, 2003, Vol. 311, No. 1, 205–219.
- [25] POGRZEBA M., KRZYŻAK J., SAS-NOWOSIELSKA A., *Environmental hazards related to Miscanthus x giganteus cultivation on heavy metal contaminated soil*, In E3S Web of Conferences, 2013, Vol. 1, p. 29006, EDP Sciences.
- [26] SALT D.E., BLAYLOCK M., KUMAR N.P., DUSHENKOV V., ENSLEY B. D., CHET I., RASKIN I., *Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants*, Nature biotechnology, 1995, Vol. 13 No. 5, 468–474.
- [27] SCARLAT N., BANJA M., *Possible impact of 2020 bioenergy targets on European Union land use. A scenario-based assessment from national renewable energy action plans proposals*, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2013, Vol. 18, 595–606.
- [28] STRAUCH D., *Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge*, Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics), 1991, Vol. 10, No. 3, 813–846.
- [29] TAHMATSIDOU V., O'SULLIVAN J., CASSELLS A.C., VOYIATZIS D., PAROUSSI G., *Comparison of AMF and PGPR inoculants for the suppression of Verticillium wilt of strawberry (Fragaria × ananassa cv. Selva)*, Applied Soil Ecology, 2006, Vol. 32, No. 3, 316–324.
- [30] TANG J., DAROCH M., KILIAN A., JEŻOWSKI S., POGRZEBA, M., MOS M. *DArT-based characterisation of genetic diversity in a Miscanthus collection from Poland*, Planta, 2015, Vol. 242, No. 4, 985–996.
- [31] VAN GINNEKEN L., MEERS E., GUISSON R., RUTTENS A., ELST K., TACK F.M., VANGRONSVELD J., DOELS L., DEJONGHE W., *Phytoremediation for heavy metal-contaminated soils combined with bioenergy production*, Journal of Environmental Engineering and Landscape Management, 2007, Vol. 15, No. 4, 227–236.
- [32] WEISS J.D., HONDZO M., SEMMENS M., *Storm water detention ponds: modeling heavy metal removal by plant species and sediments*, Journal of Environmental Engineering, 2006, Vol. 132, No. 9, 1034–1042.
- [33] Wilke B.M., *Determination of chemical and physical soil properties*, [w:] Monitoring and Assessing Soil Bioremediation, Springer, Berlin 2005, 47–95.
- [34] YAN J., CHEN W., LUO F.A.N., MA H., MENG A., LI X., ZHU M., LI S., ZHOU H., ZHUS W., GE S., LI J., SANG T., HAN B., *Variability and adaptability of Miscanthus species evaluated for energy crop domestication*, GCB Bioenergy, 2012, Vol. 4, No. 1, 49–60.

- [35] ZHANG C., GUO J., LEE D.K., ANDERSON E., HUANG H., *Growth responses and accumulation of cadmium in switchgrass (*Panicumvirgatum* L.) and prairie cordgrass (*Spartinapectinata* Link)*, RSC Advances, 2015, Vol. 5, No. 102, 83700–83706.

SELECTED PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF MISCANTHUS X GIGANTEUS AND SPARTINA PECTINATA CULTIVATED ON HEAVY METAL CONTAMINATED SOIL

Presence of heavy metals within the soil usually has anthropogenic origin. Arable soils contaminated with heavy metals are unsuitable for agriculture food production, however there is possibility to use this area for biomass production, what is promoted by European Union. Cultivation of *Spartina pectinata* and/or *Miscanthus x giganteus* can be dually beneficial in biomass production as well as in reclamation purposes in a way of phytoremediation. The aim of study was to assessment of *Spartina pectinata* and *Miscanthus x giganteus* selected physiological parameters when cultivated on heavy metal contaminated soil treated with different fertilizers. During experiment soil physico-chemical characterization, assessment of Cd and Pb total and bioavailable concentration as well as Pb and Cd leaves accumulation was conducted. Additionally, influence of heavy metals on selected photosynthetic parameters (A, E, g_s , WUE, F_v/F_m) and chlorophyll concentration was analyzed. Fertilization had impact on bioavailability of Cd and Pb, also on plant ability to accumulation it within the leaves what was resulting in photosynthesis apparatus affection. Fertilization increase the values of miscanthus photosynthetic parameters, however opposite effect was observed for cordgrass. Both plants had the greatest leaves chlorophyll concentration under NPK treatment. Miscanthus are capable of accumulate higher concentrations of Pb and Cd while absence of damage to photosynthetic apparatus. On the same time it higher capability to biomass production in compare to cordgrass, make this species better solution for biomass production on heavy metal contaminated lands.

Agata SIEDLECKA, Katarzyna PIEKARSKA*

METODY HODOWLANE I MOLEKULARNE W BADANIACH ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI W WODZIE WODOCIĄGOWEJ

Woda wodociągowa przeznaczona do spożycia powinna być szczególnie uważnie monitorowana pod względem jakości mikrobiologicznej, gdyż stanowi potencjalne źródło rozprzestrzeniania się chorób czy epidemii. Zjawisko antybiotykooporności mikroorganizmów bytujących w wodzie wodociągowej jest niebezpieczne ze względu na możliwość przekazania determinantów oporności na drobnoustroje patogene, również już poza systemami oczyszczania i dystrybucji wody, co utrudnia ich unieszkodliwienie, obniżając skuteczność antybiotykoterapii w procesie leczenia. Lekooporność mikroorganizmów zasiedlających systemy oczyszczania i dystrybucji wody powinna być monitorowana m.in. w celu oceny ryzyka rozprzestrzeniania się oporności oraz ustalenia dróg jej przekazywania pomiędzy drobnoustrojami. Przedostanie się lekoopornych bakterii do organizmów ludzi i zwierząt może doprowadzić do poważnych komplikacji zdrowotnych. W badaniach nad opornością mikroorganizmów stosuje się metody hodowlane, oparte na izolacji czystych kultur bakteryjnych i określeniu profili ich oporności oraz metody molekularne, charakteryzujące próbkę pod względem obecności (ilości) sekwencji nukleotydowych kodujących geny warunkujące oporność, również w przypadku mikroorganizmów niezdolnych do wzrostu na pożywkach w warunkach laboratoryjnych. Zakłady oczyszczania i systemy dystrybucji wody mogą przyczynić się do selekcji drobnoustrojów antybiotykoopornych.

1. WSTĘP

Antybiotykooporność jest stosunkowo dobrze poznanym i szeroko opisanym w literaturze zjawiskiem, polegającym na zdolności mikroorganizmów do wykształcania mechanizmów obronnych wobec antybiotyków (chemioterapeutyków), co skutkuje ograniczeniem możliwości walki z niepożądanymi drobnoustrojami. Lekooporność może być dziedziczona przez kolejne pokolenia mikroorganizmów lub przenoszona pomię-

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, agata.siedlecka@pwr.edu.pl.

dzy bakteriami należącymi do tego samego lub innych gatunków (w procesie tzw. horyzontalnego transferu genów). Nabycie oporności może być skutkiem przekazania komórce bakteryjnej informacji genetycznej (genu lub zestawu genów) kodujących białka uczestniczące w jednym z wielu mechanizmów opornościowych. Przekazanie genów oporności może odbywać się np. na drodze podziałów komórkowych, koniugacji, transformacji, transdukcji, czy wymianie mobilnych elementów genetycznych (plazmidów, integronów, transpozonów); oporność może być też wynikiem mutacji [6]. Można wyróżnić antybiotykooporność pierwotną i wtórną (nabytą). Odkrycie antybiotykoopornych drobnoustrojów w trudnodostępnych rejonach Ziemi potwierdza znaczenie metabolitów wtórnych dla tzw. lekooporności pierwotnej, niezależnej od ekspozycji bakterii na współczesne wytwory medycyny (leki, antybiotyki) i cywilizacji, powodujących warunki stresu środowiskowego [13].

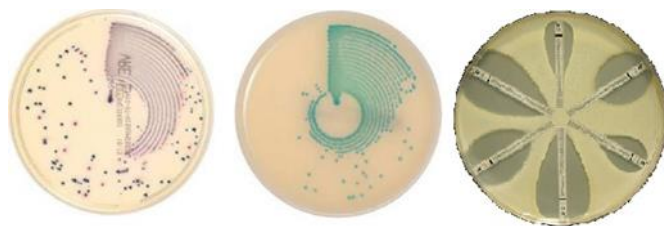
Celem niniejszego opracowania jest scharakteryzowanie metod: hodowlanych i molekularnych, wykorzystywanych do badań antybiotykooporności (obecności antybiotykoopornych mikroorganizmów i genów warunkujących oporność) w próbkach wody wodociągowej oraz określenie powszechności występowania zjawiska oporności i możliwości jej rozprzestrzeniania w systemach dystrybucji wody przeznaczonej do spożycia.

2. METODY BADANIA OPORNOŚCI NA ANTYBIOTYKI

Klasyczne metody badania lekooporności mikroorganizmów opierają się na izolacji kultur bakteryjnych i obserwacji wpływu antybiotyku na wyroście kolonie. Wśród podłoży hodowlanych przeznaczonych do identyfikacji lekoopornych szczepów bakteryjnych wyróżnić można podłoża chromogenne: VRE (umożliwiające wykrywanie *Enterococcus faecium* i *E. faecalis* wykazujących nabytą oporność na wankomycynę, rys. 1.), MRSA (umożliwiające wykrywanie metycylino-opornych szczepów *Staphylococcus aureus*, rys 1.) czy ESBL (umożliwiające wykrywanie enterobakterii wytwarzających β -laktamazy o rozszerzonym spektrum działania) [17].

Jedną z najprostszych, a zarazem najpowszechniejszych metod oznaczania lekooporności jest metoda dyfuzyjno-krążkowa (antybiogram) Kirby-Bauer, polegająca na nakładaniu nasączonych znanymi ilościami antybiotyków krążków bibułowych (krążki mogą zostać zastąpione np. tabletkami) i obserwacji stref inhibicji wzrostu mikroorganizmów wokół krążków. Wyniki mogą być odczytywane manualnie, za pomocą linijki czy suwmiarki, a także za pomocą programów do automatycznego odczytu antybiogramów. Lekowrażliwość może być również oznaczana metodą rozcieńczeniową. W celu wyznaczenia MIC (minimalnego stężenia hamującego) stosuje się nasączone gradientem stężeń antybiotyku paski bibułowe i obserwuje stężenie wywołujące inhibicję wzro-

stu. Ponadto, istnieją komercyjne testy (np. paski E-test, rys. 1.) do wykrywania i potwierdzania mechanizmów oporności, takich jak ESBL, AmpC, MBL, KPC, VRE, CARB i innych oraz automatyczne systemy określania lekowrażliwości drobnoustrojów. Antybiogramy mogą być zastępowane np. testami ATB EU (08), umożliwiającymi określanie profilu antybiotykooporności (oporności/wrażliwości szczepów na kilka antybiotyków) [17, 18]. Zastosowanie mogą też znaleźć metody immunologiczne, oparte na wykrywaniu całych komórek lub antygenów bakterii. Coraz częściej zastosowanie znajdują metody molekularne, polegające na detekcji genów warunkujących oporność na dane antybiotyki obecnych w genomach wyizolowanych szczepów lub w postaci wolnego DNA (RNA, białek) w całej objętości próbki środowiskowej.



Rys. 1. Podłoża chromogenne VRE, MRSA, E-Test [17]

3. OZNACZANIE PROFILI ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI MIKROORGANIZMÓW WYIZOLOWANYCH Z WÓD WODOCIĄGOWYCH Z WYKORZYSTANIEM PODŁOŻY HODOWLANYCH

Badanie bezpieczeństwa sanitarnego wody może opierać się na izolacji szczepów bytujących w wodzie wodociągowej i poddaniu ich testowi na antybiotykooporność. Zaobserwowanie oporności może być wskazówką do podjęcia dalszych badań w celu ustalenia źródła i drogi transferu niepożądanych cech.

W pracy Vincenti i in. badano szpitalną wodę wodociągową w celu określenia potencjalnej antybiotykooporności bytujących w niej mikroorganizmów. Próbkę wody przefiltrowano na dwóch sączkach celulozowych o średnicy porów 45 μm . Następnie, membrany umieszczono na dwóch pożywkach agarowych: wybiórczej z cetrymidem dla *Pseudomonas aeruginosa* oraz MacConkey dla pozostałych gram-ujemnych bakterii niefermentujących, które poddano inkubacji w 37°C przez 48 h. Za pomocą testów ATB PSE 5 i ATB PSE EU (08) wykazano, iż 100% wyizolowanych szczepów *P. aeruginosa* było opornych na fosfomycynę, zaś spośród pozostałych gram-ujemnych bakterii niefermentujących, wszystkie wyizolowane szczepy *P. fluorescens* były odporne na imipenem. Badanie ograniczono do hodowlanych szczepów gram-ujemnych bakterii niefermentujących, które stanowią tylko część mikroflory wody wodociągowej [13].

W badaniach Subba i in. z próbek wody przeznaczonej do spożycia w Katmandu (Nepal) wyizolowano czyste szczepy *E. coli*, wyodrębniając ponadto szczepy termotolerancyjne (inkubacja w 44,5°C), z których ekstrahowano plazmidowe DNA. Wykazano, iż wszystkie wyizolowane szczepy, zarówno *E. coli* jak i termotolerancyjne *E. coli*, były wrażliwe na ofloksacynę, chloramfenikol i kotrimoksazol, zaś szczepy termotolerancyjne wykazywały zwiększoną oporność na amoksycylinę, amikacynę, cefiksym, kwas nalidyksowy i tetracyklinę. Pozytywne wyniki elektroforezy żelowej plazmidowego DNA korelowały z opornością szczepów na kwas nalidyksowy, co sugeruje możliwość przenoszenia oporności na ten lek na plazmidach. Należy zauważyć, że obecność pałeczek okrężnicy w każdej próbce wody stanowi dowód skażenia wód fekaliami [10].

Z problemem zanieczyszczenia wody przeznaczonej do spożycia bakteriami *E. coli* boryka się też Dhaka (Bangladesz). Wyizolowane przez badaczy szczepy, u których stwierdzono oporność na cefalosporyny, poddano następnie testowi na obecność β -laktamaz o rozszerzonym spektrum działania (ESBL) za pomocą synergicznego, podwójnego testu krążkowego. W centralnej części pożywki agarowej Mueller-Hinton umieszczono krążek nasączony amoksycyliną (20 μ g) i kwasem klawulanowym (10 μ g), zaś w odległości 15 mm umieszczono krążki z ceftazydymem, cefotaksymem lub aztreonamem w ilości 30 μ g. Wszystkie szczepy wykazujące oporność typu ESBL zostały poddane testowi na obecność genów należących do grupy *bla* za pomocą techniki PCR. Spośród 233 wyizolowanych szczepów 36% wykazywało oporność na trzy lub więcej antybiotyków (tzw. oporność wielolekową), a ponad 9% szczepów wykazało oporność ESBL – wśród nich 90 % posiadało geny *bla*_{CTX-M-15}, 41% geny *bla*_{TEM}, zaś żaden z nich nie posiadał genu *bla*_{SHV} [11].

O plastyczności fenotypów organizmów prokariotycznych świadczyć mogą badania antybiotykooporności *Sphingomonadaceae* wyizolowanych ze szpitalnej wody wodociągowej, w których wykazano, że szczepy należące do tego samego gatunku prezentowały inne fenotypy oporności (głównie w wobec fluorochinolonów, cefalosporyn i sulfamidów) [8].

3.1. TESTY PRZEKAZYWANIA OPORNOŚCI NA PLAZMIDACH

W pracach [11] i [14] badano zjawisko przekazywania oporności na plazmidach. Wykonano testy koniugacji plazmidów R pomiędzy 15 opornymi szczepami wyizolowanymi z próbek wody wodociągowej a laboratoryjnymi szczepami wrażliwymi na antybiotyki. Pomędzy bakteriami uczestniczącymi w procesie następowało samoistne przekazanie plazmidów o masach w przedziale 50–105 MDa, warunkujących oporność na ampicylinę, trimetoprim + sulfametoksazol, ceftriakson i tetracyklinę [11]. Udowodniono ponadto, iż wrażliwe bakterie *E. coli* (laboratoryjny szczep HB 101) są w stanie nabyć przekazywaną na plazmidach oporność na tetracyklinę od szczepów opornych, wyizolowanych z wody wodociągowej [14].

4. METAGENOMICZNE UJĘCIE PROBLEMU ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI

Ze względu na brak możliwości hodowania w warunkach laboratoryjnych wielu szczepów występujących w próbkach środowiskowych, w tym wody wodociągowej, konwencjonalne metody ich identyfikacji i oznaczania antybiotykooporności, oparte na izolacji szczepów i obserwacji zmian w koloniach bakteryjnych, okazują się niewystarczające. Uzupełnieniem klasycznych antybiogramów czy E-testów może być metagenomika - badanie sekwencji DNA ze wszystkich genomów danego środowiska (z tak zwanych próbek środowiskowych) [2].

Znaczenie metagenomiki uwidacznia eksperyment Bergeron i in. wykorzystujący klasyczne techniki hodowli mikroorganizmów antybiotykoopornych i analizę wolnego DNA obecnego w próbkach wody. Badano wodę surową, oczyszczoną oraz wodociągową (kranową) na obecność antybiotykoopornych bakterii i genów warunkujących oporność. Obecność antybiotykoopornych szczepów (zarówno bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich) stwierdzono jedynie w próbkach wody surowej - po procesie oczyszczania (na który składała się m.in. filtracja) oraz w próbkach wody wodociągowej (po chlorowaniu) nie stwierdzono bakterii grupy coli ani żadnych jtk (jednostek tworzących kolonię) tlenowych bakterii heterotroficznych. Jednocześnie, z próbek wody ekstrahowano DNA i powielono je za pomocą PCR, używając starterów zdefiniowanych dla genów oporności na antybiotyki, takich jak: *mecA*, *ermB*, *sull*, *tetA*, *tetW*, *tetX* (tab. 1.). Jedynie w próbkach wody surowej stwierdzono obecność poszukiwanych genów (*tetA* i *sull*). Jednakże, obecność genów 16S rRNA zarówno w próbkach wody po oczyszczeniu w zakładzie, jak i pobranych u końcowych odbiorców, wskazuje na nieskuteczność filtracji w usuwaniu fragmentów DNA (procesy te nie są dedykowane do tych celów). Może to prowadzić do rozprzestrzenienia się zjawiska antybiotykooporności, m.in. na skutek transformacji czy horyzontalnego transferu genów. W rzeczywistości, chlorowanie unieszkodliwia bakterie, przyczyniając się jednocześnie do uwalniania z nich materiału genetycznego, który może przenosić potencjalnie niepożądane cechy na inne, obecne między innymi w rurociągach drobnoustroje [1].

5. DYNAMIKA ZMIAN BIORÓŻNORODNOŚCI I ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI MIKROORGANIZMÓW OD ŹRÓDŁA DO ODBIORCY WODY WODOCIĄGOWEJ

Ciekawym zjawiskiem jest korelacja między opornością na antybiotyki i dezynfektanty. Drobnoustroje antybiotykooporne wykazują obniżoną wrażliwość na proces dezynfekcji, gwarantujący przydatność do spożycia wody wodociągowej. Może to wiązać się z wykorzystywaniem podobnych mechanizmów obronnych (takich jak zmniejszenie

przepuszczalności błony/ściany komórkowej, wytwarzanie otoczek, zastąpienie uszkodzonych szlaków metabolicznych), przekazanych na plazmidach typu R. Lekooporne drobnoustroje są też znajdowane w wodach podziemnych, powszechnie (mylnie) uznawanych za wolne od zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Ponadto, lekooporność mikroorganizmów wyizolowanych z wody wodociągowej idzie w parze z obniżoną wrażliwością na metale dwuwartościowe [5].

Już w 2009 roku w pracy Xi i in. stwierdzono znaczną rozbieżność pomiędzy obniżeniem liczebności heterotroficznych bakterii w procesie uzdatniania wody (odpowiednio $9,9 \cdot 10^6$ jtk/100 ml wody przed oczyszczaniem i 68 jtk/100 ml wody po procesie) a zmniejszeniem ilości 16S rRNA ($3,4 \cdot 10^7$ kopii/100 ml wody przed oczyszczaniem i $1,6 \cdot 10^6$ kopii/100 ml wody po procesie), co świadczy o skutecznej dezaktywacji komórek bakteryjnych, ale nie o ich usunięciu z wody. Ponadto, w przypadku testowanej oporności na amoksycylinę, chloramfenikol, gentamycynę i rifampicynę stwierdzono znaczny wzrost oporności szczepów obecnych w uzdatnionej wodzie w porównaniu do wody surowej. Zaobserwowano też namnażanie bakterii w systemie dystrybucji wody. Autorzy zasugerowali, iż dezynfekcja monochloraminami, podobnie do dezynfekcji chlorem, może sprzyjać selekcji szczepów opornych - zastąpienie chlorowania monochloraminami nie zniweluje zatem problemu oporności bakterii występujących w wodzie wodociągowej [15].

Farkas i in. założyli, iż potencjalnym źródłem determinantów antybiotykooporności w wodzie wodociągowej jest biofilm tworzący się w zakładach oczyszczania wody. Aby zweryfikować tę hipotezę dla konkretnego wodociągu, w pracy [3] badano obecność integronów klasy 1., ze szczególnym uwzględnieniem genów: integrazy *intI*, warunkujących oporność na czwartorzędowe związki amoniowe *qacE* (i *qacEΔI*) i warunkujących oporność na sulfonamidy *sulI*, a także modułów transpozonowych *tni* w koloniach zasiedlających biofilm pobrany z zakładu oczyszczania wody w Cluj (Rumunia). Próbkę biofilmu zostały pobrane z osadnika oraz piasku filtracyjnego, a bakterie wchodzące w ich skład hodowane na różnych pożywkach wybiórczych i identyfikowane za pomocą testów API. W celu amplifikacji genów specyficznych dla integronów klasy 1. wykonano kolonijny PCR, wykorzystując zawiesinę czystych kultur bakteryjnych w sterylnej wodzie, o stężeniu 10^6 jtk/ml, jako matrycy DNA. Produkty PCR sekwencjonowano metodą Sangera; sekwencjonowano również geny 16S rRNA kolonii, u których stwierdzono obecność poszukiwanych genów integronów 1. klasy, w celu potwierdzenia ich przynależności gatunkowej. Stwierdzono obecność genów integrazy, oporności na czwartorzędowe związki amoniowe (z reguły geny należące do grupy *qacE* powiązane są z integronami; wykrycie sekwencji *qacE* w środowiskowym szczepie *P. fragi* nieposiadającym genów integrazy wskazuje na wysoki stopień rekombinacji i plastyczność materiału genetycznego bakterii zasiedlających biofilm) oraz oporności na sulfonamidy. Obecność genów charakterystycznych dla integronów klasy 1., sprzężonych z genami warunkującymi oporność na antybiotyki w koloniach bakteryjnych

biofilmu obecnego w zakładach oczyszczania wody może prowadzić do transferu oporności na organizmy bytujące w wodzie wodociągowej [3].

Informacja na temat dróg transferu oporności dostarczyć może porównanie dynamiki zmian bioróżnorodności i profili antybiotykooporności. W badaniu bioróżnorodności antybiotykoopornych drobnoustrojów oraz obecności genów warunkujących oporność w wodzie wodociągowej wykonanym przez Shi i in. posłużono się wysokowydajnym sekwencjonowaniem i ilościową PCR w czasie rzeczywistym (wykorzystując SYBR Premix jako znacznik). Stwierdzono, iż bioróżnorodność mikroorganizmów ulegała zmianom na różnych etapach oczyszczania wody. Izolując mikroorganizmy wykazano, iż w wodzie poddanej filtracji dominowały szczepy z rodzaju *Escherichia*, zaś po dezynfekcji chlorem – z rodzaju *Pseudomonas* (ich względna liczebność zwiększyła się w miarę przepływu wody przez rurociąg - od zakładu do miejsca poboru – z 27,8 % do 63,0%). Jednocześnie wzrosła oporność bakterii na antybiotyki: chloramfenikol, trimetoprym, cefalotynę (nawet 4,8-krotnie w wodzie wodociągowej w porównaniu do poddanej filtracji), ampicylinę i tetracyklinę. Badanie metagenomiczne potwierdziło wyraźne zmiany bioróżnorodności prokariotów bytujących w wodzie na różnych etapach oczyszczania / przesyłu, w tym wzrastającą przewagę *Pseudomonas* w wodzie poddanej dezynfekcji. Analiza wykonana techniką qPCR potwierdziła wzrost liczebności genów warunkujących oporność w próbkach po dezynfekcji, w stosunku do wody poddanej filtracji, przy jednoczesnym spadku ich liczebności w wodzie wodociągowej (liczebność genów odnoszono do ilości 16S rRNA obecnego w próbce). Podobną tendencję zauważono w badaniach metagenomicznych; stwierdzono ponadto, że przeważały geny warunkujące oporność na β -laktamy. Pewna rozbieżność zaobserwowana między wynikami uzyskanymi dla izolowanych szczepów, a sekwencjami genów oporności próbek środowiskowego DNA może wynikać z faktu niezdolności wielu szczepów do namnażania się w warunkach laboratoryjnych, różnic fenotypowo-genotypowych (posiadanie genów oporności nie musi oznaczać ich ekspresji i faktycznej oporności drobnoustrojów) oraz różnorodności sekwencji nukleotydowych (poznano tylko niektóre geny warunkujące oporność). Dezynfekcja chlorem stanowi jeden z czynników stresu środowiskowego, który może powodować odpowiedź bakterii przejawiającą się w replikacji plazmidowego DNA, co prowadzi w konsekwencji do zwiększenia liczby kopii genów warunkujących oporność wykrywanych w analizach qPCR [9].

W badaniach Vaz-Moreira i in. do izolacji i identyfikacji mikroorganizmów bytujących w wodzie wodociągowej należących do rodzaju *Pseudomonas spp.* zastosowano techniki hodowli na wybiórczych pożywkach oraz screening z wykorzystaniem specyficznych dla *Pseudomonas* starterów Ps-F i Ps-R. Z próbek pochodzących z zakładu oczyszczania wody, systemu dystrybucji wody i wody wodociągowej pobranych u odbiorców wyizolowano łącznie 95 szczepów należących do *Pseudomonas spp.*. Wszystkie poddano testowi na antybiotykooporność ATB PSE EU (08) oraz metodzie dyfuzyjno-krażkowej (dla kwasu nalidyksynowego, cefalotyny, tetracykliny

i streptomycyny). Stwierdzono pojawienie się oporności na streptomycynę i rifampicynę w wodzie wodociągowej (oporności tej nie wykryto w próbkach wody z zakładu i systemu dystrybucji). Zaobserwowano też znaczny wzrost oporności na fosfomicynę i kwas nalidyksowy, przy jednoczesnym zaniku oporności na ceftazydym. Sugeruje to istotne znaczenie nie tylko poziomego transferu genów, ale i przekazywania cech oporności w kolejnych pokoleniach mikroorganizmów namnażających się w rurociągach, w wodzie poddanej dezynfekcji. Nie wykluczono również możliwości przedostania się innych bakterii (posiadających cechy oporności na antybiotyki) ze środowiska do rurociągów [14]. Podobne obserwacje poczyniono wobec *Acinetobacter spp.*, porównując bioróżnorodność i rozprzestrzenienie gatunków należących do tego rodzaju w próbkach wody pobranych bezpośrednio z zakładu oczyszczania i systemu dystrybucji; wykluczono jednak występowanie tzw. efektu założyciela (odbudowania populacji z niewielkiej liczby osobników założycielskich, skutkującego m.in. ograniczeniem zmienności genetycznej nowopowstałej populacji) [7].

6. METODY I STANDARDY OZNACZANIA ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI

Zasady przeprowadzania testów na antybiotykooporność oraz interpretacji wyników są regulowane wytycznymi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) oraz Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Bazy danych EUCAST zawierają informacje dotyczące wnioskowania o wrażliwości (S), średniej wrażliwości (I) i oporności (R) szczepów, szacowania oporności na inne (nieprzebadane) antybiotyki na podstawie uzyskanego profilu oporności, a także dolne granice stref zahamowania wzrostu. Mikroorganizmy wrażliwe na antybiotyki bywają nazywane drobnoustrojami typu dzikiego, o ile w teście dyfuzyjno-krażkowym średnice stref ich inhibicji nie przekraczają określonych wartości, podanych w mm. Jest to tzw. dolna granica strefy zahamowania ECOFF (z ang. *epidemiological cutoff*). Zgodnie z definicją EUCAST, organizm jest uznawany za typ dziki, jeśli nie wykazuje nabytej (również w wyniku mutacji) oporności na antybiotyki [7, 19].

Mimo, iż przytoczone eksperymenty były projektowane do weryfikacji różnych hipotez, pewne etapy badań i zastosowane techniki wielokrotnie się powtarzały. Pobrane próbki wody były transportowane i przechowywane w temperaturze 4°C [1, 4], następnie poddawane wirowaniu (w celu ekstrakcji DNA) [1] lub filtracji przez sterylne, celulozowe membrany o średnicy porów 45 µm (w celu inokulacji podłoży hodowlanych i hodowli drobnoustrojów) [7–9, 13] i ekstrakcji DNA [10].

Antybiotykooporność oznaczano za pomocą metody dyfuzyjno-krażkowej [1, 7, 9–11, 14] oraz testów ATB EU (08) [8, 13, 14]. Z reguły, mianem wieloopornych określano te szczepy, które wykazywały oporność na substancje należące do przynajmniej trzech klas antybiotyków, przy czym nie uwzględniano oporności pierwotnej.

Geny oporności wykrywano za pomocą techniki PCR [3, 11] lub (ilościowo) real-time PCR [4, 9], zarówno z wyhodowanych na podłożach czystych kolonii i próbek środowiskowych (podejście metagenomiczne) [1, 9, 15].

Badanie zjawiska transformacji DNA przez laboratoryjne, wrażliwe szczepy polegało na ich łączonej hodowli ze szczepami opornymi wyizolowanymi z wody [11, 14]. Po procesie koniugacji zastosowano test dyfuzyjno-krażkowy oraz alkaliczną ekstrakcję plazmidowego DNA [11] oraz hodowlę populacji bakteryjnych na podłożach z antybiotykiem w celu selekcji transkoniugantów (komórek, które nabyły plazmidy wraz z genami oporności) [14].

W tabeli 1. przedstawiono niektóre z wykorzystanych w analizach molekularnych genowe determinanty oporności na antybiotyki, kodowane przez nie mechanizmy oporności, ich sekwencje nukleotydowe oraz ich długość i temperaturę annealingu. Zestawienie hipotez stawianych przez badaczy, zastosowanych technik badawczych oraz uzyskanych wyników i wniosków przedstawia tabela 2.

Tabela 1. Wybrane geny warunkujące oporność, mechanizm przez nie kodowany, sekwencja starterów wykorzystywanych w technice PCR, długość sekwencji nukleotydowej genu oraz temperatura annealingu PCR [1, 11]

Gen oporności	Mechanizm oporności	Sekwencja starterów 5'-->3'	Dł. sek. [bp]	Temp. ann. [°C]
<i>erm(B)</i>	ochrona rybosomu	F: GATACCGTTTACGAAATTGG R: GAATCGAGACTTGAGTGTGC	364	58
<i>sulI</i>	modyfikacje enzymatyczne	F: CCGTTGGCCTTCCTGTAAAG R: TTGCCGATCGCGTGAAGT	67	60
<i>tet(A)</i>	pompa mikrobiologiczna	F: GCTACATCCTGCTTGCCTTC R: CATAGATCGCCGTGAAGAGG	210	60
<i>tet(W)</i>	ochrona rybosomu	F: GAGAGCCTGCTATATGCCAGC R: GGGCGTATCCACAATGTTAAC	168	60
<i>tet(X)</i>	modyfikacje enzymatyczne	F: AGCCTTACCAATGGGTGTAAG R: TTCTTACCTTGGACATCCCG	278	60
<i>mec(A)</i>	białko wiążące β -laktamy	F: ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT R: TACGCGATATCTAACTTTCCTA	163	60
<i>bla_{TEM}</i>	geny ESBL	F: TCGGGGAAATGTGCGCG R: TGCTTAATCAGTGAGGACCC	850	57
<i>bla_{SHV}</i>	geny ESBL	F: CACTCAAGGATGTATTGTG R: TTAGCGTTGCCAGTGCTCG	861	57
<i>bla_{CTX-M-15}</i>	geny ESBL	F: CACACGTGGAATTTAGGGACT R: GCCGTCTAAGGCGATAAACA	996	56

Tabela 2. Metody badawcze zastosowane w oznaczaniu antybiotykooporności mikroorganizmów bytujących w wodach wodociągowych

Cel / hipoteza	Zastosowane metody badawcze	Wyniki / wnioski	Źródło
obecność mikroorganizmów antybiotykoopornych oraz genów oporności w wodzie surowej, po oczyszczeniu i wodociągowej	metoda dyfuzyjno-krażkowa; PCR DNA środowiskowego	brak opornych mikroorganizmów i genów oporności w wodzie po oczyszczeniu i wodociągowej	[1]
obecność integronów klasy 1. w biofilmie ZOW	kolonijny PCR	8,33 % bakterii posiadało integrony klasy 1.	[3]
korelacja między genami oporności a obecnością antybiotyków w wodach powierzchniowych	qPCR	korelacja potwierdzona dla tetracykliny i sulfonamidów	[4]
oznaczenie typów dzikich i mutantów wśród <i>Acinetobacter spp.</i> z ZOW i wody wodociągowej	metoda dyfuzyjno-krażkowa	80 % wyizolowanych szczepów stanowiło typy dzikie	[7]
wpływ chlorowania na antybiotykooporność	metoda dyfuzyjno-krażkowa; qPCR DNA środowiskowego	selekcja mikroorganizmów opornych po dezynfekcji chlorem	[9]
plazmidy <i>E. coli</i> jako wektory oporności na inne patogeny	metoda dyfuzyjno-krażkowa; PCR plazmidowego DNA; ekstrakcja alkaliczna plazmidowego DNA	możliwość przenoszenia oporności na kwas nalidysowy na plazmidach	[10]
plazmidy <i>E. coli</i> jako wektory oporności na inne patogeny	metoda dyfuzyjno-krażkowa; PCR; ekstrakcja alkaliczna plazmidowego DNA	potwierdzenie przenoszenia oporności wielolekowej na plazmidach	[11]
<i>Pseudomonas spp.</i> jako rezerwuar antybiotykooporności w wodach wodociągowych	testy ATB EU (08)	stosunkowo niewielka oporność, ale możliwość rozprzestrzeniania genów oporności (pionowy transfer)	[12]
antybiotykooporność bakterii gram-ujemnych, niefermentujących wyizolowanych ze szpitalnej wody wodociągowej	ATB EU (08)	100 % wyizolowanych <i>P. areuginosa</i> opornych na fosfomicynę, 100 % <i>P. fluorescens</i> opornych na imipenem	[13]
plazmidy <i>E. coli</i> jako wektory oporności na inne patogeny	hodowla na podłożu z antybiotykiem; ekstrakcja plazmidowego DNA lizozymem i SDS	potwierdzenie przenoszenia oporności na tetracyklinę na plazmidach	[14]
obecność mikroorganizmów antybiotykoopornych oraz genów oporności w wodzie surowej, po oczyszczeniu i wodociągowej	podłoża hodowlane z antybiotykami; qPCR DNA środowiskowego	selekcja mikroorganizmów opornych po dezynfekcji monochloraminami	[15]

7. PODSUMOWANIE

Zjawisko antybiotykooporności mikroorganizmów występujących w wodzie wodociągowej jest wynikiem obiegu genów warunkujących oporność, obecnych między innymi w ściekach bytowo-gospodarczych, przedostających się następnie do wód powierzchniowych i podziemnych, a stamtąd ujmowanych do zakładów oczyszczania wód. Na rozpowszechnianie genów oporności znaczny wpływ ma przedostawanie się antybiotyków (głównie wraz z niewystarczająco dokładnie oczyszczonymi ściekami) do środowiska. Niskie stężenia medykamentów w wodach powierzchniowych są niegroźne dla drobnoustrojów, przyczyniając się jednocześnie do wykształcenia mechanizmów oporności. Mikroorganizmy bytujące w środowisku mają ponadto czas na przekazanie sobie informacji genetycznej niosącej potencjalną oporność. Zależność między obecnością antybiotyków i genów warunkujących na nie oporność wykazano m. in. w badaniach Jiang i in. [4].

Dotychczas, zakłady oczyszczania wody koncentrowały się na mikrobiologicznych wskaźnikach jakości wody, opierających się na obecności organizmów wskaźnikowych w badanych próbkach. Jednakże, niemniej ważne wydają się być śladowe ilości antybiotyków, szczepy wykazujące oporność na antybiotyki, czy geny warunkujące oporność [1]. Na przykład, geny *tetO* i *tetW*, warunkujące oporność na tetracyklinę, mogą świadczyć o zanieczyszczeniu wody fekaliami [15]. Warto zauważyć, iż techniki membranowe mogą okazać się nieskuteczne w próbach usuwania drobnoustrojów antybiotykoopornych ze względu na zjawisko deformacji ściany komórkowej szczepów opornych, umożliwiające przechodzenie takich komórek przez pory membrany [5]. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi, zakłady oczyszczania wody i oczyszczalnie ścieków obniżają zawartość bakterii, ale przyczyniają się do selekcji mikroorganizmów opornych, zdolnych do wykształcenia mechanizmów obronnych – a zatem do rozprzestrzeniania się zjawiska oporności na inne drobnoustroje.

Podjęcie metagenomiczne pozwala znacznie rozszerzyć zakres analiz i uzupełnić obraz antybiotykooporności szczepów zasiedlających wody wodociągowe; należy jednak pamiętać, że sama obecność genów w próbce nie jest dowodem na fenotypową oporność i wirulencję niehodowlanych szczepów. Ponadto, uzyskana liczebność sekwencji kodujących białka mechanizmów oporności powinna być odnoszona do liczebności sekwencji 16S rRNA - tylko wówczas wyniki przedstawiają realny obraz oporności w odniesieniu do całkowitej populacji mikroorganizmów zasiedlających daną próbkę.

Ograniczając skuteczność dostępnych na rynku farmaceutyków, lekooporność może stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi i zwierząt [16]. Z tego względu monitoringowi mikrobiologicznemu, ze szczególnym uwzględnieniem antybiotykooporności, powinny zostać poddane systemy dystrybucji wody przeznaczonej do spożycia. Obecność mikroorganizmów antybiotykoopornych w wodzie wodociągowej stanowi poważne ryzyko rozprzestrzenienia się oporności na inne, patogenne

drobnoustroje. Woda wodociągowa określana jest w literaturze mianem "rezerwuaru" genów oporności. Przekazanie determinantów oporności może odbyć się już poza systemem dystrybucji wody wodociągowej, zatem stwierdzenie mikrobiologicznej przydatności wody do spożycia nie usprawiedliwia zaniechania monitoringu antybiotykooporności.

Praca zrealizowana w ramach zlecenia statutowego S50-549.

LITERATURA

- [1] BERGERON S., BOOPATHY R., NATHANIEL R., CORBIN A., LAFLEUR G., *Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water*, International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, Vol. 102, 370–374.
- [2] BROWN T.A., *Genomy*, PWN, Warszawa 2013, 237.
- [3] FARKAS A., BUTIUC-KEUL A., CIATARAS D., NEAMTU C., CRACIUNAS C., PODAR D., DRAGAN-BULARDA M., *Microbiological contamination and resistance genes in biofilms occurring during the drinking water treatment process*, Science of the Total Environment, 2013, Vol. 443, 932–938.
- [4] JIANG L., HU X., XU T., ZHANG H., SHENG D., YIN D., *Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China*, Science of the Total Environment, 2013, Vol. 458–460, 267–272.
- [5] ŁEBKOWSKA M., *Występowanie bakterii antybiotykoopornych w wodzie przeznaczony do spożycia przez ludzi*, Ochrona Środowiska, 2009, Vol. 31, No. 2, 11–15.
- [6] MARKIEWICZ Z., KWIATKOWSKI Z.A., *Bakterie, antybiotyki, lekooporność*, PWN, Warszawa 2008, 97–192.
- [7] NARCISO-DA-ROCHA C., VAZ-MOREIRA I., SVENSSON-STADLER L., MOORE E.R.B., MANAIA C.M., *Diversity and antibiotic resistance of Acinetobacter spp. in water from the source to the tap*, Applied Microbial and Cell Physiology, 2013, Vol. 97, 329–340.
- [8] NARCISO-DA-ROCHA C., VAZ-MOREIRA I., MANAIA C.M., *Genotypic diversity and antibiotic resistance in Sphingomonadaceae isolated from hospital tap water*, Science of the Total Environment, 2014, Vol. 466–467, 127–135.
- [9] SHIP., JIA S., ZHANG X.-X., ZHANG T., CHENG S., LI A., *Metagenomic insights into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water*, Water Research, 2013, Vol. 47, 111–120.
- [10] SUBBA P., JOSHI D.R., BHATTA D.R., *Antibiotic Resistance Pattern and Plasmid Profiling of Thermotolerant Escherichia coli Isolates in Drinking Water*, Journal of Nepal Health Research Council, 2013, Vol. 11, No. 1/23, 44–48.
- [11] TALUKDAR P.K., RAHMAN M., RAHMAN M., NABI A., ISLAM Z., HOQUE M.M., ENDTZ H.P., ISLAM M.A., *Antimicrobial Resistance, Virulence Factors and Genetic Diversity of Escherichia coli Isolates from Household Water Supply in Dhaka, Bangladesh*, PLoS ONE, 2013, Vol. 8, No. 4, 1–8.
- [12] VAZ-MOREIRA I., NUNES O.C., MANAIA C.M., *Diversity and antibiotic resistance in Pseudomonas spp. from drinking water*, Science of the Total Environment, 2012, Vol. 426, 366–374.
- [13] VINCENTI S., QUARANTA G., DE MEO C., BRUNO S., FICARRA M.G., CAROVILLANO S., RICCIARDI W., LAURENTI P., *Non-fermentative gram-negative bacteria in hospital tap water and water used for haemodialysis and bronchoscope flushing: Prevalence and distribution of antibiotic resistant strains*, Science of the Total Environment, 2014, Vol. 499, 47–54.

- [14] WALIA S.K., KAISER A., PARKASH M., CHAUDHRY R., *Self-Transmissible Antibiotic Resistance to Ampicillin, Streptomycin, and Tetracyclin Found in Escherichia coli Isolates from Contaminated Drinking Water*, Journal of Environmental Science and Health, 2004, Vol. 39, No. 3, 651–662.
- [15] XI C., ZHANG Y., MARRS C.F., YE W., SIMON C., FOXMAN B., NRIAGU J., *Prevalence of Antibiotic Resistance in Drinking Water Treatment and Distribution Systems*, Applied and Environmental Microbiology, 2009, Vol. 75, No. 17, 5714–5718.
- [16] www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx.
- [17] www.biomerieux.pl/.
- [18] www.emapol.com.pl/.
- [19] www.eucast.org/.

THE CULTURE-DEPENDENT AND MOLECULAR METHODS IN ANTIBIOTIC RESISTANCE STUDIES OF TAP WATER

Drinking water should be especially carefully monitored in respect of microbiological quality, because it is a potential source of diseases and epidemics. Antibiotic resistance of microorganisms dwelling in tap water is a dangerous phenomenon, because there is a possibility of transmission of resistance determinants to pathogenic microorganisms, also outside the treatment and distribution systems of water, what impedes antibiotic therapy in a treatment process. Antimicrobial resistance of microorganisms dwelling in the water treatment and distribution systems should be monitored i.a. in order to assess the risk of prevalence of resistance and evaluate the ways of transmission of resistance among bacteria. The penetration of antibiotic-resistant bacteria into human and animal organisms could lead to health complications. The methods used in the antibiotic resistance studies include: the culture-dependent methods, based on the isolation of pure bacterial cultures and their resistance-patterns assessments and the molecular methods for characterizing the sample in respect of presence (quantity) of nucleotide sequences coding for resistance genes, also in the case of non-cultivable bacteria. Water treatment plants and distribution systems could contribute to the selection of antibiotic-resistant bacteria.

Joanna SMYK, Monika PUCHLIK, Agata KORSAN*

WPŁYW TEMPERATURY NA EFEKTYWNOŚĆ PRACY OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW W BIAŁYMSTOKU

W artykule przeanalizowano wpływ temperatury na efektywność usuwania zanieczyszczeń w oczyszczalni ścieków w Białymstoku. Uzyskane wyniki badań z Wodociągów Białostockich z lat 2010–2012 przeanalizowano pod kątem zależności stężeń azotu, fosforu, BZT₅, ChZT od temperatury oczyszczanych ścieków. Według przeprowadzonej analizy stwierdzono, iż temperatura ścieków ma znaczący wpływ na usuwanie związków azotu. Skuteczność usuwania azotu w lecie, gdy temperatura dochodzi do 20°C wynosi do 94%, natomiast w zimie kiedy temperatura ścieków wynosi około 9–10°C skuteczność usuwania wynosi tylko 70%. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy efektywnością zmniejszania wskaźników tlenowych (BZT₅ i ChZT) a temperaturą ścieków dopływających do oczyszczalni. Temperatura ścieków dopływających do oczyszczalni ma niewielki wpływ na efektywność usuwania fosforu ze ścieków.

1. WPROWADZENIE

W ciągu ostatnich lat istotnym celem oczyszczania ścieków stała się optymalizacja biologicznego procesu oczyszczania [3]. Jednym z podstawowych czynników wpływającym na procesy związane z usuwaniem związków węgla i azotu w oczyszczalniach ścieków opartych na technologii osadu czynnego jest temperatura [1, 2, 4, 5, 8] Parametr ten ma znaczący wpływ na rozwój bakterii, biorących aktywny udział w unieszkodliwianiu poszczególnych zanieczyszczeń. Zdecydowana większość bakterii wykorzystywanych w procesach biologicznego oczyszczania ścieków stanowią bakterie mezofilne, dla których optymalna temperatura metaboliczna zawiera się w przedziale od 25 do 40°C. [9] Bateria te są bardzo wrażliwe na spadki temperatury ścieków, które wpływają

* Politechnika Białostocka, Katedra Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska, ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok, j.smyk@doktoranci.pb.edu.pl, m.puchlik@pb.edu.pl.

gwałtownie na obniżenie ich aktywności. W procesach biologicznego usuwania związków azotu ze ścieków, temperatura w reaktorach przy której obserwuje się przyspieszenie procesów biochemicznych zawiera się w przedziale od 10 do 22°C. W przypadku wzrostu temperatury od 30 do 35°C szybkość rozwoju bakterii nityfikacyjnych jest stała, powyżej 35°C zaczyna maleć do zera [7]. Przy spadku temperatury poniżej 11°C obserwuje się zahamowanie drugiej fazy nityfikacji i nagromadzenie się w odpływie azotynów. W temperaturze 5°C i niższej obserwuje się zanik procesu oczyszczania ścieków, związany ze zmniejszeniem aktywności a nawet uśmierceniem organizmów żyjących w ściekach. W przypadku podwyższonej temperatury ścieków procesy rozkładu związków organicznych są przyspieszone co z kolei powoduje odtlenienie ścieków przyspieszając tym samym ich zagniwalność [1, 6].

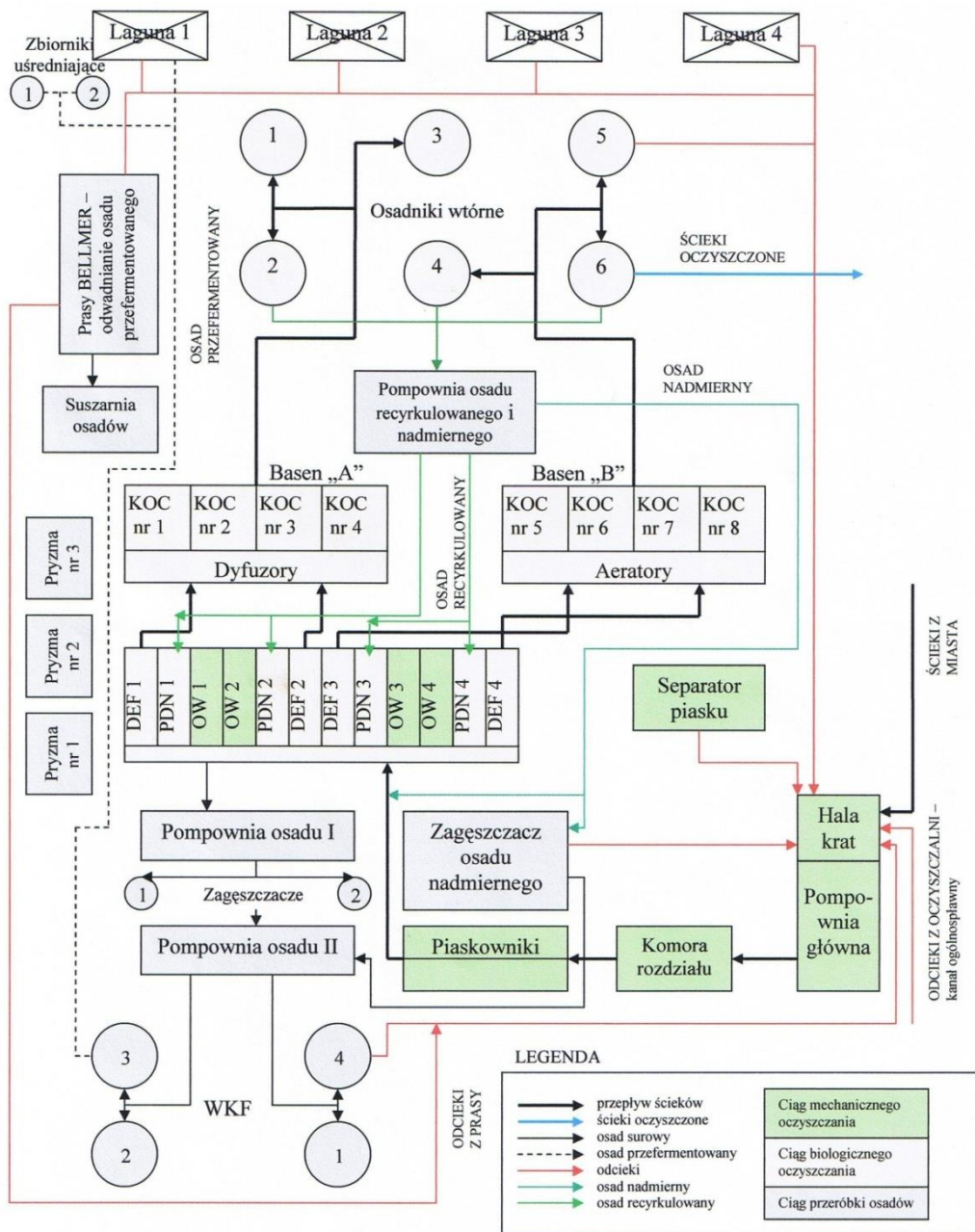
Za najmniej wrażliwe na zmiany temperatury uważa się procesy biologicznego usuwania fosforu. Jest to związane z metabolizmem bakterii pschrofilowych odpowiedzialnych za usuwanie fosforu ze ścieków, rozwijających się w temperaturach niższych niż inne organizmy. Temperatura optymalna zawiera się w przedziale od 10 do 15°C, natomiast temperaturą wystarczającą do przeprowadzenia procesów związanych z usuwaniem fosforu jest temperatura powyżej 5°C [1, 9].

Temperatura ścieków podobnie jak ich skład, jest zmienna w ciągu roku. W głównej mierze zależy od pory roku i może się różnić nawet o kilkanaście stopni. W czasie pogody bezdeszczowej w ciągu doby temperatura ścieków może zmienić się średnio o 2 stopnie. Inaczej sytuacja przedstawia się w przypadku wystąpienia opadów. Zauważalny jest spadek temperatury dopływających ścieków nawet o kilka stopni. Dodatkowo w zimie i w czasie roztopów nadmiar spływającej wody wraz ze ściekami może być jedną z przyczyn znacznego zakłócenia procesu biologicznego oczyszczania [3].

2. OCZYSZCZALNIA ŚCIEKÓW W BIAŁYMSTOKU

Obiektem badań była oczyszczalnia ścieków w Białymstoku. Oczyszczalnia przyjmuje ścieki z ponad trzystutysięcznej aglomeracji. Średnia przepustowość oczyszczalni wynosi około 70000 m³/d. Zdecydowaną większość (80%) dopływających ścieków stanowią ścieki bytowo-gospodarcze, pozostałe 20% to ścieki przemysłowe pochodzące z różnych przedsiębiorstw. Głównym źródłem zanieczyszczeń trafiających do kanalizacji są ścieki z terenu Białegostoku.

Procesy oczyszczania ścieków są oparte o konwencjonalną metodę osadu czynnego z podziałem na trzy węzły technologiczne: mechaniczny, biologiczny, przeróbki osadów. Na rys. 1 przedstawiono schemat technologiczny oczyszczalni.



Rys. 1. Schemat ideowy oczyszczalni ścieków w Białymstoku

3. METODYKA I WYNIKI BADAŃ

W oczyszczalni ścieków w Białymstoku pobieranie próbek ścieków do badań wykonuje się za pomocą samplarów. Jeden z nich - sampler marki TELEDYNE ISCO 4700 – znajduje się tuż za osadnikiem wstępnym. Jego zadaniem jest pobieranie wyznaczonej ilości ścieków co godzinę w ciągu doby. Na wylocie z oczyszczalni znajduje się sampler HACH LANGE model BUHLER, którego zadaniem jest pobieranie próbek oczyszczonych ścieków.

Badania zostały przeprowadzane w 2010, 2011 oraz 2012 roku. Do oceny ścieków surowych i oczyszczonych wykorzystano parametry takie jak: BZT₅, ChZT, azot ogólny, fosfor ogólny. Wyniki z danego miesiąca zostały poddane uśrednieniu i umieszczono w tabelach (tab. 1–6).

W celu ukazania efektywności oczyszczalni w zakresie usuwania azotu ogólnego, sporządzono wykresy zmian ładunków azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych w zależności od zmienności temperatury dopływających ścieków w poszczególnych miesiącach w ciągu roku. Wykresy powstały na podstawie wyników badań z lat 2010–2012, które są okresowo wykonywane na oczyszczalni ścieków w Białymstoku.

Tabela 1. Uśrednione parametry ścieków surowych i oczyszczonych w roku 2010

Miesiąc	Stężenia								Temperatura ścieków [°C]
	BZT ₅ [mg O ₂ /dm ³]		ChZT [mg O ₂ /dm ³]		Azot ogólny [mg N/dm ³]		Fosfor ogólny [mg P/dm ³]		
	S	O	S	O	S	O	S	O	
Styczeń	480	3,60	1235	4	91,46	16,8	10,4	1,23	9,95
Luty	420	4,30	1080	39	84,83	15,89	8,55	0,50	10,1
Marzec	480	3,20	1107	43	87,60	13,42	10,96	0,61	10,03
Kwiecień	505	4,30	1227	41	83,21	10,54	10,70	0,25	13,1
Maj	285	3,00	819	36	69,82	8,00	7,70	0,40	15,2
Czerwiec	301	3,40	905	31	66,09	5,91	7,78	0,16	18,58
Lipiec	497	2,00	962	31	70,28	5,60	9,30	0,25	20,5
Sierpień	425	2,90	1025	31	77,81	6,30	10,30	0,21	21,2
Wrzesień	325	2,10	844	33	65,50	8,20	7,90	0	18,0
Październik	395	2,80	961	37	78,27	7,57	12,56	0,20	15,6
Listopad	380	2,30	926	44	75,11	9,45	12,26	0,29	14,7
Grudzień	375	4,00	900	44	76,00	15,00	10,00	0	11,0

Źródło : Zestawienia dokonano w oparciu o dane udostępnione przez Wodociągi Białostockie Sp. z o.o.
S - ścieki surowe, O - ścieki oczyszczone

Tabela 2. Zestawienie temperatury oraz ładunku azotu dopływającego i usuniętego w roku 2010

Miesiąc	Temperatura [°C]	Ładunek dopływającego azotu [kg/d]	Ładunek usuniętego azotu [kg/d]	Skuteczność oczyszczania [%]
Styczeń	9,95	5705,37	4657,37	82
Luty	10,10	5553,31	4513,09	81
Marzec	10,03	6720,58	5691,02	85
Kwiecień	13,10	5856,15	5114,37	87
Maj	15,20	5146,15	4556,50	88
Czerwiec	18,58	4914,45	4474,98	91
Lipiec	20,50	4870,40	4482,32	92
Sierpień	21,20	5168,37	4749,91	92
Wrzesień	18,00	5705,90	4991,57	87
Październik	15,60	5347,33	4830,15	90
Listopad	14,70	5677,34	4963,04	87
Grudzień	11,00	5257,76	4220,04	80

Tabela 3. Uśrednione parametry ścieków surowych i oczyszczonych w roku 2011

Miesiąc	Stężenia								Temperatura ścieków [°C]
	BZT ₅ [mg O ₂ /dm ³]		ChZT [mg O ₂ /dm ³]		Azot ogólny [mg N/dm ³]		Fosfor ogólny [mg P/dm ³]		
	S	O	S	O	S	O	S	O	
Styczeń	347	2,30	903,5	37,5	79,25	14,35	10,55	0,95	11,2
Luty	459	2,90	972,5	35,0	90,44	17,26	7,83	0,71	10,5
Marzec	434	2,40	992	34,0	83,44	13,60	11,70	0,70	9,7
Kwiecień	343	2,60	791	40,0	85,58	10,50	10,12	0,50	12,0
Maj	440	2,90	1028	35,0	85,04	8,37	13,45	0,58	14,1
Czerwiec	358	1,90	963	35,0	79,20	7,67	13,12	0,21	17,2
Lipiec	417	2,00	933	32,0	67,30	7,59	9,37	0,56	18,7
Sierpień	319	1,60	817	34,5	67,45	6,15	7,95	0,21	18,1
Wrzesień	494	2,90	1191	29,5	88,40	7,46	13,15	0,28	18,4
Październik	507	2,00	1165	25,5	93,42	9,19	14,70	0,26	17,9
Listopad	560	2,35	1310	25,5	99,10	9,09	16,05	0,55	15,1
Grudzień	595	2,95	1620	26,15	101,45	9,53	18,20	0,35	14,2

Źródło : Zestawienia dokonano w oparciu o dane udostępnione przez Wodociągi Białostockie Sp. z o.o.
S - ścieki surowe, O - ścieki oczyszczone

Tabela 4. Zestawienie temperatury oraz ładunku azotu dopływającego i usuniętego w roku 2011

Miesiąc	Temperatura [°C]	Ładunek dopływającego azotu [kg/d]	Ładunek usuniętego azotu [kg/d]	Skuteczność oczyszczania [%]
Styczeń	11,2	5484,65	4491,53	82
Luty	10,5	6259,08	5064,57	81
Marzec	9,7	5774,63	4833,42	84
Kwiecień	12,0	5922,74	5196,06	88
Maj	14,1	5885,36	5306,10	90
Czerwiec	17,2	5481,19	4950,38	90
Lipiec	18,7	4657,63	4132,35	89
Sierpień	18,1	4668,01	4242,39	91
Wrzesień	18,4	6117,9	5601,61	92
Październik	17,9	6465,32	5829,31	90
Listopad	15,1	6858,41	6229,32	91
Grudzień	14,2	7021,05	6361,51	91

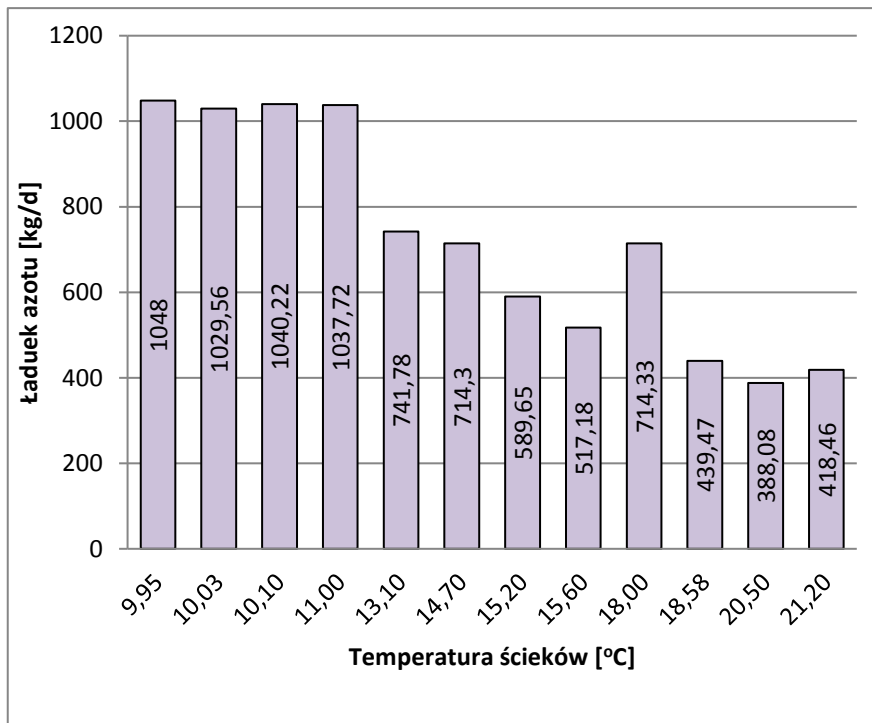
Tabela 5. Uśrednione parametry ścieków surowych i oczyszczonych w roku 2012

Miesiąc	Stężenia								Temperatura ścieków [°C]
	BZT ₅ [mg O ₂ /dm ³]		ChZT [mg O ₂ /dm ³]		Azot ogólny [mg N/dm ³]		Fosfor ogólny [mg P/dm ³]		
	S	O	S	O	S	O	S	O	
Styczeń	335	2,60	800	29,65	93,00	13,90	11,50	0,29	11,95
Luty	225	2,00	518	30,95	64,80	22,15	6,95	0,70	9,85
Marzec	440	2,60	954,5	33,90	101,8	14,68	13,55	0,66	10,60
Kwiecień	395	3,30	883	36,75	86,05	8,59	15,20	0,24	12,70
Maj	550	2,75	1147,5	32,80	91,95	7,51	14,80	0,35	15,80
Czerwiec	335	2,80	923,5	33,60	83,80	7,54	13,15	0,29	17,05
Lipiec	315	1,65	707,5	26,50	63,25	6,22	10,35	0,19	18,65
Sierpień	370	2,50	961	34,50	74,45	7,10	10,85	0,33	19,45
Wrzesień	455	2,05	1230	35,00	86,15	6,41	14,40	0,32	19,05
Październik	280	1,85	719	30,50	63,90	7,82	10,46	0,18	17,35
Listopad	440	2,10	1155	30,50	87,20	8,27	11,20	0,24	14,65
Grudzień	570	2,20	1295	34,00	97,40	13,4	13,15	0,32	13,10

Źródło : Zestawienia dokonano w oparciu o dane udostępnione przez Wodociągi Białostockie Sp. z o.o.
S - ścieki surowe, O - ścieki oczyszczone

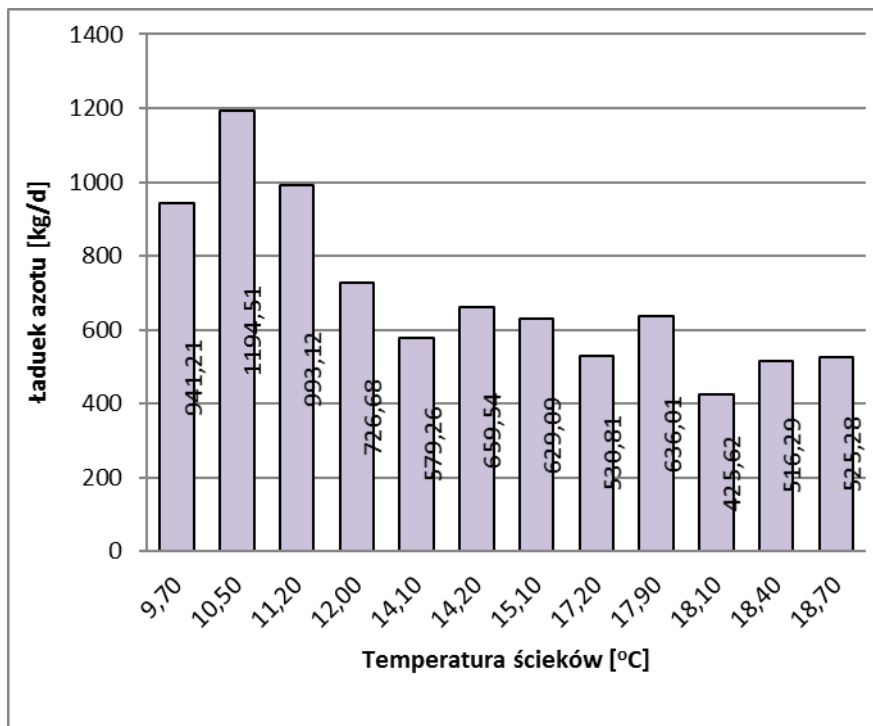
Tabela 6. Zestawienie temperatury oraz ładunku azotu dopływającego i usuniętego w roku 2012

Miesiąc	Temperatura [°C]	Ładunek dopływającego azotu [kg/d]	Ładunek usuniętego azotu [kg/d]	Skuteczność oczyszczania [%]
Styczeń	11,95	6411,23	5453,00	85
Luty	9,85	4467,18	2940,21	66
Marzec	10,60	7017,89	6005,88	86
Kwiecień	12,70	5932,11	5339,94	90
Maj	15,80	6338,85	5821,12	92
Czerwiec	17,05	5777,00	5257,21	91
Lipiec	18,65	4360,33	3931,53	90
Sierpień	19,45	5132,43	4642,97	91
Wrzesień	19,05	5939,01	5497,12	93
Październik	17,35	4405,14	3866,04	88
Listopad	14,65	6011,39	5441,28	91
Grudzień	13,10	6714,56	5790,79	86



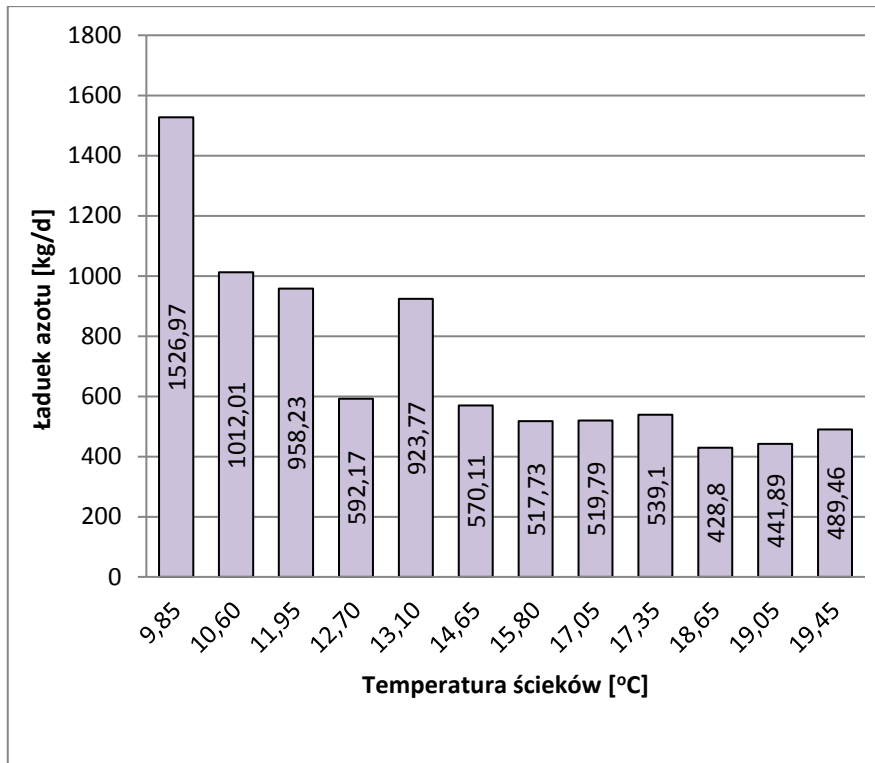
Rys. 2. Zależność wielkości ładunku azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych od temperatury ścieków w roku 2010

Analizując dane z roku 2010, można zauważyć, iż podczas wzrostu temperatury ścieków ładunek azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych maleje (rys. 2). Największe wartości wystąpiły w styczniu, lutym, marcu oraz grudniu, gdzie temperatura ścieków wynosiła od 9,95°C do 11°C. Najniższe wartości uzyskano wówczas, gdy temperatura ścieków wynosiła od 18,5°C do 21,5°C. Zauważalny jest znaczny wzrost ładunku azotu w temperaturze 18°C, co może być spowodowane zwiększoną ilością ścieków dopływających w danym miesiącu.



Rys. 3. Zależność wielkości ładunku azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych od temperatury ścieków w roku 2011

Analizując dane z roku 2011 można zauważyć podobną zależność jak roku poprzednim – im wyższa jest temperatura ścieków, tym ładunek azotu w ściekach oczyszczonych jest niższy (rys. 3). Najwyższą wartość azotu w ściekach oczyszczonych odnotowano w temperaturze 10,5°C, co może być spowodowane większą ilością ścieków dopływających w tym miesiącu. W przedziale od 14°C do 18°C wartości ładunku azotu wahają się. Najniższy ładunek azotu ogólnego uzyskano wówczas, gdy temperatura ścieków wynosiła między 18°C a 19°C.



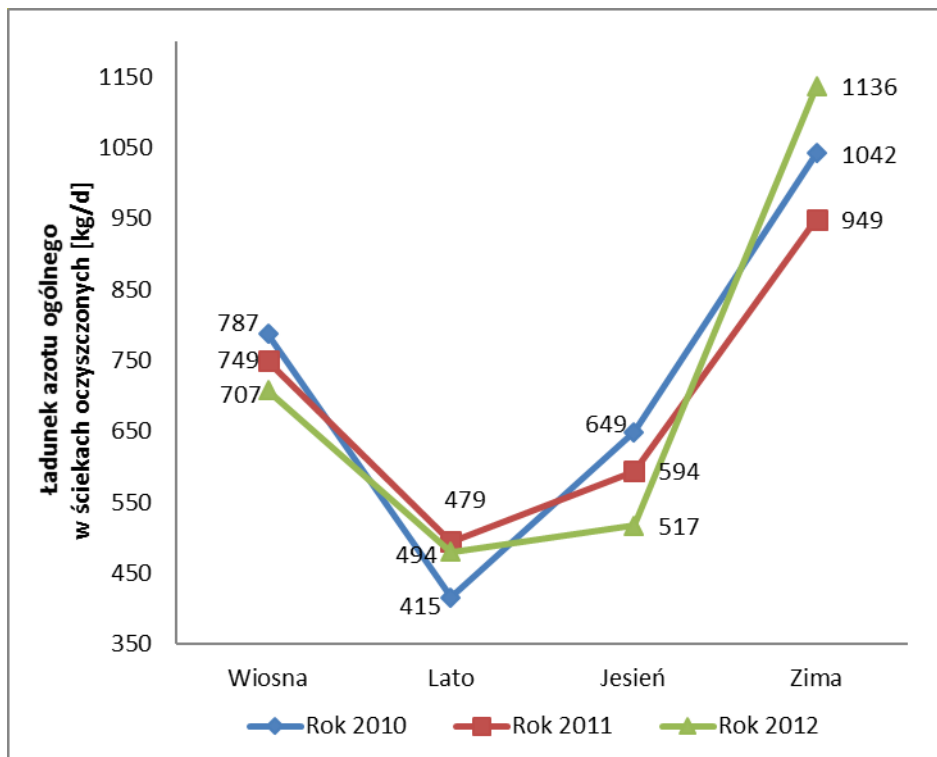
Rys. 4. Zależność wielkości ładunku azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych od temperatury ścieków w roku 2012

Analizując dane z roku 2012 można zauważyć podobieństwo do lat poprzednich – im wyższa jest temperatura ścieków, tym mniejszy jest ładunek azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych (rys. 4). Największą wartość otrzymano w styczniu w temperaturze 9,85°C, przy czym już w 10,6°C ładunek azotu ogólnego spada aż o 500 kg/d. W temperaturze 13,1°C następuje gwałtowny wzrost, ale już od 14,65°C, widoczny jest spadek. Między 14°C a 20°C wartości wahają się nieznacznie od 429 do 570 kg/d, najniższy ładunek azotu w ściekach oczyszczonych został otrzymany w 18,65°C.

W tabeli 7 przedstawiono uśrednione wartości temperatury ścieków, ładunku azotu dopływającego, ładunku azotu usuniętego oraz skuteczność usuwania azotu w zależności od pory roku w latach 2010–2012.

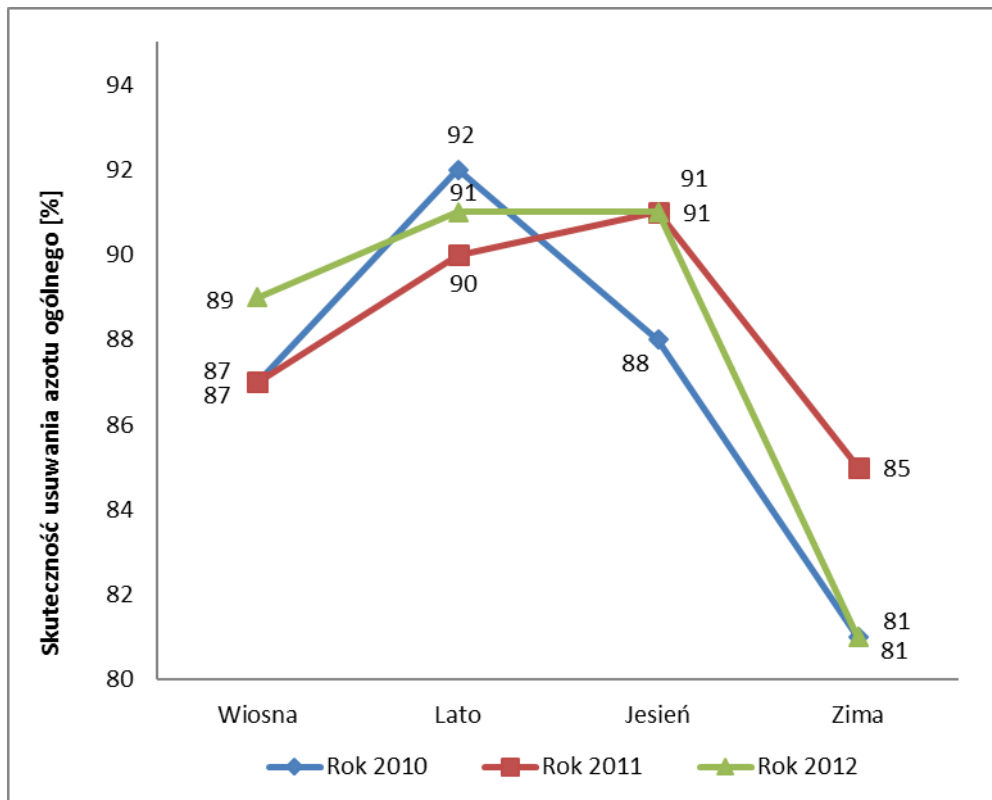
Tabela 7. Skuteczność usuwania azotu ogólnego w zależności od pory roku w latach 2010–2012

Pora roku	Wiosna	Lato	Jesień	Zima
Rok 2010				
Temperatura ścieków [°C]	12,78	20,09	16,10	10,35
Ładunek azotu dopływający [kg/d]	5907,63	4984,41	5576,86	5505,48
Ładunek azotu usunięty [kg/d]	5120,63	4569,07	4928,25	4463,50
Skuteczność usuwania azotu [%]	87	92	88	81
Rok 2011				
Temperatura ścieków [°C]	11,93	18,00	17,13	11,97
Ładunek azotu dopływający [kg/d]	5860,91	4935,61	6480,54	6254,93
Ładunek azotu usunięty [kg/d]	5111,86	4441,71	5886,75	5305,87
Skuteczność usuwania azotu [%]	87	90	91	85
Rok 2012				
Temperatura ścieków [°C]	13,03	18,38	17,02	11,63
Ładunek azotu dopływający [kg/d]	6429,62	5089,92	5451,85	5864,32
Ładunek azotu usunięty [kg/d]	5722,31	4610,57	4934,81	4728,00
Skuteczność usuwania azotu [%]	89	91	91	81



Rys. 5. Zależność wielkości ładunku azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych od pory roku w latach 2010–2012

Rysunek 5 przedstawia wartości ładunków azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych, jakie trafiały do odbiornika w danej porze roku. Najmniejszy ładunek odnotowano latem: wartości wynosiły od 415 do 479 kg/d. Nieco większe wartości wystąpiły jesienią – w granicach 600–700 kg/d. Wiosną ładunek azotu wynosił od 700 do 800 kg/d. Natomiast zimą zauważalny jest znaczny wzrost ładunku w ściekach oczyszczonych dochodzący aż do 1136 kg/d i jest to najwyższa wartość dla całego okresu badawczego, która została zarejestrowana w 2012 roku. Najniższy ładunek azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych został zanotowany latem roku 2010 i wyniósł on 415 kg/d.



Rys. 6. Skuteczność usuwania azotu ogólnego ze ścieków w zależności od pory roku w latach 2010–2012

Rysunek 6 przedstawia skuteczność usuwania azotu ogólnego ze ścieków w zależności od pory roku w latach 2010–2012. Można zauważyć, iż największa efektywność usuwania azotu następuje na przełomie lata i jesieni. Wtedy też skuteczność usuwania waha się w granicach 88–92%. Nieco mniejsza skuteczność (87–89%) występuje wiosną. Najmniejsze zaś efekty usunięcia w każdym roku zanoto-

wano zimą. Najniższy procent usunięcia przypadł na zimę roku 2012 (79%), zaś najwyższy - na wiosnę roku 2010 - 92%. W żadnym roku średnia wartość z grudnia, stycznia i lutego, nie przewyższyła wartości 85%.

4. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Temperatury ścieków dopływających do oczyszczalni ścieków w Białymstoku były wyraźnie zróżnicowane w zależności od terminu pomiarów. Minimalne wartości notowane w zimowych seriach badań wynosiły 10–11°C. Jak na warunki zimowe są to wartości stosunkowo wysokie, umożliwiające utrzymanie ciągłości procesów oczyszczania ścieków. W okresie wiosennym zanotowano przyrost temperatury ścieków do poziomu 12–13°C, zaś latem temperatura osiągała wartości przekraczające nawet 20°C. Jesienią temperatura ścieków wynosiła około 16–17°C, temperatury były zbliżone do temperatur letnich.

Stężenia zanieczyszczeń organicznych w ściekach surowych, które zostały wyrażone parametrami BZT₅ oraz ChZT w rozpatrywanych latach były do siebie bardzo zbliżone. Mimo sporadycznie występujących wahań wartości tych parametrów w ciągu roku, stężenia w ściekach oczyszczonych odprowadzanych do odbiornika, były wielokrotnie niższe od normowych wartości granicznych (BZT₅ < 15 mg/dm³, ChZT < 125 mg/dm³). Nie zauważono też zależności efektywności usunięcia zanieczyszczeń organicznych w zależności od temperatury ścieków dopływających do oczyszczalni.

Stężenie fosforu ogólnego w ściekach surowych w ciągu danych trzech lat wahało się od 7 do 13 mg P/dm³. W czasie trwania okresu badawczego, stężenie fosforu ogólnego tylko raz przekroczyło wartość graniczną - w styczniu 2010 roku wyniosło 1,23 mg P/dm³, co mogło być rezultatem niskiej temperatury ścieków - poniżej 10°C. W innych przypadkach, osiągnięcie wymaganego stężenia związków fosforu w ściekach oczyszczonych na poziomie 1 mg P/dm³ nie stanowiło większego problemu. W przypadku fosforu ogólnego można zauważyć niewielką zależność efektywności jego usunięcia od temperatury dopływających ścieków.

Ścieki dopływające do oczyszczalni mają dość zróżnicowane stężenia azotu ogólnego od 65 do 100 mg N/dm³. W każdym roku są miesiące, w których stężenie azotu ogólnego w ściekach oczyszczonych przekraczają 10 mg N/dm³. Zazwyczaj są to miesiące o najniższych temperaturach w ciągu roku: grudzień, styczeń, luty, marzec. Analizując inne miesiące, efekt oczyszczania jest już zadowalający. Ładunek azotu ogólnego znajdującego się w ściekach oczyszczonych maleje wraz ze wzrostem temperatury.

Efektywność usunięcia azotu ogólnego ze ścieków w poszczególnych latach była dość zbliżona. W roku 2010 azot ogólny usuwany był ze skutecznością powyżej 80%,

osiągając maksymalną wartość 92%. Niemalże identyczne efekty uzyskano w roku 2011. W 2012 roku zauważalny jest niski efekt usuwania azotu ogólnego ze ścieków wynoszący jedynie 66% w miesiącu lutym. W pozostałych miesiącach przekracza 85% osiągając wymagany stopień redukcji zanieczyszczenia zapisany w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 18 listopada 2014 r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (Dz.U. 2014 poz. 1800). Przy analizie efektywności usuwania azotu ogólnego ze ścieków można zauważyć wyraźne zróżnicowanie sezonowe. W okresach jesienno-letnich azot ogólny usuwany był ze skutecznością przekraczającą 88% oraz sięgającą 92%. Wiosną zaś efektywność oscylowała w granicach 87–89%. Zimą efektywność usuwania azotu ogólnego zmalała do 81%, a maksymalnym stopniem usunięcia było 85%. Taki procentowy układ dla różnych pór roku warunkowany jest głównie zmianami temperatury. Zaobserwowano wyraźną zależność między wzrostem temperatury a procentową wartością usunięcia azotu ogólnego. W porze letniej przy wyższej temperaturze dopływających ścieków, panuje niskie stężenie tlenu w komorze nityfikacji, co jest powodem warunków praktycznie beztlenowych we wnętrzu kłaczka osadu czynnego. Może to prowadzić do symultanicznej denityfikacji, czego efektem jest niższe stężenie azotanów w ściekach oczyszczonych. Analogicznie wraz ze spadkiem temperatury spada skuteczność usuwania azotu.

5. WNIOSKI

Na podstawie analizy wyników uzyskanych z badań można sformułować następujące wnioski:

1. Oczyszczalnia ścieków oparta na systemie osadu czynnego umożliwi skuteczną eliminację związków organicznych.
2. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy efektywnością zmniejszania wskaźników tlenowych (BZT₅ i ChZT) a temperaturą ścieków dopływających do oczyszczalni.
3. Temperatura ścieków dopływających do oczyszczalni ma niewielki wpływ na efektywność usuwania fosforu ze ścieków.
4. Wraz ze wzrostem temperatury zauważalny jest spadek ładunku azotu ogólnego w odpływie.
5. Przy temperaturze ścieków 19°C odnotowano najwyższą efektywność usuwania azotu ogólnego - 93%, natomiast najniższą efektywność otrzymano dla temperatury równej 9,85°C - 66%
6. Skuteczność usuwania azotu ogólnego w okresie zimowym była znacznie niższa niż w okresie letnim, co jest związane z temperaturą ścieków dopływających do oczyszczalni.

Praca powstała w ramach realizacji pracy statutowej S/WBIIŚ/3/2014 w Katedrze Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska Politechniki Białostockiej.

LITERATURA

- [1] BARNARD J.L., *Projektowanie oczyszczalni z osadem czynnym usuwających związki biogenne. Materiały seminarium szkoleniowego: „Filozofia projektowania a eksploatacja oczyszczalni ścieków*, Lem Projekt s.c., Kraków 2000, 13–60.
- [2] BOJANOWSKA I., PEPLIŃSKI M., *Optymalizacja pracy oczyszczalni ścieków w Tczewie w zakresie usuwania biogenów i związków węgla*, Ochrona Środowiska, 2002, No. 3, 31–36.
- [3] BRZEZIŃSKA A., *Zmiany temperatury ścieków ogólnospławnych na podstawie pomiarów on-line*, Inżynieria Ekologiczna, 2011, No. 26, 90–302.
- [4] BUGAJSKI P., KACZOR G., *Ocena działania wybranych przydomowych oczyszczalni w warunkach zimowych i letnich*, Przemysł Chemiczny, 2008, No. 5, 424–426.
- [5] BUGAJSKI P., *Wpływ temperatury ścieków na wielkość wybranych wskaźników zanieczyszczeń z oczyszczalni działającej w układzie sekwencyjnym SBR*, Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich, 2011, No. 2, Polska Akademia Nauk, Oddział w Krakowie, 7–15.
- [6] CHMIEŁOWSKI K., WAŁĘGA A., MIERNIK W., *Wpływ temperatury powietrza na temperatury ścieków w przydomowych oczyszczalniach z filtrem piaskowym o przepływie pionowym*, Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich, 2009, No. 6, 57–65.
- [7] HENZE M., HARREMOES P., JES LA COUR JANSEN, ARVIN E., *Oczyszczanie ścieków. Procesy biologiczne i chemiczne*, Wydawnictwo Politechniki Świętokrzyskiej w Kielcach, Kielce 2002.
- [8] JÓZWIAKOWSKI K., MARZEC M., PYTKA A., *Wpływ temperatury ścieków na skuteczność usuwania zanieczyszczeń w systemie stawów biologicznych*, Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich, 2011, No. 2, Polska Akademia Nauk, Oddział w Krakowie, 205–214.
- [9] KACZOR G., *Wpływ temperatury powietrza na temperaturę ścieków w kanalizacji i reaktorze biologicznym*, Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich, 2008, No. 3, Polska Akademia Nauk, Oddział w Krakowie, 129–137.

EFFECT OF TEMPERATURE ON THE EFFICIENCY OF WASTEWATER TREATMENT PLANT IN BIAŁYSTOK

The article presents research of the temperature effect on the efficiency impurities removal in the wastewater treatment plant in Białystok. The results of the studies obtained from Wodociągi Białostockie from the years 2010–2012 were analyzed for dependence of nitrogen, phosphorus, BOD₅, COD on the temperature of treated wastewater. According to the analysis, it was found that the temperature of the waste water has a significant impact on the removal of nitrogen compounds. The rate of removal in the summer when the temperature reaches 20°C is 94%, whereas in the winter when the temperature of the effluent is about 9–10°C removal efficiency is only 70%. There was no significant correlation between the effectiveness of reducing the oxygen indicators (BOD₅ and COD) and the temperature of wastewater flowing into the treatment plant. The temperature of wastewater flowing into the treatment plant has little effect on the efficiency of phosphorus removal from wastewater.

Joanna STRUK-SOKOŁOWSKA, Elżbieta WOŁEJKO, Monika PUCHLIK,
Urszula WYDRO*

ZMIANY SKŁADU ŚCIEKÓW MLECZARSKICH NA WYBRANYM PRZYKŁADZIE

W artykule przedstawiono zmiany składu ścieków mleczarskich odprowadzanych z zakładu przetwórstwa mleka zlokalizowanego na terenie Wielkich Jezior Mazurskich. Scharakteryzowano również komunalną oczyszczalnię ścieków przyjmującą ścieki z przemysłu spożywczego. Obiekt wybrano ze względu na szeroki profil produkcji, wyjątkową lokalizację oraz jakość wykorzystywanego surowca. Analizie poddawano próbki ścieków mleczarskich pobierane w 2015 roku. Na podstawie wyników badań wyznaczono zależności pomiędzy wskaźnikami zanieczyszczeń organicznych oraz biogennych w ściekach mleczarskich. Uzyskane wyniki porównano z podanymi w literaturze. Ścieki mleczarskie z OSM w Giżycku charakteryzują się dużą zmiennością składu w ciągu roku, co może negatywnie oddziaływać na proces oczyszczania w oczyszczalni komunalnej. Jednak na podstawie zależności pomiędzy BZT₅ i ChZT ścieki te zaliczono do łatwo biodegradowalnych. Zależności pomiędzy ilością związków organicznych oraz związków azotu i fosforu w ściekach mleczarskich z Giżycka wskazują na możliwość przebiegu wysoko efektywnych procesów usuwania azotu i fosforu z tych ścieków w oczyszczalni komunalnej.

1. WPROWADZENIE

Przetwórstwo mleka to jedna z najważniejszych gałęzi przemysłu w Polsce. Na przestrzeni lat 2005–2014 produkcja mleka zwiększyła się z 11,92 do 13,05 mln. m³ [19]. Przewiduje się, że ilość produkowanego mleka będzie nadal rosła. Wpływ na to mają: zniesienie kwot mlecznych (system limitowania), poprawa opłacalności, wzrost wydajności, koncentracja i głęboka specjalizacja produkcji rolniczej [10]. Uwarunkowania przyrodnicze i względy ekonomiczne powodują, że hodowla bydła w przeliczeniu na jednostkę powierzchni jest największa w Polsce północno-wschodniej.

* Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Katedra Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska, 15–351 Białystok, ul. Wiejska 45E, j.struk@pb.edu.pl.

W związku z tym, ilość zakładów produkcji mleka i jego przetworów w tym regionie kraju jest znacząca. Wzrost ilości mleka wiąże się ze wzrostem jego przetwórstwa, a w dalszej kolejności ze wzrostem ilości powstających ścieków mleczarskich. Problem oczyszczania ścieków mleczarskich, szczególnie w przypadku średnich i małych zakładów przetwórstwa mleka (nie posiadających oczyszczalni zakładowych) jest nadal bardzo istotny [14].

Celem niniejszego opracowania było określenie składu ścieków mleczarskich odprowadzanych z okręgowej spółdzielni mleczarskiej zlokalizowanej w województwie warmińsko-mazurskim. Dodatkowo, określono zależności pomiędzy ilością substancji organicznych oraz związków azotu i fosforu w tych ściekach, co może mieć wpływ na proces oczyszczania ścieków w oczyszczalni komunalnej.

1.1. CHARAKTERYSTYKA ŚCIEKÓW Z PRZEMYSŁU MLECZARSKIEGO

Skład ścieków powstających w zakładach przetwórstwa mleka uzależniony jest przede wszystkim od profilu produkcji oraz ilości zmian w ciągu doby. Kolejnymi czynnikami wpływającymi na ładunek ścieków są wykorzystywane surowce, poziom technologiczny zakładu, procesy mycia i dezynfekcji oraz ilość zużytej wody [11, 12, 15]. Ścieki mleczarskie charakteryzują się wysokim ładunkiem ChZT oraz BZT₅ (tłuszcze, cukry, białka) oraz dużą zmiennością ilościową i jakościową (fazy mycia linii produkcyjnych) [2, 4, 9, 13]. Jak wynika z danych literaturowych ścieki mleczarskie ze wszystkich linii produkcyjnych mogą być oczyszczane łącznie [6]. Nierównomierność ładunku zanieczyszczeń dopływających wraz ze ściekami mleczarskimi może stanowić obciążenie dla oczyszczalni komunalnej [13].

Produktem ubocznym w przemyśle mleczarskim jest serwatka. Zawiera ona laktozę, białka, związki wapnia i fosforu, kwasy organiczne oraz witaminy. W zależności od metody wytrącania białek z mleka oraz technologii produkcji zakłady mleczarskie wytwarzają dwa typy serwatki: podpuszczkową (słodką pH 5,2–6,7) przy produkcji serów dojrzewających i kwaśną (pH 3,8–4,6) z produkcji twarogów [5]. Dzięki upowszechnieniu technik separacji membranowej z serwatki odzyskiwane są wartościowe substancje. W Polsce i w większości krajów jest ona suszona. Przetwórnictwo mleka, które nie posiadają proszkowni sprzedają ją innym zakładom. Serwatka nie jest odprowadzana do ścieków tylko traktowana jako surowiec do produkcji artykułów spożywczych, farmaceutycznych lub komponentów paszowych. Możliwe jest także zasilanie nią reaktorów do beztlenowej przeróbki osadów. Pojawienie się serwatki w sieci kanalizacyjnej znacznie zwiększa ładunek zanieczyszczeń znajdujących się w ściekach [16].

1.2. CHARAKTERYSTYKA OKRĘGOWEJ SPÓŁDZIELNI MLECZARSKIEJ W GIŻYCKU

Okręgowa Spółdzielnia Mleczarska w Giżycku (rys. 1) rocznie przetwarza około 145 mln dm³ mleka. Zlokalizowana jest na terenie Wielkich Jezior Mazurskich. W trosce o środowisko naturalne w zakładzie zainstalowano urządzenia do zagęszczania serwatki metodą odwróconej osmozy, pozwalające zagospodarować całość produkowanej serwatki. Spółdzielnia mleczarska posiada nowoczesną zautomatyzowaną linię do produkcji twarogu mazurskiego oraz linię do produkcji serów dojrzewających. Do najważniejszych inwestycji podczas modernizacji zakładu należały: instalacja nowoczesnej aparatuwni i odbieralni mleka, magazyn chłodniczy, myjnia samochodowa oraz warzelnia serów o przerobie mleka wynoszącym 300 tys. dm³ na dobę. Spółdzielnia mleczarska w Giżycku sprzedaje produkty na terenie Unii Europejskiej.

Wiodącymi produktami Okręgowej Spółdzielni Mleczarskiej w Giżycku są: sery dojrzewające, sery niedojrzewające (twarogi), rolada ustrzycka, masło extra, serwatka w proszku oraz mleko odtłuszczone w proszku.

Okręgowa Spółdzielnia Mleczarska w Giżycku jest nowoczesnym zakładem o bogatej, długoletniej tradycji produkcyjnej. Doświadczenie produkcyjne, wprowadzenie standardów Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP), System Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli (HACCP), nowoczesne linie produkcyjne wykonane zgodnie z normami unijnymi oraz wysoka jakość skupowanego mleka (wyłącznie klasa extra) z Regionu Zielonych Płuc Polski sprawiają, że produkty spółdzielni cieszą się dużym powodzeniem. Skup mleka prowadzony jest na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Zakład jest laureatem wielu nagród i wyróżnień [17].



Rys. 1. Okręgowa Spółdzielnia Mleczarska w Giżycku [17]



Rys. 2. Widok na odbieralnię mleka w OSM w Giżycku [17]

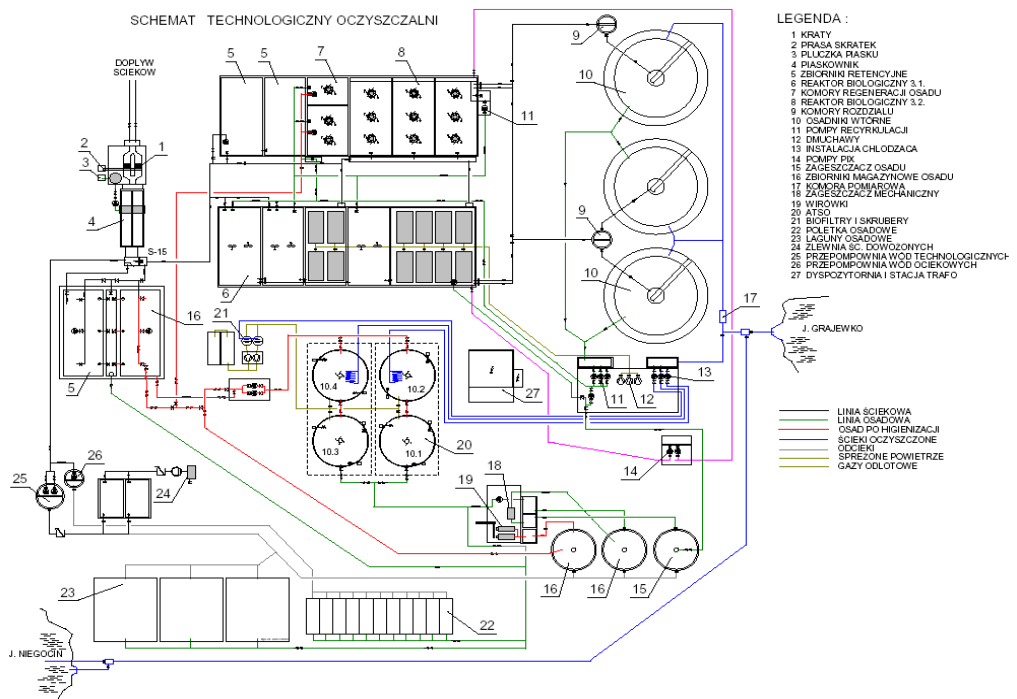
1.3. CHARAKTERYSTYKA OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW W BYSTRYM K. GIŻYCKA

Mechaniczno-biologiczna oczyszczalnia ścieków w Byстрых k. Giżycka (widok obiektu przedstawiono na rys. 3, schemat urządzeń na rys. 4) została oddana do użytku w 1995 roku. Obiekt zmodernizowano w latach 2002–2003. Maksymalna dobowa przepustowość oczyszczalni wynosi 14000 m³/d, natomiast średnia dobowa kształtuje się na poziomie 6400 m³/d. Równoważna liczba mieszkańców (RLM) dla obiektu wynosi 98615. Oczyszczalnia komunalna przyjmuje ścieki mleczarskie z Okręgowej Spółdzielni Mleczarskiej w Giżycku. Nieczystości ciekłe dowożone są taborem asenizacyjnym w ilości ok. 9000 m³/rok do punktu zlewnego, zlokalizowanego na terenie obiektu.

Ścieki surowe dopływają do oczyszczalni systemem kanalizacji grawitacyjnej i tłocznej. Wstępne mechaniczne oczyszczanie ścieków następuje w budynku krat. Gromadzące się na kracie skratki w trybie automatycznym kierowane są do podajnika ślimakowego, podlegają odwodnieniu przy pomocy praski hydraulicznej i przetransportowane są do kontenera skratek. Kolejnym etapem oczyszczania mechanicznego jest piaskownik, w którym wskutek zwolnienia przepływu ścieków następuje wytrącenie i sedymentacja zawiesiny mineralnej. Dodatkowo piaskownik jest napowietrzany sprężonym powietrzem w celu lepszego flotowania części pływających. Zgromadzona, zanieczyszczona związkami organicznymi pulpa piaskowa transportowana jest do separatora i płuczki piasku. Wyplukany i odwodniony piasek kierowany jest do pojemnika, natomiast odcieki do dalszego oczyszczania biologicznego.

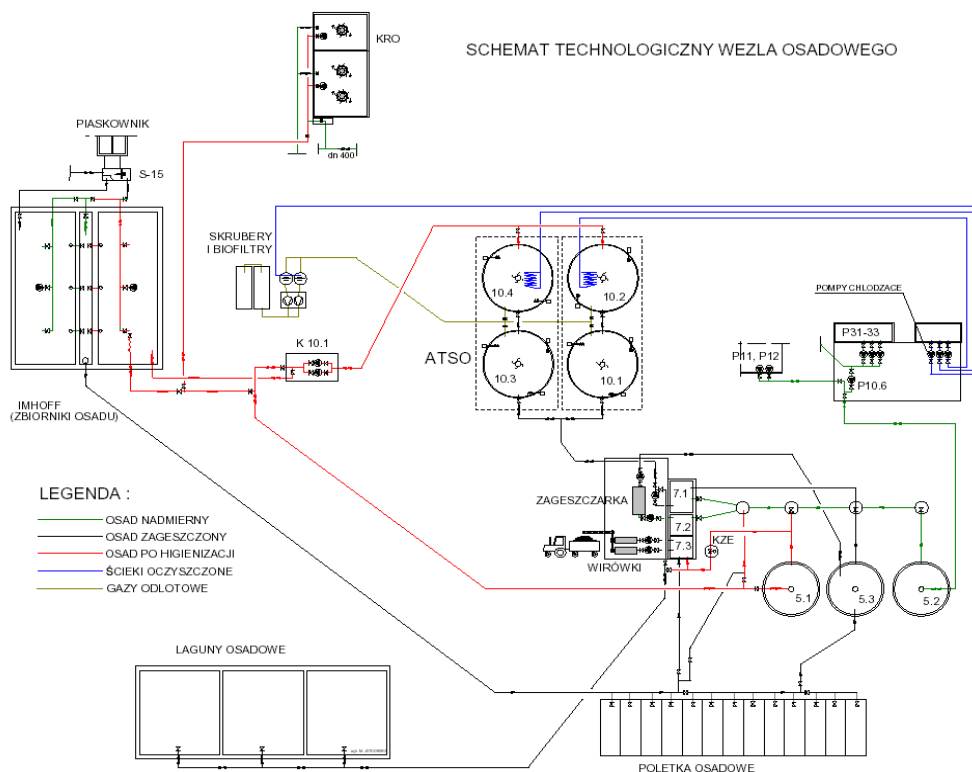


Rys. 3. Widok na oczyszczalnię ścieków w Bystrym k. Giżycka [18]



Rys. 4. Schemat urządzeń w oczyszczalni ścieków w Bystrym k. Giżycka [18]

Po oczyszczeniu mechanicznym ścieki przepływają do układu komór biologicznych, pełniących podstawową funkcję oczyszczania biologicznego. W pierwszym etapie ścieki dopływają do komory defosfatacji (beztlenowej), następnie do komór denitryfikacji (niedotlenionych), do której recykulowany jest strumień azotanów z komór nityfikacji (recykulacja wewnętrzna). Ścieki z komory denitryfikacji przepływają do komór nityfikacji (tlenowych). W komorach denitryfikacji i nityfikacji następuje biologiczne oczyszczanie ścieków w oparciu o procesy życiowe biomasy osadu czynnego. Po oczyszczeniu w reaktorach biologicznych mieszanina osadu czynnego i ścieków dopływa poprzez przelewy do komór rozdziału i dalej do dwóch osadników wtórnych. W osadnikach następuje rozdział osadu czynnego od ścieków oczyszczonych w warunkach zwolnionego przepływu. Osad gromadzący się na dnie osadnika zgarniany jest do leja osadowego i trafia do przepompowni osadu recykulowanego i nadmiernego, skąd tłoczony jest na początek układu biologicznego oczyszczania (recykulacja zewnętrzna) lub jako osad nadmierny odprowadzany jest do grawitacyjnego zagęszczacza osadu nadmiernego (rys. 5).



Rys. 5. Schemat urządzeń węzła osadowego w oczyszczalni ścieków w Bystrym k. Gizycka [18]

Osad z oczyszczalni ścieków w Bystrym k. Giżycka może być wykorzystywany rolniczo. Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi decyzją Nr 205/08, z dn. 17.X.2008 r., na podst. art. 4 ust. 2 ustawy z dnia 10.VII.2007 r. o nawozach i nawożeniu, wydał zezwolenie na wprowadzenie do obrotu nawozu organicznego pn. "ZÓWAN" produkowanego przez Przedsiębiorstwo Wodociągów i Kanalizacji Sp. z o.o. w Giżycku. W badaniach rolniczych przeprowadzonych przez Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy, udowodniono korzystny wpływ nawozu ZÓWAN na plonowanie roślin testowych (rajgras i kukurydzy) i pobieranie składników pokarmowych. Zastosowanie nawozu zwiększa zawartość fosforu i potasu w glebie. Nawóz jest przydatny do nawożenia roślin rolniczych w uprawach polowych, na gruntach ornych, zwłaszcza na glebach o małej zawartości materii organicznych i przyswajalnego fosforu [18].

2. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał do badań stanowiły zmieszane ścieki mleczarskie pobierane z Okręgowej Spółdzielni Mleczarskiej w Giżycku. Analizy składu ścieków mleczarskich dokonywano w poszczególnych miesiącach 2015 roku. Badania obejmowały następujące parametry: pH, BZT₅, ChZT_{Cr}, azot amonowy, azot azotanowy (III), azot azotanowy (V), azot Kjeldahla, azot ogólny, fosfor ogólny, chlorki, siarczany, zawiesiny ogólne oraz substancje ekstrahujące się eterem naftowym. Analizy wykonywano zgodnie z normami podanymi w tabeli 1. W każdym cyklu badawczym wykonano po 3 serie pomiarowe. Wartości przedstawione w tabeli 2 stanowią średnią z uzyskanych wyników.

Tabela 1. Wykaz norm stosowanych podczas wykonywania analiz

parametr	norma
pH	PN-EN ISO 10523:2012
BZT ₅	PN-EN 1899-1:2002
ChZT _{Cr}	PN- ISO 6060:2006
Azot amonowy	PN- ISO 7150-1:2002
Azot azotanowy (III)	PN-EN ISO 10304-1:2009
Azot azotanowy (V)	PN-EN ISO 10304-1:2009
Azot Kjeldahla	PN-EN 25663:2009
Azot ogólny	PB-13/2006/PG wyd. 3 z 02.012013
Fosfor ogólny	PN-EN ISO 6878:2006+Ap1. 2010+Ap2.:2010 p.7
Chlorki	PN-EN ISO 10304-1:2009
Siarczany	PN-EN ISO 10304-1:2009
Zawiesiny ogólne	PN-EN 872:2007+Ap1:2007
Substancje ekstrahujące się eterem naft.	PN-C-04573-01:1986

3. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

3.1. ZMIENNOŚĆ JAKOŚCIOWA ŚCIEKÓW MLECZARSKICH

Parametry ścieków mleczarskich z Okręgowej Spółdzielni Mleczarskiej w Giżycku w 2015 roku podano w tabeli 2.

Średnia wartość BZT₅ w ściekach mleczarskich dopływających do oczyszczalni w Bystrym k. Giżycka wynosiła 632 mg O₂·dm⁻³ i była niższa od podanych w literaturze [3, 4, 7, 8]. Ilość związków organicznych mierzonych wartością BZT₅ wahała się od 519 do 720 mg O₂·dm⁻³ i mieściła się w zakresach podanych przez Danalewicha i in. [3] i Anielak [1]. Wartość ChZT ścieków mleczarskich wynosiła od 1000 do 1240 mgO₂·dm⁻³ (średnio 1092 mg O₂·dm⁻³) i mieściła się w zakresie podanym przez Anielak [1]. Wartość ChZT ścieków mleczarskich zmieniała się w zakresie od 1000 do 1240 mg O₂·dm⁻³ (średnio 1092 mg O₂·dm⁻³) i była niższa od prezentowanej w literaturze [3, 7, 8, 9]. Może to wynikać z wysokiej sprawności urządzeń do zagęszczania serwatki metodą odwróconej osmozy. Średnie stężenie zawiesin ogólnych w ściekach mleczarskich z analizowanego obiektu było niskie i wynosiło 156,5 mg·dm⁻³. Nie odnotowano gwałtownych wahań stężenia zawiesin ogólnych (min. 150 mg·dm⁻³, maks. 166 mg·dm⁻³). Odczyn ścieków mleczarskich wahał się od 6,9 do 12,1 pH. Analizując związki azotu stwierdzono, że ścieki mleczarskie charakteryzują się niską zawartością azotu amonowego (od 1,6 do 4,4 mg N-NH₄·dm⁻³). Stężenie azotu ogólnego w tych ściekach wahało się od 76,1 do 112 mg N·dm⁻³ (średnio 95,8 mg N·dm⁻³). Stężenie fosforu ogólnego w ściekach mleczarskich było zbliżone na przestrzeni okresu badań i wynosiło od 13,4 do 18,6 mg P·dm⁻³. Stężenie fosforu ogólnego w ściekach mleczarskich z Giżycka w czasie cykli badawczych w 2015 roku było wyższe od podanego przez Anielak [1], natomiast niższe od odnotowanego przez innych badaczy [3, 7, 8, 9]. Ilość chlorków w ściekach mleczarskich charakteryzowała się większą zmiennością. Stężenie chlorków wahało się od 120 do 210 mg·dm⁻³). Natomiast stężenie siarczanów w tych ściekach było zbliżone i wynosiło od 17 do 24 mg·dm⁻³. Ilość substancji ekstrahujących się eterem naftowym w ściekach mleczarskich z analizowanego obiektu zmieniała się w szerokim zakresie od 17 do 69 mg·dm⁻³.

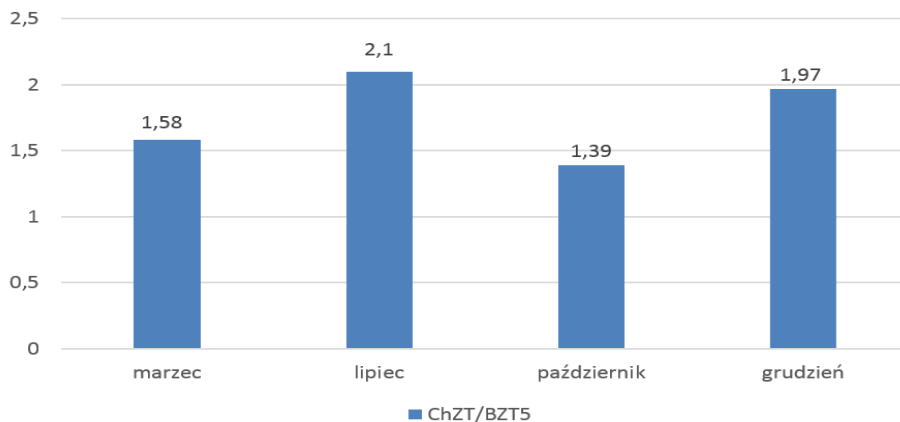
Tabela 2. Skład ścieków mleczarskich z OSM w Giżycku w poszczególnych miesiącach 2015 roku

parametr	jednostka	2015 rok				średnio
		marzec	lipiec	październik	grudzień	
pH	-	6,9 ± 0,2 <small>T_{pom} = 22,0°C</small>	12,1 ± 0,2 <small>T_{pom} = 11,2°C</small>	7,7 ± 0,3 <small>T_{pom} = 10,7°C</small>	7,8 ± 0,3 <small>T_{pom} = 15,5°C</small>	-
BZT ₅	mg O ₂ ·dm ⁻³	700,0 ± 168,0	590,0 ± 153,0	720,0 ± 187,0	519,0 ± 135,0	632,3
ChZT _{Cr}	mg O ₂ ·dm ⁻³	1107,0 ± 122,0	1240,0 ± 186,0	1000,0 ± 150,0	1020,0 ± 153,0	1091,8
Azot amonowy	mg N- NH ₄ ·dm ⁻³	2,6 ± 0,24	1,6 ± 0,2	4,4 ± 0,6	3,3 ± 0,4	3,0
Azot azotanowy (III)	mg N- NO ₂ ·dm ⁻³	24,0 ± 3,0	1,7 ± 0,2	2,3 ± 0,3	3,0 ± 0,4	7,8
Azot azotanowy (V)	mg N- NO ₃ ·dm ⁻³	52,0 ± 5,0	58,0 ± 8,0	86,0 ± 12,0	35,0 ± 5,0	57,8
Azot Kjeldahla	mg N·dm ⁻³	31,2 ± 3,4	28,3 ± 4,2	24,1 ± 3,6	39,1 ± 5,9	30,7
Azot ogólny	mg N·dm ⁻³	107,0 ± 12,0	88,0 ± 9,0	112,0 ± 13,0	76,1 ± 7,7	95,8
Fosfor ogólny	mg P·dm ⁻³	14,7 ± 1,8	13,4 ± 2,0	18,6 ± 2,8	14,0 ± 2,1	15,2
Chlorki	mg Cl·dm ⁻³	160,0 ± 18,0	180,0 ± 22,0	210,0 ± 25,0	120,0 ± 16,0	167,5
Siarczany	mg SO ₄ ·dm ⁻³	22,0 ± 2,0	24,0 ± 3,0	17,0 ± 2,2	17,0 ± 2,0	20,0
Zawiesiny ogólne	mg·dm ⁻³	150,0 ± 11,0	166,0 ± 20,0	160,0 ± 19,0	150,0 ± 18,0	156,5
Substancje ekstrah. się eterem naft.	mg·dm ⁻³	68,0 ± 12,0	n.b	17,0 ± 3,0	21,0 ± 3,0	35,3

n.b. – nie badano

3.2. OCENA PODATNOŚCI SKŁADNIKÓW ŚCIEKÓW NA BIOLOGICZNY ROZKŁAD

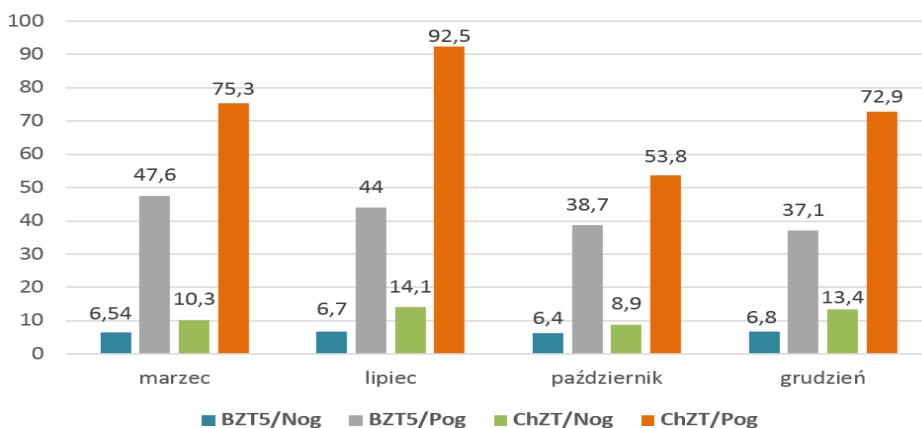
Stosunek ilości substancji organicznych mierzonych ChZT oraz substancji mierzonych BZT₅ w ściekach mleczarskich w wybranych miesiącach 2015 roku przedstawiono na rys. 6.



Rys. 6. Proporcje między ilością substancji organicznych w ściekach mleczarskich

Podatność związków organicznych zawartych w ściekach mleczarskich na rozkład biochemiczny oceniono na podstawie wartości ilorazu ChZT/BZT₅. Należy stwierdzić, że ścieki mleczarskie z OSM w Giżycku należą do łatwo biodegradowalnych (iloraz ChZT/BZT₅ poniżej 2, w marcu, październiku i grudniu) lub średnio biodegradowalnych (iloraz ChZT/BZT₅ od 2 do 2,5, w lipcu).

Na podstawie wyników badań określono również proporcje między ilością substancji organicznych oraz związków azotu i fosforu w ściekach mleczarskich z analizowanego obiektu (rys. 7).



Rys. 7. Proporcje między ilością substancji organicznych oraz związków azotu i fosforu w ściekach mleczarskich

Wartość ilorazu BZT_5/N_{og} w ściekach mleczarskich na przestrzeni roku była zbliżona i wynosiła od 6,4 do 6,8 $mg\ BZT_5 \cdot mg\ N_{og}^{-1}$. Jak podają Wojnicz i Anielak [15] stosunek ilości substancji organicznych (wyrażonych BZT_5) do azotu wynoszący co najmniej 4:1 zapewnia wysoką efektywność biologicznego usuwania azotu. Iloraz BZT_5/P_{og} wahał się w szerszym zakresie od 37,1 do 47,6 $mg\ BZT_5 \cdot mg\ P_{og}^{-1}$. Największą wartością ilorazu substratu organicznego (wyrażonego wskaźnikiem ChZT) do azotu ogólnego (14,1 $mg\ ChZT \cdot mg\ N_{og}^{-1}$) charakteryzowały się ścieki mleczarskie pobierane w lipcu (rys. 7), zaś najmniejszą wartością (8,9 $mg\ ChZT \cdot mg\ N_{og}^{-1}$) – ścieki pobierane w październiku. Zgodnie z danymi literaturowymi [5, 14] iloraz $ChZT/N_{og} > 9$ gwarantuje bardzo wysoką efektywność usuwania azotu ze ścieków. Analogiczną sytuację stwierdzono w przypadku ilorazu $ChZT/P_{og}$, zapewniającego wysoką sprawność biologicznej defosfatacji (przy wartości > 50). Największą wartość tego ilorazu (92,5 $mg\ ChZT \cdot mg\ P_{og}^{-1}$) odnotowano w ściekach pobieranych w lipcu, zaś najmniejszą wartość (53,8 $mg\ ChZT \cdot mg\ P_{og}^{-1}$) - w ściekach pobieranych w październiku.

4. PODSUMOWANIE

Analiza wyników badań składu ścieków mleczarskich z OSM w Giżycku pozwoliła na sformułowanie następujących wniosków:

1. Ścieki mleczarskie z Giżycka charakteryzują się zbliżonym składem w ciągu roku, co pozytywnie oddziałuje na proces oczyszczania w oczyszczalni komunalnej.
2. Na podstawie ilorazu $ChZT/BZT_5$ należy klasyfikować ścieki mleczarskie z Giżycka jako łatwo biodegradowalne.
3. Iloraz BZT_5/N_{og} wynoszący powyżej 4 w ściekach mleczarskich z Giżycka gwarantuje wysoką efektywność procesów biologicznego usuwania związków azotu z tych ścieków.
4. Proporcja pomiędzy ilością związków organicznych (wyrażonych ChZT) i fosforem ogólnym w ściekach mleczarskich z Giżycka wynosząca powyżej 50 zapewnia wysoką efektywność procesu biologicznej defosfatacji.

Podziękowania pracownikom PWiK w Giżycku, a w szczególności **Pani Sylwii Wyrobek**. Artykuł jest wynikiem realizacji pracy statutowej S/WBiŚ/3/2014.

LITERATURA

- [1] ANIELAK A.M., *Gospodarka wodno-ściekowa przemysłu mleczarskiego*, AgroPrzemysł, 2008, No. 2, 57–59.
- [2] BUCZAK B., *Oczyszczanie ścieków mleczarskich z uwzględnieniem usuwania azotu-mity i rzeczywistość*, III Konf. Naukowo-Techniczna Woda i ścieki w przemyśle spożywczym. 2010, Białystok.
- [3] DANALEWICH J.R., PAPADIANNIS T.G., BELYEA R.L., TUMBLESÓN M.E., RASKIN L., *Characterization of dairy waste streams, current treatment practices and potential for biological nutrient removal*, Water Research, 1998, Vol. 32, No. 12, 3555–3568.
- [4] DEMIREL B., YENIGUN O., ONAY T.T., *Anaerobic treatment of dairy wastewater: a review*, Process Biochemistry, 2005, Vol. 40, 2583–2595.
- [5] JANCZUKOWICZ W., *Usuwanie fosforu ze ścieków mleczarskich w bioreaktorze sekwencyjnym w obecności wybranych lotnych kwasów tłuszczowych (LKT)*, Rozprawy i monografie, Wyd. UWM, Olsztyn 2005.
- [6] JANCZUKOWICZ W., ZIELIŃSKI M., DĘBOWSKI M., *Biodegradability evaluation of dairy effluents originated in selected sections of dairy production*, Bioresource Technology, 2008, Vol. 99, 4199–4205.
- [7] KAEWSUK J., THORASAMPAN W., THANUTTAMAVONG M., SEO G.T., *Kinetic development and evaluation of membrane sequencing batch reactor (MSBR) with mixed cultures photosynthetic bacteria for dairy wastewater treatment*, Journal of Environmental Management, 2010, Vol. 91, 1161–1168.
- [8] MUNAVALLI G.R., SALER P.S., *Treatment of dairy wastewater by water hyacinth*, Water Science & Technology, 2009, Vol. 59, No. 4, 713–722.
- [9] NECZAJ E., KACPRZAK M., KAMIZELA T., LACH J., OKONIEWSKA E., *Sequencing batch reactor system for the co-treatment of landfill leachate and dairy wastewater*, Desalination, 2008, Vol. 222, 404–409.
- [10] SEREMEK-BULGE J., *Rynek Mleka – stan i perspektywy*, IERiGŻ – PIB, ARR, MRiRW, Warszawa 2015.
- [11] STRUK-SOKOŁOWSKA J., *Zmiany udziału frakcji ChZT podczas oczyszczania ścieków komunalnych z dużym udziałem ścieków mleczarskich*, Rocznik Ochrony Środowiska (Annual Set of Environment Protection), 2011, Vol. 13, 2015–2032.
- [12] STRUK-SOKOŁOWSKA J., *Wpływ ścieków mleczarskich na frakcje ChZT ścieków komunalnych*, Inżynieria Ekologiczna, 2011, Vol. 24, 130–144.
- [13] STRUK-SOKOŁOWSKA J., IGNATOWICZ K., *Współoczyszczanie ścieków komunalnych i mleczarskich w oczyszczalniach typu SBR*, Rocznik Ochrony Środowiska (Annual Set The Environment Protection), 2013, Vol. 15, 1881–1898.
- [14] STRUK-SOKOŁOWSKA J., *Zmiany frakcji ChZT w procesie oczyszczania ścieków komunalnych i mleczarskich w oczyszczalni typu SBR*, 2015, Rozprawa Doktorska PB.
- [15] WOJNICZ M., ANIELAK A. M., *Badania nad możliwością oczyszczania ścieków przemysłu mleczarskiego w systemie SBR z wykorzystaniem zeolitu naturalnego*, [w:] Oczyszczanie ścieków i przeróbka osadów ściekowych, Oficyna Wyd. Uniwersytetu Zielonogórskiego, 2008, No. 2, 133–142.
- [16] WOJNICZ M., *Wpływ modyfikacji układu faz procesowych na efektywność oczyszczania ścieków przemysłu mleczarskiego w systemie SBR*, Monografia Komitetu Inżynierii Środowiska PAN, 2009, Vol. 59, No. 2, Lublin.
- [17] www.osm-gizycko.com.pl.
- [18] www.pwikgizycko.pl.
- [19] www.strefabiznesu.polskatimes.pl.

ANNUAL FLUCTUATION IN THE COMPOSITION OF DAIRY WASTEWATER
BASED ON SELECTED EXAMPLE

The article presents changes in the composition of dairy wastewater discharged from a dairy milk processing plant located in the Great Mazury Lakes area (North Poland) and the data from a municipal wastewater treatment plant receiving wastewater from the food industry. The WWTP was chosen because of the wide production profile, unique location and quality of the raw material used. Analyzed samples of dairy wastewater were collected in 2015. On the basis of the test results the relationship between indicators of organic pollutants and nitrogen and phosphorous compounds in dairy wastewater was determined. The results were compared with those in literature. Dairy effluents from Giżycko are highly unstable throughout the year, which may negatively affect the purification process in wastewater treatment utilities. However, based on the relationship between BOD₅ and COD wastewater classified as easily biodegradable. The ratio between the amount of organic compounds and nitrogen and phosphorous compounds in the dairy effluent from Giżycko indicate the possibility of highly efficient removal of nitrogen and phosphorus from the wastewater during treatment.

Magda STRUTYŃSKA, Justyna RYBAK*

BIOLOGICZNA OCENA JAKOŚCI WODY RZEKI WIDAWY W OPARCIU O ANALIZĘ MAKROZOOBENTOSU

Badania jakości wody rzeki reprezentatywnej dla Dolnego Śląska – Widawy przeprowadzono na 3 stanowiskach badawczych różniących się między sobą prędkością nurtu, rodzajem podłoża oraz występującą roślinnością. Ocenę stanu badanego odcinka rzeki przeprowadzono na podstawie analiz biologicznych i chemicznych. W wodzie oznaczono zawartość związków azotu oraz fosforu. Wykorzystano indeksy biotyczne FBI, EPT, BMWP-PL, ASPT, OQR. Przeanalizowano strukturę biocenozy w oparciu o liczbę gatunków, ich różnorodność oraz podobieństwo faunistyczne.

1. WSTĘP

Postępująca urbanizacja oraz rozwój przemysłu stanowią przyczyny pogorszenia stanu ekosystemów wodnych. Zanieczyszczenie wód stanowi bezpośrednie zagrożenie dla biocenozy. Może doprowadzić do jej zubożenia, a nawet zniszczenia. Ocena jakości wód powierzchniowych w Polsce stanowi jedno z najważniejszych zadań prowadzonego monitoringu środowiska [14]. Wraz z wprowadzeniem Ramowej Dyrektywy Wodnej (*RDW: 2000/60/WE*) wzrosła rola badań biologicznych w kontrolowaniu jakości cieków. Analizy chemiczne powinny stanowić uzupełnienie całości otrzymanych wyników. Do oceny jakości wód powierzchniowych najczęściej wykorzystuje się makrobekręgowce bentosowe zasiedlające osady denne [2, 8, 11]. Za ich wykorzystaniem w ocenie stopnia zanieczyszczenia ekosystemów wodnych przemawia ogólnodostępność, łatwość poboru próbek, nieskomplikowana identyfikacja do rangi rodziny oraz długość cyklu życiowego pozwalająca na ocenę stanu środowiska i zachodzących w nim zmian [12].

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, magda.strutynska@pwr.edu.pl.

Ze względu na niewielką liczbę przeprowadzanych w Polsce badań jakości wody opierających się na systemach biotycznych, w niniejszej pracy podjęto próbę oceny stanu wody rzeki Widawy będącej prawy dopływem Odry na podstawie analizy bioce- nozy makrofauny dennej. W celu scharakteryzowania zespołu fauny dennej wykonano analizę ilościową i jakościową makroorganizmów bezkręgowych oraz oceniono zmiany w strukturze tego zespołu spowodowane czynnikami abiotycznymi. Posłużono się me- todami opartymi na analizie struktury bioróżnorodności (liczba gatunków i ich różno- rodność, podobieństwo faunistyczne) oraz wykorzystano i porównano wybrane indeksy biotyczne. Ponadto przeprowadzono analizę chemiczną jakości wód rzeki.

2. MATERIAŁY I METODY

2.1. OPIS TERENU BADAŃ

Badania makrozoobentosu przeprowadzono w zlewni rzeki Widawy, która poło- żona jest w obszarze nizin południowo-zachodnich obejmujących mezoregion Równiny Oleśnickiej i częściowo Wzgórz Trzebnickich oraz Twardogórskich. Wytę- powano 3 stanowiska badawcze.

1. Stanowisko 1 zlokalizowane jest 15 km od ujścia do Odry w pobliżu mostu Bolesława Krzywoustego. Szerokość rzeki wynosi około 5 metrów, dominuje podłoże piaszczyste, jednak obecne są także liczne duże kamienie. Brzegi porasta roślinność trawiasta: trzcina pospolita, pałka wodna, w oddaleniu pokrzywa zwyczajna.
2. Stanowisko 2 zlokalizowane jest 14 km od ujścia do Odry za mostem kolejo- wym. Szerokość rzeki jak na stanowisku 1. Dno rzeki jest piaszczysto-muliste, a brzegi silnie porośnięte bujną roślinnością. Wysokie trzciny w okresie letnim powodują znaczne zacienienie rzeki.
3. Stanowisko 3 zlokalizowane 0,5 km od ujścia Widawy do Odry. Szerokość rzeki jest znacznie większa niż w przypadku stanowisk 1 i 2, sięga około 15 metrów. Podłoże głównie piaszczyste, a miejscami żwirowe. Po obu stro- nach rzeki znajdują się lasy mieszane. Brzegi porastają trawy, trzcina pospolita, pałka wodna, obecne także m.in. rzęsa drobna i grązel żółty.

Na wszystkich stanowiskach badawczych pobrano próbki wody i oznaczono następujące parametry: pH, azot amonowy, azot azotynowy, azot azotanowy, fosforany. Oznaczenia wykonała Okręgowa Stacja Chemiczno-Rolnicza we Wrocławiu.

2.2. METODYKA

Badania przeprowadzono dwukrotnie z miesięcznym odstępem, tj. w czerwcu i lipcu 2008 roku. Materiał badawczy stanowiący zespół makrobezkręgowców bentosowych o wielkości $> 0,5$ mm pobrano metodą pólnościową. W tym celu wykorzystano czerpak o średnicy otworów około $154 \mu\text{m}$. Na każdym stanowisku badawczym wykonano 10 pociągnięć czerpakiem na takim samym odcinku. Zebrane osobniki utrwalono w 60% alkoholu, a następnie oznaczono według odpowiednich kluczy do rangi rodziny [4]. Umożliwiło to sporządzenie charakterystyki zespołu makrofauny (tj. obliczenie wskaźnika różnorodności gatunkowej Shannona-Weavera, wskaźnika bogactwa gatunkowego Simpsona, wskaźnika równomierności (PIELOU), wskaźnika Hurlberta (PIE), podobieństwa faunistycznego według formuły Jaccarda) [1]. Przeprowadzono także ocenę jakości wód rzeki Widawy w oparciu o następujące indeksy biotyczne:

- Family Biotic Index (FBI) [16],
 - Index EPT (Ephemeroptera Plecoptera Trichoptera) [15],
 - Biological Monitoring Working Party (BMWP-PL),
 - Average Score Per Taxon (ASPT) [3,5,10].
- Obliczono także ogólną jakość wody Overall Quality Rating (OQR).

3. WYNIKI

Charakterystykę wybranych wskaźników jakości wody przedstawiono w tabeli 1. W nawiasach przy oznaczonych parametrach podano odpowiadającą im klasę czystości wód. Na podstawie analiz chemicznych wykazano niewielki wraz z biegiem rzeki wykazano niewielki wzrost odczynu pH. Jego wartość na wszystkich trzech stanowiskach nie przekroczyła granic I klasy czystości wód wg rozporządzenia Ministra Środowiska z 20 sierpnia 2008 r. (Dz. U. nr 162, poz. 1008). Wartości stężeń azotu azotanowego i azotu amonowego również pozwoliły na zaklasyfikowanie badanych odcinków rzeki Widawy do I klasy czystości. Ponadto odnotowano niewielki spadek zawartości fosforanów wraz z biegiem rzeki. Ich zawartość na wszystkich trzech stanowiskach nie przekroczyła granic IV klasy czystości wód wg rozporządzenia Ministra Środowiska z 23 lipca 2008 r. (Dz. U. nr 143, poz. 896). Zawartość związków fosforu w wodzie może być spowodowana procesem ługowania gleby nawożonej nawozami fosforanowymi. Azot azotanowy stanowi formę przejściową między azotem amonowym, a azotynami. Jego obecność świadczy o zachodzących procesach redukcji i utleniania. Już jego niewielka ilość jest toksyczna dla środowiska wodnego. Wartości stężeń azotu azotynowego pozwoliły na zaklasyfikowanie badanych odcinków rzeki Widawy do III klasy czystości wg rozporządzenia Ministra Środowiska z 23 lipca 2008 r. (Dz. U. nr 143, poz. 896).

Tabela 1. Właściwości fizyko-chemiczne wody z rzeki Widawy;
wykonanie analiz: Okręgowa Stacja Chemiczno-Rolnicza we Wrocławiu

Wskaźnik	Jednostka	Stanowisko 1	Stanowisko 2	Stanowisko 3
1. Odczyn	pH	7,6 (I)	7,7 (I)	7,8 (II)
2. Azot azotanowy	g N/m ³	1,42 (I)	1,27 (I)	1,51 (I)
3. Azot azotynowy	g N/m ³	0,29 (III)	0,20 (III)	0,35 (III)
4. Azot amonowy	g N/m ³	0,36 (I)	0,59 (I)	0,33 (I)
5. Fosforany	g P/m ³	2,52 (IV)	2,15 (IV)	2,12 (IV)

Wykaz wszystkich zebranych bezkręgowców przedstawia tabela 1. Na badanych stanowiskach oznaczono 35 rodzin reprezentujących następujące grupy bezkręgowców: jętki (3 taksony), chruściki (4), ważki (3), chrząszcze (3), pluskwiaki (3), wielkoskrzydłe (1), mięczaki (8), skorupiaki (3), muchówki (4), pijawki (2), skąposzczety (1). Najwięcej taksonów bezkręgowców odnotowano na stanowisku 1, najmniej na stanowisku 2. Poza liczebnością taksonów w różnorodności gatunkowej uwzględnia się także równomierność rozkładu osobników między gatunkami. Im większa jest liczba taksonów o zbliżonej liczebności, tym fauna jest bardziej różnorodna. W tabeli 3 przedstawiono obliczone wskaźniki bioróżnorodności. Największą różnorodnością charakteryzowało się stanowisko 1 (o największym bogactwie oznaczonych taksonów i najmniejszej liczebności zebranych osobników). Stosunkowo mniejsze zróżnicowanie stwierdzono w zebranych makrobentosie na stanowisku 3. Różnorodność na stanowisku 2 była najmniejsza.

Tabela 2. Skład zgrupowań makrozoobentosu na wybranych stanowiskach badawczych

Takson	Stanowisko 1	Stanowisko 2	Stanowisko 3
Annelida			
Hirudinea			
Erpobdellidae	22	4	4
Glossiphoniidae	10		2
Oligochaeta			
Naididae	12	20	7
Crustacea			
Asellidae	35	48	14
Gammaridae	20	15	49
Astacidae		1	
Insecta			
Megaloptera			
Sialidae	1	5	3
Pyralidae			1
Ephemeroptera			
Baetidae	10	65	57
Heptagenidae	2		1

Caenidae	6	47	17
Odonata			
Platycnemidae			6
Coenagrionidae	1	1	3
Calopterygidae	2		8
Trichoptera			
Policentropoidae	21		2
Limnephilidae	5	7	19
Psychomyidae	1		
Brachycentridae	1		11
Isotomidae	1		
Coleoptera			
Haliplidae	4	2	7
Gyrynidae	3		
Dytiscidae	12	4	70
Heteroptera			
Nepidae	4		
Corixidae	1	3	
Notonectidae	2		
Diptera			
Tabanidae	1		3
Chiromidae	2		
Culicidae	8	1	
Ceratopogonidae	19	7	1
Mollusca			
Gastropoda			
Bithynia	36	10	
Physidae	8	2	
Planorbidae	3	5	9
Viviparidae			2
Takson	Stanowisko 1	Stanowisko 2	Stanowisko 3
Ancylidae	1		
Lymnaeidae	3	1	19
Bivalvia			
Sphaeriidae	14	32	7
Unionidae			1
Suma:	271	280	323

Klasyfikację biologiczną i porównanie jakości wody za pomocą wybranych wskaźników biotycznych przedstawiono w tabeli 4. Wartość indeksu BWMP-PL na 1 i 3 stanowisku odpowiada I klasie czystości wód (wody o bardzo dobrej jakości), natomiast na stanowisku 2 odnotowano pogorszenie jakości wody o jedną klasę czystości (wody dobrej jakości). Najwyższą wartość tego indeksu na stanowisku 1 jest bezpośrednio związana z największą liczbą oznaczonych taksonów. Istotnym parametrem jest także wskaźnik ASPT. Określa on przeciętną wrażliwość poszczególnego taksonu. Najwyższą jego wartość wyznaczono dla stanowiska 3. Według wskaźnika OQR jakość

wody na wszystkich stanowiskach można sklasyfikować jako doskonałą. Podobne wartości wskaźnika OQR otrzymano dla próbek, które znacznie różniły się wartościami BMWP- PL i ASPT. Świadczy to o niskiej czułości omawianego wskaźnika.

Tabela 3. Wskaźniki różnorodności dla wyznaczonych stanowisk badawczych

Wskaźnik różnorodności	Stanowisko		
	1	2	3
Współczynnik różnorodności gatunkowej (SHANNONA- WEAVERA)	4,3	3,4	3,7
Wskaźnik bogactwa gatunkowego (SIMPSONA)	0,932	0,870	0,883
Wskaźnik równomierności (PIELOU)	0,86	0,77	0,78
Wskaźnik Hurlberta (PIE)	0,928	0,867	0,880

Tabela 4. Wartości indeksów biotycznych dla wyznaczonych stanowisk badawczych

Indeks biotyczny		Stanowisko badawcze		
		1	2	3
1.	BMWP-PL	124	87	117
	Klasa czystości	I	II	I
2.	ASPT	4,77	4,58	5,18
3.	OQR	6,5	5,5	6,5
	Jakość wody	doskonała	doskonała	doskonała
4.	FBI	7,29	6,50	5,43
	Jakość wody	bardzo niezadowolająca	dość zadowolająca	zadowolająca
5.	EPT	44	119	107
	EPT taxa	7	3	5
	% EPT	16,97	42,5	33,13
	% EPT taxa	24,24	13,64	23,80

W przeciwieństwie do wyżej wymienionych indeksów biotycznych ocena jakości wody na podstawie FBI wskazuje na polepszenie jakości wody wraz z biegiem rzeki.

Wartości wskaźnika FBI obliczanego na podstawie liczebności poszczególnych taksonów wskazują na: bardzo niezadowalającą jakość wody i bardzo poważny stopień organicznego zanieczyszczenia na stanowisku 1, dość zadowalającą jakość wody i dość duże organiczne zanieczyszczenie na stanowisku 2, a także zadowalającą jakość wody i możliwe dość duże organiczne zanieczyszczenie na stanowisku 3.

Grupy bezkręgowców (służące do obliczenia wskaźnika EPT) powszechnie uważane za wrażliwe na zanieczyszczenia, tj. jętki, widelnice i chruściki, w faunie dennej Widawy reprezentowane były przez jętki (Caenidae, Baetidae, Heptagenidae) oraz chruściki (Policentropoidae, Limnephilidae, Psychomyidae, Brachycentridae). Na podstawie indeksu EPT wykazano zróżnicowanie liczby taksonów wrażliwych na zanieczyszczenia między poszczególnymi stanowiskami. Na stanowisku 1, na którym stwierdzono obecność wszystkich 7 taksonów, ich udział w całości zebranego materiału był najmniejszy (16,97%). Na stanowisku 2 obecne były jedynie 3 taksony (Baetidae, Caenidae, Limnephilidae), ale stanowiły aż 42,5% złowionych organizmów. Na stanowisku 3 co piąty takson (około 1/3 wszystkich zebranych organizmów) należał do grupy wrażliwych na zanieczyszczenia.

4. Dyskusja wyników

Przeprowadzone badania są do tej pory jedynym źródłem informacji o makrobezkręgowcach bentosowych zasiedlających rzekę Widawę. Analizy wykazały dość dużą różnorodność makrofauny dennej. Liczba taksonów, których obecność wykazano na badanym odcinku rzeki Widawy jest o 10 większa w porównaniu z inną rzeką regionu Dolnego Śląska – Piławą, która jest jednak bardziej zanieczyszczona [11]. Stwierdzono wpływ czynników abiotycznych na proces kształtowania zespołu makrofauny dennej zasiedlającej rzekę Widawę. Potwierdzają to także badania terenowe zespołów naturalnych prowadzone przez Mackaya i Kalfa [6]. Czynnikiem warunkującym obecność i sposób rozmieszczania większości makrobezkręgowców zamieszkujących wody płynące jest rodzaj podłoża, które zapewnia organizmom bentosowym powierzchnię do przywierania i zagrzebywania się, schronienie przed naporem wody, tworzywa do budowy kryjówek przed drapieżnikami [7]. Obecność bezkręgowców jest również zależna od detrytusy. Zanurzone części drzew oraz skupiska liści są miejscami o największej różnorodności gatunkowej i liczebności makrofauny dennej. Na stanowiskach badawczych stwierdzono liczne występowanie na roślinnych podłożach bogatych w detrytus skorupiaków z rodziny Gammaridae oraz Asellidae, jętek Baetidae, Caenidae, chruścików Limnephilidae oraz przedstawicieli Mollusca. Odcinek rzeki o dnie piaszczystym i piaszczysto-mulistym zasiedlali typowi dla takiego podłoża przedstawiciele muchówek. Na powierzchni zanurzonych przedmiotów (np. kamienie,

rośliny) stwierdzono obecność pijawek z rodziny Erpobdellidae oraz ślimaków z rodzaju *Bithynia*. W zebranych materiale obecni byli przedstawiciele charakterystycznych dla wód płynących (prądolubnych): ważki z rodziny Calopterygidae i Platycnemidae, jętki Heptagenidae i Caenidae, ślimaki reprezentujące rodzinę Ancyliidae. Na wszystkich stanowiskach badawczych stwierdzono obecność mięczaków z rodziny Lymnaeidae, Planorbidae, Sphaeriidae, Unionidae, które preferują wolniejszy nurt. Występowanie tych mięczaków głównie na podłożu piaszczysto-mulistym i w bardziej spokojnych strefach przybrzeżnych było już wykazywane [9].

Na podstawie wartości indeksu BMWP-PL zaklasyfikowano wody rzeki Widawy na stanowisku 1 i 3 do wód I klasy czystości, a stanowisko 2 do klasy II. Wyniki te są zgodne z przeprowadzoną analizą chemiczną. Na jej podstawie (zawartość azotu azotanowego, azotu amonowego, wartość odczynu pH) wody rzeki Widawy również zaklasyfikowano do I klasy czystości. Na stanowisku 2 zaobserwowano również największy udział taksonów zaliczanych do klasy dominantów, co świadczy o niekorzystnej zmianie struktury zespołu fauny zasiedlającej denną strefę Widawy. Najliczniej występowały jętki, skorupiaki oraz mięczaki z rodzin charakteryzujących się wysoką tolerancją na zanieczyszczenia. Równocześnie stanowisko 2 wykazało się najmniejszą różnorodnością gatunkową. Według wskaźników BMWP-PL i OQR wodę rzeki Widawy na stanowisku 1 sklasyfikowano jako najczystszą i równocześnie wykazano tam największą różnorodność gatunkową. Jednak występujące taksony charakteryzowały się mniejszą przeciętną wrażliwością na zanieczyszczenia niż gatunki zasiedlające stanowisko 3 (wartość wskaźnika OQR jest jak na jak na stanowisku I, ale odnotowano mniejszą liczebność taksonów). Powyższe obserwacje mogą świadczyć, iż charakter podłoża, różniący oba stanowiska może wpływać na zróżnicowanie gatunkowe. Na stanowisku 3 dno było głównie piaszczyste, natomiast dno na stanowisku I piaszczyste i częściowo kamieniste, brzegi silnie porośnięte roślinnością, co sprzyja większej różnorodności.

Najwyższą wartość indeksu EPT (7 taksonów) stwierdzono dla stanowiska 1, gdzie udział jętek i chruścików w całości zebranego materiału wynosił niespełna 17%. Poszczególne rodziny były reprezentowane przez niewielką liczbę osobników. Udział jętek, widelnic i chruścików (% EPT) osiągnął najwyższą wartość na stanowisku 2 (ponad 40%), gdzie zidentyfikowano jedynie trzy rodziny: jętki Baetidae i Caenidae (za to bardzo liczne, pospolicie występujące, niemające dużych wymagań co do czystości wody) i chruściki Limnephilidae (stanowiąc niewielką część materiału). Stanowisko 3 charakteryzowało się ponad 30-procentowym udziałem bezkręgowców zaliczanych do grupy wrażliwych na zanieczyszczenia, reprezentowanych przez 5 taksonów: jętki Baetidae (najliczniejsze), Caenidae, Heptagenidae (wrażliwe na zanieczyszczenia, jedynie pojedynczy osobnik), chruściki Brachycentridae, Limnephilidae, Policentropodidae (preferujące czyste środowiska wodne).

5. WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały:

- obecność 35 grup taksonomicznych oznaczonych do rangi rodziny,
- zasiedlenie rzeki Widawy na badanych odcinkach przez makrobezkręgowce charakteryzujące się różnym stopniem wrażliwości na stopień zanieczyszczenia zasiedlającego przez nie środowiska,
- zależność między składem i strukturą zoobentosu od stopnia zanieczyszczenia rzeki.

Na podstawie indeksu EPT wykazano największe bogactwo gatunkowe na stanowisku 1 (wg OQR jakość wody doskonała, wg BMWP-PL I klasa czystości), duże na stanowisku 3 (wg OQR jakość wody doskonała, wg BMWP-PL I klasa czystości). Najniższą bioróżnorodnością charakteryzowało się stanowisko 2, gdzie udział taksonów zaliczanych do klasy dominantów był największy, a ocena z zastosowaniem indeksów biotycznych (BMWP- PL, OQR) wskazywała na najgorszą jakość w porównaniu do pozostałych stanowisk. Na podstawie wartości indeksu FBI uwzględniającego licznosc poszczególnych taksonów stwierdzono lepszą jakość wody wraz z biegiem rzeki. Najslabiej oceniono stanowisko 1 – stan wody niezadowolajacy. Jakość wody na kolejnych stanowiskach (2 i 3) określono jako dość zadowolajacy i zadowolajacy. Ocena jakości wody rzeki Widawy uzyskana na podstawie indeksu FBI była więc odmienna od oceny wykonanej za pomocą wcześniej wymienionych metod biotycznych i analizy chemicznej. Otrzymany wynik związany jest z niewielką liczbą rodzin bezkręgowców stwierdzonych na stanowiskach. Wykazano, iż analiza struktury biocenozy obrazuje wpływ zmian zachodzących w środowisku wodnym (powodowanych zanieczyszczeniem) na zespół organizmów funkcjonujących w badanym ekosystemie.

Praca zrealizowana w ramach zlecenia statutowego S50-549.

LITERATURA

- [1] CZACHOROWSKI S., *Opisywanie biocenozy – zoofenologia*, Skrypt elektroniczny dla magistrantów, Olsztyn 2006.
- [2] GORZEL M., KORNIJÓW R., *Biologiczne metody oceny jakości wód rzecznych*, Kosmos, 2004, Vol. 2, No. 53, 183–191.
- [3] HUGGINS D.G., MOFFETT M.F., *Proposed Biotic and Habitat Indices for Use in Kansas Streams*, Open File Report 1988, No. 35, Kansas Biological Survey Lawrence.
- [4] KOŁODZIEJCZYK A., *Bezkręgowce słodkowodne. Polski Klucz do oznaczania oraz podstawy biologii i ekologii makrofauny*, Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa 2000.
- [5] LENAT D.R., PENROSE D.L., *History of the EPT taxa richness metric. Bulletin of the North American Benthological Society*, 1996, Vol. 13, No. 2, 12–14.
- [6] MACKAY R.J., KALIF J., *Seasonal variation in standing crop and species diversity of insect in a small Quebec stream*, Ecology, 1969, Vol. 50, 101–109.

- [7] MINSCHAL G.W., *Aquatic insect-substratum relationships*, The Ecology of Aquatic Insects, 1984, 358–400.
- [8] PAUW N. DE, HOWKES H.A. *Biological monitoring of river water quality*, [w:] S. JUDD Ed. River Water Quality Monitoring and Control, W.J. Walley, Aston University, Birmingham 1993.
- [9] PIECHOCKI A., *Mięczaki (Mollusca). Ślimaki (Gastropoda)*, Fauna Ślaskowa Polski, No. 7, PWN, Warszawa 1979.
- [10] ROSENBERG D.M., RESH V.H., *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*, Chapman and Hall, London 1993.
- [11] RYBAK J., PASTERNAK G., *Wykorzystanie makrozoobezkręgowców wodnych do oceny jakości wód powierzchniowych na przykładzie rzeki Pilawy*, Ochrona Środowiska, 2007, Vol. 29, No. 2, 55–60.
- [12] RYBAK J., UMIŃSKA-WASILUK B., *Wykorzystanie makrozoobezkręgowców do oceny biologicznej jakości wody na terenach wodonośnych we Wrocławiu*, Ochrona Środowiska, 2010, Vol. 32, No. 2, 17–34.
- [13] SOLDNER M., STEPHEN I., RAMOD L., ANGUS R., WELSS N., GROSSO A. CRANE M., *Relationship between macroinvertebrate fauna and environmental variables in small streams of Dominican Republic*, Water Research, 2004, Vol. 38, 863–874.
- [14] www.gios.gov.pl/pl/.
- [15] www.stroucenter.org.
- [16] www.lakes.chebucto.org.

BIOLOGICAL ASSESSMENT OF WATER QUALITY OF THE RIVER AND ITR TRIBUTARIES ON THE BASIS THE ANALYSIS OF MACROZOOBENTHOS

Water quality was assessed using samples collected at 3 sites, which were located along the Widawa River. The aim of the study was to analyze the macrozoobenthos with the application of such indices as BMWP-PL, ASPT, OQR, EPT. Additionally, diversity Shannon-Weaver, Simpson index of species richness, evenness index (PIELOU), Hurlbert index (PIE), the similarity of fauna according to the formula Jaccard were also used in the presented studies. The results have revealed differences in the taxa of the macroinvertebrates communities among the sampling sites, which was correlated on the physicochemical quality of water sampled.

*wtórne zanieczyszczenie wody,
materiały syntetyczne, PP, PE, PB, PVC,
materiały niesyntetyczne, żeliwo, stal, miedź*

Agnieszka TRUSZ-ZDYBEK, Sylwia WIŚNIEWSKA*

ROZWÓJ BIOFILMU W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU MATERIAŁU, Z JAKIEGO ZBUDOWANA JEST SIĘĆ WODOCIĄGOWA

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2015 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi: „woda jest bezpieczna dla zdrowia ludzkiego, jeżeli jest wolna od mikroorganizmów chorobotwórczych i pasożytów w liczbie stanowiącej potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego (...)” [1]. Usunięcie z wody mikroorganizmów i wirusów, ale także zabezpieczenie przed ich ponownym rozwojem w sieci wodociągowej jest zadaniem Zakładów Uzdatniania Wody. Mimo prowadzonych procesów oczyszczania, w systemach dystrybucji wody obserwowane są wtórne zanieczyszczenia. Jednym z nich jest biofilm, będący w większości przypadków źródłem drobnoustrojów patogennych i wirusów [2, 3]. Jednym z głównych czynników, który znacząco wpływa na proces tworzenia się obrostów biologicznych oraz ich dalszy rozwój, jest materiał użyty do budowy systemów dystrybucji wody. Rozwój biofilmu możliwy jest na każdym materiale stosowanym do budowy sieci wodociągowych. Od jego rodzaju może natomiast zależeć tempo rozwoju biofilmu, struktura błony biologicznej oraz rodzaj mikroorganizmów wchodzących w jej skład [4].

1. BIOFILM W SYSTEMACH DYSTRYBUCJI WODY

1.1. DEFINICJA BIOFILMU

Biofilm, definiowany jest jako mieszanina mikroorganizmów, ale także ich metabolitów i polimerów pozakomórkowych EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) a jego rozwój zachodzi na wewnętrznych powierzchniach sieci wodociągowej [2, 5]. Błona biologiczna określana jest także mianem rezerwuaru bakterii, wirusów, grzybów i pierwotniaków [3].

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Wybrzeże Stanisława Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, agnieszka.trusz-zdybek@pwr.edu.pl.

Uzupełniającą definicją jest określenie, że biofilm będący zbiorem bakterii, glonów, pierwotniaków, grzybów, a także wirusów to wielokomórkowa, skomplikowana struktura składająca się z wielu, oddzielonych od siebie kanalikami, mikrokolonii, otoczona warstwą różnych substancji, którymi są związki o charakterze organicznym, jak i nieorganicznym. Substancje wchodzące w skład otoczki produkowane są przez mikroorganizmy i wykazują zdolność adhezji do powierzchni biotycznych i abiotycznych [6, 7]. Dodatkowymi składnikami biofilmu mogą być produkty korozji elektrochemicznej, a także różnego typu osady obecne w wodzie [5]. Mikroorganizmy oraz wirusy wchodzące w skład błony biologicznej mogą pogarszać jakość wody do picia, wykazując tym samym zagrożenie sanitarne dla odbiorców [8].

1.2. ZAGROŻENIA, JAKIE STWARZA BIOFILM W SIECI WODOCIĄGOWEJ

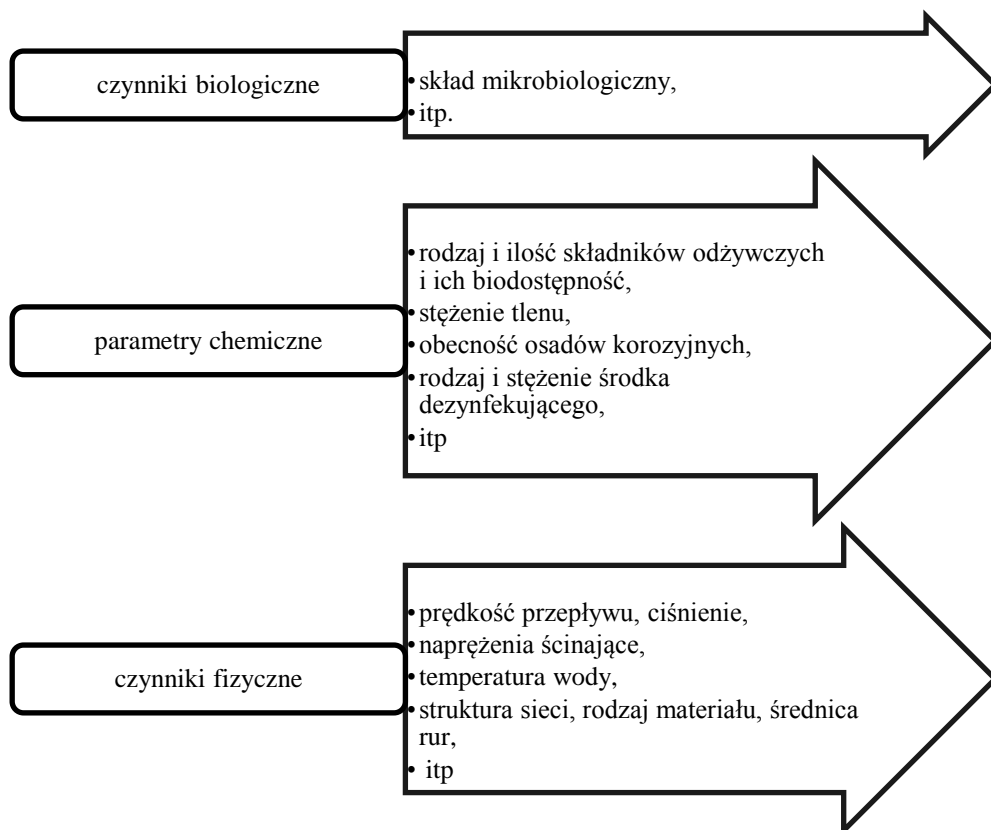
Rozwój błony biologicznej w sieci dystrybucji wody do picia może być przyczyną wielu problemów. Najpoważniejszym ryzykiem, jakie stwarza jest możliwość obniżenia jakości sanitarnej wody, ponieważ może być źródłem mikroorganizmów oraz wirusów. Większość z drobnoustrojów nie wywołuje objawów chorobowych, jeśli układ immunologiczny odbiorcy funkcjonuje prawidłowo. Często jednak w skład biofilmu wchodzi mikroorganizmy patogenne oraz cząstki wirusów, które bezpośrednio zagrażają zdrowiu ludzi. Właściwie na każdym materiale stosowanym do budowy sieci wodociągowej, stwierdzany jest rozwój mikroorganizmów patogennych, takich jak m.in. *Legionella* czy *Cryptosporidium* [9–11].

Błona biologiczna to także problemy techniczne i ekonomiczne [10]. Stwierdzono, że rozwój biofilmu zwiększa wymaganą dawkę środka, który wykorzystywany jest do dezynfekcji sieci wodociągowej. Przyczyną tego jest namnażanie i rozwój mikroorganizmów, ale także zwiększenie ich oporności na stosowany dezynfektant, dzięki kumulowaniu się. Poza tym drobnoustroje produkują liczne substancje organiczne i nieorganiczne, które mają negatywny wpływ na powłoki antykorozyjne, strukturę materiałów czy na odczyn środowiska. Obecność biofilmu w wodzie to problem również z tego względu, że korozja mikrobiologiczna potęguje korozję elektrochemiczną za sprawą produkowanych przez bakterie metabolitów. Prowadzi to do wzmożonego niszczenia rurociągów. Obecność błony biologicznej w sieciach wodociągowych skutkuje także zmianą właściwości fizyko-chemicznych wody. W wyniku uwalniania przez mikroorganizmy różnorodnych substancji pogorszeniu ulega smak, zapach, mętność czy barwa wody. Ma na to wpływ także wcześniej wspomniana korozja elektrochemiczna, której produkty wywołują podobny efekt [4, 12]. Kolejnym negatywnym skutkiem powstających obrostów biologicznych jest zmniejszenie średnicy wewnętrznej przewodów wodociągowych. Poza tym rozwijający się biofilm powoduje wzrost chropowatości, co z kolei wpływa na zwiększenie oporów hydraulicznych. Wymienione czynniki skutkują

spadkiem przepływności przewodów. Efektem zmian może być m.in. konieczność budowy dodatkowych rurociągów. Biofilm może powodować zwiększoną awaryjność systemów dystrybucji wody [13].

2. CZYNNIKI, MAJĄCE WPŁYW NA POWSTAWANIE BIOFILMU

Powstawanie i rozwój błony biologicznej jest możliwy, jeśli w sieci wodociągowej istnieją odpowiednie warunki do namnażania i wzrostu mikroorganizmów. Mogą być one wywołane zmianami parametrów wody w czasie jej przepływu przez sieć. Jakość wody ulega pogorszeniu, a co za tym idzie, daje warunki do rozwoju drobnoustrojów m.in. w wyniku korozji, zmian ciśnienia czy gromadzenia się w rurociągach osadów [14]. Modyfikacje składu jakościowego wody może spowodować wiele czynników (rys. 1).



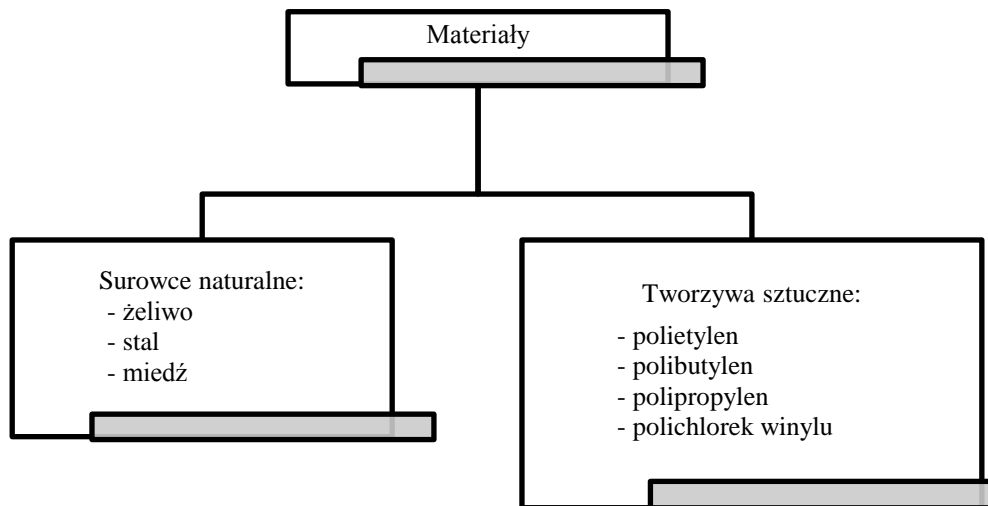
Rys. 1. Czynniki wpływające na powstawanie błony biologicznej, na podstawie [5, 15–18]

Czynniki fizyczne obejmują materiał, który był stosowany do budowy sieci wodociągowej oraz średnicę rurociągu. Mają one wpływ na jakość wody ze względu na np. wypłukiwanie z materiałów budulcowych substancji, które mogą stanowić pożywkę dla mikroorganizmów. Poza tym każdy materiał charakteryzuje się inną podatnością na korozję elektrochemiczną, w wyniku której do wody uwalniane są jej produkty pogarszające jakość wody. Korodowanie przewodów wywołuje zmiany na ich powierzchni. Wszelkiego typu szczeliny powstające w wyniku korozji, stają się odpowiednim miejscem do osiadania mikroorganizmów. Średnica rurociągu ma wpływ na dawkę dezynfektanta, którą dyktuje stosunek powierzchni ścian przewodu i jego pojemności. Do czynników fizycznych zaliczana jest też struktura sieci, a także prędkość przepływającej wody i ciśnienie panujące w rurociągu. Zbyt niskie prędkości przepływu mogą wpływać na wzmożoną stagnację, co wraz ze sprzyjającą osiadanemu mikroorganizmów strukturą przewodów, może stwarzać odpowiednie warunki do ich rozwoju. Niskie prędkości przepływu mają także wpływ na gromadzenie się osadów w sieci. W sieci należy zachować odpowiednie ciśnienie. Gwałtowne jego zmiany mogą spowodować odrywanie się fragmentów biofilmu. Z kolei brak stabilności zarówno chemicznej, jak i biologicznej wody zaliczany jest do czynników chemicznych. Skład wody dostającej się do sieci wodociągowej zależy m. in. od przeprowadzonego wcześniej oczyszczania. Zła jakość medium ma wpływ na przebiegające w sieci wodociągowej procesy. Coraz częściej prowadzone są badania dotyczące wpływu materiału użytego do budowy sieci wodociągowej na rozwój błony biologicznej. Zauważono, że użyty surowiec ma duże znaczenie. Przepływająca przez przewody woda może wypłukiwać substancje będące pożywką dla mikroorganizmów. Od rodzaju materiału zależy także czy będzie on ulegał korozji elektrochemicznej. Każdy z surowców charakteryzuje się inną strukturą, wykazując np. różny stopień podatności na pęknięcia, w których mogą gromadzić się drobnoustroje. Dokładne zbadanie materiałów jest ważne, ponieważ użyte tworzywo to czynnik, który wiąże się ściśle z innymi, które były wcześniej wymienione. Skutki zmian parametrów takich jak np. prędkość czy skład wody będą inne w zależności od tworzywa, z jakim woda będzie się kontaktować. Z tych powodów wynika konieczność oceny podatności materiałów na powstawanie obrostów biologicznych [19, 20].

3. WPLYW MATERIAŁU NA POWSTAWANIE BŁONY BIOLOGICZNEJ

3.1. MATERIAŁY STOSOWANE DO BUDOWY SIECI WODOCIĄGOWEJ

Rury, kształtki, a także elementy uzbrojenia, które wchodzi w skład przewodów wodociągowych mogą być wykonane z wielu różnych materiałów, które można podzielić na te pochodzące z surowców naturalnych jak również te wytwarzane z tworzyw sztucznych w procesach chemicznych (rys. 2) [20].



Rys. 2. Przykłady materiałów stosowanych do budowy sieci wodociągowej

3.2. BADANIA DOTYCZĄCE WPLYWU MATERIAŁU NA POWSTAWANIE BIOFILMU W SIECI WODOCIĄGOWEJ

Przytoczone wyniki badań wykazują duże różnice pomiędzy sobą. Na ich podstawie nie można jednoznacznie stwierdzić, który z materiałów stosowanych do budowy sieci wodociągowej jest najbardziej, a który najmniej podatny na powstawanie błony biologicznej (tabele 1–3).

Przykładowo według badań Niquette'a i in. [21], Traczewskiej i in. [22] czy Małeckiej i in. [23] materiałem najbardziej opornym na powstawanie biofilmu był polichlorek winylu. Zupełnie inny wynik otrzymali Hallam i in. [24], według których PVC był materiałem najbardziej podatnym na zasiedlanie go przez mikroorganizmy. Podobne różnice zaobserwowano dla polietylenu. W wyniku przeprowadzenia innych badań (Szczotko i in. [25] oraz Douterelo i in. [26]) PE był określany jako materiał oporny, natomiast inne wyniki [12, 23] wskazywały, że jest materiałem bardzo podatnym na powstawanie na nim biofilmu.

Wszystkie przytoczone eksperymenty świadczą jednak o tym, że biofilm powstaje na każdym materiale, który stosowany był do budowy sieci wodociągowej.

Obserwowane różnice mogą mieć kilka przyczyn. Stwierdzono, że wpływ na otrzymywanie niejednoznacznych wyników mogło mieć stosowanie do badań wód z różnych źró-

deł. Część z nich pochodziła ze źródeł powierzchniowych, a część z podziemnych. Kolejnym czynnikiem wpływającym na brak jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, który materiał jest najbardziej podatny na powstawanie biofilmu jest fakt, że wody zasilające analizowane systemy charakteryzowały się różnymi parametrami (np. temperaturą lub zawartością materii organicznej).

Tabela 1. Badania prowadzone w sieciach wodociągowych

Autorzy	Porównywane materiały	Oznaczenia dotyczące biofilmu	Metoda badań, wykorzystane przyrządy	Materiał najbardziej podatny na powstawanie biofilmu	Materiał najmniej podatny na powstawanie biofilmu
Niquette i in. [21]	PVC, PE, stal z wykładziną cementową, stal smołowana, żeliwo szare, żeliwo s piekane, azbesto-cement	Gęstość biofilmu	Mikroskop epifluorescencyjny	Żeliwo szare	PVC
Douterelo i in. [26]	PE, żeliwo	Mętność, ogólna liczba bakterii	Przyrząd pomiarowy, metoda posiewowa	Żeliwo szare	PE

Tabela 2. Badania prowadzone w warunkach laboratoryjnych i w terenie

Autorzy	Porównywane materiały	Oznaczenia dotyczące biofilmu	Metoda badań, wykorzystane przyrządy	Materiał najbardziej podatny na powstawanie biofilmu	Materiał najmniej podatny na powstawanie biofilmu
Hallam i in. [24]	PVC, MD-PE, szkło, cement	Ilość biomasy poprzez pomiar ATP; liczba bakterii heterotroficznych	Luminometr; metoda płytkowa	PVC	Szkło
Traczewska i in. [22]	PVC, HD-PE, PP, PB	Ogólna liczba bakterii; struktura biofilmu	Metoda posiewowa; mikroskop elektronowy	PB	PVC

Tabela 3. Badania prowadzone w warunkach laboratoryjnych

Autorzy	Porównywane materiały	Oznaczenia dotyczące biofilmu	Metoda badań, wykorzystane przyrządy	Materiał najbardziej podatny na powstawanie biofilmu	Materiał najmniej podatny na powstawanie biofilmu
Lehtola i in. [12]	PE, miedź	OLB; liczba bakterii heterotroficznych, poziom ATP	Barwienie akrydyną pomarańczową, mikroskop epifluorescencyjny, posiew na agarze, luminometr	PE	Miedź
Szczotko i in. [25]	PP, PE, PP typu RC, PE z warstwą aluminium	Poziom ATP	Luminometr	-	PE
Manuel i in. [27]	PVC, HD-PE, PEX, PP	OLB; liczba bakterii aktywnych metabolicznie, liczba komórek zdolnych do tworzenia kolonii	Barwienie oraz mikroskop epifluorescencyjny; posiew na agarze	Brak znaczących różnic	
Yu i in. [11]	Miedź, stal nierdzewna i stal powleczona cynkiem, PVC-C, PB, PE	Potencjał powstawania biofilmu poprzez pomiar ATP, obserwacje biofilmu	Metoda luminescencyjna, posiew na agarze, skaningowy mikroskop elektronowy	Stal ocynkowana	Miedź, PVC-C
Małecka i in. [23]	PVC, PE	Ogólna liczba bakterii psychrofilnych i mezofilnych	Metoda płytkowa Kocha	PE	PVC

Na podstawie analiz stwierdzono jednak, że głównym powodem otrzymywania różniących się od siebie wyników jest brak jednolitej metody badawczej, która miałaby na celu zbadanie zdolności osiadania mikroorganizmów na poszczególnych tworzywach czy szybkości rozwoju biofilmu. W przytoczonych badaniach stosowano różnorodne techniki: pomiary poziomu ATP, oznaczenia liczby bakterii metodami posiewowymi na różnych podłożach czy obserwacje mikroskopowe. Część analiz prowadzona była w laboratoriach, część natomiast dotyczyła rzeczywistych sieci wodociągowych. Poza tym do badań używano różnych konfiguracji materiałów. Różnorodny był także czas oddziaływania wód na badane tworzywa.

Biorąc pod uwagę wyżej wymienione czynniki można stwierdzić, że w celu prowadzenia badań dotyczących wtórnego zanieczyszczenia wody, jakim jest biofilm, należy opracować jednolitą metodę badawczą lub schemat takich badań. Działania takie pozwoliłyby na precyzyjne analizowanie różnych materiałów pod względem ich podatności na powstawanie obrostów biologicznych. Niestety, można przypuszczać, że mimo wszystko wyniki uzyskane po porównaniu wszystkich materiałów jedną metodą badawczą nie miałyby odzwierciedlenia w rzeczywistości. Wynika to z tego, że woda wprowadzana do sieci wodociągowej różni się znacząco w zależności od tego, z jakiego źródła pochodzi oraz jakim procesom oczyszczania była poddawana. Każdy Zakład Uzdatniania Wody opuszcza woda, która spełnia stawiane jej wymagania, ale różni się od siebie poszczególnymi parametrami. Duży wpływ na powstawanie biofilmu ma także wiek przewodów. Ocena wpływu stosowanego materiału na powstawanie błony biologicznej powinna być dokonywana dla każdego przypadku w sposób indywidualny. Jednakże opracowanie jednolitego systemu badawczego pozwoliłoby na uzyskiwanie wyników, które można by ze sobą porównywać w celu optymalizacji działań m.in. naprawczych. Poza tym wnioski wyciągane z prowadzenia badań jednakową metodą badawczą mogłyby pomóc we wstępnym doborze materiałów poddawanych dalszej analizie, już dla konkretnych sieci wodociągowych.

W związku z powyższym należałoby dokonać wyboru metody, która mogłaby stanowić najlepszy sposób badania obrostów biologicznych w sieciach wodociągowych. W wyborze metody kierowano się tym, aby badania charakteryzowały się krótkim czasem trwania, dokładnością wyników oraz łatwością wykonywania analiz. Na tej podstawie można uznać, że odpowiednią metodą byłby pomiar poziomu ATP wykonywany luminometrem. Omówione w pracy publikacje wskazują na coraz częstsze wykorzystywanie tego sposobu analizy biofilmu, który określa potencjał powstawania błon biologicznych na przewodach wodociągowych.

3.3. ADENOZYNOTRIFOSFORAN (ATP) A POMIAR ILOŚCI BIOMASY ZASIEDLAJĄCEJ POWIERZCHNIĘ PRZEWODÓW WODOCIĄGOWYCH

ATP (adenozynotrifosforan) jest związkami wysokoenergetycznym, który przechowuje i przenosi energię w żywych organizmach [28]. Metoda opierająca się na pomiarze poziomu ATP wykorzystuje zjawisko uwalniania energii w postaci kwantów światła w wyniku reakcji chemicznych [25]. Oznaczanie ATP to metoda, którą można prowadzić szybko, co odróżnia ją od np. metod posiewowych, które wymagają czasu na inkubację prób. Czas trwania oznaczania poziomu ATP umożliwia podejmowanie szybkich decyzji np. w przypadku zagrożenia zdrowia odbiorców wody przeznaczonej do picia. Zaletę przeprowadzania badań dotyczących pomiaru ATP stanowi otrzymywanie wyników w rzeczywistym czasie pobierania prób [29]. Metoda ta jest już stosowana do oceny jakości mikrobiologicznej np. w przemyśle spożywczym, kosmetycznym oraz farmaceutycznym, do badania czystości powierzchni produkcyjnych [29, 30]. Przeprowadzanie oznaczenia

ATP wykonuje się luminometrem. Sam przyrząd jest stosunkowo tani, a wykazuje dużą czułość i dokładność wyników [31]. Wykonanie pomiaru ATP jest proste, a wynik otrzymywany jest po kilku minutach [29]. Jednostka, w jakiej wyrażany jest wynik to RLU (relatywne jednostki świetlne) [31].

Pomiar adenozynotrifosforanu w przewodach wodociągowych może służyć określeniu ilości biomasy zasiedlającej ich powierzchnię [25]. Według badań przeprowadzonych przez Szczotko i in. [32] pomiar ATP był metodą czułą, która powinna być stosowana, aby w dokładny sposób określać podatność materiałów na zasiedlanie ich przez mikroorganizmy. Metody posiewowe okazały się nieprzydatne w prowadzeniu takich badań [32]. Podobne badania prowadzili Pistelok i in. [29], którzy wyciągnęli podobne wnioski. Stwierdzono, że pomiar poziomu ATP jest skuteczną metodą oceny jakości mikrobiologicznej wody [29]. Dodatkowo w publikacjach naukowych podkreśla się, że badania prowadzone metodą pomiaru ATP są powtarzalne [29, 30]. Badania dotyczące wykorzystania tej metody podają, że stosować można ją zarówno do badania sieci wodociągowych, jak i kontrolowania jakości wody w budynkach użyteczności publicznej [29]. Dodatkowo zaznacza się [29], że poprzez wykonywanie pomiaru ATP można przedstawić przestrzenny rozkład zanieczyszczeń obecnych w sieci wodociągowej, co może ułatwić podejmowanie decyzji w zakresie postępowania z sieciami wodociągowymi. Prowadzenie takich badań mogłoby zminimalizować koszty poprzez podejmowanie decyzji o płukaniu czy dezynfekcji sieci na podstawie testów, których wynik otrzymywany jest właściwie natychmiastowo [29].

4. PODSUMOWANIE

Wszystkie przytoczone w literaturze badania świadczą o tym, że biofilm powstaje na każdym materiale, który stosowany jest do budowy sieci wodociągowej.

Metodą, którą można by stosować w celu badań sieci wodociągowych pod względem ich podatności na powstawanie obrostów biologicznych jest pomiar poziomu ATP, świadczący o metabolicznej aktywności mikroorganizmów zasiedlających przewody wodociągowe. Zdecydowaną przewagą takiego sposobu prowadzenia badań jest prostota ich wykonania oraz możliwość otrzymywania wyników w krótkim czasie. Przyrządy pomiarowe (luminometry) mogą być używane w różnych warunkach, ponieważ są przenośne i mają niewielkie rozmiary.

LITERATURA

- [1] Dz.U. 2015 nr 0 poz. 1989, *Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2015 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi*, 2015.
- [2] ŚWIDERSKA-BRÓŹ M., *Skutki braku stabilności biologicznej wody wodociągowej*, Ochrona Środowiska, 2003, No. 4, 7–12.
- [3] TRUSZ-ZDYBEK A., DOBROWOLSKI D., SZYMCZYCHA-MADEJA A., *Rola nitkowatych bakterii żelazowych i manganowych oraz grzybów w formowaniu biofilmu w systemach dystrybucji wody*, [w:] Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska 4, pod red. T.M. Traczewskiej i B. Kaźmierczaka, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2014, 904–911.
- [4] MUSZ A., KOWALSKA B., *Wpływ materiału rurociągów wykonanych z tworzyw sztucznych na jakość wody wodociągowej. Przegląd literatury*, [w:] Polska Inżynieria Środowiska pięć lat po wstąpieniu do Unii Europejskiej, tom 3, Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska, pod red. M. Dudzińskiej, L. Pawłowskiego, 2009, Vol. 60, 165–178.
- [5] BROWARCZYK B., TRUSZ-ZDYBEK A., *Wpływ warunków hydraulicznych i rodzaju materiału na biofilm w sieci wodociągowej*, [w:] Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska 5, pod red. J. Wiśniewskiego, M. Kutylowskiej, A. Trusz-Zdybek, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2015, 22–32.
- [6] CZACZYK K., WOJCIECHOWSKA K., *Tworzenie biofilmów bakteryjnych - istota zjawiska i mechanizmy oddziaływania*, Biotechnologia, 2003, No. 3, 180–192.
- [7] CZACZYK K., MYSZKA K., *Mechanizmy warunkujące oporność biofilmów bakteryjnych na czynniki antymikrobiologiczne*, Biotechnologia 2007, No. 1, 40–52.
- [8] WINGENDER J., FLEMING H.C., *Contamination potential od drinking water distribution network biofilms*, Water Science and Technology, 2004, Vol. 49, No. 11–12, 277–286.
- [9] GRABIŃSKA-ŁONIEWSKA A., SIŃSKI E., *Mikroorganizmy chorobotwórcze i potencjalnie chorobotwórcze w ekosystemach wodnych i sieciach wodociągowych*, Wyd. Seidel–Przywecki, Warszawa 2010.
- [10] ŚWIDERSKA-BRÓŹ M., *Czynniki współdecydujące o potencjale powstawania i rozwoju biofilmu w systemach dystrybucji wody*, Ochrona Środowiska, 2010, Vol. 32, No. 3, 7–13.
- [11] YU J., KIM D., LEE T., *Microbial diversity in biofilm on water distribution pipes of different materials*, Water Science and Technology, 2010, No. 1, 163–171.
- [12] LEHTOLA M.J., MIETTINEN I.T., KEINANEN M.M., KEKKI T.K., LAINE O., HIRVONEN A., VARTIAINEN T., MATIKAINEN P.J., *Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes*, Water Research, 2004, No. 38, 3769–3779.
- [13] KOTOWSKI A., *Analiza hydrauliczna zjawisk wywołujących zmniejszenie przepływności rurociągów*, Ochrona Środowiska, 2010, Vol. 32, No. 1, 27–32.
- [14] KOWAL A.L., *Przyczyny i zapobieganie zmianom jakości wody w systemach wodociągowych*, Ochrona Środowiska, 2003, No. 4, 3–6.
- [15] AHMAD S., ASHRAF M., SIDDIQUE M., MEHMOOD F., ARSHAD M., KHAN A.H., *Biofilm Formation and Drinking Water Quality in Relation to Escherichia coli at Commercial Poultry Farms*, Journal Of Agriculture & Social Sciences, 2008, 1813–2235.
- [16] ŚWIDERSKA-BRÓŹ M., *Czynniki współdecydujące o potencjale powstawania i rozwoju biofilmu w systemach dystrybucji wody*, Ochrona Środowiska, 2010, Vol. 32, No. 3.
- [17] NIQUETTE P., SERVAIS P., SAVOIR R., *Impacts of pipe materials on densities of fixed bacterial biomass in a drinking water distribution system*, Water Research, 2000, Vol. 34, 1952–1956.

- [18] WINGENDER J., FLEMMING H.C., *Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens*, International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2011, Vol. 214, 417–423.
- [19] Olsińska U., Skibińska K., *Modelowanie zmian jakości wody w systemie dystrybucji*, Ochrona Środowiska, 2007, No. 2, 33–40.
- [20] WIŚNIEWSKA S., *Rozwój biofilmu w zależności od rodzaju materiału z jakiego zbudowana jest sieć wodociągowa*, praca inżynierska, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Wrocławska, Wrocław 2015.
- [21] NIQUETTE P., SERVAIS P., SAVOIR R., *Impacts of pipe materials on densities of fixed bacterial biomass in a drinking water distribution system*, Water Research, 2000, Vol. 34, No. 6, 1952–1956.
- [22] TRACZEWSKA T., SITARSKA M., BIEDROŃ I., *Ekologiczne i techniczne aspekty powstawania biofilmu w wodzie*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2014.
- [23] MAŁECKA I., WIRA J., MAŁECKI Z.J., *Podatność wybranych rur polimerowych sieci i instalacji wodociągowych na obrosty mikrobiologiczne cz. I. Zeszyty Naukowe. Inżynieria Lądowa i Wodna w Kształtowaniu Środowiska*, 2013, No. 8–9, 44–56.
- [24] HALLAM N.B., WEST J.R., FORSTER C.F., SIMMS J., *The potential for biofilm growth in water distribution systems*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 17, 4063–4071.
- [25] SZCZOTKO M., KROGULSKA B., KROGULSKI A., *Badania podatności materiałów kontaktujących się z wodą przeznaczoną do spożycia na powstawanie obrostów mikrobiologicznych*, Rocznik PZH 2009, No. 2, 137–142.
- [26] DOUTERELO I., HUSBAND S., BOXALL J.B., *The bacteriological composition of biomass recovered by flushing an operational drinking water distribution system*, Water Research, 2014, Vol. 54, 100–114.
- [27] MANUEL C.M., NUNES O.C., MELO L.F., *Dynamics of drinking water biofilm in flow/non-flow*, Water Research, 2007, Vol. 41, 551–562.
- [28] KĄKOL P.T., *Biologia – Kompendium*, Świat Książki, Warszawa 2010.
- [29] PISTELOK F., WIERA B., STUCZYŃSKI T., *Identyfikacja zagrożeń dla bezpieczeństwa zdrowotnego wody podczas zdarzeń wyjątkowych*, Instal, 2012, No. 3, 44–49.
- [30] GUTAROWSKA B., PIOTROWSKA M., ŻAKOWSKA Z., GWOŹDZIŃSKI K., *Analiza przydatności metod oznaczania adenylozotynotryfosforanu (ATP) oraz mikroskopii fluorescencyjnej do oceny żywotności i adhezji bakterii na powierzchni bioaktywnych polimerów*, Polimery, 2012, No. 3, 236–245.
- [31] KRĘGIEL D., *Zastosowanie luminometrii w badaniach adhezji drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych*, LAB Laboratoria, Aparatura, Badania, 2011, No. 4, 10–14.
- [32] SZCZOTKO M., KROGULSKA B., KROGULSKI A., KURZĄTKOWSKI W., STANISZEWSKA M., *Porównywanie struktury i tempa wzrostu biofilmów powstających na powierzchni materiałów budowlanych kontaktujących się z wodą przeznaczoną do spożycia*, Gaz, Woda i Technika Sanitarna, 2012, No. 11, 498–502.

BIOFILM DEVELOPMENT DEPENDING ON THE TYPE OF MATERIAL WHICH BUILDS WATER SUPPLY NETWORK

According to the Minister of Health of 13 November 2015. On the quality of water intended for human consumption, "the water is safe for human health, if it is free of pathogenic microorganisms and parasites in number constituting a potential threat to human health (...)" [1]. Removal of the water of microorganisms and viruses, but also protection against the re-development of the water supply network is the responsibility of the Water Treatment Plant. Despite conducted treatment processes, in water distribution systems are observed secondary pollution. One of them is the biofilm which is a source of pathogenic organisms and

viruses, in most cases [2, 3]. One of the main factors, which significantly affects the process of biofilm formation and its continued development, the material have used for the construction of water distribution systems. Biofilm development is possible on the surface of each material used in the construction of water supply systems. The type of material affects the rate of growth of biofilm, biofilm structure and the type of microorganisms that are part of the biofilm [4].

Henryk WASĄG, Justyna KUJAWSKA, Mariola CHOMCZYŃSKA*

ZASTOSOWANIE FLOTACJI CIŚNIENIOWEJ DO OCZYSZCZANIA ŚCIEKÓW I ODPADÓW CIEKŁYCH Z GÓRNICTW GAZU ŁUPKOWEGO

Poszukiwaniu, uwalnianiu i eksploatacji gazu ziemnego z formacji łupkowych towarzyszy generowanie dużych ilości odpadów stałych i ciekłych. Stosowane powszechnie w górnictwie amerykańskim metody unieszkodliwiania tego typu odpadów w warunkach Polski nie mogą być brane pod uwagę. Istnieje więc uzasadniona potrzeba rozwoju nowych metod. Taką metodą może być flotacja ciśnieniowa. Proces ten nazywany również flotacją rozpuszczonym powietrzem łączy w sobie istotę procesu flotacji klasycznej i koagulacji. Polega na zmniejszeniu stopnia dyspersji zanieczyszczeń zawartych w ściekach, a następnie wytworzeniu aglomeratów z pęcherzykami powietrza o gęstości pozornej mniejszej od gęstości cieczy i odseparowaniu flotatu.

1. ODPADY WIERTNICZE

W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat na całym świecie, w tym także w Polsce, znacznie wzrosło zainteresowanie poszukiwaniem i eksploatacją gazu z węglowodorów niekonwencjonalnych, do których należą gaz z formacji łupkowych, gaz zamknięty w izolowanych porach skalnych, gaz z pokładów węgla oraz hydraty gazowe [1].

Technologia wydobywania gazu z łupków powoduje powstanie odpadów, których zagospodarowanie stanowi problem logistyczny, techniczny i środowiskowy [9].

Odpady powstające przy poszukiwaniu i eksploatacji gazu łupkowego można podzielić na dwie grupy:

- odpady wiertnicze to odpady związane z pracami wiertniczymi, zabiegami intensyfikującymi i testami próbnymi złoża. Są to: zużyta płuczka, zwierzcina i płyn zwrotny, wody złożowe, odpady stałe. Odpady stałe - to odpady powstające podczas oczyszczania płynu zwrotnego np. szlam ze zbiorników,

* Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska, ul. Nadbystrzycka 40B, 20-618 Lublin, j.kujawska@pollub.pl.

- odpady powstające w związku z funkcjonowaniem wiertni, np. tworzywa sztuczne, opakowania, złom metali.

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2014 roku w sprawie Katalogu Odpadów (Dz. U. 2014, poz. 1923) odpady wydobywcze zalicza się do grupy 01, obejmującej odpady powstające przy poszukiwaniu, wydobywaniu, fizycznej i chemicznej przeróbce rud oraz innych kopalin, i podgrupy 01 05: płuczki wiertnicze i inne odpady wiertnicze.

Są to odpady przemysłowe powodujące znikome lub średnie zagrożenie dla środowiska naturalnego.

Z danych przemysłowych wynika, że dla wierceń wykonywanych w złożach niekonwencjonalnych należy przyjąć, że na 1 mb otworu płytszego niż 2000 m wytwarzana ilość odpadów wiertniczych wynosi około 0,4 m³, natomiast przy wierceniach głębszych może dochodzić do 0,8 m³ (z czego od 0,2 do 0,3 m³ to urobek w postaci zwiercin). Średnia ilość możliwych do wygenerowania odpadów na jeden otwór w Polsce wynosi między 2500 a 6000 Mg [18].

Przykładowe ilości i rodzaje odpadów powstałych w następstwie wiercenia do głębokości 3000 m podane zostały w tabeli 1.

Tabela 1. Przykładowe ilości i rodzaje odpadów wytworzonych podczas wiercenia do głębokości 3000 m [18]

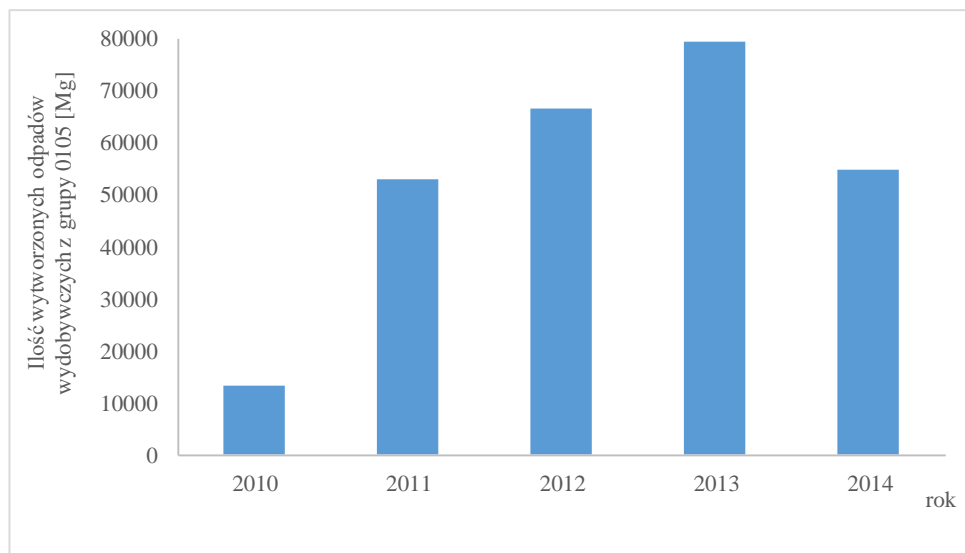
Lp.	Rodzaj odpadu	Orientacyjna ilość w Mg	Orientacyjna ilość w % całości
1.	Zużyta płuczka, zwierciny	2 849	92,0
2.	Odpady z tworzyw sztucznych	0,37	< 0,1
3.	Zużyte oleje	0,5	< 0,1
4.	Zaolejone czyściwo	0,1	< 0,1
5.	Lampy fluorescencyjne i inne odpady zawierające rtęć	0,03	< 0,1
6.	Odpady spawalnicze i zużyte elektrody	0,02	< 0,1
7.	Złom metali żelaza i stali	1,0	< 0,1
8.	Odpady po zabiegach	238	7,7
Razem:		3 089	100

W latach 2010–2015 wykonywano 72 otwory poszukiwawcze gazu łupkowego (stan na 4.01.2016 r.) [20].

Ilość i rodzaj odpadów wiertniczych (podgrupa 01 05) wygenerowanych w latach 2009–2015 na terenie Polski przedstawia rysunek 1.

Odpady wiertnicze należą do odpadów typu mineralno-organicznego. Odpadowe płuczki wiertnicze to układy koloidalne o cechach tiksotropowych. Stanowią one złożone kompozyty drobnodispersyjnych ciał stałych, makromolekuł, polimerów oraz cieczy. W zależności od warunków geologiczno-technologicznych wiercenia oraz typu zastosowanych płuczek wiertniczych, zarówno skład jak i właściwości odpadów

wiertniczych mogą znacząco się zmieniać. Ze względu na ich złożoność chemiczną, wynikającą z wielofunkcyjności, po wykorzystaniu stają się poważnym problemem w kwestii ich zagospodarowania w sposób nieobciążający środowiska [2].



Rys. 1. Ilość odpadów wydobywczych z podgrupy 01 05 wytworzonych w Polsce [12]

Zanieczyszczenia szkodliwe dla środowiska mogą być kumulowane w drobnodispersyjnej frakcji odpadowej płuczek wiertniczych, która stanowi niekiedy około 75% fazy stałej i składa się głównie z krzemianów o strukturze warstwowej (jak smektyt), węglanów (jak kalcyt czy dolomit), a także bezpostaciowej krzemionki bądź wodorotlenków żelaza i manganu. Minerale tego typu kompleksują się z hydrofilnymi makromolekułami i organicznymi polimerami. Charakteryzują się dużą lepkością, niską przewodnością hydrauliczną oraz wysoką wodochłonnością. Kwarc, miki, illit, kaolinit i skalenie, będące resztą składników mineralnych omawianego układu koloidalnego odpadu, formują suspensyjną fazę w środowisku wodnym [3].

Płuczki wiertnicze dyskwalifikują do dalszego wykorzystania następujące cechy:

- zawartość niektórych związków organicznych;
- występowanie metali ciężkich, takich jak chrom, miedź, ołów, cynk;
- obecność soli niektórych pierwiastków alkalicznych w postaci chlorków, zwykle potasu i sodu;
- nadmierna zawartość siarczanów lub wodorowęglanów,
- koloidalno-szlamista postać [4].

Wymienione związki występujące w płuczkach wiertniczych mogą łączyć się koloidalną mikrostrukturą odpadów, co jest istotnym utrudnieniem w procesach gospodarki odpadami [4].

Powstawanie dużych ilości odpadów płynnych w procesach poszukiwania i wydobywania gazu łupkowego jest nieuniknione i dlatego należy podjąć wszelkie możliwe działania technologiczne, aby je właściwie zagospodarować lub zutyliczować. Biorąc pod uwagę koszty przygotowania płuczek wiertniczych, należy dążyć do wielokrotnego ich użycia. Z tego powodu poszukiwane są nowe technologie do odzysku zużytych płuczek wiertniczych.

Coraz częściej stosuje się nowe technologie, które pozwalają na usuwanie koloidalnych, drobnodispersyjnych materiałów z płuczek wiertniczych. Metody te nie tylko zwiększają wydajność tradycyjnego systemu oczyszczania płuczki, ale również powodują przedłużoną trwałość płuczek wiertniczych, jak i odzyskanie i ponowne wykorzystanie jej wartościowych składników. Do koloidalnych drobnych materiałów, o średnicy mniejszej niż 2 μm należą: betonit, gliny, baryt, a także ultra drobne zwiercone ciała stałe. Cząstki te są trudne do usunięcia z wykorzystaniem tylko mechanicznych urządzeń, których praca polega na przesiewaniu lub grawitacji. Aby cząstki te zostały skutecznie usunięte z płuczki należy wykorzystać procesy chemiczne [11].

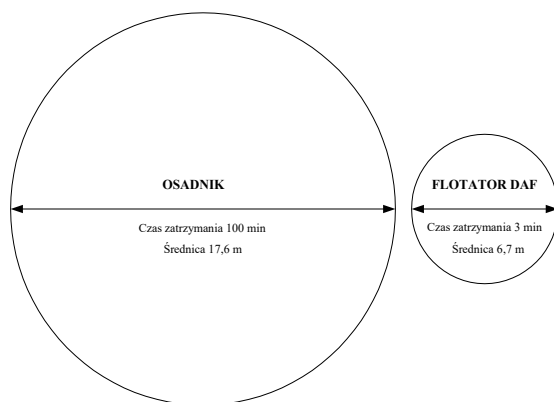
Metoda flokulacji jest jedną z metod usuwania drobnodispersyjnych cząstek. Metoda to może mieć zastosowanie w wiertniach, by poprawić wydajność systemu usuwania ciał i zmniejszyć ilość zużytych płuczek wiertniczych, jak również wprowadzić udogodnienia w rolniczym zagospodarowaniu odpadu. Technika ta polega na wprowadzeniu przez otwór substancji chemicznej do płuczki wiertniczej, a następnie wymieszaniu i odwirowaniu. Podczas flokulacji cząstek znajdujących się w płynach wiertniczych mamy do czynienia z przyleganiem polimeru flokulującego do drobnodispersyjnych cząstek ciał stałych, co prowadzi do tworzenia się dużych skupisk (agregatów) cząstek rozproszonych, które mogą być łatwo oddzielone od płynu w wirówce dekantującej [11].

Przetworzony płyn wiertniczy ma niską gęstość, dzięki czemu może zostać użyty jako podstawa dla nowych płuczek wiertniczych. Przeprowadzone badania pokazały, że płyny te zawierają wartościowe składniki pierwotnego płynu, dzięki czemu mniej produktów należy użyć aby otrzymać płuczkę wiertniczą o odpowiednich parametrach [11].

Podobnym rozwiązaniem jest innowacyjny proces osmozy wymuszonej. Badania wykazały, że jest to skuteczna technologia wtórnego wykorzystania wody odzyskiwanej z odpadowych płuczek wiertniczych, umożliwiającą zmniejszenie zużycia wody z dodatkowych źródeł [6].

2. FLOTACJA

Zgodnie z definicją, flotacja jest procesem separacji mieszanin typu ciało stałe-ciecz lub ciecz-ciecz. Zasadniczo wyróżnia się trzy typy flotacji, a mianowicie: flotację naturalną, wspomaganą i wymuszoną. Flotacja naturalna zachodzi wówczas, gdy różnice w gęstości są naturalnie wystarczające do zajścia procesu separacji. W przypadku flotacji wspomagananej stosowane są zewnętrzne czynniki w celu promowania separacji cząsteczek, które naturalnie unoszą się na powierzchni. Flotacja wymuszona opiera się na zdolności cząsteczek danego ciała stałego lub cieczy do łączenia się z pęcherzykami gazu. Tworzą się w ten sposób połączenia cząsteczka-gaz o pozornej gęstości mniejszej od gęstości cieczy i dzięki temu możliwe jest ich unoszenie się ku powierzchni cieczy. Jedną z tego typu metod jest flotacja ciśnieniowa, zwana również często flotacją rozpuszczonym powietrzem, w skrócie DAF (od angielskiego terminu *dissolved air flotation*). Wiele cząstek zawartych w ściekach lub w wodzie ma małą gęstość, często zbliżoną bądź mniejszą niż medium, w którym są zawarte. Cząstki o gęstości mniejszej od wody mają tendencję do unoszenia się ku jej powierzchni, skąd mogą być zgarniane [10]. Ten rodzaj flotacji do separacji zanieczyszczeń wykorzystuje pęcherzyki powietrza wytworzone w kontrolowanych warunkach dekompresji wody saturowanej. Woda najpierw jest napowietrzana w specjalnej komorze sprężania w warunkach podwyższonego ciśnienia, a następnie kierowana jest do komory flotacji, gdzie po obniżeniu ciśnienia do poziomu ciśnienia atmosferycznego wydzielają się pęcherzyki powietrza. Wytworzone pęcherzyki unoszą się ku powierzchni cieczy, po drodze zderzając się z cząstkami zanieczyszczeń. Podczas zderzeń dochodzi do ich łączenia się w trwałe aglomeraty o pozornej gęstości mniejszej od gęstości wody. Dzięki tej właściwości utworzone aglomeraty unoszą się na powierzchnię cieczy.



Rys. 2. Porównanie osadnika z flotatorem DAF (wymiary urządzeń dla przepływu 6340 m³/d [8])

Ten typ flotacji, który został wynaleziony we wczesnych latach XX wieku, jako metoda rozdziału cząstek, dziś ma wiele zastosowań takich jak [14]:

- oczyszczanie ścieków pochodzących z przemysłu rafineryjnego,
- regeneracja wód popłucznych,
- zagęszczanie osadu oraz separacja kłaczków,
- separacja ciał stałych oraz innych zanieczyszczeń z wody do spożycia,
- usuwanie zawiesiny organicznej, tłuszczu oraz rozpuszczonych toksycznych związków organicznych,
- usuwanie glonów oraz substancji humusowych,
- wzbogacanie rud metali szlachetnych, itp.

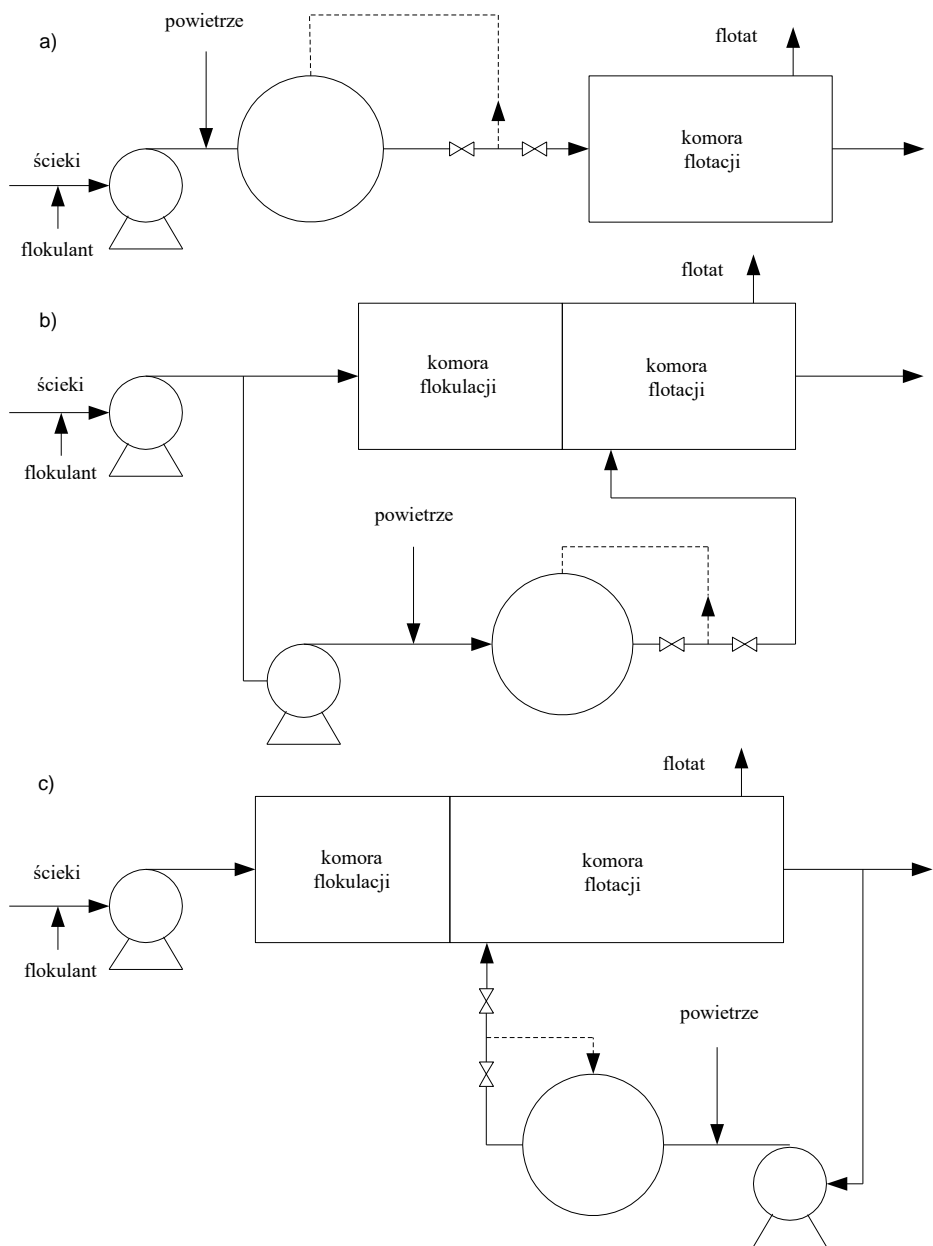
Bardzo dobre efekty oczyszczania ścieków, w porównaniu do konwencjonalnych metod separacji, zwłaszcza sedymentacji, spowodowały znaczący wzrost zainteresowania flotacją. Flotacja rozpuszczonym powietrzem w wielu przypadkach wypiera z użycia do separacji zawiesin procesy bazujące na klasycznej sedymentacji, a obserwowaną tendencję w sposób pogładowy uzasadnia schemat przedstawiony na rys. 2.

Jak widać z zamieszczonego rysunku, czasy wymagane do skutecznej separacji wytworzonych aglomeratów we flotatorze i osadniku wynoszą odpowiednio 3 minuty i 100 minut. Rzutuje to bezpośrednio na średnicę i kubaturę urządzeń. Porównanie parametrów flotatorów i osadników wskazuje, że powierzchnia flotatorów DAF odpowiada 15% powierzchni całkowitej osadników przy tym samym przepływie. Ich kubatura stanowi tylko 5% objętości osadników, a osiągnięty stopień oczyszczenia medium jest porównywalny przy dodatku takich samych flokulantów. Koszty eksploatacji flotatorów są nieco wyższe niż osadników, co jest z nawiązką rekompensowane przez znacząco niższe koszty budowy instalacji [19].

Proces flotacji ciśnieniowej może być przeprowadzany w trzech odmianach konfiguracji: z pełnym przepływem, z rozdziałem wody oraz z przepływem recyrkulowanym [7].

W konfiguracji z napowietrzaniem pełnego przepływu cały strumień dopływających ścieków jest napowietrzany i następnie magazynowany w zbiorniku (saturatorze). System ten ma zastosowanie w przypadku, gdy stężenie zawiesiny ogólnej w dopływających ściekach przekracza 800 g/m^3 . Ewentualny dodatek flokulantów na wlocie powoduje, że pęcherzyki powietrza mogą zostać uwięzione wewnątrz aglomeratów. W efekcie aglomeraty szybko flotują, co przekłada się na wysoką efektywność separacji [19].

We flotacji ciśnieniowej z rozdziałem strumienia przepływu tylko część dopływających ścieków kierowana jest do urządzeń saturujących. Z reguły jest to od 30 do 50% dopływających ścieków. Ścieki poddane saturacji są mieszane z pozostałymi na wlocie do komory flotacji [19]. Do głównych zalet tego systemu możemy zaliczyć redukcję nakładów energetycznych na pracę pomp.



Rys. 3. Konfiguracje procesu flotacji rozpuszczonym powietrzem: a) - z napowietrzaniem całego dopływu, b) - z częściowym rozdzieleniem dopływającego strumienia, c) - z recyrkulacją przepływu

System flotacji ciśnieniowej z aeracją recykulowanego strumienia charakteryzuje się tym, że część oczyszczonych ścieków z komory flotacji (od 15 do 50%) jest

zawracana, sprężana i częściowa napowietrzana w zbiorniku. Następnie strumień recyrkulatu jest mieszany z pozostałym strumieniem dopływających ścieków tuż przed dopływem do komory flotacji. W rezultacie, tuż za przegrodą dopływową komory, pęcherzyki powietrza wytworzone z fazy wodnej mieszaniny zderzają się z cząstkami zawieszonymi ze ścieków tworząc agregaty, które wypływają na powierzchnię. Konfiguracja ta stosowana jest w przypadkach, gdy niezbędne jest stosowanie przed procesem flotacji dodatków chemicznych i flokulantów.

Flotacja rozpuszczonym powietrzem jest bardzo złożonym procesem a na jej przebieg ma wpływ wiele czynników, do najważniejszych należy zaliczyć [5, 16, 19]:

- rodzaj i skład oczyszczanych ścieków,
- natura i rozmiar separowanych cząstek,
- rodzaj substancji dyspergujących,
- obecność i zawartość zanieczyszczeń w postaci ciekłej,
- dawkowanie chemikaliów wspomagających proces,
- stosunek powietrza do zawartości cząstek stałych,
- stopień recyrkulacji,
- budowa komory flotacji i sposób usuwania flotatu.

Separacja cząstek w przypadku procesu flotacji ma odniesienie do tych samych praw, co proces sedymentacji, jednak w odwróconym polu sił. Jednak wydajności systemu flotacji rozpuszczonym powietrzem nie można przewidzieć na podstawie standardowych parametrów projektowych opartych na obciążeniu hydraulicznym, obciążeniu zanieczyszczeniami i ilości dostępnego powietrza [13, 17]. Z tego powodu prawie w każdej sytuacji zaleca się przeprowadzenie badań oczyszczanych ścieków w skali pilotażowej przed wykonaniem pełnowymiarowego obiektu [8, 15].

3. MATERIAŁY I METODY

W przeprowadzonych badaniach podjęto próby oczyszczania odpadów ciekłych zawierających zużytą płuczkę wiertniczą beziłową z blokatorami. Charakterystykę oczyszczanych ścieków i uzyskiwanych efektów dokonano na podstawie pomiaru pH oraz analiz fizyczno-chemicznych obejmujących oznaczenia suchej pozostałości, wielkości strat przy prażeniu oraz wartości ChZT. Suchą pozostałość i zawartość wody oznaczano metodą wagową zgodnie z PN-EN 12880:2004. Straty przy prażeniu określano stosownie do normy PN EN 12879:2004. Pomiaru pH oczyszczanych ścieków dokonano metodą potencjometryczną zgodnie z PN-EN ISO 10523:2012. ChZT oznaczano metodą spektrofotometryczną PB.03.00, wydanie 4. z dnia 21.01.2011 r. na podstawie testu HACH LANGE LCK 314, LCK 315, LCK 014, LCK 1014.

W przeprowadzonych badaniach wstępnych dokonano porównania uzyskiwanych efektów oczyszczania odpadów ciekłych zawierających zużyta płuczkę wiertniczą beziłową z blokatorami metodą koagulacji objętościowej z efektami uzyskiwanych przy zastosowaniu metody flotacji ciśnieniowej realizowanej w laboratoryjnym zestawie, w sposób periodyczny, w konfiguracji z napowietrzaniem całego dopływu.

Do destabilizacji układu koloidalnego wykorzystano produkowane i dystrybuowane przez Kemipol Sp. z o.o. w Policach różnego typu koagulanty żelazowe i glinowe oraz flokulanty, zarówno jonowe, jak i niejonowe.

Oczyszczane ścieki stanowiły trwałe i zauważalnie tiksotropowy układ koloidalny o niezwykle wysokim ładunku zanieczyszczeń. CHZT badanej próbki wynosiło około $27000 \text{ gO}_2/\text{m}^3$, sucha pozostałość przekraczała $105\ 000 \text{ g/m}^3$, a wielkość strat przy prażeniu określono na poziomie 27,3%. Odpad charakteryzował się lekko alkalicznym odczynem, a zmierzona wartość pH wynosiła 7,52.

4. WYNIKI BADAŃ

Zastosowanie koagulantów żelazowych i glinowych nie doprowadziło do destabilizacji układu i zmniejszenia stopnia dyspersji niezbędnego do wywołania procesu koagulacji. Efekt ten osiągnięto w wyniku zastosowania flokulantów kationowych. W przeprowadzonym dla porównania procesie koagulacji objętość otrzymanego osadu po 24-godzinnej sedymentacji wynosiła w przybliżeniu 25% objętości oczyszczanych ścieków. Proces flotacji rozpuszczonym powietrzem już po kilku minutach umożliwia wydzielenie w odpowiedni sposób flotatu stanowiącego około 12% objętości oczyszczanych ścieków. Dodatkowo charakteryzuje się on bardzo niskim stopniem uwodnienia nie przekraczającym 70%. Uzyskiwane efekty oczyszczania ścieków mierzone stopniem obniżenia CHZT pozostają na zbliżonym poziomie zarówno w procesie koagulacji, jak i flotacji ciśnieniowej, i zawierają się w granicach 55–57%.

Bezpośrednim efektem naukowo-praktycznym przeprowadzonych badań jest opracowanie założeń konstrukcyjnych laboratoryjnego urządzenia do prowadzenia procesu flotacji rozpuszczonym powietrzem. Planowana jest kontynuacja prac badawczych w podjętej tematyce, obejmująca w pierwszym etapie budowę flotatora, a następnie analizę wpływu i optymalizację parametrów eksploatacyjnych pod kątem uzyskiwanych efektów oczyszczania ścieków.

Badania finansowane z działalności statutowej Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Lubelskiej S13/WIS/2015.

LITERATURA

- [1] BŁAŻ S., *Badania laboratoryjne nad opracowaniem składu płuczki wiertniczej do przewiercania formacji łupkowych*, Nafta-Gaz, 2013, No. 2.
- [2] BRYLICKI W., *Czynniki determinujące trwałość betonu i iniekcyjnych zaczynów cementowych*, Sympozjum Naukowo – Techniczne [w:] Cementy w budownictwie, robotach wiertniczych i inżynierskich oraz hydrotechnice, Piła–Płotki, 2001.
- [3] FIJAŁ J., JAMROZIK A., GONET A., STRYCZEK ST., CZEKAJ L., *Zagospodarowanie odpadów wiertniczych w aspekcie ochrony środowiska naturalnego*, [w:] Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna i Wystawa „Nowoczesne metody prac poszukiwawczych i eksploatacyjnych całkowicie bezpieczne dla środowiska naturalnego”, Piła, 10–12.04.2013 r.
- [4] GONET A., *Metody przetwarzania organiczno-mineralnych odpadów wiertniczych w aspekcie ich zagospodarowania*, Praca zbiorowa, Kraków 2006.
- [5] GREGORY J., *Flocculation of fine particles*, [w:] Innovations in Flotation Technology, eds: Mavros P., Matis K.A., NATO Science Series, 1992.
- [6] HICKENBOTTOM K.L., *Forward osmosis treatment of drilling mud and fracturing wastewater from oil and gas operations*, Desalination, 2013, No. 312.
- [7] JODŁOWSKI A., *Badania nad usuwaniem glonów z wody w procesie koagulacji-flotacji ciśnieniowej*, Ochrona Środowiska, 1994, Vol. 16, No. 3–4, 19–23.
- [8] KROFTA M., WANG L.K., *Flotation engineering*, Lenox Institute of Water Technology, 2000.
- [9] MACUDA J., STARZYCKA A., *Problematyka zagospodarowania odpadów wydobywczych powstających przy poszukiwaniu gazu ze złóż niekonwencjonalnych w aspekcie ochrony środowiska*, Zeszyty Naukowe Instytut Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią Polskiej Akademii Nauk, 2013, No. 85.
- [10] MANAHAN S.E., *Water Chemistry: Green Science and Technology of Nature's Most Renewable Resource*, 2010.
- [11] McCOSH K., *Invert Fluid Flocculation – A novel Technique for Drilling Fluid Recycling*, JPT, May 2007.
- [12] RAPORTY WOJEWÓDZKIE GOSPODARKI ODPADAMI za lata 2010–2015 dla 9 województw: dolnośląskie, kujawsko-pomorskie, lubelskie, lubuskie, mazowieckie, pomorskie, podkarpackie, świętokrzyskie, warmińsko-mazurskie.
- [13] ROBERTS K.L., WEETER D.W., BALL R.O., *Dissolved air flotation performance*, Proceedings of industrial waste conference, 1978, Vol. 33, 194–199.
- [14] RUBIO J., SOUZA M.L., SMITH R.W., *Overview of flotation as a wastewater treatment technique*, Minerals Engineering, 2002, Vol. 15, No. 3, 139–155.
- [15] SANSALONE VOON J.E., SRINIVASAN V., *Management of invasive species transported in ballast water by dissolved air flotation*, Proceedings of the second international conference of marine bioinvasions, 2001, 119–120.
- [16] SHAMMAS N.K., WANG L.K., *Water Engineering: Hydraulics, Distribution and Treatment*, WILEY, 2015.
- [17] SHAMMAS N.K., WANG L.K., HAHN H.H., *Flotation Technology*, Wang L.K., Shammas N.K. Selke W.A., Aulenbach D.B., Humana Press, 2010.
- [18] STARZYCKA A., *Środowiskowe i prawne aspekty zagospodarowania odpadów powstających w trakcie poszukiwania, rozpoznawania i wydobywania gazu z łupków*, Międzynarodowe Targi Ochrony Środowiska „Poleko”, Poznań 21.11.2012 r.
- [19] WANG L.K., FAHEY E.M., WU Z., *Physicochemical Treatment Processes*, Wang L.K., Hung Y.T., Shammas N.K., The Humana Press, 2005.
- [20] www.pgi.gov.pl.

APPLICATION OF DISSOLVED AIR FLOTATION IN THE TRETMENT OF WASTEWATER AND LIQUID WASTE FROM SHALE GAS MINING

Due to the nature of shale gas deposits, the prospecting, release and exploitation of shale gas is accompanied by large amounts of both solid and liquid waste. The methods of waste neutralization commonly employed in the American mining cannot be used in Poland. Therefore, it is necessary to develop new methods. Dissolved air flotation is one such alternative. The process, also known as dissolved air flotation, combines the process of classic flotation with coagulation. It involves decreasing the dispersion degree of pollutants found in wastewater, creation of agglomerates with air bubbles – the apparent density of which is lower than the density of liquids – and a subsequent separation of scum.

Mirela WOLF*

MONITORING OBROSTÓW BIOLOGICZNYCH W SIECI DYSTRYBUCJI

Woda, która zostaje wprowadzona do sieci wodociągowej może ulec zmianie na płaszczyźnie fizykochemicznej, jak również mikrobiologicznej. Jakość mikrobiologiczna zależy od procesów uzdatniania, wieku sieci wodociągowej oraz materiałów, które ją tworzą. Podczas przesyłu wody może powstawać film biologiczny na wewnętrznej powierzchni rurociągów, którego zrywy powodują infekcje układu pokarmowego u odbiorców. Każdy układ dystrybucji charakteryzuje się indywidualnym składem mikroorganizmów, w związku z czym nie jest możliwe jednoznaczne określenie bioróżnorodności biofilmu. W pracy przedstawiono podstawowe sposoby monitoringu mikroorganizmów w sieci wodociągowej. Można wyróżnić metody tradycyjne, wykorzystujące biologię molekularną, spektroskopię impedancyjną lub łączące kilka powyższych.

1. WSTĘP

Struktura biofilmu, to forma ochrony przeciwko fizycznymi i chemicznymi czynnikami, jak również przed fagocytami. Zwarta struktura czyni mikroorganizmy bardziej odporne na antybiotyki niż pojedyncze komórki wolnopływające. Warstwa biofilmu może się wytwarzać na wszystkich powierzchniach, które mają bezpośredni kontakt z wodą np. systemy wodociągowe, ale także na implantach medycznych, gdzie jego obecność może przyczyniać się do powstania wielu infekcji [44].

To dynamiczna forma ściśle powiązanych ze sobą komórek mikroorganizmów, które są umieszczone w pozakomórkowej otoczce wytworzonych przez nie polimerów (EPS). Otoczka polimerowa to mieszanina dowolnej ilości wielocukrów, kwasów nukleinowych, lipidów, białek, a czasami nawet kwasów humusowych [1]. Jej skład jest różny i zależy przede wszystkim od rodzaju mikroorganizmów, jak również od właściwości

* Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Wrocławska, pl. Grunwaldzki 9, 50-377 Wrocław, mirela.wolf@pwr.edu.pl.

fizyko-chemicznych. Wysokie uwodnienie zapewnione jest przez dużą ilość cząsteczek wody (wiązań wodorowe). Powolny wzrost bakterii, tworzących biofilm, w warunkach dla nich korzystnych, czyli przy podaży substratów pokarmowych z źródłem węgla, wytwarza warunki sprzyjające do syntezy EPS [3, 4].

Film biologiczny jest tworzony w sposób sekwencyjny, gdzie początek to przytwierdzenie swobodnie pływających komórek do powierzchni. Przytwierdzenie jest bezpośrednio związane z początkiem wytwarzania EPS, który zatrzymuje bakterie, powoduje agregację bakterii, jak również powstawanie mikrokolonii [5]. Wraz ze wzrostem kolonii, zmienia się stan fizjologiczny bakterii w kierunku specyficznego fenotypu biofilmu, które nazywane jest jego dojrzewaniem. Ostateczne przejście to moment, gdy bakterie napotyka opór podczas transportu cieczy wewnątrz swojej masy [41]. Zewnątrzkomórkowe polimery to forma ochrony dla mikroorganizmów przed czynnikami zewnętrznymi. Umożliwia także oddziaływanie bakterii z zewnętrznymi składnikami środowiska wodnego [28].

Zdolność do adhezji komórek biofilmu jest zależna od podłoża, na którym mają osiadać. Różne materiały, z których wykonane są podłoża, będą inaczej zasiedlane przez mikroorganizmy. Obecność otoczki polimerowej ma także istotny wpływ na wzrost zdolności do adhezji [7].

2. RÓŻNORODNOŚĆ BŁONY BIOLOGICZNEJ

Najczęstszą przyczyną zakażeń jest rozwój biofilmu na wewnętrznej powierzchni rurociągów oraz zryw jego dojrzałych form poprzez przepływ wody w sieci. Ryzyko zakażeń bezpośrednio związane jest z jakością wody ujmowanej, jak również ze skutecznością działania stacji uzdatniania. Patogeny, występujące w wodzie wodociągowej oraz ich formy przetrwalne, przyczepiają się do błony biologicznej, co powoduje nadanie błonie biologicznej również charakteru potencjalnie chorobotwórczego. Taka sytuacja może mieć miejsce już podczas obecności nawet pojedynczych komórek, które nie są wykrywalne w przypadku tradycyjnej analizy mikrobiologicznej [18].

Biofilm charakteryzuje się dużą różnorodnością mikroorganizmów. Bakterie, glony, grzyby, pierwotniaki i wirusy tworzą główną matrycę filmu biologicznego i przyczyniają się do jego bioróżnorodności. Do najbardziej znanych grup bakterii, tworzących błonę biologiczną w wodach słodkich, można zaliczyć *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* oraz cyjanobakterie. Różnorodność i skład zbiorowisk biologicznych jest warunkowane przez wzajemne oddziaływanie organizmów, wiek biofilmu, oporność na dezynfekcję, jak również poprzez czynniki abiotyczne [45, 26]. Potencjalna różnorodność jest także przypisywana szerokiej gamie czynników środowiskowych, takich jak składniki odżywcze, pH, temperatura, parametry hydrodynamiczne czy zanieczyszczenia [17, 23],

np. zmiana temperatury wody o około 2–3°C może mieć wpływ na całkowitą ilość bakterii, tworzących film [33]. W sieci dystrybucji wody mogą być obecne także mikroorganizmy, które zajmują nisze ekologiczną w biofilmie i są odpowiedzialne za rozkład źródła węgla, który jest niedostępny dla innych organizmów np. *Pseudomonas sp.* czy *E. coli*. Rozwinięta struktura błony biologicznej zapewnia także sprzyjające warunki bytowania takich mikroorganizmów jak *Legionella sp.*, *Mycobacterium avium*, *Pseudomonas aeruginosa* czy *Salmonella typhimurum*. Do każdego systemu wodociągowego przyporządkowany jest indywidualny skład mikroorganizmów, dlatego nie jest możliwe jednoznaczne określenie składu gatunkowego biofilmu [32].

3. CZYNNIKI DECYDUJĄCE O POWSTAWANIU BIOFILMU

Zmiana jakości wody wodociągowej podczas jej przesyłu może być wywołana przez czynniki strukturalne, jakościowe i eksploatacyjne. Najważniejsze z nich zostały przedstawione w tabeli nr 1.

Tabela 1. Czynniki decydujące o powstawaniu błony biologicznej [15, 30]

strukturalne	jakościowe	eksploatacyjne
<ul style="list-style-type: none"> ✓ materiał, z którego wykonany jest rurociąg (zjawisko korozji) ✓ średnica przewodu (ilość dezynfektanta powiązana jest z powierzchnią wewnętrzną przewodu) 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ brak stabilności biologicznej i chemicznej wody 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ prędkość przepływu wody (optymalna prędkość zapobiega stagnacji wody) ✓ wymagane ciśnienie ✓ układ sieci

Główne czynniki, które decydują o powstawaniu i wzroście biofilmu to odczyn wody oraz jej temperatura, warunki hydrauliczne, materiał, z którego wykonana jest sieć, substancje pokarmowe dla mikroorganizmów oraz ich obecność.

3.1. WARUNKI HYDRAULICZNE

Warunki hydrauliczne mają istotny wpływ na strukturę obrostów biologicznych. Można wyróżnić obrost na powierzchni materiałów (znaczną prędkość przepływu wody przez sieć) lub przestrzenną strukturę z dużą ilością kanalików (mała prędkość przepływu wody lub jej stagnacja). Film biologiczny powstaje już po kilku tygodniach eksploatacji sieci, natomiast jego rozwój uwarunkowany jest warunkami danego systemu [21]. Mała prędkość przepływu ma korzystny wpływ na rozwój biofilmu, gdyż sprzyja przyłączeniu się pojedynczych komórek do powierzchni oraz powoduje wzrost chro-

powatości, gdy gromadzą się produkty korozji [33]. Ponadto zmienne warunki szybkiego przepływu i stagnacja wody sprzyjają odczepianiu się fragmentów już istniejącej błony z dojrzałego zrębu, co powoduje pogorszenie warunków mikrobiologicznych [6].

3.2. TEMPERATURA

Temperatura optymalna do rozwoju biofilmu to ok. 15°C. Nie jest to jednak wartość stała. W sieci dystrybucji obecne są także mikroorganizmy, dla których optimum przypada na wartość znacznie niższą [17, 25]. Istotny problem stanowi wzrost temperatury powyżej 15°C, gdyż przyczynia się to do podwyższenia ogólnej liczby bakterii, co związane jest z poprawą warunków i powoduje wzrost aktywności metabolicznej (w krótszym czasie błona biologiczna osiąga postać stabilną). W badaniach [10] wykazano, iż aktywność metaboliczna drobnoustrojów zmalała o połowę, gdy temperatura obniżyła się do 7°C. Wpływ zmiany temperatury na rozwój biofilmu w wodzie jest również zależy od ilości dezynfektanta. Dla stężenia chloru wolnego większego niż 0,3 gCl₂/m³, zmiana temperatury nie ma wpływu na wzrost biofilmu; gdy stężenie jest poniżej 0,1 gCl₂/m³, dochodzi do dwukrotnie szybszego wzrostu biomasy, przy wahaaniach temperatury w zakresie 10–20°C. Znaczący wpływ wysokiej temperatury, ma kluczowe znaczenie w godzinach nocnych, gdzie ma miejsce mała prędkość przepływu [25, 31].

3.3. SUBSTRATY POKARMOWE

Do rozwoju organizmów konieczne są substancje odżywcze (szczególnie nieorganiczne połączenia azotu i fosforu). W sieci wodociągowej bardzo często występują one w łatwo przyswajalnych formach (organiczne i nieorganiczne substancje biogenne), co sprzyja namnażaniu drobnoustrojów [19]. Wzrost zawartości biogenów w sieci oraz szybkie zużycie przyczyniają się do intensywniejszego powstawania obrostów, jak również wzrostu ich bioróżnorodności. Sieć wodociągowa określana jest mianem środowiska oligotroficznego, jednakże mikroorganizmy przystosowały się do życia w otoczeniu o wysokiej zawartości chloru i małej dostępności substratów pokarmowych [40, 23].

Substraty odżywcze dostają się do sieci wodociągowej wraz z niestabilną biologicznie wodą. Nie jest to jedyne źródło. Istotną rolę odgrywają także osady chemiczne i biologiczne na dnie rurociągów [34, 45]. Przy dużej dostępności biogenów wzrasta podatność na tworzenie filmu biologicznego na wewnętrznej powierzchni rurociągów. Łatwo przyswajalne substraty są szczególnie ważne w pierwszej fazie czyli adhezji [28, 16].

3.4. OBECNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW

Do systemu wodociągowego mogą dostawać się mikroorganizmy. Takie zjawisko ma miejsce, gdy woda poddana zostanie procesom uzdatniania i dezynfekcji z niską skutecznością. W wodzie oczyszczonej obecne są głównie bakterie gram dodatnie, natomiast w skład biofilmu wchodzi przede wszystkim gram ujemne. Aby bakterie obecne w wodzie zintensyfikowały rozrost biofilmu, to ogólna liczba bakterii musiałaby być większa niż 104 jtk/cm^3 . Błona biologiczna to zwarta struktura, która jest zdolna do zmiany składu bakteriologicznego na szybciej namnażające się gram ujemne bakterie [42, 43].

3.5. MATERIAŁ BUDUJĄCY SIEĆ

Sieć wodociągowa może być zbudowana z materiałów bazujących na surowcach naturalnych (stal, miedź, żeliwo), jak również sztucznie wytworzonych przez człowieka (tworzywa sztuczne), do których zaliczyć można polietylen, polipropylen, polichlorek winylu oraz polibutylen [20, 35]. Adhezja pojedynczych komórek, warunkująca zapoczątkowanie wzrostu biofilmu, zależy od materiału, na którym ma powstać. Długo eksploatowana sieć charakteryzuje się wzrostem chropowatości (szczególnie istotne wśród materiałów ulegających korozji), która sprzyja początkowej fazie powstawania błony biologicznej [9]. W przypadku powierzchni gładkich (tworzywa sztuczne) łatwiej jest przeprowadzić czyszczenie sieci z biofilmu, gdyż jest on słabiej przytwierdzony do powierzchni i przy zwiększonym przepływie następuje jego zryw [20]. Materiał, który jest niestabilny termodynamicznie i nie jest toksyczny dla mikroorganizmów, jest korzystniejszy do tworzenia obrostów. Na materiałach żeliwnych czas do uzyskania stabilnej struktury to ok. 30d, natomiast na stali nierdzewnej to ok. 120 d. Żeliwo charakteryzuje się większą porowatością przyczyniając się do powiększenia powierzchni zasiedlania [17, 27].

4. MONITORING BIOFILMU W SIECI

W tradycyjnej analizie wody, ocenie podlega liczba bakterii psychro- i mezofilnych. Zagrożenie obecnością patogenów jest oznaczane przez mikroorganizmy wskaźnikowe. Do głównych patogenów wodnych można zaliczyć te, które powodują choroby układu pokarmowego. Te wyniki pozwalają określić skuteczność procesu oczyszczania wody. Do organizmów wskaźnikowych należą bakterie z grupy coli oraz *E. coli* (zanieczyszczenia pochodzenia kałowego- niedoskonałość oczyszczania wody lub nieszczelność sieci), jak również enterokoki i *Clostridium perfringers* (woda może być zanieczyszczona ściekami) [39]. W standardowej ocenie wody wyznacza się ilość bakterii

heterotroficznych. Taki wynik nie daje pełnej informacji o ilości mikroorganizmów w sieci, gdyż pomija mikrokolonie, tworzące biofilm. Badanie obrostów biologicznych jest stosunkowo ograniczone, z uwagi na brak bezpośredniego dostępu i trudność w poborze próbek. Analizę można wykonywać w przypadku awarii, gdy usuwany jest uszkodzony fragment rurociągu. Taka sytuacja pozwala na hodowlę bakterii, które wykazują zdolność do wzrostu w warunkach laboratoryjnych, co może zaburzać rzeczywisty wynik [4].

4.1. METODY STANDARDOWE

Istotna jest szybka detekcja oraz identyfikacja bakterii w ich naturalnym środowisku. Do tradycyjnych metod mikrobiologicznych można zaliczyć hodowle na podłożach stałych i płynnych (różnicowanie na podstawie cech biochemicznych) jak również obserwacje mikroskopowe-barwienie- (wykazują obecność i liczebność danych bakterii oraz ich morfologię). Przy zastosowaniu podłoży płynnych wykorzystywany jest spektrofotometr do określenia ilości bakterii, natomiast w hodowlach stałych zliczane są jednostki tworzące kolonie. W metodach płytkowych stosowane są również podłoża selektywno-wybiórcze, w których są składniki metabolizowane przez niektóre bakterie (specyficzne zabarwienie kolonii). Standardowe metody zawierają także badania immunologiczne-przeciwciała reagują z antygenami, które są obecne na powierzchni mikroorganizmów [14].

4.2. METODY Z WYKORZYSTANIEM BIOLOGII MOLEKULARNEJ

Z ich pomocą możliwe jest określenie bioróżnorodności oraz bezpośrednia identyfikacja drobnoustrojów. Mogą być także wykorzystywane w oczyszczalniach ścieków. Do metod molekularnych można zaliczyć reakcję łańcuchową polimerazy (PCR), elektroforeza w gradiencie czynnika denaturującego (DGGE) czy analizę powielonego rybosomalnego DNA (ARDRA). Przy użyciu reakcji polimerazy oraz elektroforezy w gradiencie czynnika denaturującego można określić bioróżnorodność obrostów biologicznych, natomiast restrykcyjna analiza regionu 16sDNA jest wykorzystywana w badaniach taksonomicznych [2].

4.3. METODY IMPEDANCYJNE

Metody pozwalające na wykrycie wczesnej fazy, czyli adhezję pojedynczych komórek. Do ich zalet można zaliczyć stosunkowo niskie koszty, odpowiedź w czasie rzeczywistym oraz dużą ilość pomiarów. Metoda ta uważana jest za najbardziej perspektywiczną w wykrywaniu bakterii. Pomiar impedancji związany jest ze zmianą ośrodka,

w którym zawieszono są mikroorganizmy. Wykrywanie obrostów biologicznych związane jest z długotrwałym monitoringiem [36, 37].

LITERATURA

- [1] ARMON R., *A qualitative and quantitative study of biofilm disinfection on glass, metal and PVC surfaces by chlorine, bromine and bromochloro-5,5 dimethylhydantoin*, 1998, Vol. 38, No. 12, 175–179.
- [2] ANDERSON-GLENN M., *Spatial and temporal variability in epilithic biofilm bacterial communities along an upland river gradient*, 2008, Vol. 64, 407–418.
- [3] BATTIN T., *Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks*, 2008, No. 1, 95–100.
- [4] BOE-HANSEN R., *Monitoring biofilm formation and activity in drinking water distribution networks under oligotrophic conditions*, 2003, Vol. 47, 91–97.
- [5] CLAUDIA N., MARQUES D., *Control of Biofilms with the Fatty Acid Signaling Molecule*, 2015, Vol. 8, 816–835.
- [6] CHOI Y., CHO M., LEE Y., CHOI J., YOON J., *Inactivation of Bacillus subtilis spores during ozonation in water treatment plant: Influence of pre-treatment and consequences for positioning of the ozonation step*, Chemosphere, 2007, Vol. 57, 531–539.
- [7] CZACZYŁ K., *Tworzenie biofilmów bakteryjnych-istota zjawiska i mechanizmy oddziaływania*, 2003, Vol. 62, No. 3, 180–192.
- [8] GABRYSZEWSKI T., *Wodociągi*, Arkady, Warszawa 1983.
- [9] GEESEY G., *Influence of calcium and other cations on surface adhesion of bacteria and diatoms: A review*, 2000, Vol. 14, No. 1–3, 195–205.
- [10] HALLAM N., WEST J., FORSTER C., SIMMS J.: *The potential for biofilm growth in water distribution systems*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 17, 4063–4071.
- [11] HAAS, *Benefits of using a disinfectant residual*, Journal American Water Works Association, 1999, Vol. 91, No. 1, 65–69. 3.
- [12] HINSA, S., ESPINOSA-URGEL M., RAMOS J., TOOLE G., *Transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by Pseudomonas fluorescens WCS365 requires an ABC transporter and a large secreted protein*, 2003, Vol. 49, 905–918.
- [13] HULLAR M., *Recurring seasonal dynamics of microbial communities in stream habitats*, 2006, Vol. 72, 713–722.
- [14] JANKIEWICZ M., *Metody pomiarów i kontroli jakości w przemyśle spożywczym i biotechnologii*, 2003.
- [15] KOWAL A.L., *Przyczyny i zapobieganie zmianom jakości wody w systemach wodociągowych*, Ochrona Środowiska, 2003, Vol. 25, No. 4.
- [16] LANGMARK J., STOREY M., ASHBOLT N., STENSTÖRM T., *The effects of UV disinfection on distribution pipe biofilm growth and pathogen incidence within the greater Stockholm area*, Sweden, Water Research, 2007, Vol. 41, No.15, 3327–3336.
- [17] LeCHEVALLIER M., SHAW N., SMITH D., *Full scale studies of factors related to Coliform regrowth in drinking water*, Applied and Environmental Microbiology, 1996, No.7, 2201–2211.
- [18] LeCHEVALLIER M., *Coliform regrowth in drinking water*, Journal American Water Works Association, 1990, Vol. 82, No. 11, 74–85.
- [19] LeCHEVALLIER M., SCHULZ W., LEE R., *Bacterial nutrients in drinking water*, Applied and Environmental Microbiology, 1991, Vol. 57, No. 3, 857–862.
- [20] LEHTOLA M., MIETTINEN I., KEINANEN M., KEKKI T., LAINE O., HIRVONEN A.,

- VARTIAINEN T., *Estimates of microbial quality and concentration of cooper in drinking water are highly dependent on sampling strategy*, International Journal of hygiene and Environmental Health, 2007, Vol. 210, 725–732.
- [21] LETHOLA M.J., MIETTINEN I.T., HIRVONEN A., MARTIKAINEN P.J., *Estimates of microbial quality and concentration of cooper in drinking water are highly dependent on sampling strategy*, International Journal of hygiene and Environmental Health, 2007, Vol. 210, 725–732.
- [22] LITTLE B., *Microbiologically Influenced Corrosion*, Publication, 2007, 1–279.
- [23] LU W., KIÉNÉ L., LEVI Y., *Chlorine demand of biofilms in water distribution systems*. Water Research, 1999, Vol. 33, No. 3, 827–835.
- [24] MARTIKAINEN P., *Microbiology and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes*, Water Research, 2004, Vol. 38, No. 17, 3769–3779.
- [25] NDIONGUE S., HUCK P., SLAWSON R., *Effect of temperature and biodegradable organic carbon on control of biofilms by free chlorine in a model drinking water distribution system*, Water Research, 2005, Vol. 39, No. 6, 953–964.
- [26] NORTON C., LeCHEVALLIER M., *A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution*, Applied and Environmental Microbiology, 2000, No. 1, 268–276.
- [27] NIQUETTE P., SERVAIS P., SAVOIR R., *Impacts of pipe materials on densities of fixed bacterial biomass in drinking water distribution systems*, Water Research, 2000, Vol. 34, No. 6, 1952–1956.
- [28] OHASHI A., *A novel method for evaluation of biofilm, strength resisting erosion*, 1999, Vol. 39, No. 7, 261–268.
- [29] OLAŃCZUK-NEJMAN K., *Mikroorganizmy w kształtowaniu jakości i uzdatnianiu wód podziemnych*, Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska PAN, 2001, Vol. 1.
- [30] OLSIŃSKA U., SKIBIŃSKA K., *Modelowanie zmian jakości wody w systemie dystrybucji*, Ochrona Środowiska, 2007, Vol. 29, No. 2.
- [31] OLLOS P., HUCK P., SLAWSON R., *Factors affecting biofilm accumulation in model distribution systems*, Journal American Water Works Association, 2003, Vol. 95, No. 1, 87–97.
- [32] PERCIVAL S., *Biofilm development on stainless steel in mains water*, 1998, Vol. 32, No. 1, 243–253.
- [33] PERCIVAL S., KNAPP J., EDYVEAN R., WALES D.: *Biofilms, mains water and stainless steel*, Water Research, 1998, Vol. 32, No. 7, 2187–2201.
- [34] PERCIVAL S., KNAPP J., EDYVEAN R., WALES D., *Biofilm development on stainless steel in mains water*, Water Research, 1998, Vol. 32, No. 1, 243–253.
- [35] PIELICHOWSKI J., PUSZYŃSKI A., *Technologia tworzyw sztucznych*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1998.
- [36] RADKE S., *A high density microelectrode array biosensor for detection of E. coli O157:H7*, 2005, Vol. 20, 1662–1667.
- [37] RADKE S., *Design and Fabrication of a Microimpedance Biosensor for Bacteria Detection*, 2004, Vol. 4, 434–440.
- [38] ROMANI A., *Shifts in microbial community structure and function in light- and dark-grown biofilms driven by warming*, 2004, Vol. 16, 2550–2567.
- [39] ROZPORZĄDZENIE MINISTRA ZDROWIA z dnia 13 listopada 2015 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, Dz. U. z 2015 r. poz. 1989.
- [40] SATHASIVAN A., OHGAKI S., YAMAMOTO K., KAMIKO K., *Role of inorganic phosphorus in controlling regrowth in water distribution system*, Water Science and Technology, 1997, Vol. 35, No. 8, 37–44.
- [41] SAUER K., CAMPER A., EHRlich G., COSTERTON J., *Pseudomonas aeruginosa displays multiple phenotypes during development as a biofilm*, 2002, Vol. 184, 1140–1154.

- [42] STOODLEY P., *Biofilms as complex differentiated communities*, Annual Review of Microbiology 2002, Vol. 56, 187–209.
- [43] ŚWIDERSKA-BRÓŹ M., *Skutki braku stabilności biologicznej wody wodociągowej*, 2003, Vol. 25, No. 4, 7–12.
- [44] UGUR TUTAR C., *Evaluation of biofilm formation activity of standard microorganism strains*, 2015, Vol. 6, No. 2, 135–139.
- [45] ZACHEUS O., LEHTOLA M., KORHONEN L., MARTIKAINEN P., *Soft deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 7, 1757–1765.

BIOFILM MONITORING IN WATER SUPPLY SYSTEM

Water which has been introduced into the water supply system might be changed at physico-chemical and microbiological level. Microbiological quality depends on the treatment processes, the age of the water supply system and the materials that compose it. During the water transfer the biofilm might be formed on the inner surface of pipelines and after disconnection it could cause gastrointestinal infections in customers. Each system has its own distinctive composition of microorganisms, therefore it is not possible to unambiguously determine the biodiversity of the biofilm. The paper presents basic ways of monitoring microorganisms in the water supply network. It could be distinguished traditional methods, using molecular biology, impedance spectroscopy, or combine several of the above.

Elżbieta WOŁEJKO*, Urszula WYDRO*, Joanna STRUK-SOKOŁOWSKA*,
Monika PUCHLIK**, Janina PIEKUTIN**

OCENA ZMIENNOŚCI *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* W POWIETRZU WEWNĘTRZNYM NA TERENIE WYBRANYCH PIEKARŃ

Występowanie *Pseudomonas* w powietrzu w środowisku wewnętrznym uważa się za istotny i aktualny problem, gdyż w polskich normach z 1989 r. Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* są uważane za wskaźnikowe bakterie jakości powietrza w pomieszczeniach zamkniętych i na dzień dzisiejszy brak jest aktualnych norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziły do tej grupy mikroorganizmów. Celem pracy było określenie występowania *Pseudomonas fluorescens* w powietrzu wewnętrznym w wybranych trzech piekarniach na terenie województwa podlaskiego. Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone jesienią 2014 roku w województwie podlaskim na terenie trzech zakładów piekarniczych. Próby powietrza pobierano metodą zderzeniową z użyciem próbnika powietrza MAS-100 (Merck, Niemcy) w 3 równoległych powtórzeniach. Mikrobiologiczne badania powietrza wewnątrz piekarni obejmowały oznaczenie bakterii z gatunku *Pseudomonas fluorescens*. Na podstawie normy stwierdzono, że jakość sanitarna powietrza we wszystkich badanych piekarniach pod względem ilości *Pseudomonas fluorescens*, świadczy o średnim zanieczyszczeniu, a ich średnia ilość wynosiła w piekarni 1–20 jtk/m³, w piekarni 2–30 jtk/m³, natomiast w piekarni 3–5 jtk/m³. Występowanie w powietrzu wewnętrznym *Pseudomonas fluorescens* w badanych piekarniach różniło się w zależności od miejsca wykonywanych pomiarów. Otrzymane wyniki badań wskazują na konieczność systematycznej kontroli powietrza wewnątrz piekarń oraz potrzebę uaktualnienia norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziły do tej grupy mikroorganizmów.

* Zakład Biologii Sanitarnej i Biotechnologii, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok, e.wolejko@pb.edu.pl.

** Katedra Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok.

1. WSTĘP

Czystość powietrza zewnętrznego, jak i wewnętrznego jest przedmiotem badań wielu naukowców. Według Chmiel i in. [3] celem takich badań jest głównie charakterystyka ilościowa i jakościowa drobnoustrojów występujących w powietrzu, jak również określenie czynników, które mogą wpływać na jego jakość. Jak podaje Chmiel i in. [3] oraz Cabral [2], warunki środowiskowe i rozwojowe mikroorganizmów znajdujących się w powietrzu atmosferycznym jak również w pomieszczeniach zamkniętych znacząco odbiegają od siebie zarówno pod względem liczbowym, jak i gatunkowym oraz źródeł pochodzenia danych mikroorganizmów [6]. Głównym źródłem zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego jak sugeruje Cabral [2] jest pył bakteryjny i zarodniki grzybów z różnych źródeł naturalnych i antropogenicznych, z kolei w pomieszczeniach dominuje mikroflora z górnych dróg oddechowych, mikroorganizmy ze złuszczonego naskórka, pył bakteryjny i zarodniki grzybów domowych [3].

Jak podaje Gołofit-Szymczak i Skowron, [8] drobnoustroje występujące w powietrzu w postaci bioaerozoli mogą być w formie układów zawierających fazę rozpraszającą (powietrze) oraz fazę rozproszoną. Ze względu na rodzaj i wielkość cząstek bioaerozolu, które tworzą fazę rozproszoną jak podaje Chmiel i in. [3], najczęściej wyróżnia się: wirusy (0,01–1 μm), bakterie (0,1–2 μm), glony (1–9 μm), zarodniki grzybów, mchów i porostów (1–100 μm), pyłki kwiatów (9–90 μm) oraz drobne nasiona i owoce (9–900 μm). Ponadto obecne są toksyny, mikotoksyny, enzymy i fragmenty tkanek roślinnych i zwierzęcych [3]. Do powietrza atmosferycznego mikroorganizmy dostają się z gleby, wód płynących i stojących, wydaliny ludzi lub zwierząt [11]. Zanieczyszczenia powietrza wewnętrznego mogą pochodzić zarówno ze źródeł zewnętrznych, jak i wewnętrznych. Jednym z głównych źródeł bioaerozoli w pomieszczeniach jest człowiek – kropelki potu, śliny i naskórka. Człowiek stanowi główne źródło bakterii, gdyż budują one naturalną florę jego skóry. Wytwarzanie biologicznego aerozolu może odbywać się przez kichanie, kaszel, a także wysiłek fizyczny (np. chodzenie). Do znaczących wewnętrznych źródeł bioaerozoli zaliczymy również zwierzęta domowe [10].

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* są szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym. Występują one zarówno w powietrzu zewnętrznym, jak i wewnątrz pomieszczeń. Zanieczyszczenie powietrza zewnętrznego tymi bakteriami zależy w dużej mierze od lokalizacji, pory roku, urbanizacji oraz panujących warunków pogodowych [14]. Ponadto, większe zanieczyszczenie powietrza może występować na obszarach wiejskich, prawdopodobnie ze względu na zwierzęta inwentarskie wytwarzające w dużych ilościach endotoksyny. Dodatkowo na przeżywalność tych mikroorganizmów w powietrzu wywierają wpływ takie czynniki jak: wilgotność względna, temperatura powietrza, stężenie tlenu, natężenie promieniowania widzialnego i ultrafioletowego oraz występowanie innych zanieczyszczeń do których mogą się one przyłączać [12, 18].

Wielu autorów podaje ważność prowadzenia badań jakości powietrza, w szczególności w pomieszczeniach zamkniętych ze względu, na przebywających w nich ludzi. Ja sugerują Kaiser i Wolski [13] oraz Torfs [19], ludzie w zamkniętych budynkach przebywają średnio 87% swojego czasu, przez co są bardziej narażeni na mikroorganizmy chorobotwórcze występujące w powietrzu [19, 13]. Ponadto, jakość powietrza wewnętrznego jest zmienna, w zależności od czynników takich jak: właściwości fizyczne i chemiczne zanieczyszczeń gazowych i cząstek stałych (reaktywność, depozycja, wielkości cząstek stałych); wewnętrzne źródła zanieczyszczeń, takie jak kuchenki gazowe, piece, kominki, materiały budowlane i wyposażenie; charakterystyka budynku w tym nadmierna infiltracja lub wentylacja [15, 16].

W literaturze dużo można znaleźć informacji na temat wstępowania bakterii z rodzaju *Pseudomonas* w szpitalach, na oczyszczalniach ścieków czy na wysypiskach, natomiast mało jest doniesień odnośnie czystości powietrza w zakładach produkcyjnych. Występowanie *Pseudomonas* w powietrzu w środowisku wewnętrznym uważa się za istotny i aktualny problem ale zaniedbany, gdyż w polskich normach z 1989 r., Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* są uważane za wskaźnikowe bakterie jakości powietrza w pomieszczeniach zamkniętych i na dzień dzisiejszy brak jest aktualnych norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziły do tej grupy mikroorganizmów [18].

Celem pracy było określenie występowania *Pseudomonas fluorescens* w powietrzu wewnętrznym w wybranych trzech piekarniach na terenie województwa podlaskiego.

2. MATERIAŁY I METODY

Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone jesienią 2014 roku w województwie podlaskim na terenie trzech zakładów piekarniczych. W każdym z zakładów piekarniczych pobierane były próby w następujących pomieszczeniach: hala produkcyjna (temp. ok. 26 °C); pomieszczenie, w którym stygnie pieczywo (temp. ok. 24 °C); magazyn wyrobów gotowych (temp. 16-20°C); magazyn mąki i dodatków (temp. 12–18 °C); korytarz, łączący halę produkcyjną z magazynem mąk (temp. ok. 20 °C). We wszystkich pomieszczeniach była wentylacja grawitacyjna.

Próbki powietrza pobierano, metodą zderzeniową z użyciem próbnika powietrza MAS-100 (Merck, Niemcy), przy szybkości przepływu 100 l/min. w 3 równoległych powtórzeniach. Urządzenie do poboru powietrza ustawiono w części centralnej pomieszczenia na wysokości 110–120 cm nad podłogą. Pomiary wykonywano w godzinach przedpołudniowych w czasie aktywnej pracy załogi.

W celu określenia bakterie z gatunku *Pseudomonas fluorescens*na użyto podłoża King B. Hodowlę bakterii prowadzono przez pierwsze 7 dni w temperaturze 4°C, a następnie przez 5 dni w temp. 26°C. Po tym czasie zliczano wyrosłe kolonie, a wy-

nik podano jako jednostki tworzące kolonie przeliczano na metr sześcienny powietrza ($\text{jtk} \times \text{m}^3$), stosując wzór:

$$L = (\text{Pr} \cdot 1000) / V \quad (1)$$

gdzie:

L – ogólna liczba jednostek tworzących kolonie (jtk) drobnoustrojów w 1 m^3 powietrza,

Pr – liczba kolonii wyrosłych na zastosowanym podłożu,

V – objętość pobranego powietrza (dm^3),

1000 – przelicznik na 1 m^3 powietrza.

Do obliczeń wykorzystano tabelę pomiarową Fellera, dołączoną do instrukcji obsługi próbnika powietrza MAS-100 [5].

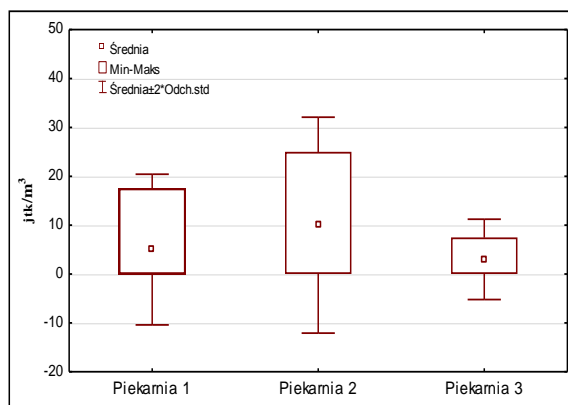
Otrzymane wyniki poddano podstawowej analizie statystycznej, określając maksimum i minimum, średnią i odchylenie standardowe.

3. WYNIKI I DYSKUSJA

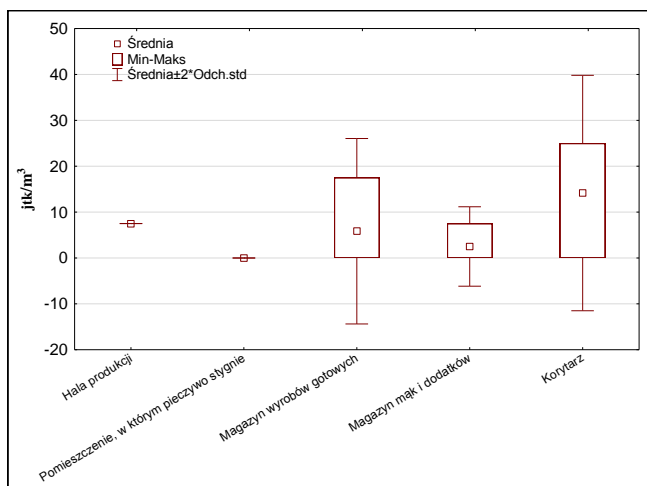
Należy zwrócić uwagę na fakt, że w dalszym ciągu brak jest ogólnie ustalonych wytycznych dotyczących oceny ekspozycji na bioaerozole. Nie ogranicza się to tylko wyłącznie do polskiej sfery unormowań prawnych. Wartości graniczne narażenia zawodowego lub zalecane wartości progowe dla mikroflory powietrza i substancji pochodzenia drobnoustrojowego również w skali światowej nie są nadal wypracowane lub nie mają statusu prawnych regulacji [9].

Pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*, należą do tych mikroorganizmów, które pomiędzy poszczególnymi gatunkami skrajnie różnią się pod względem fizjologicznym. Niektóre z nich, wchodzą w skład fizjologicznej mikroflory zdrowego człowieka inne natomiast mogą powodować różne zakażenia dróg oddechowych i moczowych, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, kości, szpiku, stawów, oka czy ucha [1, 18]. Ze względu na małe wymagania, spotyka się je bardzo często w różnych środowiskach zarówno w glebie, w wodzie jak i w powietrzu [20]. Jak zauważa Sadowiec i in. [18], poprzez swoją powszechność bakterie *Pseudomonas fluorescens* są poważnym zagrożeniem, w szczególności na stanowiskach pracy, gdzie jako składnik bioaerozolu, przenosi się drogą powietrzno-kropelkową lub powietrzno-pyłową wnikając do organizmu m.in. przez skórę czy drogi oddechowe powodując poważne schorzenia. Według Górnego [9] w środowisku zawodowym jak i poza nim, narażenie na czynniki biologiczne jest powszechne i prowadzi do wystąpienia wielu niekorzystnych skutków zdrowotnych, poczynając od prostych podrażnień i dolegliwości, przez reakcje alergiczne, aż do wystąpienia infekcji i reakcji toksycznych. Do interpretacji wyników

nadal wielu naukowców wykorzystuje normę PN-89/Z-04111/02 [17], która co prawda, została uchylona ale nie zastąpiona przez inną normę. Na podstawie tej normy stwierdzono, że jakość sanitarna powietrza we wszystkich badanych piekarniach pod względem ilości *Pseudomonas fluorescens*, świadczy o średnim zanieczyszczeniu, a ich średnia ilość wynosiła w piekarni 1–20 jtk/m³, w piekarni 2–30 jtk/m³, natomiast w piekarni 3–5 jtk/m³ (rys. 1). Jak wskazują Czerwińska i Piotrowski [4] duża liczba drobnoustrojów występujących w powietrzu jest często wynikiem złego stanu sanitarnego urządzeń, sprzętów i kanałów wentylacyjnych, a niejednokrotnie niewystarczającej higieny pracującego w danym zakładzie personelu.



Rys. 1. Minimalna, maksymalna oraz średnia liczba *Pseudomonas fluorescens* w wybranych piekarniach



Rys. 2. Minimalna, maksymalna oraz średnia liczba *Pseudomonas fluorescens* w zależności od pomieszczenia, w którym zostały pobrane próbki

Analizując liczbę bakterii w zależności od pomieszczenia w jakim pobrano próbki powietrza w poszczególnych piekarniach, zaobserwowano, iż bakterie z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* były w największej ilości wykryte w powietrzu w próbkach pobranych w magazynie wyrobów gotowych oraz w korytarzu, odpowiednio 20 i 30 jtk/m³ w piekarni 2. Średnio najwięcej bakterii *Pseudomonas fluoerscens* odnotowano w piekarni 1 w hali produkcji i w korytarzu odpowiednio 10 i 20 jtk/m³. Z kolei w piekarni 3 zanieczyszczenie powietrza bakteriami z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* było najniższe ze wszystkich badanych piekarń i było na poziomie 10 jtk/m³ w hali produkcyjnej i w magazynie mąki i dodatków (rys. 2). We wszystkich piekarniach jedynym pomieszczeniem w którym nie zaobserwowano bakterii z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* było pomieszczenie wykorzystywane do ostygnięcia pieczywa. Jak zauważył Cabral [2] drobnoustroje bardzo łatwo mogą przenosić się z prądami powietrza i konwekcyjnymi oraz wraz z ruchem ludzi i zwierząt. Ponadto, obecność drobnoustrojów przenoszonych z powietrzem jak wskazuje Czerwińska i Piotrowski [4] może mieć wpływ na długość okresu przydatności do spożycia przetworów niesterylizowanych oraz na aseptyczne pakowanie produktów sterylizowanych. Jest to związane z tym, że drobnoustroje w powietrzu wewnętrznym są mniej narażone na czynniki meteorologiczne takie jak temperatura, opady atmosferyczne czy też promieniowanie UV. Okres ich przeżywalność może być wówczas znacznie dłuższy, a liczebność nie podlega tak dużym wahaniom sezonowym (zima/lato) jak w powietrzu zewnętrznym [7], a co za tym idzie stabilniejszy jest zwykle także skład gatunkowy [6] i o wiele częściej może dochodzić do różnych infekcji zdrowotnych ludzi tam pracujących. Jak sugeruje Czerwińska i Piotrowski [4] zakłady produkujące żywność powinny być świadome ryzyka zagrożenia zdrowotnego i na wszystkich etapach produkcji powinny zadbać o bezpieczeństwo. Zaczynając od sprawdzenia higieny i zdrowotności pracowników, jak również od wnikliwej analizy jakości surowca przeznaczonego do produkcji, poprzez cały proces technologiczny, aż do momentu pakowania i magazynowania produktu gotowego.

4. WNIOSKI

1. Występowanie w powietrzu wewnętrznym *Pseudomonas fluorescens* w badanych piekarniach różniło się w zależności od miejsca wykonywanych pomiarów.
2. Najwyższą liczbę *Pseudomonas fluorescens* w powietrzu, zaobserwowano w magazynie wyrobów gotowych i w korytarzu badanych piekarń.
3. W piekarni 2 zaobserwowano największą ilość *Pseudomonas fluorescens* z pośród wszystkich analizowanych piekarń.

4. Otrzymane wyniki badań wskazują na konieczność systematycznej kontroli powietrza wewnątrz piekarni oraz potrzebę uaktualnienia norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziłyby do tej grupy mikroorganizmów.

Praca została sfinansowana z pracy statutowej S/WBiIŚ/3/2015 oraz z pracy własnej MB/WBiIŚ/14/2014.

LITERATURA

- [1] BLANC P.D., EISNER M.D., KATZ P.P., YEN I.H., ARCHEA C., EARNEST G., JANSON S., MASHARANI U.B., QUINLAN P.J., HAMMOND S.K., THORNE P.S., BALMES J.R., TRUPIN L., YELIN E.H., *Impact of the home indoor environment on adult asthma and rhinitis*, Journal of Occupational and Environmental Medicine, 2005, Vol. 47, 362–372.
- [2] CABRAL J.P.S., *Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions*, Science of the Total Environment, 2010, Vol. 408, 4285–4295.
- [3] CHMIEL MJ., FRĄCZEK K., GRZYB J., *Problemy monitoringu zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza*, Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie, 2015, Vol. 49, No. 1, 17–27.
- [4] CZERWIŃSKA E., PIOTROWSKI W., *Ocena ryzyka zanieczyszczenia mikrobiologicznego w piekarni z uwzględnieniem procesu wytwarzania pieczywa żytniego*, Nauka Przyroda Technologie, 2010, Vol. 4, No. 2, 1–14.
- [5] FELLER W., *An introduction to the probability theory and its application*, John Wiley & Sons, Inc., New York 1950.
- [6] FLANNIGAN B., SAMSON R.A., MILLER J.D., *Microorganisms in home and indoor work environments. Diversity, health impacts, investigation and control*, Wyd. 2. CRC Press, Londyn 2011.
- [7] FRANKEL M., BEKÖ G., TIMM M., GUSTAVSEN S., HANSEN E.W., MADSEN A.M., *Seasonal variations of indoor microbial exposures and their relation to temperature, relative humidity, and air exchange rate*, Applied and Environmental Microbiology, 2012, Vol. 78, No. 23, 8289–8297.
- [8] GOŁOFIT-SZYMCZAK M., SKOWRON J., *Zagrożenia mikrobiologiczne w pomieszczeniach biurowych*, Bezpieczeństwo Pracy 2005, Vol. 3.
- [9] GÓRNY R.L. 2004. *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych*, Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, Vol. 41, No. 3, 17–39.
- [10] GUO H., LEE S.C., CHAN L.Y., *Indoor air quality investigation at air-conditioned and non-air-conditioned markets in Hong Kong*, Science of the Total Environment, 2004, Vol. 323, 87–98.
- [11] GUTAROWSKA B. *Mikroorganizmy w powietrzu*. [w:] Libudzisz Z., Kowal K., Żakowski Z., Mikrobiologia techniczna, Wyd. PWN, Warszawa 2007, 224–240.
- [12] HAINES A., SMITH K.R., ANDERSON D., EPSTEIN P.R., MCMICHAEL A.J., ROBERTS I., WILKINSON P., WOODCOCK J., WOODS J., *Policies for accelerating access to clean energy, improving health, advancing development, and mitigating climate change*, Lancet, 2007, Vol. 370, 1264–1281.
- [13] KAISER K., WOLSKI A., *Kontrola czystości mikrobiologicznej powietrza*, Technika Chłodnicza i Klimatyzacyjna, 2007, Vol. 4, 158–162.
- [14] KRĘGIEL D., RYGAŁA A., *Ryzyko występowania w wodzie do picia bakterii z rodzajów Pseudomonas i Aeromonas*, Przemysł Spożywczy, 2006, Vol. 60, No. 4, 46–49.

- [15] MILNER J.T., VARDOULAKIS S., CHALABI Z., WILKINSON P., *Modelling inhalation exposure to combustion-related air pollutants in residential buildings: Application to health impact assessment*, Environment International, 2011, Vol. 37, 268–279.
- [16] NAZAROFF W.W., *Exploring the consequences of climate change for indoor air quality*, Environmental Research Letters, 2013, Vol. 8, No. 20.
- [17] PN-89/Z-04111/02. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną. Warszawa. PKN.
- [18] SADOWIEC K., ZIELIŃSKA-POLIT B, RUSSEL S., *Ocena liczebności bakterii Pseudomonas fluorescens w powietrzu w wybranym budynku inwentarskim*, [w]: Interdyscyplinarne Zagadnienia w Inżynierii i Ochronie Środowiska, 2014, Vol. 4, 719–725.
- [19] TORFS R, DE BROUWERE K, SPRUYT M, GOELEN E, NICKMILDER M, BERNARD A., *Exposure and risk assessment of air fresheners*, VITO, Document No 2008/IMS/R/222, 2008.
- [20] VIRELLA G., *Microbiology and infectious diseases*, Elsevier Urban & Partner, Wrocław 1999.

AN ASSESSMENT OF VOLATILITY *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* IN INDOOR AIR AT THREE SELECTED BAKERIES

The presence of *Pseudomonas* in the air in the internal environment is considered to be an important and topical issue, because in the Polish Standards of 1989, *Pseudomonas fluorescens* are considered indicator bacteria. The aim of the study was an assessment of volatility *pseudomonas fluorescens* in indoor air at three selected bakeries located in the podlaskie region. The microbiological studies were conducted in autumn in 2014 at three bakeries. Microbiological air counts were measured by impaction using an air sampler MAS-100. Sampling was carried out in three parallel repetitions. The microbiological air studies, included the determination of the species *Pseudomonas fluorescens*. In Bakery 1 and 2, the air was contaminated with *Pseudomonas fluorescens* at a level of 20 and 30 cfu/m³, respectively while in Bakery 3 at 5 cfu/m³. The presence of *Pseudomonas fluorescens* in the indoor air in bakeries differed depending on the measurements location. The results of the study indicate a need of systematic microbiological controls of the air inside bakeries and the need to update the Polish Standards that would be more restrictive to this group of microorganisms.

Urszula WYDRO, Elżbieta WOŁEJKO, Joanna STRUK-SOKOŁOWSKA,
Monika PUCHLIK*

POZOSTAŁOŚCI FARMACEUTYKÓW W ŚRODOWISKU ORAZ MOŻLIWOŚCI ICH USUWANIA

Farmaceutyki są związkami aktywnymi biologicznie, które stosowane są w medycynie oraz w weterynarii. Głównym źródłem farmaceutyków w środowisku jest przede wszystkim produkcja leków, nieodpowiednia utylizacja przeterminowanych leków oraz wydalanie ich zarówno przez człowieka jak i zwierzęta. Pozostałości farmaceutyków mogą trafiać do różnych elementów środowiska np. do wód i do gleby, w związku z tym mogą stanowić poważne zagrożenie dla człowieka i zwierząt. Zagrożenia związane z obecnością substancji farmaceutycznych w środowisku to m.in. zaburzenia równowagi hormonalnej w organizmie człowieka i zwierząt, pojawienie się antybiotykoodporności na bakterie i inne. W związku z tym, że ścieki zawierające pozostałości farmaceutyczne i ich aktywne metabolity w pierwszej kolejności trafiają do oczyszczalni ścieków, istnieje konieczność rozwoju nowych technologii skutecznie eliminujących te związki z wód i ścieków.

1. WSTĘP

Farmaceutyki są związkami aktywnymi biologicznie, które stosowane są głównie w medycynie oraz w weterynarii. Należą one do ksenobiotyków pochodzenia antropogenicznego, określanych w literaturze jako PPCPs (z ang. *Pharmaceuticals and Personal Care Products- farmaceutyki i środki ochrony osobistej*). Do grupy PPCPs należą także suplementy i odżywki spożywcze (tzw. nutraceutyki) oraz różnego rodzaju kosmetyki (szampony, blokery UV, wody toaletowe i antyseptyki). Są to związki o różnorodnych właściwościach fizykochemicznych, często o złożonej budowie chemicznej, co często utrudnia ich wykrywanie oraz usuwanie ze środowiska [8, 19].

* Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15–351 Białystok, u.wydro@pb.edu.pl.

Przemysł farmaceutyczny jest dynamicznie rozwijającą się gałęzią przemysłu. Wpływ na to mają takie czynniki jak starzenie się społeczeństw, wzrost dochodów ludności, wydatki na badania i rozwój, a także wzrost zachorowalności na choroby cywilizacyjne i przewlekłe. Jeśli chodzi o społeczeństwo polskie, obserwowana jest zmiana w świadomości Polaków, którzy przywiązują coraz większą wagę w kwestiach zdrowotnych i stosują leki w ramach profilaktyki [14].

Dane z 2013 r. wskazują, że polski rynek farmaceutyczny pod względem rocznego obrotu plasuje się na szóstym miejscu w Europie, po Niemczech, Francji, Włoszech, Hiszpanii i Wielkiej Brytanii. Jeśli chodzi o strukturę sprzedaży leków w Polsce w 2014 r., to 37% stanowiły leki na receptę refundowane, 22% - leki na receptę pełnopłatne, a 41% - leki wydawane bez recepty i inne artykuły (tzw. segment OTC, z ang. *over the counter*) [13].

Ze względu na wzrost wielkości produkcji leków w ostatnich latach oraz ich powszechność i duże spożycie, w większym stopniu zainteresowano się obecnością pozostałości farmaceutycznych w różnych elementach środowiska. Spowodowało to zwiększenie obaw o stan środowiska. Wynika to z tego, że ta grupa substancji stanowi wszechobecne, trwałe i biologicznie aktywne związki które uznano jako toksyczne i mogące zaburzyć gospodarkę hormonalną [33].

W niniejszej pracy podjęto problem występowania pozostałości leków w wodzie i ściekach oraz związane z tym zagrożenia dla zdrowia ludzi, zwierząt i wpływ na ekosystemy naturalne. Ponadto przedstawiono przegląd metod stosowanych do usuwania pozostałości farmaceutyków w produkcji wody do picia oraz podczas oczyszczania ścieków.

2. WYSTĘPOWANIE POZOSTAŁOŚCI FARMACEUTYCZNYCH W ŚRODOWISKU

2.1. ŹRÓDŁA PRZEDOSTAWANIA SIĘ POZOSTAŁOŚCI LEKÓW DO ŚRODOWISKA

Głównym źródłem farmaceutyków w środowisku są gospodarstwa domowe, szpitale, przemysł farmaceutyczny i weterynaria [17].

Istnieje wiele dróg przedostawania się leków stosowanych przez ludzi i w weterynarii do środowiska. Pozostałości mogą być uwalniane w trakcie procesu produkcyjnego, skąd ostatecznie mogą trafiać do wód powierzchniowych. Leki spożywane przez ludzi, po wchłonięciu i metabolizowaniu są wydalane w postaci mieszaniny form biologicznie aktywnych metabolitów i trafiają do systemu kanalizacyjnego. Często także zdarza się, że niespożyte, przeterminowane leki są wyrzucane do toalet. Ze względu na złożoną budowę i różnicowane właściwości fizyczne i chemiczne często są one odporne na procesy biodegradacji i dlatego nie ulegają całkowitej eliminacji w trakcie procesów

oczyszczania ścieków w konwencjonalnych systemach, co powoduje, że mogą one przedostawać do wód, a stąd być rozproszone w środowisku. Korzystanie z takiej wody zaburza równowagę w organizmie, a także potęguje problem i tak już niebezpiecznego zjawiska lekooporności, z którym stale walczą projektanci nowych antybiotyków [12]. Ponadto, ścieki oczyszczone na terenach pustynnych i półpustynnych stosowane są do nawadniania pól, co może prowadzić do akumulacji pozostałości leków w gruntach jak również w roślinach tam uprawianych. Ksenobiotyki również dostają się do gleby wskutek stosowania osadów ściekowych jako nawozu lub do rekultywacji gruntów [7, 9, 34]. Pozostałości leków weterynaryjnych, stosowanych u zwierząt wypasanych na łąkach, mogą przedostawać się bezpośrednio do wód i do gleby. Pośrednim źródłem leków w środowisku może być także intensywna hodowla zwierząt, skąd wytworzony obornik i gnojowica może trafiać jako nawóz do gleby. Pozostałości farmaceutyczne mogą przedostawać się do środowiska glebowego, wodnego czy też do powietrza również w wyniku niewłaściwego usuwania zużytych opakowań po lekach oraz niewykorzystanych, często przeterminowanych leków, które często trafiają na składowiska odpadów. Niewielkie ilości mogą też trafiać z cementarzy [8].

2.2. RODZAJE POZOSTAŁOŚCI FARMACEUTYCZNYCH I ZAGROŻENIA ZWIĄZANE Z ICH WYSTĘPOWANIEM W ŚRODOWISKU

Dotychczas przeanalizowano ok. 500 różnych rodzajów substancji lekowych, wstępujących głównie w wodzie powierzchniowej, wykazując ich szkodliwy wpływ na zwierzęta i mikroorganizmy [34]. W badaniach przeprowadzonych w Austrii, Brazylii, Kanadzie, Chorwacji, Anglii, Niemczech, Grecji, Włoszech, Hiszpanii, Szwajcarii, Holandii i Stanach Zjednoczonych wykryto ponad 80 farmaceutyków i ich metabolitów w środowisku wodnym w stężeniach w zakresie μg w 1 l lub niższej [3]. Ich obecność nawet w niewielkich ilościach (rzędu nano i mikrogramów) w środowisku wodnym może wywoływać toksyczność chroniczną, zaburzenia endokrynologiczne i odporność na bakterie i patogeny. Konsekwencje są niepokojące głównie w przypadku organizmów wodnych, gdyż zagrożenie może przybrać charakter wielopokoleniowy [27]. Dyrektywa Unii Europejskiej 2000/60/EC, która wskazuje 33 substancje priorytetowe w środowisku wodnym do oznaczania przez następne 20 lat, została w związku z tym poszerzona o 15 kolejnych PPCPs, w tym diklofenak, ibuprofen, triklosan i kwas klofibrowy [8].

Stwierdzono, że na obecność substancji leczniczych w wodach ma wpływ pora roku. Badania przeprowadzone przez Wasik-Kot i in. [31] wykazały, że farmaceutyki o charakterze kwasowym (diklofenak, naproksen, ibuprofen, ketoprofen i bezafibrat) zimą ulegają akumulacji w wodach jezior. Jest to związane ze znacznie obniżoną temperaturą wody, co utrudnia proces biodegradacji, oraz ze znacznie krótszym dniem, co mocno ogranicza proces fotolizy.

Oprócz tego, że farmaceutyki wykazują toksyczność wobec organizmów wodnych, mogą być także fitotoksyczne. Fitotoksyczność może różnić się między gatunkami roślin i zależy przede wszystkim od kinetyki sorpcji danego związku, zawartość materii organicznej w glebie i pH gleby. Właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne środki farmaceutyczne, takie jak właściwości sorpcyjne, fotoreaktywność, aktywność i toksyczność może zmieniać się w zależności od pH i innych czynników środowiskowych [7].

Obecnie niewiele jest informacji o sorpcji i mobilności większości leków ludzkich i weterynaryjnych w glebie. Jednak, podobnie jak inne ksenobiotyki organiczne, sorpcja związków terapeutycznych stosowanych w medycynie i weterynarii do koloidów glebowych, zależy głównie od ilości materii organicznej, pH, składu granulometrycznego i temperatury gleby [7].

Najczęściej występującymi w środowisku substancjami farmakologicznymi są niesteroidowe leki przeciwzapalne i przeciwbólowe (NLPZ), leki działające na mikroorganizmy chorobotwórcze, substancje hormonalne, beta-blokery, leki hipolipemiczne, leki przeciwnowotworowe, psychotropowe oraz inne (np. kofeina, blokery UV, narkotyki) (tab. 1).

Tabela 1. Rodzaje farmaceutyków występujących w środowisku [25]

Rodzaj farmaceutyków	Przykład
Niesteroidowe leki przeciwzapalne i przeciwbólowe	Paracetamol, kwas acetylosalicylowy, ibuprofen, diklofenak
Antybiotyki	Tetracykliny, makrolidy, β -laktamy, penicylina, chinolony, sulfonamidy, fluorochinolony, chloramfenikol i pochodne imidazolu
Środki hormonalne	Estron, estradiol, etynylestradiol
β -blokery	Atenolol, propranolol i metoprolol
Leki hipolipemiczne (regulatory tłuszczów)	Fibraty (bezafibrat, gemfibrozil, klofibrat)
Leki psychotropowe i przeciwpadaczkowe	Karbamezapina, benzodiazepina
Inne substancje	Kofeina, kokaina, barbiturany, metadon, amfetamina, opiaty, heroina

Niesteroidowe leki przeciwzapalne i przeciwbólowe

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) i przeciwbólowe należą do najczęściej kupowanych grup lekowych. Są one zwykle dostępne są bez recepty oraz można je kupić nie tylko w aptece ale w większości sklepów takich jak sklepy osiedlowe, hipermarkety, kioski czy stacje benzynowe [13, 32]. Najbardziej znanymi z tej grupy leków są kwas acetylosalicylowy, diklofenak, ibuprofen, naproksen, ketoprofen i paracetamol.

Diklofenak (DCF) jest przeciwzapalnym środkiem farmaceutycznym, a jego obecność w śladowych ilościach w wodzie stała się ważnym zagadnieniem z punktu widzenia zagrożenia dla środowiska i zdrowia człowieka, ze względu na jego właściwości toksyczne. DCF powszechnie znany jako Voltaren jest lekiem niesteroidowym i przeciwzapalnym obecnym na światowym rynku przemysłu farmaceutycznego zwierząt i ludzi. Posiada szerokie zastosowanie jako środek przeciwbólowy, anty-artretyczny i przeciwreumatyczny i staje się jednym z głównych farmaceutycznych zanieczyszczeń w systemie wodnym [10]. Pozostałości tego związku z wodzie mogą powodować zmiany w nerkach oraz w skrzelach ryb [5, 27].

Dane Intercontinental Marketing Services (IMS) Health wskazują, że najczęściej przepisywanym niesteroidowym lekiem przeciwbólowym jest diklofenak, którego konsumpcja w skali światowej kształtuje się na poziomie 940 Mg rocznie [27]. Innym lekiem z tej grupy znajdującym się w pierwszej dziesiątce najpopularniejszych leków w rankingu światowym jest ibuprofen [32]. Spożycie ibuprofenu w Anglii oszacowano na 162 tony, a w Polsce – 58 ton [19].

Leki działające na mikroorganizmy chorobotwórcze

Do tej grupy leków można zaliczyć m.in. antybiotyki, leki przeciwwirusowe, przeciwgrzybiczne, przeciw pasożytnicze, środki dezynfekujące, stosowane zarówno w medycynie jak i weterynarii [30].

Bogaty wybór antybiotyków jest szeroko stosowany na całym świecie jako leki w celu zapobiegania lub leczenia ludzi i zwierząt, infekcji roślin lub jako dodatki do pasz dla zwierząt i ryb, a także w celu promowania wzrostu [7].

Z raportu Osek i Wieczorek [23] wynika, że w 2012 r. w 26 krajach UE oraz Islandii i Norwegii sprzedano ok. 3400 ton antybiotyków (w przeliczeniu na substancje czynne) celem zastosowania w leczeniu ludzi. Z kolei konsumpcja antybiotyków w hodowli zwierząt rzeźnych była o ponad 100% wyższa i wyniosła 7982 ton. Największe zużycie substancji przeciwbakteryjnych (w mg/kg) miało miejsce we Francji (175,8), Włoszech (167,5), w Belgii (162,6) i Luksemburgu (153,1), najmniejsze zaś w Holandii (56,7), Niemczech (66,9), na Węgrzech (67,5) i w Austrii (70,2). W Polsce wykorzystano w leczeniu ludzi 99,0 mg/kg biomasy substancji czynnych różnych klas antybiotyków. W Polsce w 2012 r. średnie zużycie antybiotyków u zwierząt gospodarskich wyniosło 132,2 mg/kg biomasy, co było niższe od średniej europejskiej wynoszącej 144 mg/kg.

Jak wskazują Czerwiński i in. [9] na rynku farmaceutycznym dostępnych jest ponad 150 antybiotyków. Ze względu na duże spożycie tego typu leków dochodzi do uodparniania się bakterii chorobotwórczych na te antybiotyki, które były skuteczne w walce z nimi. Problem ten sprawia, że koncerny farmaceutyczne muszą szukać leków nowej generacji o zwiększonej aktywności przeciwbakteryjnej.

Obecność antybiotyków w organizmie może być toksyczna, co zostało stwierdzone w kilku organizmach takich jak bakterie, glony czy rozwielitka (*Daphnia magna*). Dotyczy to zarówno wysokich stężeń w organizmie jak i niskich oraz w testach chronicznych [1].

Antybiotyki są słabo biodegradowalne i mogą pozostać w ściekach po oczyszczeniu, co powoduje długotrwałe pozostawanie tych związków w środowisku i ich potencjalną bioakumulację [1]. Obecność antybiotyków w glebach uprawnych może wpływać na wzrost roślin i ich rozwój, jak również aktywność mikrobiologiczną gleby. Jednak dane dotyczące poboru i przenoszenia tych związków poprzez łańcuch pokarmowy prawie nie istnieją [7].

Środki hormonalne

Biomimetyki hormonalne określane często w literaturze jako EDCs (z ang. *Endocrine disrupting chemicals*), są substancjami zaburzającymi funkcje układu endokrynologicznego [15]. Z kolei Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (US EPA) zdefiniowała substancje zaburzające gospodarkę hormonalną jako "czynniki egzogenne, które zaburzają produkcję, uwalnianie, transport, metabolizm, wiązanie, działanie, lub eliminację naturalnych hormonów w organizmie, odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy oraz regulacji procesów rozwojowych" [23]. Do EDCs należą m. in: hormony pochodzenia naturalnego: estron, estradiol, jak i syntetycznego (etynylestadiol), który stanowi podstawowy składnik doustnych środków antykoncepcyjnych. Najczęściej trafiają one do środowiska wraz z wydzielanym moczem. Ich niewielkie stężenie w wodzie może powodować poważne zaburzenia hormonalne u organizmów tam żyjących. Przykładowo etynylestadiol, może powodować zaburzenie gospodarki hormonalnej u samców ryb powodując ich feminizację [5, 19].

Beta-blokery

Do tej grupy leków należą m.in. atenolol, metoprolol i propanolol. Są one stosowane w przypadku chorób układu krążenia tj. w chorobie niedokrwiennej serca, zaburzeniach rytmu serca, nadciśnieniu tętniczym oraz w przypadku guza chromochłonnego rdzenia nadnerczowego [6]. Ponadto, wykorzystywane są w terapii stanów lękowych, drżeń, jaskry, bólów migrenowych oraz nadczynności tarczycy. Obecnie stosowanych jest ponad 20 β -blokerów o podobnej strukturze oraz właściwościach fizykochemicznych [18]. Beta-blokery nie ulegają całkowitemu procesowi eliminacji w trakcie oczyszczania ścieków [29]. Należą do związków biologicznie aktywnych w środowisku, często występujących w postaci mieszaniny różnych substancji których toksyczność jest trudno przewidzieć [28]. W wyniku procesu fotodegradacji, biotransformacji oraz sorpcji ulegają przemianie i rozkładowi [2]. Jak podają Andreozzi i in. [4] głównymi czynnikami wpływającymi na fotodegradację beta-blokerów jest intensywność promieniowania słonecznego związana z porą roku oraz szerokością geograficzną.

Leki hipolipemiczne (regulatory tłuszczów)

Do grupy regulatorów gospodarki lipidowej należą pochodne kwasu fibrynowego, które mają zdolność redukcji cholesterolu oraz kwasów tłuszczowych w wątrobie. Należą do nich: bezafibrat, gemfibrozil, klofibrat, który w wątrobie ulega przemianie do formy aktywnej - kwasu klofibrowego [29].

Leki psychotropowe i przeciwpadaczkowe

Do tej grupy należą takie leki jak karbamazepina i diazepam, które wykazują działanie przeciwdrgawkowe, przeciwpadaczkowe i uspokajające. Część leków z tej grupy m.in. przeciwdepresyjna fluoksetyna i sertralina mają charakter lipofilowy oraz mają zdolność wiązania się z ciałami stałymi. Literatura donosi obecność tych związków także w osadach ściekowych [22]

Inne

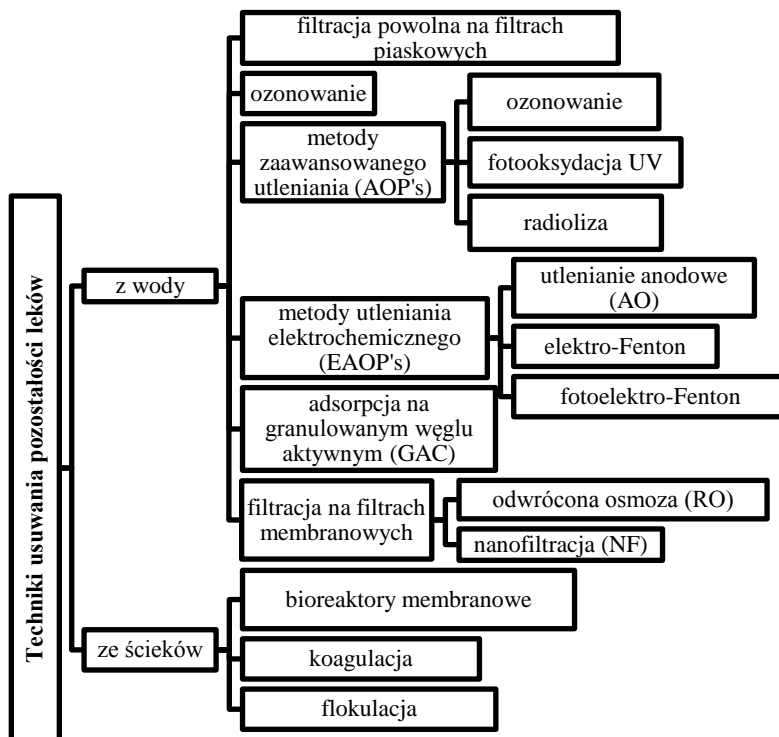
Jedną z najczęściej stosowanych przez społeczeństwo używek jest kofeina. Jest ona obecna w kawie, napojach energetycznych, suplementach diety i w lekach. W związku z tym, że duże ilości kawy i herbaty usuwane są bezpośrednio do toalety, szacuje się, że stężenie kofeiny w ściekach jest stosunkowo duże. Nie stwierdzono bezpośredniego zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt związanego z występowaniem tej używki w wodzie. Występowanie tej substancji w wodach jest ściśle związane z zanieczyszczeniami antropogenicznymi i może być wykorzystane jako wskaźnik zanieczyszczenia wody użytkowej [19].

W ściekach wykrywane są także narkotyki. Do tej grupy należą takie związki jak morfina, kokaina, metamfetamina i ecstasy. Wszystkie posiadają silne działanie farmakologiczne, a ich obecność, jako złożone mieszaniny w środowisku wodnym i lądowym mogą być toksyczne dla organizmów wodnych [11].

3. PRZEGLĄD METOD USUWANIA WYBRANYCH POZOSTAŁOŚCI FARMACETYCZNYCH Z WÓD, ŚCIEKÓW I OSADÓW ŚCIEKOWYCH

Oczyszczalnie ścieków z reguły prowadzą jednostopniowy, dwustopniowy, dwustopniowy i opcjonalnie trójstopniowy system oczyszczania ścieków. Trójstopniowy system oczyszczania ścieków stosowany jest najczęściej w przypadku uzyskania wody o wysokiej jakości do określonych celów (np. do ponownego użycia). Wiąże się to zwykle z większym kosztem oczyszczania [21].

Generalnie, do technik usuwania pozostałości farmaceutycznych w procesie produkcji wody do picia należą: filtracja powolna na filtrach piaszkowych, ozonowanie, techniki oparte na procesie zaawansowanego utleniania oraz utleniania elektrochemicznego, adsorpcja na granulowanym węglu aktywnym (GAC) oraz techniki membranowe, a w szczególności nanofiltracja i odwrócona osmoza. W przypadku oczyszczania ścieków, konwencjonalne procesy biologiczne często są nie wystarczające, w związku z tym polecane są bioreaktory membranowe (rys. 1) [25].



Rys. 1. Metody usuwania pozostałości farmaceutycznych podczas produkcji wody do picia oraz ze ścieków [21, 25]

3.1. TECHNIKI STOSOWANE W PRODUKCJI WODY DO PICIA

Jedną z zaawansowanych metod cieszącą się coraz większą popularnością, która pozwala na usuwanie mikrozanieczyszczeń ze ścieków i wody jest proces pogłębionego utleniania (ang. *Advanced Oxidation Processes*, AOPs). Metoda ta pozwala na efektywne usuwanie specyficznej barwy uciążliwego zapachu ścieków, niszczenie patogenów oraz zanieczyszczeń organicznych. Polega na generowaniu reaktywnych rodników $\bullet\text{OH}$, które mają właściwość utleniania praktycznie każdego związku organicznego do dwutlenku węgla, wody i związków nieorganicznych. Do uzyskania rodników stosuje się nadtlenek wodoru, ozon, promieniowanie UV, dodatki katalizatorów (MnO_2 , Fe^{2+} , TiO_2) oraz ich kombinacji. Lepsze rezultaty uzyskuje się stosując układy zawierające np. dwa (O_3/UV , $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) lub trzy ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) składniki [9].

Rosal i in. [27] badali efektywność usuwania takich farmaceutyków jak beta-blokery (atenolol, metoprolol i propranolol), regulatorów lipidów (ezafibrat i kwas fenofibryno-

wego), antybiotyków (erytromycyna, sulfametoksazol i trimetoprim), przeciwzapalnych (diklofenak, indometacyna, ketoprofen i kwas mefenamowy), przeciwpadaczkowych (karbamazepina) oraz leki zobojętniające (omeprazol) stosując ozonowanie. Ozonowanie w dawkach mniejszych niż 90 $\mu\text{mol/l}$ pozwoliło na usunięcie wielu indywidualnych zanieczyszczeń prawie całkowicie, w tym niektórych z tych bardziej opornych na usuwanie biologiczne (ketoprofenu i bezafibratu). W usuwaniu antybiotyków (np. penicyliny) ze ścieków efektywne okazały się metody ozonowania w połączeniu z utlenianiem ($\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) [1].

Znane są także badania dotyczące zaawansowanego procesu utleniania, w której stosuje się jako katalizator dwutlenek tytanu TiO_2 . Pod wpływem tego procesu eliminowano z wody m.in. amoksyliny, ampicyliny, paracetamol [30].

Badano degradację DCF w wodzie stosując proces fotokatalityczny, w obecności promieniowania ultrafioletowego w temperaturze pokojowej, przy użyciu aktywnych katalizatorów nanokompozytowych w postaci tlenku tytanu i tlenku cyrkonu w reaktorze wsadowym. Nanokompozyty tytan-cyrkon wykazywały większą aktywność katalityczną niż sam tlenek tytanu bez cyrkonu. Osiągnięto maksymalne usunięcie DCF wynoszące ok. 92,5% przy stosunku wagowym Zr/Ti 11,8% [10].

W literaturze obecne są doniesienia na temat prowadzenia zaawansowanych procesów utleniania elektrochemicznego (EAOPs), takich jak utlenianie anodowe (AO), elektro-Fenton (EF) i fotoelectro-Fenton (PEF) w celu usunięcia farmaceutyków [16, 28]. Należą do niej również technologie membranowe. Elektrodializa jest najprostszą metodą membranową opartą na technologii elektrochemicznej, w której stosuje się membrany jonowymienne. Służy ona do oddzielania wody od zanieczyszczeń takich jak metale ciężkie i związki organiczne. Badania wskazują, że oczyszczanie farmaceutycznego etynyloestradiolu w moczu metodą elektrodializy doprowadziło do pozytywnego zmniejszenia toksyczności, gdzie skuteczność usuwania wynosiła ok. 99,7%. W ostatnim czasie zyskują uwagę zintegrowane technologie elektrochemiczne, które mogą wspomagać procesy membranowe (mikro/nano/ultrafiltracja i odwrócona osmoza) z EAOPs [28].

W usuwaniu mikrozanieczyszczeń organicznych z wody skuteczne są także metody adsorpcyjne. Jako adsorbenty mogą być stosowane różne substancje np. węgiel aktywny, chitozan, żywice, zeolity czy adsorbenty na bazie odpadów.

Istnieją doniesienia dotyczące adsorpcji ibuprofenu na węglu aktywnym uzyskanym z odpadów z korka. Naproxen był skutecznie usuwany na adsorbencie wykonanym z odpadów z moreli, aktywowanym chemicznie za pomocą ZnCl_2 [8].

Jednym z rodzaju badanych adsorbentów są polimery cyklodekstrynowe. Wykazywały one dobrą skuteczność usuwania z wody barwy, amin aromatycznych, fenolu, pestycydów oraz chlorofenolu. W pracy Moulahcene i in. [22] badano skuteczność zastosowania nierozpuszczalnych polimerów cyklodekstrynowych usieciowanych kwasem cytrynowym do usuwania progesteronu z wody.

W pracy Zhang i in. [33] badano zastosowanie magnetycznego chitozanu jako adsorbentu do usuwania wybranych środków farmaceutycznych, takich jak diklofenak (DCF), kwas klofibrowy (CA) i karbamazepina (CBZ) z roztworów wodnych. Stwierdzono, że magnetyczny chitozan miał wysoką zdolność sorpcji i powinowactwo do leków z grupą karboksylową tj. z DCF i CA.

W literaturze obecne są także doniesienia dotyczące usuwania pozostałości farmaceutycznych z wód w procesie fitoremediacji. Podjęto próbę usuwania kwasu klofibrowego, naproksenu i ibuprofenu z pożywki wodnej stosując sałatę i skrzydłokwiat. Po 30 dniach stwierdzono zmniejszenie farmaceutyków w pożywce hodowlanej (u sałaty 85–99% i 51–81% u skrzydłokwiatu). Stwierdzono także, że częściowa degradacja tych mikrozanieczyszczeń mogła nastąpić w skutek fotodegradacji [7].

3.2. TECHNIKI STOSOWANE W OCZYSZCZANIU ŚCIEKÓW

W wielu oczyszczalniach ścieków na terenie Europy nadal dominują konwencjonalne metody oczyszczania ścieków z farmaceutyków, oparte na dwóch etapach oczyszczania: fizycznego i chemicznego, w tym koagulacji, ulatniania, adsorpcji, sedymentacji i filtracji. Istnieje mała liczba zakładów stosujących bardziej zaawansowane metody oczyszczania takie jak: ultrafiltracja, flokulacja, ozonowanie, zaawansowane utlenianie lub odwróconą osmozę czy nanofiltrację. Wynika to z wysokich kosztów prowadzenia procesów. Metody te jednak są stale ulepszane i poddawane badaniom ze względu na dużą efektywność oczyszczania ścieków z mikrozanieczyszczeń organicznych [11, 28].

Poprzez rozpoznanie zdolności farmaceutyków i ich metabolitów do degradacji w oczyszczalniach ścieków, możliwe jest ograniczenie dostawania się ich do środowiska, a tym samym zmniejszenie ryzyka związanego z ich obecnością w środowisku [17]. W konwencjonalnych oczyszczalniach ścieków mikrozanieczyszczenia farmaceutyczne mogą być biodegradowane do dwutlenku węgla i wody, ulec adsorpcji na osadach ściekowych (głównie związki liofilowe i trudnobiodegradowalne), bądź też w postaci niezmienionej lub metabolitów, trafić do środowiska [9].

Kosjak i in. [17] badali efektywność degradacji czterech farmaceutyków należących do niesteroidowych leków przeciwzapalnych takich jak: diklofenak, ibuprofen, naproksen, ketoprofen oraz aktywny metabolitów (kwasu klofibrowego) w pilotażowej oczyszczalni ścieków stosując osad czynny pochodzący ze słowackiej oczyszczalni ścieków. Autorzy uzyskali wysoki stopień eliminacji ibuprofenu, naproksenu i ketoprofenu (< 87%), natomiast efektywność usunięcia diklofenaku była dużo niższa i wynosiła od 49–59%. Kwas klofibrowego został wyeliminowany w niewielkim stopniu.

Występowanie i usuwanie różnych leków (m.in. naproksenu, ibuprofenu, kwasu klofibrowego) badali Zorita i in. [34] na wlocie i wylocie oczyszczalni ścieków w Szwecji, w zależności od różnych etapów oczyszczania, który obejmował trzystop-

niowy system oczyszczanie ścieków, w tym również oparty na metodzie konwencjonalnej z osadem czynnym. Autorzy stwierdzili, że stopień oczyszczania tych związków, poza kwasem klobfibrowym i ofloksacyny, wynosił powyżej 90%. Diklofenak nie został usunięty i stwierdzono nawet wyższe jego stężenia w odcieku niż na wlocie do oczyszczalni.

W ostatnich latach duża popularnością cieszą się bioreaktory membranowe, których podstawową zaletą jest możliwość usuwania wielu rodzaju mikrozanieczyszczeń ze ścieków [5, 32]. Rosal i in. [27] wskazują, że wdrożenie nowych konkurencyjnych technologii dla biologicznej degradacji materii organicznej, takich jak bioreaktor membranowy, zapewnią uzyskanie bezpiecznego oczyszczonego ścieku. Ponadto potrzebne są trzystopniowe technologie oczyszczania, w celu zapewnienia bezpiecznego stosowania oczyszczonych już ścieków.

Lazarova i Spendlingwimmer [20] porównywali zdolność usuwania diklofenaku i ibuprofenu z moczu stosując techniki membranowe i elektrochemiczne utlenianie w reaktorze z elektrodami grafitowymi. Zarówno jedna jak i druga metoda pozwoliła na skuteczne usunięcie w/w związków, jednak zastosowanie techniki elektrochemicznego utleniania okazało się bardziej korzystane, gdyż podczas prowadzenia procesu nie usunięto mocznika, który może stanowić nawóz azotowy.

Zaproponowano zastosowanie do eliminacji PPCPs grzybów białej zgnilizny, które jest możliwe dzięki wydzielaniu oksydacyjnych zewnątrzkomórkowych enzymów, takich jak peroksydaza ligniny, peroksydaza manganu, i lakaza. Jest to metoda przyszłościowa, która znalazła zastosowanie przy eliminacji kilku trwałych zanieczyszczeń ze środowiska, takich jak syntetyczne barwniki, WWA i PCB. Badano potencjalną zdolność tych grzybów do degradacji takich farmaceutyków jak leki antydepresyjne (citalopram i fluoksetyna), antybiotyki (sulfametoksazol), leki przeciwbólowe (diklofenak, ibuprofen naproksen), leki przeciwpadaczkowe (karbamazepina), uspokajające (diazepam) Autorzy uzyskali całkowitą degradację wszystkich PPCPs wyjątkiem fluoksetyny i diazepam, których stopień usunięcia wynosił od 23 do 57% [25].

Dobór metody oczyszczania ścieków uzależniony jest przede wszystkim od wymagań, jakie ma spełniać oczyszczony ściek oraz od czasu oczyszczania, dostępności odczynników i ceny [8].

4. PODSUMOWANIE

Problem pozostałości farmaceutycznych w wodzie, ściekach, osadzie ściekowym i glebie dotyczy całego świata. W związku z tym, że przemysł farmaceutyczny stale się rozwija i jest odporny na kryzys światowy, widoczny jest postęp medycyny, rośnie liczba chorób cywilizacyjnych, pojawiają się bakterie lekooporne oraz ze względu na

wzrost profilaktyki prozdrowotnej wśród społeczeństwa, ilość leków oraz ich różnorodność będzie stale wzrastała. Wiąże się z tym wzrost ilości pozostałości farmaceutycznych w ściekach, osadach ściekowych, w wodzie i środowisku. Stanowi to poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt, nawet w perspektywie wielopokoleniowej. Do tej pory brak jest jakichkolwiek norm i dokumentów prawnych określających dopuszczalne stężenia określonych farmaceutyków dostarczanych do oczyszczalni ścieków oraz przedostających się do ekosystemów [30]. Ponadto brak jest skutecznych metod usuwania szerokiego spektrum farmaceutyków z wody czy ścieków. Stąd duże wyzwanie przed technologami inżynierii środowiska oraz nauk pokrewnych (chemii, biologii, biotechnologii), których zadaniem będzie opracowanie innowacyjnych lub udoskonalenie już istniejących metod wykrywania i usuwania pozostałości leków już na etapie oczyszczania ścieków, by ograniczyć ich przedostawanie się do środowiska.

Praca została sfinansowana z pracy statutowej S/WBiIŚ/3/2015 oraz z pracy własnej MB/WBiIŚ/14/2014.

LITERATURA

- [1] ALATON I.A., DOGRUEL S., BAYKAL E., GERONE G., *Combined chemical and biological oxidation of penicillin formulation effluent*, Journal of Environmental Management, 2004, Vol. 73, 155–163.
- [2] ALDER A.C., SCHAFFNER C., MAJEWSKY M., KLASMEIER J., FENNER K., *Fate of β -blocker human pharmaceuticals in surface water: Comparison of measured and simulated concentrations in the Glatt Valley Watershed, Switzerland*, Water Research, 2010, Vol. 44, 936–948.
- [3] AL-RIFAI J.H., GABELISH C.L., SCHÄFER A.I., *Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia*, Chemosphere, 2007, Vol. 69, No. 5, 803–815.
- [4] ANDREOZZI R., RAFFAELE M., NICKLAS P., *Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment*, Chemosphere, 2003, Vol. 50, 1319–1330.
- [5] BO L., URASE T., WANG X., *Biodegradation of trace pharmaceutical substances in wastewater by a membrane bioreactor*, Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2009, Vol. 3, No. 2, 236–240.
- [6] BYRTUS H., CHŁOŃ G., GORCZYCA M., ŁUCKA SOBSTEL B., MALAWSKA B., OBNISKA J., PAWŁOWSKI M., ZEJC A., *Chemia leków dla studentów farmacji i farmaceutów*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002.
- [7] CARVALHO P.N., CLARA M., BASTO P., MARISA C., ALMEIDA R., BRIX H., *A review of plant–pharmaceutical interactions: from uptake and effects in crop plants to phytoremediation in constructed wetlands*, Environmental Science and Pollution Research, 2014, Vol. 21, 11729–11763.
- [8] CZECH B., *Usuwanie farmaceutyków z wód i ścieków z wykorzystaniem metod adsorpcyjnych i fotokatalitycznych*, [w:] Adsorbenty i Katalizatory Wybrane Technologie a Środowisko, pod red. J. Ryczkowskiego, Rzeszów 2012, 443–452.
- [9] CZERWIŃSKI J., KLONICA A., OZONEK J., *Pozostałości farmaceutyków w środowisku wodnym i metody ich usuwania*, Czasopismo Inżynierii Lądowej, Środowiska i Architektury, 2015, 27–42.

- [10] DAS L., BARODIA S.K., SENGUPTA S., BASU J.K., *Aqueous degradation kinetics of pharmaceutical drug diclofenac by photocatalysis using nanostructured titania–zirconia composite catalyst*, International Journal of Environmental Science and Technology, 2015, Vol. 12, 317–326.
- [11] FATTA-KASSINOS D., MERIC S., NIKOLAOU A., *Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, Vol. 399, 251–275.
- [12] HOLMSTRÖM K., GRÄSLUND S., WAHLSTRÖM A., POUNGSHOMPOO S., BENGTTSSON B.-E., KAUTSKY N. *Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health*, International Journal of Food Science & Technology, 2003, Vol. 44, No. 3, 255–266.
- [13] http://raport2014.pelion.eu/pl/otoczenie_rynkowe
- [14] <http://www.nazdrowie.pl/artykul/rynek-farmaceutyczny-na-swiecie>
- [15] KAMIŃSKA G., BOHDZIEWICZ J., WIDAK A., *Biomimetyki hormonalne w środowisku wodnym – występowanie, zagrożenia, usuwanie w procesie sorpcji*, [w:] Inżynieria Środowiska-młodym okiem. Tom 4. Wody powierzchniowe, pod red. I. Skoczko, J. Piekutin, E. Szatyłowicz. Oficyna Wydawnicza Politechniki Białostockiej, Białystok 2014, 31–63.
- [16] KLAVARIOTI M., MANTZAVINOS D., KASSINOS D., *Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes*, Environment International, 2009, Vol. 35, 402–417.
- [17] KOSJEK T., HEATH E., KOMPARE B., *Removal of pharmaceutical residues in a pilot wastewater treatment plant*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007, Vol. 387, 1379–1387.
- [18] KOSTOWSKI W., HERMAN S.Z., *Farmakologia: podstawy farmakologii podręcznik dla studentów medycyny i lekarzy*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008.
- [19] KOSZOWSKA A., EBISZ M., KRZYŚKO-LUPICKA T., *Obecność farmaceutyków i środków kosmetycznych w środowisku wodnym jako nowy problem zdrowia środowiskowego*, Medycyna Środowiskowa - Environmental Medicine, 2015, Vol. 18, No. 1, 62–69.
- [20] LAZAROVA Z., SPENDLINGWIMMER R., *Treatment of yellow water by membrane separation and advanced oxidation methods*, Water Science & Technology, 2008, Vol. 58, 419–26.
- [21] LUO Y., GUO W., NGO H.H., NGHIEM L.D., HAI F.I., ZHANG J., LIANG S., WANG X.C., *A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment*, Science of the Total Environment, 2014, Vol. 473–474, 619–641.
- [22] MALMBORG J., MAGNER J., *Pharmaceutical residues in sewage sludge: Effect of sanitization and anaerobic digestion*, Journal of Environmental Management, 2015, Vol. 153, 1–10.
- [23] MOULAHCENE L., SKIBA M., SENHADJI O., MILON N., BENAMOR M., LAHIANI-SKIBA M., *Inclusion and removal of pharmaceutical residues from aqueous solution using water-insoluble cyclodextrin polymers*, Chemical Engineering Research and Design, 2015, Vol. 97, 145–158.
- [24] OSEK J., WIECZOREK K., *Spożycie leków przeciwbakteryjnych w Europie i występowanie oporności na te leki bakterii izolowanych od ludzi, zwierząt i z żywności w 2012 r.*, Życie Weterynaryjne, 2015, Vol. 90, No. 9, 601–603.
- [25] RIVERA-UTRILLA J., SÁNCHEZ-POLO M., FERRO-GARCÍA M.A., PRADOS-JOYA G., OCAMPO-PÉREZ R., *Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review*, Chemosphere, 2013, Vol. 93, 1268–1287.
- [26] RODARTE-MORALES A.I., FEIJOO G., MOREIRA M.T., LEMA J.M., *Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, Vol. 27, 1839–1846.
- [27] ROSAL R., RODRÍGUEZ A., PERDIGÓN-MELÓN J.A., PETRE A., GARCÍACALVO E., JOSÉ GÓMEZ M., AGÜERA A., FERNÁNDEZ-ALBA A.R., *Occurrence of emerging pollutants in urban*

- wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation, *Water Research*, 2010, Vol. 44, 578–588.
- [28] SIRÉS I., BRILLAS E., *Remediation of water pollution caused by pharmaceutical residues based on electrochemical separation and degradation technologies: A review*, *Environment International* 2012, Vol. 40, 212–229.
- [29] SZYMONIK A., LACH J., *Obecność farmaceutyków w wodach powierzchniowych i przeznaczonych do spożycia*, *Proceedings of ECOpole*, 2013, Vol. 7, No. 2, 735–743.
- [30] TONG A.Y.C., BRAUND R., WARREN D.S., PEAKE B.M., *TiO₂-assisted photodegradation of pharmaceuticals – a review*, *Central European Journal of Chemistry*, 2012, Vol. 10, No. 4, 989–1027.
- [31] WASIK-KOT A., DĘBSKA J., NAMIEŚNIK J., *Pozostałości środków farmaceutycznych w środowisku przemiany, stężenia, oznaczenia*, *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*, 2003, Vol. 10, 723–750.
- [32] ZAJĄC A., KRUSZELNICKA I., GINTER-KRAMARCZYK D., *Problematyka obecności farmaceutyków w ściekach*, *Wodociągi – Kanalizacja*, 2012, No. 5, 96–99.
- [33] ZHANG Y., SHEN Z., DAI C., ZHOU X., *Removal of selected pharmaceuticals from aqueous solution using magnetic chitosan: sorption behavior and mechanism*, *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, Vol. 21, 12780–12789.
- [34] ZORITA S., MÅRTENSSON L., MATHIASSEN L., *Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden*, *Science of The Total Environment*, 2009, Vol. 407, No. 8, 2760–2770.

THE RESIDUE PHARMACEUTICALS IN THE ENVIRONMENT AND METHODS OF THEIR REMOVAL

Pharmaceuticals substances are biologically active compounds which are used in veterinary and medicine. The main source of pharmaceuticals in the environment is mainly the production of medicines, improper disposal of expired medicines and excretion of human and animals. The residues of pharmaceuticals may be getting to the various elements of the environment. Therefore, the waste water containing residues of pharmaceutical substances and their active metabolites in the first instance goes to waste water treatment. There is a need to develop new technologies to effectively eliminate these compounds from water and wastewater.

Joanna ŻUR, Danuta WOJCIESZYŃSKA, Urszula GUZIK*

WPŁYW WYBRANYCH NIESTEROIDOWYCH LEKÓW PRZECIWPALNYCH NA FORMOWANIE I STRUKTURĘ BIOFILMU

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) to zróżnicowana grupa aktywnych biologicznie substancji o charakterze przeciwbólowym, przeciwzapalnym oraz przeciwgorączkowym. Do najczęściej stosowanych NLPZ należą ibuprofen, naproksen, diklofenak, paracetamol i kwas acetylosalicylowy. Wzrastająca konsumpcja, niewłaściwe procedury utylizacji leków oraz brak nowoczesnych metod oczyszczania ukierunkowanych na tę grupę zanieczyszczeń to główne przyczyny obecności NLPZ w środowisku. W artykule przedstawiono wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych na formowanie i architekturę biofilmu, z uwzględnieniem ważnych klinicznie gatunków. Powstawanie biofilmu to główna przyczyna zwiększenia oporności mikroorganizmów na czynniki antybakteryjne oraz źródło strat ekonomicznych, np. w przemyśle spożywczym i budowlanym. Z drugiej strony gatunki o zwiększonym potencjale degradacyjnym zdolne do tworzenia biofilmu wykorzystywane są m.in. w oczyszczalniach ścieków. Stąd zasadnym wydaje się określenie wpływu NLPZ na komórki bakteryjne. Do najważniejszych zmian indukowanych NLPZ należy zmniejszenie biomasy bakterii, zmiana składu gatunkowego biofilmu, uszkodzenie syntezy DNA oraz zahamowanie produkcji flageliny, dzięki czemu NLPZ zaliczane są do grupy nie-antybiotyków o szerokich właściwościach antybakteryjnych.

1. NIESTEROIDOWE LEKI PRZECIWPALNE

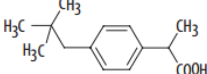
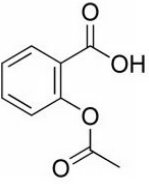
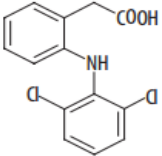
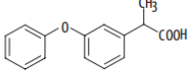
1.1. CHARAKTERYSTYKA NLPZ

Niesteroidowe leki przeciwzapalne to szeroka grupa farmaceutyków, zróżnicowana pod względem budowy chemicznej i zastosowania. Klasyfikacja NLPZ obejmuje pochodne m.in. kwasu *para*-aminofenolowego (paracetamol), salicylowego (kwas acetylosalicylowy), arylopropionowego (ibuprofen, naproksen, ketoprofen), arylooctowego (diklofenak)

* Uniwersytet Śląski, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii, ul. Jagiellońska 28, 40-032, Katowice, jozur@us.edu.pl.

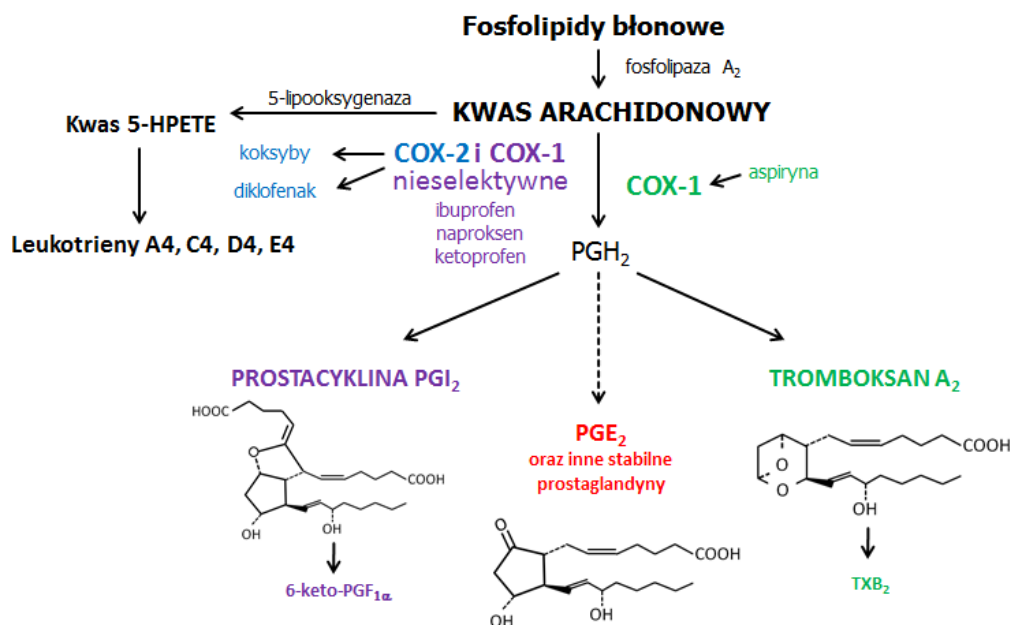
oraz pirazonu (fenazon). NLPZ wykazują właściwości przeciwbólowe, przeciwgorączkowe oraz przeciwzapalne, a kwas acetylosalicylowy dodatkowo, działanie antyagregacyjne [14, 18]. Charakterystykę wybranych NLPZ przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Charakterystyka wybranych NLPZ [10, 14, 17, 29]

NLPZ	Ibuprofen	Kwas acetylosalicylowy	Diklofenak	Ketoprofen
Wzór strukturalny				
Pochodna	kwas arylopropionowy	kwas salicylowy	kwas arylooctowy	kwas arylopropionowy
Aktywność	COX-nieselektywna	COX-1 selektywna	COX-2 selektywna	COX-nieselektywna
Okres półtrwania	2–4h	2-4h	2h	2h
Toksyeczność	LD ₅₀ = 1 255 mg/kg [doustnie, mysz]	LD ₅₀ = 1 124 mg/kg [doustnie, szczur]	LD ₅₀ = 390 mg/kg [doustnie, mysz]	LD ₅₀ = 100 mg/kg [doustnie, szczur]
	EC ₅₀ = 18 000 mg/l [<i>D. magna</i>]	EC ₅₀ = 1 800 mg/l [<i>D. magna</i> , <i>D. longispina</i>]	EC ₅₀ = 14 500 mg/l [<i>D. magna</i>]; 22 430 mg/l [zooplankton]	EC ₅₀ = 5 102 mg/l [<i>D. magna</i>]
Metabolity	glukuronid ibuprofenu, 2-hydroksy-ibuprofen, 3-hydroksy-ibuprofen, 1-hydroksy-ibuprofen	kwas salicylowy	acylowy glukuronid diklofenaku, 4'-hydroksy-diklofenak, 3'-hydroksy-diklofenak, 5-hydroksy-diklofenak	kwas 2-([3-hydroksy(fenyl)-metylo]fenyl)-propanowy, 3-hydroksybenzoilo ketoprofen, 3-hydroksyketoprofen

Niesteroidowe leki przeciwzapalne, pomimo zbliżonej struktury i właściwości farmakologicznych, w istotny sposób różnią się siłą działania, co skutkuje zróżnicowanym zastosowaniem klinicznym. Przykładowo, paracetamol charakteryzuje się silnym działaniem przeciwgorączkowym i przeciwbólowym, ale w niewielkim stopniu hamuje procesy zapalne. Diklofenak – wykazuje silne działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne, ale umiarkowane działanie przeciwgorączkowe. Wszystkie NLPZ charakteryzują się podobnym podstawa-

wym mechanizmem działania, opartym na hamowaniu aktywności izoenzymów cyklooksygenazy (COX-1, COX-2), zaangażowanych w przemianę kwasu arachidonowego, uwalnianego z błonowych fosfolipidów za pomocą fosfolipazy A₂. Kwas arachidonowy to najważniejszy, choć nie jedyny, substrat COX wykorzystywany w procesie syntezy prostaglandyn (PG), prostacykliny (PGI₂) i tromboksanu (TX). Hamujące działanie NLPZ, choć w mniejszym stopniu niż w przypadku izoform COX, wykazano również w stosunku do lipooksygenazy. Badania wykazały również, że niesteroidowe leki przeciwzapalne hamują działanie reaktywnych form tlenu, angiogenezę oraz apoptozę [11, 14]. Działanie niektórych klasycznych i selektywnych NLPZ na kaskadę przemian kwasu arachidonowego przedstawia rys. 1.



Rys. 1. Działanie wybranych NLPZ na kaskadę kwasu arachidonowego [11]

Ze względu na cytoprotekcyjną rolę prostaglandyn, głównie w stosunku do układu pokarmowego, stosowanie NLPZ hamujących izoformę COX-1 skutkuje często uszkodzeniami błony śluzowej żołądka i objawami dyspeptycznymi. Zmniejszenie gastrotoksyczności NLPZ możliwe jest dzięki zastosowaniu koksybów, czyli NLPZ hamujących selektywnie indukowaną formę COX-2. Stosowanie proleków, czystych enancjomerów NLPZ, NO-NLPZ zawierających grupę chemiczną uwalniającą tlenek azotu (II) lub leków łączących hamujące właściwości w stosunku do cyklooksygenazy i lipooksygenazy również w znacznym stopniu ograniczają toksyczność NLPZ.

1.2. WYSTĘPOWANIE NLPZ W ŚRODOWISKU

Główną przyczyną obecności NLPZ i ich metabolitów w środowisku, m.in. w wodach powierzchniowych, gruntowych, wodzie pitnej, osadach dennych i ściekach, jest wzrastająca konsumpcja oraz niewłaściwa utylizacja przeterminowanych lub niezużytych farmaceutyków.

W organizmach żywych niesteroidowe leki przeciwzapalne nie ulegają degradacji, a jedynie niewielkim przemianom I i II fazy detoksykacji ksenobiotyków zachodzących w wątrobie. Faza I obejmuje głównie reakcje hydroksylacji, utlenienia lub redukcji katalizowane przez monoooksygenazy oraz układ cytochromu P-450, najliczniej zlokalizowane w obrębie siateczki śródplazmatycznej gładkiej. W fazie II metabolity oraz związki macierzyste ulegają reakcji sprzęgania ze związkami endogennymi np. kwasem glukuronowym, octowym, glutationem, siarczanami lub aminokwasami. W zależności od fazy metabolizmu i charakteru modyfikacji leki mogą ulegać dezaktywacji (faza II), jednak nierzadko obserwowany jest wzrost toksyczności i aktywności biologicznej metabolitów powstałych w I fazie detoksykacji [3].

Niesteroidowe leki przeciwzapalne i ich metabolity jako związki słabo rozpuszczalne w wodzie, zatrzymane w szlamie ściekowym używanym jako nawóz, mogą spowodować skażenie gleby i wód gruntowych. W oczyszczalniach ścieków ksenobiotyki mogą ulec mineralizacji, biotransformacji lub pozostać w formie pierwotnej. Jednocześnie wykazano, że procesy ozonowania oraz fotokatalizy, czyli techniki oczyszczania najczęściej stosowane w usuwaniu NLPZ, pomimo dobrej wydajności, prowadzą do powstawania toksycznych intermedatów i często zaburzane są poprzez niespecyficzne reakcje z materią organiczną. Zróżnicowaną efektywnością w usuwaniu NLPZ ze ścieków charakteryzują się również biologiczne metody oczyszczania [7, 10]. Badania Quintana i in. [28] wykazały, że dla układów kometabolicznych rozkład ketoprofenu oraz naproksenu przez osad czynny w ciągu dwudziestu kilku dni wynosił odpowiednio 13 i 49%. W przypadku ibuprofenu efektywność rozkładu była wyższa i wynosiła 96% [28].

NLPZ obecne w wodach powierzchniowych i oczyszczonych ściekach w stężeniach rzędu ng/l i µg/l nie powodują toksyczności ostrej, jednak chroniczna ekspozycja, w połączeniu z działaniem innych farmaceutyków obecnych w wodzie skutkuje bioakumulacją i licznymi zaburzeniami obserwowanymi u organizmów wodnych [5, 10, 17, 22, 28]. Stężenie NLPZ w wybranych krajach Unii Europejskiej przedstawia tabela 2.

Jednocześnie, mikrobiologiczne szlaki degradacji NLPZ w środowisku wodnym pozostają słabo opisane. Wyjątek stanowi kwas acetylosalicylowy, którego degradacja przebiega z rozszczepieniem pierścienia aromatycznego. Reakcja ta katalizowana jest przez dioksygenazy katecholowe oraz dioksygenazę gentyzynową i prowadzi do powstawania intermedatów włączanych w centralne szlaki metabolizmu [12, 35].

Tabela 2. Stężenie NLPZ w wybranych krajach Unii Europejskiej [10, 16, 17, 31]

NLPZ	Występowanie	Stężenie [µg/l]	Kraj
Ibuprofen	wody powierzchniowe	0,05–0,1	Polska
	wody powierzchniowe	< 0,0045	Francja
	woda pitna	< 0,0006	
Paracetamol	woda pitna	< 0,21	Wlk. Brytania
	wody powierzchniowe	0,22–1,0	
Kwas acetylosalicylowy	wody powierzchniowe	0,1	Niemcy
	ścieki surowe	3,2	
	ścieki oczyszczone	0,6	
Kwas salicylowy	wody powierzchniowe	0,007–0,2	Włochy
Diklofenak	wody powierzchniowe	0,3–0,5	Polska
	wody powierzchniowe	0,15	Niemcy
	woda pitna	< 0,0025	Francja
	wody powierzchniowe	0,025–0,170	Szwecja
	wody powierzchniowe	0,01–0,163	
Ketoprofen	rzeki	0,04	Polska
	rzeki	0,006–0,026	Finlandia

W mikrobiologicznym rozkładzie ibuprofenu przez szczep *Sphingomonas* Ibu-2 udział bierze m.in. dioksygenaza, syntetaza acylo-CoA oraz ligaza-CoA [21]. Rozkład ketoprofenu najprawdopodobniej przebiega przez wspólny szlak dla bifenyli, eterów bifenyli i związków pokrewnych [15]. Na wydajność mikrobiologicznego rozkładu NLPZ korzystnie wpłynąć może zastosowanie technik immobilizacji. Zwiększona efektywność rozkładu wynika głównie z ochrony jaką nośnik zapewnia komórkom, zmniejszając ich podatność na działanie ksenobiotyków i zmiennych warunków środowiskowych. Wiadomo również, że immobilizacja stymuluje metabolizm bakterii i zwiększa możliwości degradacyjne szczepów. Najczęściej stosowaną techniką immobilizacji jest adsorpcja, uzależniona od zdolności danego szczepu do wytwarzania biofilmu. Dlatego m.in. istotne jest określenie wpływu NLPZ na tworzenie biofilmu.

2. BIOFILM

2.1. STRUKTURA I ROLA BIOFILMU

Mikroorganizmy charakteryzują się naturalną tendencją do adsorpcji na granicy faz, np. ciecz-ciecz czy ciecz-ciało stałe. Zdolność do kolonizacji różnych powierzchni determinowana jest przez właściwości adhezyjne drobnoustrojów i skutkuje powstaniem złożonej wielokomórkowej struktury zwanej biofilmem (błoną biologiczną). Powstały biofilm stabilizowany jest przez substancje polimeryczne wydzielane pozakomórkowo,

tw. EPS (ang. EPS – *extracellular polymeric substances*). W skład EPS wchodzi m.in. białka, zewnątrzkomórkowe DNA (eDNA – ang. *extracellular DNA*), surfaktanty, lipidy oraz woda. Najważniejszym składnikiem EPS są polisacharydy (liniowe, rozgałęzione, neutralne lub obdarzone ładunkiem). Poszczególne składniki matrycy budującej biofilm odpowiedzialne są m.in. za agregację komórek bakteryjnych i zdolność do adhezji do powierzchni biotycznych i abiotycznych, utrzymanie mechanicznej stabilności, formy i struktury biofilmu, sorpcję związków organicznych, ksenobiotyków i akumulację metali ciężkich. Architektura biofilmu determinowana jest m.in. zawartością i dostępnością substancji odżywczych, warunkami hydrodynamicznymi środowiska, komunikacją chemiczną (ang. *quorum sensing*) oraz mobilnością bakterii [1, 13, 25].

Zdolność mikroorganizmów do tworzenia biofilmu niesie ze sobą zarówno skutki pozytywne jak i negatywne. Zdolność ta została wykorzystana m.in. w oczyszczalniach ścieków, gdzie stosuje się błony biologiczne lub złoża filtracyjne, węgla aktywnego i złoża fluidalne zasiedlane przez mikroorganizmy. Negatywnym skutkiem tworzenia biofilmu są straty gospodarcze związane z korozją mikrobiologiczną sieci hydraulicznych, spadek jakości sanitarnej wody, degradacja mikrobiologiczna materiałów budowlanych i straty w przemyśle spożywczym [13].

Ponadto, gatunki zdolne do tworzenia błon biologicznych charakteryzują się wzrostem inwazyjności i zwiększoną zdolnością do wywoływania lekoopornych zakażeń. Mechanizmy determinujące zwiększoną oporność na czynniki antybakteryjne, antybiotyki, środki dezynfekujące czy surfaktanty to: obecność polimerowej matrycy EPS, limitującej dyfuzję i zabezpieczającej komórki przed wysychaniem i fagocytozą; reaktywne grupy funkcyjne polisacharydów ograniczające wnikanie środków antybakteryjnych do cytoplazmy; przechodzenie komórek w głębszych warstwach biofilmu w stan anabiozy, co skutkuje znacznym ograniczeniem ich wrażliwości; produkcja białek szoku termicznego HSP (ang. HSP – *heat shock proteins*); produkcja biosurfaktantów (ramnolipidów); horyzontalny transfer genów (głównie plazmidów) czy indukcja mutacji punktowych w genach, których produkty zwiększają poziom oporności mikroorganizmów w biofilmie [1, 2, 5, 7, 13, 25].

3. WPŁYW NLPZ NA BIOFILM

Mechanizm działania i skutki uboczne stosowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych zostały bardzo dobrze poznane i scharakteryzowane. Z drugiej strony jednak efekty środowiskowe i ekologiczne związane z zanieczyszczeniem środowiska pozostałościami tych leków pozostają słabo opisane. Konsekwencją narastającego zjawiska lekooporności mikroorganizmów i strat ekonomicznych spowodowanych tworzeniem biofilmu jest poszukiwanie leków (substancji czynnych) o aktywności antybakteryjnej, wśród innych niż antybiotyki grup farmaceutyków, np. leków diuretycznych (furose-

mid) czy przeciwpadaczkowych (karbamazepina) [4]. Potencjalne działanie antymikrobiologiczne wykazują również alkaloidy roślinne (kofeina) i związki organiczne (*N*-acetylo-*L*-cysteina, ksylitol, sorbitol) [8, 9, 19, 27]. Liczne doniesienia literaturowe wskazują również na wysoką skuteczność antybakteryjną niesteroidowych leków przeciwzapalnych. NLPZ wykazują właściwości ograniczające adhezję bakterii i formowanie biofilmu, zarówno w stosunku do szczepów izolowanych ze środowiska, jak i gatunków o znaczeniu klinicznym. Efektywność rozkładu niesteroidowych leków przeciwzapalnych przez szczepy o zwiększonym potencjale degradacyjnym również w dużym stopniu uzależniona jest od ich reakcji na poszczególne stężenia leków. Dla szczepów posiadających zdolność rozkładu niesteroidowych leków przeciwzapalnych leki te stanowią zazwyczaj dodatkowe źródło węgla i energii, co stymuluje przyrost biomasy. Badania nad rozkładem paracetamolu, jako jedyne źródła węgla, azotu i energii przez pojedyncze szczepy oraz konsorcjum bakteryjne złożone ze szczepów z rodzajów *Stenotrophomonas* i *Pseudomonas* prowadzili Zhang i in. [34]. W przypadku pojedynczych szczepów przy wyższych dawkach paracetamolu obserwowano wyraźne zahamowanie wzrostu bakterii. Konsorcjum tych szczepów było zdolne do 100% rozkładu paracetamolu w czasie 37 h.

Do oceny wpływu NLPZ na formowanie i architekturę biofilmu wykorzystywane są m.in. standardowe techniki polegające na liczeniu kolonii bakterii, technika mikroskopii *in situ*, fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*, techniki izotopowe czy oznaczenia wykorzystania różnych źródeł węgla i azotu.

Szerokie spektrum właściwości antybakteryjnych diklofenaku i ibuprofenu zarówno w stosunku do bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych zostały wielokrotnie potwierdzone [19, 22, 30, 32, 33]. W badaniach nad wpływem ibuprofenu w stężeniu 10 µg/l na biofilm rzeczny stwierdzono zmniejszenie biomasy bakteryjnej, grubości tworzonej błony i zmiany w składzie produkowanego egzopolisacharydu. Istotne zmiany zaobserwowano również w składzie biofilmu. Populacja klasy gamma-proteobakterii uległa zmniejszeniu na rzecz klas alfa i beta. Zmianie uległy preferencje metaboliczne szczepów, m.in. wykorzystanie kwasów *L*-keto-masłowego i hydroksymasłowego, *N*-acetylo-*D*-glukozaminy, fosforanu glicerolu i glukozofosforanu [22].

Corcoll i in. [7] za pomocą systemu PICT (ang. PICT – *pollution-induced community tolerance*) ocenili tolerancję biofilmu na środowiskowe stężenia ibuprofenu i diklofenaku w rzekach otrzymujących ładunek z oczyszczalni ścieków. Najwyższe stężenie NLPZ odnotowane w badanych wypływach wynosiło 1200 ng/l. Otrzymane wyniki potwierdziły nabywanie tolerancji mikroorganizmów budujących biofilm zarówno na ibuprofen, diklofenak, jak i synergiczne działanie leków oraz wrażliwość bakterii na diklofenak, co znajduje odzwierciedlenie w jego wyższej toksyczności. Zarówno ibuprofen jak i diklofenak na skutek akumulacji powodują zmiany w błonach komórkowych bakterii. Akumulacja determinowana jest przede wszystkim wartością pH, od którego uzależniona jest dostępność niepolarnych komponentów błony i hydrofobowość komórki. Wyniki potwierdziły również, że chroniczna ekspozycja na niewielkie stężenia NLPZ

prowadzi do zmian metabolicznych i strukturalnych komórek w biofilmie. Wyższe stężenia NLPZ były tolerowane tylko przez gatunki o zwiększonym potencjale degradacyjnym. Wpływ na zmniejszenie biomasy i zmiany gatunkowe w biofilmie rzeczonym (wzrost udziału gatunków z rodzaju *Cytophaga*) indukowane obecnością diklofenaku obserwowali także Paje i in. [26].

Zmiany zachodzące w strukturze biofilmu rzecznego badali również Lawrence i in. [23]. Jako system modelowy zastosowano obrotowy reaktor pierścieniowy. Przy wyższych stężeniach diklofenaku (100 µg/l, lato) obserwowano znaczący wzrost biomasy bakterii. Przyrostu nie odnotowano natomiast dla stężenia 10 µg/l testowanego wiosną. Dla obu dawek diklofenaku zaobserwowano również znaczący spadek grubości tworzonej błony i zmianę w wielkości oraz rozmieszczeniu mikrokolonii, które przy stężeniu 100 µg/l były znacznie większe. Wyższe stężenie wpłynęło również na spadek liczby wykorzystywanych źródeł węgla. Ponadto, pod wpływem testowanych stężeń diklofenaku wzrosła populacja gamma-proteobakterii.

Ibuprofen, ze względu na zdolność ograniczania adhezji bakterii, wykorzystywany jest również jako środek opłaszczający w medycynie. Minimalne stężenie ibuprofenu hamujące biofilm MBIC (ang. MBIC – *minimal biofilm inhibitory concentration*) pięciu patogennych szczepów *Escherichia coli* oszacowane na 125 mg/l, w połączeniu z albuminami surowicy w stężeniu 32 000 mg/l ograniczało rozwój biofilmu na płytkach polistyrenowych o 80,6–95,8%. Z dostępnej literatury wiadomo również, że u *E. coli* wartości sub-MIC (ang. MIC – *minimal inhibitory concentration*) ibuprofenu hamują produkcję fimbrii i hemolizyn. Dodatkowo, zmniejszają również hydrofobowość komórki [24].

Spośród klasycznych NLPZ właściwości antybakteryjne wykazuje również kwas acetylosalicylowy (aspiryna), kwas salicylowy oraz jego sole. Muller i in. [20] wykazali, że dodatek 5 mM kwasu salicylowego do pożywki ogranicza adhezję i produkcję biofilmu przez szczep *Staphylococcus epidermidis*. Wbrew przyjętym założeniom, nie było to wynikiem chelatacji kationów, ale zaburzeń w produkcji kwasów tejchojowych i białek otoczki. Negatywny wpływ salicylanów na syntezę biofilmu szczepów *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* i *Proteus mirabilis* wykazali również El-Banna i in. [9]. 10 µg/l salicylanu hamowało syntezę biofilmu wszystkich czterech szczepów w 30–57%, a skuteczność eradykacji biofilmu wyniosła ok. 15–29%. Eliminacja i hamowanie syntezy biofilmu dla dziesięciokrotnie większej dawki salicylanów wyniosła odpowiednio 53–69% i 47–62%. Ponadto, jednoczesne zastosowanie salicylanów i gentamycyny znacząco ograniczało adhezję bakterii do powierzchni abiotycznych. Chow i in. [6] wykazali, że wartość sub-MIC kwasu salicylowego wynosząca 25–50 mM ogranicza rozwój biofilmu *P. aeruginosa* poprzez regulację ekspresji genów kodujących flagelinę i zmniejszenie produkcji biosurfaktantów.

Wartości MIC wybranych NLPZ na niektóre gatunki bakterii przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Minimalne stężenie hamujące (MIC) NLPZ dla wybranych gatunków bakterii [2, 19, 24]

NLPZ	MIC [µg/ml]	Gatunek
Ibuprofen	952	<i>S. aureus</i>
	250	<i>K. pneumoniae</i>
	1292,2	<i>P. aeruginosa</i>
	1465,4	<i>P. mirabilis</i>
Salicylany	300	<i>E. coli</i>
	500	<i>K. pneumoniae</i>
	500	<i>P. aeruginosa</i>
	1500	<i>P. mirabilis</i>
Diklofenak	3125	<i>P. aeruginosa</i>
	1465	<i>S. aureus</i>
	173,7	<i>K. pneumoniae</i>
	1675,7	<i>P. aeruginosa</i>
	1769,5	<i>P. mirabilis</i>
Ketoprofen	3125	<i>P. aeruginosa</i>
	1607,5	<i>S. aureus</i>
	1732,5	<i>K. pneumoniae</i>
	1756,7	<i>P. aeruginosa</i>

Antybakteryjne działanie diklofenaku, ibuprofenu i ketoprofenu zostało potwierdzone również w stosunku do uropatogennych szczepów *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Proteus mirabilis*. Najsilniejszym działaniem antymikrobiologicznym charakteryzował się diklofenak i ketoprofen, co prawdopodobnie związane jest z hamowaniem syntezy DNA lub zaburzeniami procesów zachodzących w błonie komórkowej bakterii. Hipotezę o właściwościach antybakteryjnych wynikających z zahamowania syntezy DNA potwierdza również Abbas i in. [2]. Wartości sub-MBIC zarówno ketoprofenu jak i diklofenaku wynosiły 3,125 mg/ml odpowiednio dla wszystkich dwudziestu i dla 10% analizowanych izolatów *Pseudomonas aeruginosa*.

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ9/00244.

LITERATURA

- [1] ABEE T., KOVACS A. T., KUIPERS O. P., VAN DER VEEN S., *Biofilm formation and dispersal in Gram-positive bacteria*, Current Opinion in Biotechnology, 2011, Vol. 22, 172–179.
- [2] ABBAS H.-A., SERRY F.-M., EL-MASRY E.-M., *Combating Pseudomonas aeruginosa biofilm by potential biofilm inhibitors*, Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science, 2012, Vol. 2, No. 2, 66–72.

- [3] BĄK M., KICIŃSKA-KROGULSKA M., CZERNIAK P., MICHOWICZ A., KRAKOWIAK A., *Toksyczne uszkodzenie wątroby–współczesny pogląd na etiopatogenezę. Część II*, Medycyna Pracy, 2011, Vol. 62, No. 2, 203–210.
- [4] BRYERS J.-D., JARVIS R.-A., LEBO J., PRUDENCIO A., KYRIAKIDES R.-T., UHRICH K., *Biodegradation of poly(anhydride-esters) into non-steroidal anti-inflammatory drugs and their effect on Pseudomonas aeruginosa biofilms in vitro and on foreign-body response in vivo*, Biomaterials, 2006, Vol. 27, 5039–5048.
- [5] CARACIOLLO A.-B., TOPP E., GRENNI P., *Pharmaceuticals in the environment: Biodegradation and effects on natural microbial communities: A review*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014, Vol. 106, 25–36.
- [6] CHOW S., GU K., JIANG L., NASSOUR A., *Salicylic acid affects swimming, twitching and swarming motility in Pseudomonas aeruginosa, resulting in decreased biofilm formation*, Journal of Experimental Microbiology and Immunology, 2011, Vol. 15, 22–29.
- [7] CORCOLL N., ACUNA V., BARCELO D., CASELLAS M., GUASCH H., HUERTA B., PETROVIC M., PONSATI L., RODRIGEZ-MOZAZ S., SABATER S., *Pollution-induced community tolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in fluvial biofilm communities affected by WWTP effluents*, Chemosphere, 2014, Vol. 112, 185–193.
- [8] DUTTA N.-K., ANNADURAI S., MAZUMDAR K., DASTIDAR S.-G., *Potential management of resistant microbial infections with a novel non-antibiotic: the anti-inflammatory drug diclofenac sodium*, International Journal of Antimicrobial Agents, 2007, Vol. 30, 242–249.
- [9] EL-BANNA T., SONBOL F.-I., EL-AZIZ A.-A.-A., ABO-KAMAR A., SEIF-ELDIN D.-W., *Effect of the combination of salicylate with aminoglycosides on bacterial adhesion to urinary catheters*, International Research Journal of Pharmacy, 2012, Vol. 2, No. 2, 39–45.
- [10] GUZIK U., HUPERT-KOCUREK K., MAZUR A., WOJCIESZYŃSKA D., *Biotransformacja wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych w środowisku*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2013, Vol. 46, 105–112.
- [11] GRYGLEWSKI R.-J., *Prostacyclin among prostanoids*, Pharmaceutical Reports, 2008, Vol. 60, 3–11.
- [12] IVSHINA I.-B., RYCHKOVA M.-I., CHEKRYSHKINA L.-A., MISHENINA I.-I., *Catalysis of the biodegradation of unusable medicines by alkalotrophic Rhodococci*, Applied Biochemistry and Microbiology, 2006, Vol. 42, 392–395.
- [13] KOŁWZAN B., *Analiza zjawiska biofilmu–warunki jego powstawania i funkcjonowania*, Ochrona Środowiska, 2011, Vol. 33, No. 4, 1–14.
- [14] KORZENIOWSKA K., JANKOWSKI J., JABŁECKA A., *Niesteroidowe leki przeciwzapalne*, Farmacja Współczesna, 2010, Vol. 3, 192–197.
- [15] MARCO-URREA E., PEREZ-TRUJILLO M., CRUZ-MORATO C., VINCENT T., CAMINAL G., *White-rot fungus-mediated degradation of the analgesic ketoprofen and identify cation of intermediates by HPLC-DAD-MS and NMR*, Chemosphere, 2010, Vol. 78, 474–481.
- [16] MARCHESE S., PERRET D., GENTILI A., CURINI R., PASTORI F., *Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in surface water and wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, Chromatographia, 2003, Vol. 58, No. 5, 263–269.
- [17] MARCHLEWICZ A., GUZIK U., WOJCIESZYŃSKA D., *Właściwości, występowanie i biodegradacja ibuprofenu w środowisku wodnym*, Ochrona Środowiska, 2015, Vol. 37, No. 1, 65–70.
- [18] MIĘDZYBRODZKI R., *Kierunki poszukiwań i zastosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2004, Vol. 58, 438–448.
- [19] MOHSEN A., GOMAA A., MOHAMED F., RAGAB R., EID M., AHMED A., KHALAF A., KAMAL A., MOKHTAR S., MOHAMED H., SALAH I., ABBAS R., ALI S., EL-BAKY R.-M.-A., *Antibacterial, anti-biofilm activity of some non-steroidal anti-inflammatory drugs and*

- N-acetylcysteine against some biofilm producing uropathogens*, American Journal of Epidemiology and Infectious Disease, Vol. 3, No. 1, 1–9.
- [20] MULLER E., AL-ATTAR J., WOLFF A.-G., *Mechanism of salicylate-mediated inhibition of biofilm in Staphylococcus epidermidis*, The Journal of Infectious Diseases, 1998, Vol. 177, 501–503.
- [21] MURDOCH R.-W., HAY A.-G., *Formation of catechols via removal of acid side chains from ibuprofen and related aromatic acid*, Applied of Environmental Microbiology, 2005, Vol. 7110, 6121–6125.
- [22] LAWRENCE J.-R., SWERHON G.-D.-W., WASSENAAR L.-I., NEU T.-R., *Effects of selected pharmaceuticals on riverine biofilm communities*, Canadian Journal of Microbiology, 2005, Vol. 51, No. 8, 665–669.
- [23] LAWRENCE J.-R., SWERHON G.-D., TOPP E., KORBER D.-R., NEU T.-R., WASSENAAR L.I., *Structural and functional response of river biofilm communities to the non-steroidal anti-inflammatory diclofenac*, Environmental Chemistry, 2007, Vol. 26, No. 4, 573–582.
- [24] NAVES P., DEL PRADO G., HUELVES L., RODRIGEZ-CERRATO V., RUIZ V., PONTE M.-C., SORIANO F., *Effects of human serum albumin, ibuprofen, and N-acetyl-L-cysteine against biofilm formation by pathogenic Escherichia coli strains*, Journal of Hospital Infection, 2010, Vol. 76, 165–170.
- [25] O'TOOLE G., KAPLAN H.-B., KOLTER R., *Biofilm formation as microbial development*, Annual Review of Microbiology, 2000, Vol. 54, 49–79.
- [26] PAJE M.-L.-F., KUHLICKE U., WINKLER M., NEU T.-R., *Inhibition of lotic biofilm by diclofenac*, Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, Vol. 59, 488–492.
- [27] PROIA L., OSORIO V., SOLEY S., KOCK-SCHULMEYER M., PEREZ S., BARCELO D., ROMANI A.-M., SABATER S., *Effect of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impact river*, Environmental Pollution, 2013, Vol. 173, 220–228.
- [28] QUINTANA J.-B., WEISS S., REEMSTMA T., *Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor*, Water Research, 2005, Vol. 39, 2654–2664.
- [29] REZKA P., BALCERZAK W., *The occurrence of non-steroidal anti-inflammatory drugs in wastewater and water environment and methods of their removal-selected issues*, Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska, 2015, Vol. 17, No. 1, 33–38.
- [30] SALEM-MILANI A., GAJAN-BALAEI E., RAHIMI S., MOOSAVI Z., ABDOLLAHI A., MILANI-ZAKERI P., BOLOURIAN M., *Antibacterial effect of diclofenac sodium on Enterococcus faecalis*, Journal of Dentistry, 2013, Vol. 10, Vol. 1, 16–22.
- [31] TERNES T.-A., *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*, Pergamon, 1998, Vol. 32, No. 11, 3245–3260.
- [32] UMARU T., NWAMBA C.-O., KOLO I., NWODO U.-U., *Antimicrobial activity of non-steroidal anti-inflammatory drugs with respect to immunological response: Diclofenac sodium as a case study*, African Journal of Biotechnology, 2009, Vol. 8, No. 25, 7332–7339.
- [33] WINKLER M., LAWRENCE J.-W., NEU T.-R., *Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems*, Pergamon, 2001, Vol. 35, No. 13, 3197–3205.
- [34] ZHANG L., HU J., ZHU R., ZHOU Q., CHEN J., *Degradation of paracetamol by pure bacterial cultures and their microbial consortium*, Environmental Biotechnology, 2013, Vol. 97, 3687–3698.
- [35] ZHOU N.-Y., FUENMAYOR S.-L., WILLIAMS P.-A., *Genes of Ralstonia (formerly Pseudomonas) sp. strain U2 encoding enzymes of gentisate metabolism*, Journal of Bacteriology, 2001, Vol. 183, 7000–7008.

THE EFFECTS OF SELECTED NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS ON BIOFILM FORMATION AND ARCHITECTURE

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are a diverse group of biologically active substances with anti-pyretic, anti-inflammatory and analgesic activity. The most popular NSAIDs include: ibuprofen, naproxen, paracetamol, acetylic acid and ketoprofen. Easy access to NSAIDs, improper utilization procedure and lack of modern methods of treatment in wastewater treatment plants (WWTPs) targeted at this group of pollutants are the main reasons for the presence of NSAIDs in the environment. The paper presents effects of NSAIDs on bacterial biofilm formation and architecture. Biofilms are responsible for the increased resistance of biofilm-associated bacteria to antimicrobial agents and severe economic losses. On the other hand, bacterial species able to xenobiotics degradation and formation of biofilm are widely use in WWTPs. Hence, it appears reasonable to determine the effects of NSAIDs on bacterial cells. The most relevant changes induced by NSAIDs are decreased bacterial biomass, changes in species composition, DNA damage and inhibition of flagella production.



Wydawnictwa Politechniki Wrocławskiej są do nabycia w księgarni,
plac Grunwaldzki 13, 50-377 Wrocław, budynek D-1 PWr., tel. 71 320 29 35
Prowadzimy sprzedaż wysyłkową: zamawianie.ksiazek@pwr.edu.pl

ISBN 978-83-7493-943-0