

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Ochrona Środowiska

Część I



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2019

Redakcja naukowa

dr inż. Marcin Baran, IOR-PIB

dr inż. Jędrzej Nyckowiak, UPP

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-66139-18-3)

ISBN (wydanie online 978-83-66139-97-8)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-66139-98-5)

Ilość znaków w książce: 413 tys.

Ilość arkuszy wydawniczych: 10.3

Data wydania: kwiecień 2019

Niniejsza pozycja jest monografią naukową. Jej rozdziały zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych rozdziałów.

Spis treści

1. Ugory oraz odłogi i ich wpływ na ekosystem	7
<i>Cybulak Marta, Sokołowska Zofia</i>	
2. Zasady Schiffa jako potencjalne środki przeciwbakteryjne	13
<i>Dawid Gmitter, Paulina Sobczyk</i>	
3. Mikrofauna jako nowoczesna technika wykorzystywana w syntezie organicznej	21
<i>Kondej Magda, Stępnicki Piotr, Żuk Justyna, Kaczor Agnieszka A.</i>	
4. Metody oceny stanu środowiska w Polsce	29
<i>Dawid Piwowarski</i>	
5. Wprowadzenie do konstrukcji bezzałogowego statku powietrznego do monitoringu środowiska. Podstawy teoretyczne oraz wymagania prawne.	38
<i>Dawid Piwowarski</i>	
6. Biofilm bakteryjny wielogatunkowy – metody badania i wizualizacji na powierzchniach abiotycznych. Część I – przegląd metod barwiących i metabolicznych.	47
<i>Zuzanna Sycz</i>	
7. Biofilm bakteryjny wielogatunkowy – metody badania i wizualizacji na powierzchniach abiotycznych. Część II – przegląd metod genetycznych i fizycznych.	55
<i>Zuzanna Sycz</i>	
8. Agregacja gleby – mechanizm zjawiska i czynniki determinujące	62
<i>Szewczuk-Karpisz Katarzyna, Sokołowska Zofia</i>	
9. Badanie mechanizmu adsorpcji poliakryloamidowych flokulantów glebowych na powierzchni montmorylonitu w obecności jonów metali ciężkich	68
<i>Szewczuk-Karpisz Katarzyna, Fijałkowska Gracja, Wiśniewska Małgorzata</i>	
10. Zastosowanie biowęgla jako sorbenta do usuwania mineralnych i organicznych zanieczyszczeń z wody i gleby	76
<i>Agnieszka Tomczyk, Zofia Sokołowska, Patrycja Boguta</i>	
11. Właściwości węgla brunatnego i jego rolnicze wykorzystanie	82
<i>Agnieszka Tomczyk, Zofia Sokołowska, Patrycja Boguta</i>	
12. Analiza wybranych parametrów jakości wód jezior Lubelszczyzny	88
<i>Gmitrowicz-Iwan Joanna, Trzcńska Joanna</i>	
13. Wykorzystanie testu Q-Dixona, Grubbsa oraz Hampela do wykrywania obserwacji odstających w pomiarach piezometrycznych uzyskanych dla zapory Czaniec w latach 2010–2017	96
<i>Stanisław Lach</i>	
14. Analiza dynamiki zmian poziomu wody w piezometrach zamkniętych zapory Solina w latach 2010–2015	104
<i>Stanisław Lach</i>	
15. Interpretacja wyników pomiarów przemieszczeń uzyskanych na zaporze Dobczyce w roku 2015	111
<i>Stanisław Lach</i>	
16. Interpretacja wyników pomiarów przemieszczeń uzyskanych na zaporze Niedzica w roku 2016	119
<i>Stanisław Lach</i>	

Przedmowa

Opracowanie jest pracą zbiorową napisaną przez młodych naukowców chcących opublikować swoje dokonania na łamach wydawnictwa „Młodzi Naukowcy”. Przeznaczone jest dla wszystkich zainteresowanych zgłębianiem wiedzy z dość obszernego zakresu nauk przyrodniczych. Dzięki monografii czytelnicy szybko i dokładnie mogą zapoznać się, oraz stwierdzić jakie badania z zakresu nauk przyrodniczych są realizowane w naszym kraju i podejmowanie jakich wyznań daje wymierne efekty badawcze młodym naukowcom. Obecnie utrwała się coraz bardziej i powszechniej przekonanie, że stosowanie jedynie kompleksowych badań z zakresu wszystkich dziedzin nauki, prowadzi do pełniejszego zrozumienia procesów nimi kierujących, dlatego zawarcie w częściach monografii zebranych kompleksów badań może zaowocować szerszym spojrzeniem na wyniki badań oraz skorelować ze sobą pewne zależności oczekując wymiernych efektów ich współpracy.

Żywność i żywienie. W tej części monografii odniesiono się do tak bliskiemu nam wszystkim pojęcia żywienia i żywności. Odpowiednio zbilansowane pożywienie poprzez zaprawianie kompozycjami ziół i dodatków analizowane pod kątem przechowywania, fizykochemicznym, organoleptycznym oraz jakościowym może być produktem jeszcze doskonalszym o poprawionych i zbilansowanych wartościach odżywczych, wspomagającym ogólne samopoczucie. Uświadamianie nas w tej dziedzinie jest ważnym i pomocnym w budowaniu zasadności roli jaką odgrywa pożywienie w naszym życiu.

Ochrona środowiska – Część I. Jest wiele aspektów związanych z ochroną środowiska, i w zależności od punktu widzenia, każde z nich oddziałują na siebie czyniąc siebie w sposób ważnymi. W części pierwszej podjęto się zdefiniowania mechanizmów, opisanie czynników determinujących jakość wód i gleb, zastosowań nowych technik badawczych do opisu stanu i poprawy ich własności fizykochemicznych.

Nauki przyrodnicze – Część I, Fauna i flora. Rolnictwo coraz bardziej dynamicznie stara się wytwarzać produkty lepiej dostosowane do swoich odbiorców poprzez nieustanne badanie naturalnych symbioz między gatunkowych, zgłębianie wiadomości o roślinach i ich biomie oraz wytwarzania nowych odmian. Pozwala to doprecyzować produkt finalny, który poprzez dokonania młodych naukowców zawartych w tej monografii będzie lepszym.

Nauki przyrodnicze – Część II, Fauna. Znalazły się tu opisy bogatego świata zwierząt poczynając od kolorowego świata motyli, przedstawiając zagrożenia związane z hodowlą drobiu, zależnościach między naszymi najpopularniejszymi z milusińskich - psów i kotów, kończąc na wyzwaniach w hodowli koni i ciągłych zagrożeniach ze strony gryzoni.

Dzięki informacjom zawartym w każdej monografii, napisanej poprawnym językiem polskim, czytelnicy będą mogli dowiedzieć się o różnorodnej pracy wykonanej przez młodych naukowców, a gdy ta publikacja trafi do rąk adeptów rozpoczynających drogę naukową na polu nauk biologicznych to pozwoli ona na właściwe przygotowanie się do planowania eksperymentów. Dzięki tej książce czytelnicy dowiadują się jakie badania w ubiegłym sezonie były ważne i miały znaczenie dla młodych naukowców zgłębiających szeroko pojęte zawilości nauk przyrodniczych. Podsumowując stwierdzam, że praca ta jest bardzo potrzebna i będzie przydatna w planowaniu badań dla młodych naukowców w Polsce. Jest to jedyne takie opracowanie w naszym kraju i jak mi wiadomo istnieje duże zapotrzebowanie na informacje zawarte w tej książce. Dobrze, że taka pozycja ukaże się w naszym kraju. Oceniam tę książkę bardzo dobrze i myślę, że korzystający z niej będą tego samego zdania.

dr inż. Marcin Baran
Instytut Ochrony Roślin – PIB

1. Ugory oraz odłogi i ich wpływ na ekosystem

Fallow lands and their impact on the ecosystem

Cybulak Marta, Sokołowska Zofia

Zakład Fizykochemii Materiałów Porowatych,
Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk
ul. Doświadczalna 4, 20 – 290 Lublin

Marta Cybulak: m.cybulak@ipan.lublin.pl

Słowa kluczowe: nieużytki, grunty rolne, zmianowanie, rolnictwo

Streszczenie

W pracy omówiono problematykę ugorowania i odłogowania gleb w Polsce, przedstawiono ponadto wpływ ugorów i odłogów na ekosystem. Ugór od zawsze stanowił nieodłączny element płodozmianu. Początkowo główny cel ugorowania gleb stanowiła konieczność ciągłej poprawy ich jakości i produktywności. Wraz z upływem czasu, nieustannym postępem technologicznym, intensyfikacją i specjalizacją rolnictwa, ugór tracił na znaczeniu. Obecnie, nowoczesne rolnictwo intensywnie ewoluuje ku systemowi zrównoważonemu, dzięki czemu trend ugorowania gruntów uprawnych ponownie staje się coraz bardziej popularny w wielu gospodarstwach rolnych. Z kolei odłogowanie gruntów uprawnych było m.in. wynikiem, wprowadzonego pod koniec lat 80 – tych XX wieku w krajach Unii Europejskiej w ramach Wspólnej Polityki Rolnej, programu *Set – Aside Land Option* (Program Odłogowania Gruntów Uprawnych). Głównym założeniem programu było utrzymanie okrywy roślinnej przez okres zimy i usunięcie jej latem następnego roku, czego skutkiem była poprawa warunków glebowych i wzrost różnorodności biologicznej.

1. Wstęp

Wszystkie grunty, które są bezpośrednio lub tylko częściowo wykorzystywane do produkcji rolnej zalicza się do użytków rolnych. Obejmują one grunty orne, trwałe użytki zielone, plantacje wieloletnie, ogródki przydomowe, stawy rybne oraz inne powierzchnie znajdujące się w ewidencji gruntów takie jak odłogi, ugory, nieużytki i tzw. grunty marginalne (Nowicki i in. 2007).

W Polsce znaczna część areału rolniczego wykorzystywana jest w sposób mało efektywny. Przede wszystkim wpływ na to mają: jakość gleb, ekstensywne metody produkcji jak również opóźnienie cywilizacyjno – oświatowe (Woś 2005). Zmniejszanie się obszaru użytków rolnych trzeba potraktować jako proces wyłączenia z produkcji mało urodzajnych gleb i przeznaczania ich na inne cele (Jankowiak 2005).

W historii światowego rolnictwa ugór znany był już od bardzo dawna jako nieodłączna część zmianowania. Jego istota polegała na trzyletniej rotacji zmianowania, którą rozpoczynało pole nieobsiewane (ugór), po nim siano zboże jare, a następnie ozime. W Polsce system ten rozprzestrzenił się dopiero po upływie kilku stuleci.

2. Opis zagadnienia

Znaczną część współczesnych krajobrazów rolniczych, zwłaszcza w krajach rozwiniętych gospodarczo, cechuje uproszczona struktura przestrzenna i ekologiczna przy równoczesnym intensywnym użytkowaniu (Marks i Nowicki 2005). Często powoduje to powolną, negatywną transformację środowiska, co może prowadzić do jego nieodwracalnej degradacji. Następstwem są zmiany w strukturze i funkcjonowaniu krajobrazu rolniczego. Intensyfikacja rolnictwa często oznacza specjalizację gospodarstw w produkcji roślinnej lub/i zwierzęcej.

W produkcji roślinnej prowadzi to do spadku liczby uprawianych gatunków, uproszczeń w zmianowaniu, zdominowaniu zasiewów przez zboża, jak również upowszechniania się monokulturowej uprawy roślin towarowych (Marks i Nowicki 2005). Stosowanie wysokich dawek

nawozów mineralnych i środków ochrony roślin może przyczyniać się do eutrofizacji wód powierzchniowych i podziemnych w wyniku przenikania do nich pierwiastków biogennych. Użytkowanie ciężkich maszyn rolniczych wywołało w glebach uprawnych niekorzystne zmiany fizyczne, chemiczne i biologiczne skutkujące m.in. degradacją tych gleb.

Przekształcenia ustrojowe i gospodarcze, połączone ze spadkiem opłacalności produkcji rolnej spowodowały, że już od kilkunastu lat w Polsce ponad milion hektarów użytków rolnych przestało pełnić swoją dotychczasową funkcję (Jankowiak 2005). Stały się one w przeważającej części odłogami – terenami, na których zaprzestano produkcji rolniczej i latami nie uprawiano. Takie grunty podlegają po pewnym czasie wtórnej sukcesji roślinnej i zaczynają tworzyć ekosystemy charakterystyczne dla danego siedliska. Odłogowanie pól uprawnych skutkuje szybkim rozwojem i namnażaniem się gatunków roślin zachwaszczających sąsiednie agroekosystemy. Chwasty pozbawione konkurencji w postaci roślin uprawnych, charakteryzujące się wysoką płodnością i różnorodnością sposobów rozsiewania się, są istotnym źródłem zachwaszczenia sąsiadujących pól uprawnych (Rola i Rola 2000). Wczesne stadia odłogowania, poza obniżeniem walorów estetycznych krajobrazu, prowadzą do nagromadzenia się chwastów segetalnych i ruderalnych.

Gleby wyłączone z produkcji rolniczej i pozostawione bez kontroli człowieka ulegają degradacji wyrażającej się zmianami we właściwościach fizycznych, silnym zachwaszczeniem aktualnym i potencjalnym oraz przesuszeniem. Tomaszewicz i Chudecka (2010) stwierdzili, że proces odłogowania i wieloletniego ugorowania powoduje znaczące zakwaszenie gleby, zmniejszenie wysycenia kompleksu sorpcyjnego kationami zasadowymi, zubożenie w przyswajalne formy magnezu, potasu i fosforu oraz wzrost zawartości glinu wymiennego. Odłogowanie natomiast spowodowało poprawę właściwości wodno – powietrznych gleby. Według Barriosa i innych (2005) wieloletnie ugorowanie może korzystnie wpływać na gleby poprzez zwiększenie zasobności w materię organiczną. Gleby odłogowane i ugorowane wykazują wyższą aktywność biologiczną w porównaniu z glebami uprawnymi.

3. Przegląd literatury

Ugory stanowiły nieodłączny element systemów użytkowania gleby, praktycznie od początków rolnictwa aż do połowy XIX wieku, kiedy to zaczęto wprowadzać nowoczesny system płodozmienny oparty o zmianowanie norfolkskie. Pole przeznaczone wcześniej pod ugor zaczęto wykorzystywać pod uprawiane na oborniku rośliny okopowe (początkowo burak pastewny, później burak cukrowy lub ziemniak) oraz rośliny motylkowe wieloletnie (lucerna, koniczyna). Wzbogacały one glebę w azot wiązany z powietrza, ponadto skutecznie hamowały rozwój chwastów na skutek zacieniania gleby (Nowicki i in. 2007).

Wraz z postępowaniem technicznym, technologicznym oraz biologicznym w rolnictwie europejskim w II połowie XX wieku ugorowanie traciło na znaczeniu, co głównie wynikało z możliwości stosowania nawozów mineralnych oraz herbicydów.

Po zakończeniu drugiej wojny światowej najważniejszym problemem w całej Europie stały się niedobory żywności, w związku z czym przyjęto postanowienia Wspólnej Polityki Rolnej w ramach Traktatu Rzymskiego z 1957 roku. Główne cele to wzrost produktywności i samowystarczalności rolnictwa. Przez kolejne lata, trend wzrostu wytwórczości utrzymywał się, konsekwencją czego, w latach osiemdziesiątych w wielu wysoko rozwiniętych krajach europejskich, obserwowano znaczną nadwyżkę płodów rolnych – głównie ziarna, mięsa, mleka, masła i wina (Parlińska 2002). Gospodarki tych krajów zareagowały między innymi zmniejszeniem intensywności procesów wytwórczych i ograniczaniem areałów upraw poprzez okresowe wyłączanie części gruntów uprawnych z rolniczego użytkowania, czyli poprzez ugorowanie.

W nowoczesnym europejskim rolnictwie i w warunkach racjonalnej gospodarki, ugorowanie stanowi ważną część systemu. Właściciele gospodarstw otrzymują dotacje rekompensujące straty wynikające z braku pozyskiwania plonów z ugorowanej części pól. Warunkiem jest utrzymywanie pól w takiej sprawności, aby w dowolnym momencie można na nich było rozpocząć uprawę roli. Oznacza to, iż czasowe wyłączanie gruntów z produkcji rolnej to proces planowany, sterowany i ekonomicznie zabezpieczony, mimo to, powierzchnie ugorowane pozostają integralną składową przestrzeni rolniczej z zachowaniem integralności siedliska (Nowicki i in. 2007).

Zmiany gospodarcze zaistniałe w Polsce po 1989 roku, zwłaszcza zmniejszenie opłacalności produkcji rolnej na skutek niekorzystnych zmian relacji cen artykułów rolnych do cen nawozów i środków produkcji, przyczyniły się do wyłączenia z produkcji roślinnej części gruntów rolnych i powstania odłogów oraz ugorów. W pierwszej kolejności zaniechano użytkowania gleb piaszczystych o niskiej produktywności, szczególnie narażonych na zakwaszenie (Tomaszewicz i Chudecka 2010). Pod koniec lat 90 – tych XX wieku, powierzchnia nieużytków w Polsce wynosiła ponad 2 mln ha.

Powstawaniu odłogów w Polsce towarzyszyła również dość powolna prywatyzacja państwowego mienia rolnego. Na przełomie XX i XXI wieku ich występowanie było zbieżne z występowaniem państwowych gospodarstw rolnych – najczęściej w województwach zachodnich i północno – wschodnich. Obecnie ta struktura przestrzenna ulega pewnym zmianom, niemniej jednak odłogi nadal pozostają negatywnym obrazem cywilizacyjnej gospodarki i jak najszybciej powinny zniknąć z krajobrazu polskiej wsi – po wstąpieniu Polski do Unii Europejskiej i wprowadzeniu dopłat obszarowych w ciągu około 5 lat zagospodarowano około 1,5 mln ha (Jankowiak 2005).

Integracja z innymi krajami Unii Europejskiej wymaga m.in. uporządkowania gospodarki gruntów w Polsce, co oznacza, iż powszechne odłogowanie gleb powinno zostać zastąpione systemowym ugorowaniem. W krajach unijnych podstawową formą ugorowania, czyli konserwacji gruntów, jest ekstensywne użytkowanie danego pola poprzez obsiewanie go roślinami pastewnymi jednorocznymi, jak też wieloletnimi (trawy, rośliny motylkowate) z myślą o akumulacji materii organicznej. Drugą, rzadziej spotykaną formą jest utrzymywanie ugoru czarnego, czyli niezawierającego roślinności, na którym wykonywana jest odpowiednia pielęgnacja mechaniczna (Marks i in. 2000). Wyniki dotychczasowych badań pokazują, że najbardziej racjonalnym sposobem konserwacji gleby jest właśnie pokrycie jej roślinnością. Na gleby słabsze przy rocznym ugorowaniu powinno stosować się gatunki roślin ozimych i jarych uprawianych w formie międzyplonów. Na ugory dwu- i trzyletnie zalecane są rośliny gwarantujące trwałe zadarnienie (Czarnecki i in. 1994). Krótkotrwałe ugorowanie za pomocą obsiewu, tzw. ugór zielony, nie jest wskazane z ekonomicznego punktu widzenia, autorzy sugerują stosowanie ugoru czarnego lub też herbicydowego (utrzymywanie za pomocą herbicydów). Takie rozwiązanie może być korzystniejsze w przypadku gleb o lepszej jakości, przewidzianych do ponownej uprawy roślin towarowych (Rola i Rola 2000).

W krajach o wysoko rozwiniętym rolnictwie, ugór jest poddawany różnym zabiegom utrzymującym go w sprawności agrotechnicznej. W Polsce ta kwestia nie jest do końca rozwiązana, zarówno ustawowo, jak też z punktu widzenia praktyki rolniczej, do której należy wypracowanie racjonalnych sposobów konserwacji gleby ugorowanej. Popularne w ostatnich latach samozadarnianie, a następnie jedno- lub dwukrotne przykaszanie pojawiających się chwastów i traw jest wprawdzie najtańszą, ale również najbardziej prymitywną formą ugorowania. Wciąż więc istnieje potrzeba opracowania takich metod, które zapewnią warunki do wznowienia produkcji roślinnej i równocześnie nie będą zagrażać stabilności ekosystemu (Podstawka – Chmielewska i Kurus 2011). Niezbędne jest przestrzeganie kilku niezwykle ważnych zasad, które zapewniają pełną realizację celów przyrodniczo – ekonomicznych gruntów ugorowanych, przy równoczesnym zachowaniu niskich kosztów ich ponownego przywracania do funkcji produkcyjnych.

Pomimo zaniechania uprawy roli, w glebie zachodzą zmiany właściwości fizykochemicznych, zmienia się również ilość i skład gatunkowy roślinności.

Opinie dotyczące kierunku zmian zachodzących w glebie ugorowanej i odłogowanej są podzielone (Włodek i in. 2014). Badania Orłowskiego i Nowaka (2004) przeprowadzone na terenie Europy Zachodniej i Stanów Zjednoczonych potwierdzają pozytywny wpływ odłogowania na środowisko glebowe, wody powierzchniowe, a także na procesy fizykochemiczne zachodzące w obrębie agroekosystemów. Natomiast według Kurusa (2010), wieloletnie zaniechanie uprawy przyczynia się do zmian w składzie gatunkowym chwastów nie tylko na terenie odłogowanym, ale również na sąsiednich polach uprawnych.



Rys. 1. Poletko doświadczalne ugoru czarnego założone w Lublinie, w dzielnicy Felin.



Rys. 2. Pobór prób glebowych z poletka doświadczalnego (ugór czarny) w celu analizy zmian właściwości fizykochemicznych gleby.

Według doniesień Krajowej Rady Izb Rolniczych (KRIR) w ostatnich latach rolnicy ponoszą coraz większe straty w wyniku ugorowania gruntów uprawnych. Straty te, nie są jednakże wynikiem tzw. planowanego ugorowania (zmniejszone zasiewy pól uprawnych), co ma na celu umożliwienie „odpoczynku” pola w celu późniejszego zwiększonego i bardziej efektywnego plonowania roślin. Powodem są właśnie chwasty zarastające coraz większe arealy rolniczych gruntów w kraju, ugorowanych przypadkowo. Przypadkowo z uwagi na fakt, iż pola nie są nawet obsiewane roślinnością trawiastą przez właścicieli mieszkających i pracujących w mieście. Niestety, trend ten jest podtrzymywany również przez rolników mieszkających na wsi, którzy twierdzą, że obsiewanie jednego czy też dwóch hektarów jest po prostu nieopłacalne. Chwasty zarastają owe pola, następnie rozsiewają się na sąsiednie grunty uprawne, których właściciele muszą stosować na nich dodatkowe opryski. Jest to także bardzo niekorzystne działanie nie tylko z ekologicznego, ale i z ekonomicznego punktu widzenia. Takie opryski są stosunkowo drogie, przez co w znacznym stopniu zwiększają koszt produkcji np. uprawianego na takim polu zboża. Co więcej, na ugory wchodzą dzikie zwierzęta, tworzą tam żerowiska, które następnie przenoszą na pola obsiane (zbożem, burakami, ziemniakami) (Kowalczyk 2014).

4. Podsumowanie

Proces ugorowania zachowuje walory gleb na niezmiennym poziomie (konserwacja), a nawet powoduje ich wzrost (regeneracja), pod warunkiem stosowania odpowiednich zabiegów, które wpływają na tempo i kierunek zmian w szacie roślinnej i we właściwościach biochemicznych oraz fizykochemicznych. W ostatnich latach w rolnictwie polskim obserwuje się radykalne zmiany – struktura zasiewów została zdominowana przez łatwe do zmechanizowania i znajdujące nabywców gatunki, czyli zboża. Ich narastająca koncentracja może jednak stwarzać zagrożenie dla agroekosystemów. W Polsce nadal nierozwiązana pozostaje kwestia czasowego wyłączenia z produkcji rolniczej gruntów uprawnych. Głównym problemem wydaje się być likwidacja odłogów na rzecz ugorów, które niegdyś stanowiły tradycyjne ogniwo agrotechniki, dziś natomiast jawią się jako integralna część zmianowania.

W historycznym rozwoju rolnictwa ugór miał duże znaczenie, ponieważ stanowił nieodłączny element płodozmienu, który miał na celu utrzymanie lub/ oraz podnoszenie potencjału produkcyjnego gleby. Była to wówczas jedyna skuteczna metoda regeneracji i utrzymania żyzności gleby. Obecnie, jednym z głównych celów ugorowania jest nadprodukcja żywności. „Powrót” do ugorowania dodatkowo uzasadnia okoliczność, iż dotychczasowe rolnictwo intensywnie ewoluuje w kierunku systemu zrównoważonego, po części nawet ku rolnictwu ekologicznemu.

5. Literatura

- Barrios E, Cobo JG, Rao IM i in. (2005) Fallow management for soil fertility recovery in tropical Andean agroecosystems in Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 110, 29 – 42
- Czarnecki A, Seledyn Z, Barcikowski A (1994) Zasady konserwacji i ochrony gatunków rolnych czasowo wyłączonych z produkcji. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2, 19 - 35
- Jankowiak J (2005) Zmiany użytkowania ziemi w okresie transformacji w Polsce. W: *Ochrona środowiska w gospodarce przestrzennej* pod red. R. Ryszkowskiego i A. Kędziory. Zakład Badań Środowiska Rolniczego i Leśnego PAN w Poznaniu, 115 - 125
- Kowalczyk A (2014) <https://www.rp.pl/artukul/1076045-Coraz-wiecej-ugorow-i-chwastow-na-gruntach-rolnych-w-Polsce.html>
- Kurus J (2010) Zachwaszczenie pól sąsiadujących z wieloletnimi odłogami na dwóch typach gleb. *Fragm. Agron.* 27(2), 84 – 93
- Marks M, Nowicki J (2005) Niektóre aspekty gospodarowania ziemią rolniczą w Polsce po integracji z Unią Europejską. *Zagadnienia Ekonomii Rolnej*, 3, 33 – 44
- Marks M, Nowicki J, Szwejkowski Z (2000) Odłogi i ugory w Polsce. Część II. Sposoby zagospodarowania. *Fragmenta Agronomica*, 1, 20 – 34
- Nowicki J, Marks ., Makowski P (2007) Ugór jako element współczesnego krajobrazu rolniczego. *Fragmenta Agronomica*, 24, 4(96), 48 – 57

- Nowicki J, Marks M, Makowski P (2007) Ugór jako element współczesnego krajobrazu rolniczego. *Fragmenta Agronomica* 4(96), 49 – 57
- Orłowski G, Nowak L (2004) Problematyka odłogowania gruntów w świetle wyników badań prowadzonych w krajach Europy Zachodniej i Stanach Zjednoczonych. *Acta. Sci. Pol., Agricultura* 3(2), 27 – 36
- Parlińska M (2002) Zagospodarowanie gruntów nieużytkowanych rolniczo w Unii Europejskiej (uregulowania prawne). W: *Zagospodarowanie gruntów rolnych nieużytkowanych rolniczo*. Wyd. SGGW Warszawa, 175 - 182
- Podstawka – Chmielewska E, Kurus J (2011) Wpływ sposobu ugorowania na niektóre właściwości fizyczne gleby. *Fragmenta Agronomica* 28(2), 71 – 78
- Rola J, Rola H (2000) Problem odłogów na gruntach porolnych i perspektywy ich racjonalnego zagospodarowania. *Pamiętnik Puławski*, 20, 361 – 366
- Tomaszewicz T, Chudecka J (2010) Wpływ odłogowania na wybrane właściwości gleb piaszczystych. *Folia Pomeranae Univeristatis Technologiae Stetinensis, Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*, 278(14), 107 - 112
- Włodek S, Sienkiewicz – Cholewa U, Biskupski A i in. (2014) Porównanie wybranych cech środowiskowych pola uprawnego i odłogowanego. *Inżynieria Ekologiczna* 38, 51 – 59
- Woś A (2005) *Możliwości prowadzenia przez Polskę narodowej polityki rolnej w ramach wspólnej polityki rolnej*. Komunikaty, Raporty, Ekspertyzy (503), Wydawnictwo IERiGŻ, Warszawa

2. Zasady Schiffa jako potencjalne środki przeciwbakteryjne

Schiff's bases as a potential antibacterial agents

Dawid Gmiter, Paulina Sobczyk

Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Opiekun naukowy: Wiesław Kaca

Dawid Gmiter: dawid.gmiter@ujk.edu.pl

Słowa kluczowe: lekooporność, antybiotykoterapia, ESKAPE, nowoczesne metody terapeutyczne

Streszczenie

Na przestrzeni lat bakterie wykształciły liczne mechanizmy oporności na antybiotyki, w wyniku czego stają się one coraz trudniejsze w eradykacji. Drobnoustroje niosące największe zagrożenie stanowią grupę sześciu antybiotykoopornych gatunków bakterii. Grupę tę określa się akronimem ESKAPE. Problem lekooporności szczepów bakteryjnych jest jednym z najważniejszych zagadnień współczesnej mikrobiologii. Stale poszukiwane są nowocześniejsze i bardziej skuteczne metody terapeutyczne, które mogłyby w przyszłości zastąpić klasyczne antybiotyki. Jednym z przykładów związków o potencjale środków przeciwbakteryjnych wydają się być zasady Schiffa. Zasady Schiffa są związkami ketono- lub aldehydopodobnymi, w których grupa karbonylowa (C=O) została zmieniona na grupę iminową (C=N) bądź azometinową (HC=N). Dostępne w literaturze wyniki badań pokazują, że zasady Schiffa oraz ich kompleksy z metalami przejściowymi, wykazują szeroką aktywność przeciwdrobnoustrojową i mogą stanowić środki hamujące ważne czynniki wirulencji bakterii patogennych. Niniejsza praca stanowi zwięzłe wprowadzenie w tematykę problemu mechanizmów lekooporności szczepów bakteryjnych oraz osiągnięć w dziedzinie badań nad zastosowaniem zasad Schiffa jako czynników przeciwbakteryjnych.

1. Wstęp

Odkrycie penicyliny przez Aleksira Fleminga, a następnie wprowadzenie innych naturalnych i półsyntetycznych antybiotyków zrewolucjonizowało medycynę oraz zapoczątkowało nowy etap w walce z mikroorganizmami chorobotwórczymi. Umożliwiło to leczenie chorób zakaźnych, które dotykały miliony osób, a w najcięższych przypadkach prowadziły do śmierci ludzi oraz zwierząt. Jednak niewłaściwe stosowanie i coraz większe ich spożycie spowodowało już w latach 50. XX wieku pojawienie się pierwszych bakteryjnych szczepów opornych. Wśród nich można wyróżnić, m.in. gronkowce odporne na metycylinę, enterokoki odporne na wankomycynę oraz pneumokoki odporne na penicyliny. Wykazano, że wankomycyna nazywana „antybiotykiem ostatniej szansy” jest nieskuteczna w przypadku infekcji wywołanych przez szczepy paciorkowców i gronkowców (Popowska 2017). Problem lekooporności szczepów bakteryjnych stanowi jedno z najważniejszych zagadnień współczesnej mikrobiologii. Wielu badaczy skupia się na opracowywaniu nowoczesnych metod terapeutycznych, które miałyby zastąpić klasycznie stosowane antybiotyki. Wśród środków o potencjale czynników przeciwbakteryjnych wymienia się m.in. zasady Schiffa.

2. Przegląd literatury

2.1 Przykłady szczepów wielolekoopornych

Zakażenia wywoływane przez bakterie chorobotwórcze są istotną przyczyną zachorowalności oraz śmiertelności ludzi na całym świecie. Drobnoustroje niosące największe zagrożenie zostały zgrupowane w sześć antybiotykoopornych gatunków bakterii. Grupę tę określa się akronimem ESKAPE i stanowią ją kolejno: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter sp.*. Mikroorganizmy te posiadają zdolność do „ucieczki” przed lekami antybakteryjnym, przez co mogą

wywoływać poważne infekcje szpitalne jak i pozaszpitalne. Gatunki bakterii oraz ich rodzaje oporności na antybiotyki zostały przedstawione w tabeli 1 (Boucher i in.. 2009).

Tab. 1. Antybiotykooporne gatunki bakterii należące do grupy ESKAPE .

ESKAPE	Gatunek bakterii	Rodzaj oporności	Antybiotyki
E	<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	wankomycyna
S	<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA, VRSA	metacylina, wankomycyna
K	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CRE	β -laktamy (karbapenemy)
A	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MDR	karbapenemy
P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MDR	β -laktamy (karbapenemy, cefalosporyny), aminoglikozydy, fluorochinolony
E	<i>Enterobacter</i> sp.	ESBL, CRE	β -laktamy (penicyliny, cefalosporyny, karbapenemy)

CRE - Carbapenem-Resistant

Enterobacteriaceae

ESBL - Extended spectrum beta-lactamase producing

MDR - Multidrug-Resistant

MRSA - Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

VRE - Vancomycin-Resistant *Enterococci*

VRSA - Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*

2.2 Przykładowe mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki

Antybiotykooporność jest ewolucyjnie pożądaną cechą szczepów bakteryjnych, która zapewnia przetrwanie w obecności antybiotyku. Wyróżnia się antybiotykooporność wrodzoną oraz nabytą. Oporność wrodzona to naturalna niewrażliwość pewnych szczepów bakteryjnych na antybiotyki. Jest ona możliwa dzięki różnym uwarunkowaniom strukturalnym komórki bakteryjnej, np. zmniejszona przepuszczalność ściany komórkowej, co utrudnia wnikanie antybiotyku do jej wnętrza. Natomiast oporność nabyta polega na uzyskaniu cechy niewrażliwości na dany antybiotyk przez bakterie wcześniej na nie wrażliwe. U podstaw tego typu oporności leżą mutacje spontaniczne genomu, które wynikają z adaptacji bakterii do środowiska, w którym powszechnie są stosowane antybiotyki. Ten rodzaj nabywania oporności spotykany jest głównie w środowisku naturalnym. Drugim mechanizmem pozyskiwania oporności nabytej jest horyzontalny transfer genów (HGT – Horizontal gene transfer), który występuje w środowisku bogatym w mikroorganizmy i może zachodzić między szczepami bakteryjnymi tego samego gatunku lub różnych gatunków, rodzajów czy rodzin. Polega on na przenoszeniu genów oporności znajdujących się na ruchomych elementach genetycznych jak plazmidy czy transpozony z komórki bakteryjnej odpornej na dany antybiotyk do komórki bakteryjnych na niego wrażliwą. HGT zachodzi za pomocą trzech procesów. Dwa z nich polegają na przekazaniu materiału genetycznego z komórki do komórki – koniugacja, transformacja, a trzeci proces odbywa się z wykorzystaniem wektora - transdukcja (Popowska 2017).

Bakterie ukształtowały wiele mechanizmów oporności. Do głównych strategii oporności drobnoustrojów należą:

- Enzymatyczna inaktywacja antybiotyków, np. β -laktamazy

- Aktywne usuwanie leku z komórki bakteryjnej – pompy efflux
- Modyfikacja struktury antybiotyku oraz zmiana jego miejsca działania
- Zmniejszenie przepuszczalności ściany komórkowej

Najwcześniej poznanym mechanizmem oporności bakterii na antybiotyki jest wytwarzanie enzymów prowadzących do inaktywacji leku. Mechanizm ten bazuje na różnych strategiach modyfikacji struktury substancji antybakteryjnych, tj. hydroliza, przenoszenie grup funkcyjnych czy innych modyfikacjach chemicznych. Do najlepiej poznanych enzymów zalicza się β -laktamazy. Unieczynnają one antybiotyki β -laktamowe, do których należą m.in.: penicyliny, karbapenemy, cefalosporyny oraz monobaktamy. Mechanizm działania tych antybiotyków polega na inhibicji białek PBP, które biorą udział w syntezie ściany komórkowej mikroorganizmów. Wytwarzanie przez bakterie β -laktamaz prowadzi do hydrolitycznego rozszczepienia pierścienia β -laktamowego obecnego w antybiotykach β -laktamowych. Wyróżnia się dwa mechanizmy działania β -laktamaz. Pierwszy z nich polega na działaniu miejsca aktywnego, w którym znajduje się nukleofil Ser. Enzymy działające według tego mechanizmu nazywane są Ser- β -laktamazami. Enzymy te podzielono na cztery główne grupy:

- Grupa I – Ser- β -laktamazy; cefalosporyny słabo hamowane przez kwas klawulanowy (inhibitor β -laktamaz)
- Grupa II - Ser- β -laktamazy; penicyliny wrażliwe na kwas klawulanowy o szerokim spektrum działania
- Grupa III – metalo- β -laktamazy; hamowane przez EDTA
- Grupa IV - Ser- β -laktamazy; laktamazy słabo hamowane przez kwas klawulanowy

Drugi mechanizm związany jest z obecnością kationu cynku – Zn^{2+} w centrum aktywnym enzymów zwanych metalo- β -laktamazami, który oddziałuje z antybiotykiem, co prowadzi do otwierania pierścienia β -laktamowego. β -laktamazy można również podzielić na trzy kategorie, które grupują dodatkowo je ze względu na, m.in.: sekwencje aminokwasów, wrażliwość inhibitora czy preferencje substratu (Wright 2005; Nikonorow i in.. 2013).

Kolejnym mechanizmem oporności bakterii są pompy efflux. Należą one do grupy białek transportujących znajdujących się w błonie komórkowej, a ich zadaniem jest transport antybiotyku lub innych toksycznych substancji z wnętrza komórki bakteryjnej do środowiska zewnętrznego. Dzięki temu zmniejsza się stężenie szkodliwych związków w cytoplazmie komórki a bakterie przeżywają. Pompy efflux mogą być swoiste, czyli wyspecjalizowane w transporcie konkretnej klasy związków przeciwbakteryjnych lub mogą transportować wiele strukturalnie odmiennych substancji antybakteryjnych. W komórkach bakteryjnych wyróżniono pięć głównych, niespokrewnionych ze sobą rodzin transporterów:

- MF (major facilitator);
- RND (resistance-nodulation – division);
- MATE (multidrug i toxic efflux);
- SMR (small multidrug resistance).

Wśród powyżej wymienionych pompami najczęściej występującymi u bakterii są pompy MF oraz RND. Transportery MF występują zazwyczaj u bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych i cechują się wąskim spektrum działania. Natomiast transportery RND znajdują się głównie w bakteriach Gram-ujemnych i charakteryzują się w przeciwieństwie do pomp MF szerokim spektrum działania. Wszystkie rodziny pomp różnią się między sobą głównie budową, mechanizmem działania oraz swoistością substratową. Geny kodujące pompy efflux mogą być obecne na chromosomie bakteryjnym jak i na plazmidach, czyli mobilnych elementach genetycznych. Pompy

efflux uważane są za pierwszą linię obrony bakterii przed substancjami toksycznymi (Khameneh i in.. 2016).

Ważnym mechanizmem oporności komórek bakteryjnych jest również zmiana miejsca działania antybiotyku oraz modyfikacja jego struktury. Bakterie odporne produkują enzymy, które powodują modyfikacje w strukturze rybosomów przez co antybiotyk nie może wiązać się z rybosomem. Dzięki temu możliwa jest ochrona rybosomu i nie dochodzi do zatrzymania translacji. Stosunkowo już niewielkie zmiany w sekwencji aminokwasów mogą w dużym stopniu zmieniać budowę białek, tak aby zahamować wiązanie i działanie antybiotyku. Przykład może stanowić metylotransferaza rybosomalna, gdzie enzymy Erm modyfikują rRNA, czyli rybosomalny RNA, dzięki czemu bakterie uzyskują oporność na linkozamidy, makrolidy oraz streptograminy typu B. Zmiany w rRNA poprzez potranskrypcyjną modyfikację czy mutację nadające oporność komórkom bakteryjnym stanowią coraz większy problem w zakażeniach klinicznych. Natomiast stosowanie dużej ilości antybiotyków hamujących syntezę białek przyczyniło się do uzyskania oporności na nie przez wiele patogenów. Bakterie są wyspecjalizowane również w produkcji enzymów, których celem jest modyfikacja antybiotyku, co powoduje zahamowanie jego związania z docelowymi receptorami lub białkami komórki bakteryjnej. Przykładem może być transacetylaza chloramfenikolu, która powoduje zmianę chloramfenikolu w acetylochloamfenikol, a ten nie przejawia działania antibakteryjnego (Ruiz i in.. 1999; Rosengren i in.. 2009; Kon i Rai 2016).

Innym mechanizmem oporności bakterii jest zmniejszenie przepuszczalności osłon komórkowych. Bakterie Gram-ujemne poza ścianą komórkową są otoczone dodatkową zewnętrzną błoną, która zbudowana jest z dwuwarstwy lipidowej. Głównym składnikiem tej struktury jest lipopolisacharyd, który wykazuje wpływ na wrażliwość bakterii wobec antybiotyków. Ma on charakter hydrofobowy, a więc utrudnia przejście substancji hydrofilowych. W związku z taką budową dwuwarstwy lipidowej znajdują się tam kanały wyspecjalizowane w transporcie związków hydrofilowych zwane porynami (Omps). Wytwarzane są one przez wiele gatunków bakterii, a do głównych z nich należą poryny: OmpF, OmpC oraz OmpE. Uszkodzenie lub zmiana ilości poryn wpływa na ograniczenie dostępu antybiotyku do komórki bakteryjnej. Przykładem bakterii wykorzystujących ten mechanizm może być *P. aeruginosa*, która w wyniku redukcji produkcji poryn wykazuje większą oporność na działanie antybiotyków β -laktamowych (Oliveira i in.. 2016).

2.3 Charakterystyka zasad Schiffa

Zasady Schiffa zostały po raz pierwszy opisane w XIX w., a ich odkrywcą był Hugo Schiff, od którego nazwiska zawdzięczają swoją nazwę. Zasady Schiffa są związkami ketono- lub aldehydopodobnymi, w których grupa karbonylowa (C=O) została zmieniona na grupę iminową (C=N) bądź azometinową (HC=N). Dlatego też inaczej są nazywane iminami lub azometinami. Wzór ogólny tych związków to: $R^1R^2C=NR^3$, gdzie R stanowi organiczny łańcuch boczny. Może nim być grupa alkilowa bądź aryłowa. Iminy, które w swojej strukturze zawierają grupę aryłową są stabilniejsze oraz łatwiej syntetyzowalne w przeciwieństwie do tych związków, które mają podstawniki alkilowe i są niestabilne. Zasady Schiffa są substancjami krystalicznymi bądź oleistymi. Związki te są generalnie nierozpuszczalne w wodzie, ale bardzo dobrze rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych. Zasady Schiffa mają charakter słabych zasad – w środowisku bezwodnym w obecności kwasów tworzą sole, natomiast w przypadku roztworów wodnych o odczynie kwaśnym ulegają reakcji hydrolizy w wyniku, której powstaje amina oraz aldehyd lub keton. Dzięki obecności aktywnej chemicznie grupy iminowej zwanej ugrupowaniem chromoforowym związki te posiadają intensywne zabarwienie żółte, pomarańczowe lub czerwone. Posiadają także zdolność do emisji fal świetlnych – luminescencji. Zasady Schiffa są związkami łatwymi do otrzymania w stanie krystalicznym. Powstają one w wyniku kondensacji aldehydów bądź ketonów z aminami pierwszorzędowymi. Mechanizm tej reakcji opiera się na nukleofilowym przyłączeniu aminy do grupy karbonylowej aldehydów lub ketonów. Reakcja ta przebiega z wytworzeniem produktu pośredniego – α -hydroksyloaminy, który jest stabilizowany przez eliminację cząsteczki wody, co prowadzi do wytworzenia produktu posiadającego podwójne wiązanie węgiel-azot, czyli zasady Schiffa. Duży wpływ na przebieg reakcji ma wartość pH środowiska. Przy niskim i wysokim pH reakcja zachodzi wolno, natomiast najlepiej przebiega przy pH 4-5, co stanowi

optymalne środowisko reakcji. Dzięki modyfikacjom reakcji syntez można otrzymać zasady Schiffa wielorakiego typu, jak dwu- czy wielodonorowego o budowie łańcuchowej lub makrocyclicznej. Cecha ta sprawia, że są to związki atrakcyjne ze względu na różnorodność strukturalną i również właściwości wiążące. Stanowią także jedne z najczęściej stosowanych związków w chemii organicznej (Kumar i Ravikant 2014; Nowicka i in.. 2014; Kumar i in.. 2017).

2.4 Zastosowanie zasad Schiffa jako środków o aktywności przeciwbakteryjnej

W czasach narastającej antybiotykoodporności zasady Schiffa stanowią obiecujące środki przeciwbakteryjne. Związki te zostały uznane za substancje, które przejawiają dobrą aktywność wobec bakterii patogennych (Murtaza i in.. 2014). Jednym z przykładów może być nowa klasa zasad Schiffa, bis-pirazoli otrzymana w wyniku reakcji kondensacji tlenków bis-{4-formylo-3-arylo-1H-pirazolo-1-ylo} fosfiny z aniliną, bromkiem fenacylu trifenylofosfoniowego oraz 4-fenylo-tiosemikarbazylu, a następnie poddanych działaniu kwasu tioglikolowego, fosfonianu dietylu lub bezwodnika octowego. Tak zsyntetyzowane związki za pomocą metody dyfuzyjno-krażkowej poddano ocenie aktywności przeciwbakteryjnej wobec bakterii Gram-dodatnich *S. aureus* oraz *S. pyogenes*, a także Gram-ujemnych *Pseudomonas phaseolicola* i *Pseudomonas fluorescens*. Otrzymane zasady Schiffa rozpuszczona w dimetyloformamidzie i naniesiono na krążki w stężeniu 1 mg/cm³ oraz 2mg/cm³, a następnie po okresie inkubacji zmierzono strefy inhibicji. Z siedemnastu zsyntetyzowanych zasad Schiffa tylko 3 związki wykazały dobrą aktywność przeciwdrobnoustrojową. Jednak była ona słabsza w porównaniu z lekiem cefalotinem (Abdel-aziz i in.. 2011).

Innym przykładem mogą być trzy zasady Schiffa otrzymane w wyniku reakcji siarczku 4,4-diaminodifenylu z pirolem-, tiofenem- oraz furanem-2-karboksyaldehydu. Właściwości przeciwbakteryjne tych związków oceniono wobec 6 szczepów bakteryjnych: *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* i *Serratia marcescens* z wykorzystaniem metody dyfuzyjno-krażkowej. Wszystkie związki miały podobny efekt bakteriobójczy wobec *E. coli*, a wartość minimalnego stężenia bakteriobójczego (ang. minimum bactericidal concentration, MBC) wyniosła <0,195 mg/mL. W przypadku pozostałych szczepów, które wykazywały niższą czułość zastosowanej metody dyfuzyjno-krażkowej nie wykazano działania bakteriobójczego otrzymanych zasad Schiffa (Mesbah i in.. 2018).

2.5 Zastosowanie zasad Schiffa w celu inhibicji czynników wirulencji szczepów bakteryjnych

Zasady Schiffa oprócz działania bakteriobójczego mogą posłużyć jako związki hamujące czynniki wirulencji bakterii. Czynniki wirulencji umożliwiają drobnoustrojom rozprzestrzenianie się i opanowanie organizmu gospodarza, a także niszczenie komórek oraz tkanek. Czynniki zjadliwości również są przyczyną ciężkich, trudnych do wyleczenia zakażeń bakteryjnych (Szczyba i in.. 2012).

Jednym z ważniejszych czynników wirulencji jest umiejętność formowania biofilmu przez szczepy bakteryjne. Mikroorganizmy tworzące biofilm są mniej wrażliwe na mechanizmy obronne organizmu gospodarza, czy też antybiotyki. W literaturze przedstawiono badanie pod kątem aktywności przeciwbiofilmowej zasad Schiffa (Kołwzan 2011). Przykładem może być siedem tiazolowych zasad Schiffa zsyntetyzowanych przez More'a i współ. (2014). Do badania użyto trzech związków, które wykazywały najlepszą aktywność przeciwbakteryjną wobec *P. aeruginosa*. W wyniku poddania szczepu *P. aeruginosa* hamującemu stężeniu zaobserwowano inhibicję tworzenia biofilmu w obecności wybranych zasad Schiffa. Obserwacje prowadzono z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego (More i in.. 2014).

Aktywność przeciwbiofilmową badano również wobec grzybów *Candida albicans* w obecności zasady Schiffa N-(3,5-dichlorosalicylideno)-4-(o-metoksyfenilo)-2-aminotiazolu. W przeprowadzonym eksperymencie *C. albicans* poddano różnym stężeniom związku. Zaobserwowano, że badana zasada Schiffa hamuje formowanie biofilmu zależnie od stężenia. Wraz ze wzrostem stężenia spadała ilość biofilmu bakteryjnego, a największe spadek widoczny był przy 125 ug/mL zasady Schiffa. (Karale 2016).

Z dostępnej literatury wynika, że zasady Schiffa były badane jako inhibitory ureazy, enzymu przyspieszającego hydrolizę mocznika, będącego kolejnym czynnikiem wirulencji *P. mirabilis*. Szczepy bakteryjne wykorzystujące ureazę są przyczyną ciężkich zakażeń bakteryjnych, np.

P. mirabilis podczas infekcji alkalizuje moczu w wyniku powstawania produktów hydrolizy takich jak amoniak czy karbaminian, co prowadzi do powstawania kamieni nerkowych. Czynnikiem jest ureaza, jednym z podstawowych czynników wirulencji. Przykładem takiego postępowania może być synteza osiemnastu zasad Schiffa będących pochodnymi hydrazonowymi oraz ocena ich aktywności przeciwureazowej. Wszystkie otrzymane związki wykazywały dobre działanie hamujące ureazę (Różalski i in.. 2007; de Fátima i in.. 2018).

Zasady Schiffa charakteryzują się dobrymi właściwościami przeciwbakteryjnymi, co może mieć bezpośredni związek z regulacją ekspresji genów komórek bakteryjnych. W literaturze omówiono także wiele przykładów wpływu zasad Schiffa na ekspresję genów wirulencji. Przykładem badań nad zasadą Schiffa będącą związkiem regulującym ekspresję genów może być praca Xia i współ. (2015). Ich celem była ocena wpływu aktywności przeciwdrobnoustrojowej zasad Schiffa pochodzących z benzaldehydu na metabolizm oraz ekspresję genów wirulencji u *E. coli*, *Bacillus subtilis* oraz *S. aureus* z wykorzystaniem reakcji PCR w czasie rzeczywistym z odwrotną transkryptazą (RT-PCR). W przypadku *E. coli* dokonano pomiaru ekspresji genów *cysB*, *acrA*, *iroD*, *tsh* oraz genu kontrolnego *gapA*. Wyniki wykazały, że jedna z otrzymanych zasad Schiffa wykazywała znaczny efekt hamujący ekspresję genu *cysB* uczestniczącego w szlaku biosyntezy cysteiny. W przypadku genu *acrA*, odpowiadającego za integralność błon komórkowych u *E. coli* wykazano, że niektóre otrzymane związki mogą pobudzić i w niewielkim stopniu hamować ekspresję tego genu w porównaniu z genem kontrolnym *gapA*. Wyniki dotyczące genu *tsh* kodującego hemaglutyninę oraz genu *iroD* kodującego esterazę były podobne i obserwowano zmniejszenie ekspresji tych genów pod wpływem działania zasad Schiffa. W przypadku *B. subtilis* badanie dotyczyło ekspresji genów związanych z hemolizą *yqhB*, *yhdT*, *yqhC*, *yhdP*, *yugS* z wykorzystaniem genu kontrolnego *16sRNA*. Wyniki wykazały, że ekspresja wszystkich wyżej wymienionych genów była mniejsza, co sugeruje silne zaangażowanie genów związanych z hemolizą w hamowaniu *B. subtilis*. Badano również wpływ związków zasad Schiffa na ekspresję genów *saeR*, *hla*, *mecA*, oraz *sbi* u *S. aureus* odpowiadających za czynniki wirulencji. Ekspresja genu *saeR* odpowiedzialnego za zmiany skórne u myszy była podwyższona w przypadku niektórych związków w porównaniu do genu kontrolnego *gyrB*. Wyniki dotyczące genu *hla* kodującego α -hemolizynę wykazały wzrost jak i spadek ekspresji w obecności zasad Schiffa. W przypadku genu *mecA* kodującego zmienione, wiążące penicylinę białko oraz genu *sbi* kodującego białko immunomodulacyjne również obserwowano znaczącą regulację przez zsyntetyzowane związki (Xia i in.. 2015; Luo i in.. 2017).

2.6 Kompleksy zasad Schiffa z metalami

Zasady Schiffa posiadają zdolność tworzenia trwałych związków kompleksowych zarówno z metalami przejściowymi jak i z metalami grup głównych układu okresowego. Jest to możliwe dzięki dobrym właściwościom donorowym tych związków. Zasady Schiffa, które posiadają w swojej strukturze obok ugrupowania azometinowego grupę funkcyjną –OH charakteryzują się dobrymi właściwościami donorowymi. Charakter donorowy ligand zależy również od rodzaju użytego aldehydu lub ketonu, a także aminy pierwszorzędowej. Obecność grupy hydroksylowej (–OH) może także prowadzić do indukcji tautomerii, której wynikiem jest otrzymanie związków o różnych strukturach. Jedną z najpopularniejszych metod otrzymania takich związków kompleksowych jest bezpośrednia reakcja zasady Schiffa z danym jodem metalu w roztworze alkoholowym bądź wodno-alkoholowym. Reakcja ta jest przeprowadzana najczęściej z dodatkiem zasady potasowej lub zasadowej bądź trietyloaminy w celu zapewnienia odpowiedniego pH środowiska. Wielodonorowe ligandy za pomocą atomów donorowych, którymi mogą być atomy tlenu, siarki lub azotu wiążą się z określonym jodem metalu. Dzięki dużej różnorodności w budowie ligandów oraz możliwości różnej koordynacji liczba tej grupy związków ciągle wzrasta i charakteryzuje się wieloma zastosowaniami, głównie przeciwbakteryjnymi (Koperek i Kurzak 2008; Kumar i Ravikant 2014). Przykładem mogą być kompleksy metali z Cr^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , oraz Cu^{2+} pochodzące z 2, 6-pyridine dicarboxaldehyde-Thiosemicarbazonu, które zostały otrzymane za pomocą metod konwencjonalnych oraz mikrofalowych. Uzyskane kompleksy metali wykazywały bardzo dobre właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Działały hamująco wobec Gram-ujemnych bakterii *E. coli*, Gram-dodatnich bakterii *S. aureus*, a także grzybów *C. albicans* oraz *Aspergillus niger*. Wykazano także,

że otrzymane kompleksy metali z zasadą Schiffa przejawiają lepszą aktywność przeciwdrobnoustrojową w porównaniu z aktywnością macierzystego ligandu (Tuli 2015).

Innym przykładem może być kompleks otrzymany w wyniku reakcji kondensacji 2-mercaptobenzimidazole oraz diethyloxalate, który następnie został poddany reakcji z bis(ethylenediamine)Cu(II)/ Ni(II). Tak otrzymane kompleksy przepadano pod kątem aktywności przeciwbakteryjnej wobec *E. coli* oraz *S. aureus*, a także przeciwgrzybiczej wobec *A. niger*. Uzyskane wyniki wykazały, że badane związki kompleksowe przejawiały dobrą aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz przeciwgrzybiczą (Tuli 2015).

Zbadano również aktywność przeciwdrobnoustrojową kompleksów metali przejściowych układu kresowego – Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺ oraz Zn²⁺ z ligandem zasady Schiffa, który został otrzymany przez kondensację 2-aminofenolu z waniliną w roztworze etanolu. Kompleksy metali z zasadą Schiffa zsyntetyzowano przez stopniowe dodawanie soli kroplami [MnCl₂·4H₂O, CoCl₂·6H₂O, NiCl₂·6H₂O, Cu(CH₃COO)₂·H₂O, Zn(CH₃COO)₂·2H₂O] we wrzącym roztworze etanolu. Następnie zbadano aktywność antybakteryjną otrzymanych związków kompleksowych z wykorzystaniem metody dyfuzyjno-krażkowej (antybiogram) wobec *Corynebacterium* sp., *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis* oraz *P. aeruginosa*. Uzyskane wyniki wykazały, że zsyntetyzowane kompleksy metali są bardziej aktywne wobec użytym drobnoustrojom niż zasady Schiffa pozbawione metalu przejściowego (Tuli 2015).

3. Podsumowanie

Wyniki badań bezsprzecznie potwierdzają, że zjawisko lekooporności bakterii patogennych jest problemem istotnym z praktycznego punktu widzenia. Problem ten narasta w ostatnich latach. Taka sytuacja związana jest zarówno z licznymi mechanizmami wykorzystywanymi przez bakterie oraz niezwykle tempem ich rozpowszechniania się, ale także niewłaściwą kontrolą nad stosowanymi antybiotykami. Bez wątplenia prace nad nowymi metodami terapeutycznymi są niezbędne. Zasady Schiffa wykazują niezwykle potencjał przeciwbakteryjny oraz przeciwwirulentny. Pomimo faktu, że w wielu przypadkach nowosyntetyzowane związki wykazują słabą aktywność, lub jej brak, prace nad syntezą i analizą potencjalnych mechanizmów aktywności przeciwdrobnoustrojowych są konieczne. Pomagają one zrozumieć zjawisko lekooporności oraz pozwalają w racjonalny sposób projektować nowe związki. Takie podejście jest słuszne zważywszy na skalę problemu jakim jest lekooporność bakterii patogennych. Niewykluczone jest, że w przyszłości metody terapeutyczne oparte o związki będące zasadami Schiffa znajdą swoje miejsce w praktyce klinicznej.

4. Literatura

- Abdel-aziz SA, Ali TE, El-mahdy KM, Abdel-karim SM (2011) Synthesis and antimicrobial activities of some novel bis -pyrazole derivatives containing a hydrophosphoryl unit. *Eur J Chem* 2:25–35
- Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, et al (2009) Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48:1–12
- de Fátima Á, Pereira C de P, Olímpio CRSDG, et al (2018) Schiff bases and their metal complexes as urease inhibitors – A brief review. *J Adv Res* 1–14
- Karale NN (2016) ANTIBIOFILM ACTIVITY OF THIAZOLE SCHIFF BASES. *Int J Chem Sci* 14:2535–2545
- Khameneh B, Diab R, Ghazvini K, Bazzaz FBS (2016) Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. *Microb Pathog* 95:32–42
- Koźłan B (2011) Analiza zjawiska biofilmu - Warunki jego powstawania i funkcjonowania. *Ochr Sr* 33:3–14
- Kon K, Rai M (2016) Antibiotic Resistance Mechanisms and New Antimicrobial Approaches. Elsevier Inc., London
- Koperek K, Kurzak K (2008) Kompleksy metali z czterodonorowymi zasadami schiffa. *Na Pogran Chem I Biol* 21:13–19

- Kumar J, Rai A, Raj V, Joginder Kumar, Amit Rai, Vinit Raj (2017) A Comprehensive Review on the Pharmacological Activity of Schiff Base Containing Derivatives. *Org Med Chem* 1:555564
- Kumar R, Ravikant (2014) Review on synthesis and application of Schiff base and its transition metal complexes. *Res J Chem Enviromental Sci* 2:1–4.
- Luo H, Xia Y, Sun B, et al (2017) Synthesis and Evaluation of In Vitro Antibacterial and Antitumor Activities of Novel N,N-Disubstituted Schiff Bases. *Biochem Res Int* 1–10
- Mesbah M, Douadi T, Sahli F, et al (2018) Synthesis, characterization, spectroscopic studies and antimicrobial activity of three new Schiff bases derived from Heterocyclic moiety. *J Mol Struct* 1151:41–48
- More PG, Karale NN, Lawand AS, et al (2014) Synthesis and anti-biofilm activity of thiazole Schiff bases. *Med Chem Res* 23:790–799
- Murtaza G, Mumtaz A, Khan FA, et al (2014) Recent pharmacological advancements in Schiff bases: A Review. *Acta Pol Pharm - Drug Res* 71:531–535
- Nikonorow E, Baraniak A, Gniadkowski M (2013) Oporność bakterii z rodziny Enterobacteriaceae na antybiotyki B-laktamowe wynikająca z wytwarzania B-Laktamaz. *POST MIKROBIOL* 52:261–271
- Nowicka A, Liszkiewicz H, Nawrocka WP (2014) Zasady Schiffa - Wybrane syntezy, reakcje i aktywność biologiczna Schiff Bases – Selected Syntheses , Reactions and Biological Activity. *WIADOMOŚCI Chem* 3–4
- Oliveira K de S, L.A. de Lima, Cobacho NB, et al (2016) Mechanisms of antibacterial resistance: shedding some light on these obscure processes?
- Popowska M (2017) ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ W ŚRODOWISKU NATURALNYM – PRZYCZYNY I KONSEKWENCJE. *Kosm Probl Nauk Biol* 1:81–91
- Rosengren LB, Waldner CL, Reid-Smith RJ (2009) Associations between antimicrobial resistance phenotypes, antimicrobial resistance genes, and virulence genes of fecal *Escherichia coli* isolates from healthy grow-finish pigs. *Appl Environ Microbiol* 75:1373–1380
- Różalski A, Kwil I, Torzewska A, et al (2007) Bakterie z rodzaju *Proteus* – cechy i czynniki chorobotwórczości *Proteus bacilli* : Features and virulence factors. *Postep Hig Med Dosw* 61:204–219
- Ruiz J, Capitano L, Nuñez L, et al (1999) Mechanisms of resistance to ampicillin, chloramphenicol and quinolones in multiresistant *Salmonella typhimurium* strains isolated from fish. *J Antimicrob Chemother* 43:699–702
- Szczypa K, Wilemska J, Hryniewicz W, Sitkiewicz I (2012) Mechanizmy wirulencji *Streptococcus pyogenes*. *POST MIKROBIOL* 51:3–15
- Tuli HS (2015) Schiff bases as an antimicrobial agent: A review. *J Biol Chem Sci* 2:62–91
- Wright GD (2005) Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev* 57:1451–1470
- Xia L, Xia YF, Huang LR, et al (2015) Benzaldehyde Schiff bases regulation to the metabolism, hemolysis, and virulence genes expression in vitro and their structure-microbicidal activity relationship. *Eur J Med Chem* 97:83–93

3. Mikrofale jako nowoczesna technika wykorzystywana w syntezie organicznej

Microwaves as a modern technique used in organic synthesis

Kondej Magda⁽¹⁾, Stępnicki Piotr⁽¹⁾, Żuk Justyna⁽¹⁾, Kaczor Agnieszka A.^(1,2)

⁽¹⁾Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin

⁽²⁾Szkoła Farmacji, Uniwersytet Wschodniej Finlandii, Yliopistonranta 1, P.O. Box 1627, Kuopio FI-70211, Finlandia

Opiekun naukowy: Agnieszka A. Kaczor

Magda Kondej: magda.kondej@onet.pl

Słowa kluczowe: promieniowanie elektromagnetyczne, metody syntetyczne, zielona chemia

Streszczenie

W przeciągu ostatnich kilku lat wykorzystywanie energii mikrofalowej w syntezie organicznej jest coraz bardziej popularne w społeczności naukowej. Ta nieklasyczna technika ogrzewania przeszła drogę od nowinki laboratoryjnej do dobrze ugruntowanej techniki, która jest szeroko stosowana zarówno w badaniach akademickich jak i przemyśle.

Promieniowanie mikrofalowe ma częstotliwość od 0.3 do 300 GHz i powoduje rotację cząsteczek chemicznych. Oddziaływanie promieniowania mikrofalowego z materią jest zależne od jej budowy. Substancje polarne pochłaniają promieniowanie mikrofalowe i dzięki temu ich temperatura wzrasta, natomiast substancje niepolarne niezależnie od ich stanu skupienia nie pochłaniają promieniowania mikrofalowego i w związku z tym nie ogrzewają się. Ogrzewanie mikrofalami ma wiele zalet w porównaniu z konwencjonalnym ogrzewaniem i wpisuje się w konwencję zielonej chemii.

1. Wstęp

Rozwój chemii był ściśle związany z odkryciem nowych odczynników i nowych sposobów uzyskiwania energii do prowadzenia reakcji chemicznych. W czasach alchemii energia mogła być generowana tylko termicznie za pomocą ognia, ale odkrycie soczewki, która mogła skupić światło słoneczne na naczyniu reakcyjnym, pokazało, że energia może pochodzić z innych źródeł. Izolacja sodu, potasu, wapnia, strontu i baru przez Humphreya Davy'ego, jako czystych metali za pomocą metod elektrolitycznych na początku dziewiętnastego wieku stanowiła doskonałą ilustrację tego, w jaki sposób alternatywne źródło energii może otworzyć zupełnie nowe obszary chemii.

Technika ogrzewania mikrofalowego początkowo nie cieszyła się szerokim uznaniem. Przypisywano jej brak sterowalności i powtarzalności. Nie rozumiano także podstaw mikrofalowego ogrzewania dielektrycznego. Ryzyko związane z palnością rozpuszczalników organicznych w polu mikrofal oraz brak dostępnych systemów do odpowiedniej kontroli temperatury i ciśnienia były głównymi problemami.

Chociaż większość wczesnych pionierskich eksperymentów przeprowadzano w domowych, czasami zmodyfikowanych kuchenkach mikrofalowych, obecny trend polega na użyciu dedykowanych instrumentów, które stały się dostępne dopiero w ciągu ostatnich kilku lat w syntezie chemicznej. Bezpośrednie ogrzewanie mikrofalowe może nie tylko zredukować czas reakcji chemicznej z godzin do minut, ale także zmniejsza występowanie reakcji ubocznych, zwiększa wydajność i poprawia powtarzalność. Dlatego wiele akademickich i przemysłowych grup badawczych wykorzystuje ogrzewanie mikrofalowe, jako czołową technologię do szybkiej optymalizacji reakcji, wydajnej syntezy nowych związków chemicznych oraz odkrywania i badania nowej reaktywności chemicznej.

2. Podstawy oddziaływania mikrofal z materia

Mikrofalowe promieniowanie elektromagnetyczne obejmuje zakres od 0.3 do 300 GHz, co odpowiada długości fal o zakresie 30 cm do 1 mm. Od strony dłuższych fal sąsiaduje z falami radiowymi, a od strony wyższej energii z promieniowaniem podczerwonym.

Oddziaływanie promieniowania mikrofalowego z materia warunkowane jest jej budową. Substancje niepolarne niezależnie od stanu skupienia nie pochłaniają mikrofal i nie ogrzewają się. Główne składniki atmosfery takie jak tlen, azot, dwutlenek węgla są przezroczyste dla mikrofal i w związku z tym mogą one być używane w radiolokacji. Benzen i kwarc również nie ogrzewają się podczas naświetlania mikrofalami. Materiały o budowie polarnej pochłaniają promieniowanie mikrofalowe i ogrzewają się. Istota tego zjawiska termicznego polega na ruchu rotacyjnym molekuł dipolowych, które ulegają działaniu składowej elektrycznej fali elektromagnetycznej promieniowania mikrofalowego. Ruch molekuł wywołuje ich wzajemne tarcie, czego efektem makroskopowym jest wzrost temperatury. Efekt termiczny jest tym większy im bardziej polarna jest substancja. Wodne roztwory soli ogrzewają się szybciej niż czysty rozpuszczalnik, ponieważ do ruchu dipoli wody dołącza się ruch jonów, które wykonują ruchy wahadłowe z częstością odpowiadającą fali generowanej przez magnetron. Substancje ferromagnetyczne również oddziałują ze składową magnetyczną mikrofal, co dodatkowo przekłada się na efekt termiczny. W reakcjach organicznych używa się różnych rozpuszczalników, reagentów oraz katalizatorów, które w odmienny sposób absorbują mikrofae. Przypuszcza się, iż występowanie specyficznych efektów mikrofalowych dla reagentów może być przyczyną przyspieszenia reakcji oraz zmiany jej selektywności, mimo iż makroskopowa temperatura mieszaniny reakcyjnej wynikająca z sumowania wszystkich efektów jest taka sama jak przy konwekcyjnym ogrzewaniu (Mingos i in. 1991).

3. Mechanizmy ogrzewania mikrofalami

Promieniowanie mikrofalowe może być pochłaniane przez materię na kilka różnych sposobów. Pierwszym z nich jest polaryzacja dipolowa. Jeśli w materiale są cząsteczki chemiczne będące dipolami, to w wyniku działania pola elektrycznego fali elektromagnetycznej starają się ustawić zgodnie z kierunkiem i zwrotem tego pola. Wektor pola elektrycznego zmienia zwrot, co pół okresu fali promieniowania. Dipole zmieniają, również ustawienie, podążając za polem. Podczas obrotów uderzają w sąsiadujące z nimi cząsteczki, przekazując im nabytą od promieniowania energię. Te przekazują ją kolejnym i w ten sposób ciepło rozprzestrzenia się w materiale. Mechanizm polaryzacji dipolowej, odpowiada za ogrzewanie tylko tych substancji, w których cząsteczki są dipolami takie jak woda, metanol, DMF, octan etylu, chloroform, chlorek metylenu, kwas octowy. Substancje takie jak heksan, benzen, eter dietylowy czy czterochlorek węgla nie ogrzewają się pod wpływem promieniowania mikrofalowego.

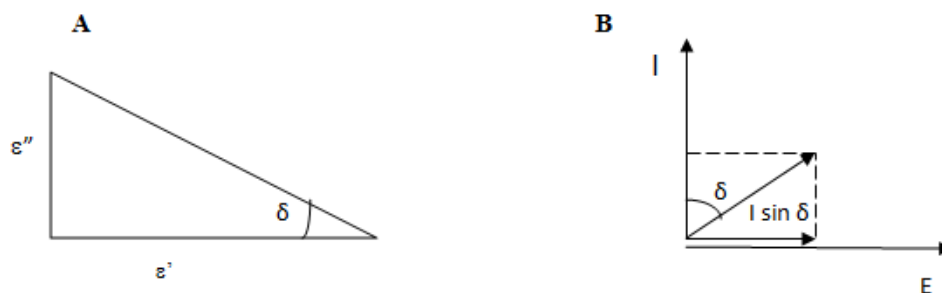
Kolejny mechanizm pochłaniania promieniowania mikrofalowego opiera się na przewodnictwie jonowym. Gdy w materiale znajdują się jony, zaczynają one przemieszczać się zgodnie z kierunkiem pola elektrycznego: dodatnie w jedną, a ujemne w przeciwną stronę. Zderzając się przy tym z innymi cząsteczkami, powodują rozprzestrzenianie się energii cieplnej w materiale.

Jak wspomniano powyżej, do ogrzewania mikrofalowego potrzebne są polarne rozpuszczalniki i / lub jony. Polaryzacja dielektryczna zależy przede wszystkim od zdolności reorientacji dipoli w przyłożonym polu elektrycznym. Wydaje się uzasadnione, aby sądzić, że bardziej polarny rozpuszczalnik, a więc im wyższa stała dielektryczna, jaką posiada, tym łatwiej absorbowane jest promieniowanie mikrofalowe i tym wyższa jest uzyskana temperatura. Aby móc porównać zdolności różnych rozpuszczalników do generowania ciepła z promieniowania mikrofalowego, należy wziąć pod uwagę ich zdolności do pochłaniania energii mikrofalowej i przekształcania pochłoniętej energii w ciepło. Czynniki te można rozpatrywać, stosując kąat stratności δ , który zwykle wyraża się w postaci stycznej.

$$\operatorname{tg} \delta = \epsilon'' / \epsilon'$$

Przenikalność względna, ϵ' , przedstawia zdolność materiału dielektrycznego do magazynowania elektrycznej energii potencjalnej pod wpływem pola elektrycznego. W temperaturze pokojowej i pod wpływem statycznego pola elektrycznego, ϵ' jest równy stałej dielektrycznej ϵ_s ; Współczynnik stratności, ϵ'' , wyraża wydajność, z którą absorbowana energia jest przetwarzana w ciepło.

Dla rozpuszczalników o porównywalnych wartościach ϵ_s i niskich wartościach $\text{tg } \delta$ współczynnik strat zapewnia wygodny parametr do porównywania zdolności różnych materiałów do przekształcania mikrofal w energię cieplną (rys. 1).



Rys 1. A: zależność między ϵ' i ϵ'' $\text{tg} \delta = \epsilon''/\epsilon'$; B: Przesunięcie fazy powoduje zmianę energii w ciepło.

Czas relaksacji (τ), określa czas, w którym jedna cząsteczka powraca do 36,8% swojego pierwotnego stanu, kiedy pole elektryczne jest wyłączone.

Ponieważ zarówno ϵ' , jak i ϵ'' są zależne od τ , zdolność rozpuszczalnika do konwersji energii mikrofalowej w ciepło zależy nie tylko od częstotliwości, ale także od temperatury. Czas relaksacji zmniejsza się ze wzrostem temperatury.

Substraty lub jony obecne w rozpuszczalniku wspomagają tworzenie się tzw. "gorących punktów". Wnioskuje się, że zjawisko przegrzewania się jest odpowiedzialne za wzrost szybkości i wydajności reakcji, prowadzonych za pomocą mikrofal pod ciśnieniem atmosferycznym (Lidström i in. 2001).

4. Techniki syntezy wspomaganiej mikrofalami

4.1 Synteza bezrozpuszczalnikowa

W przypadku bezrozpuszczalnikowych reakcji reagenty organiczne adsorbowane są na kwaśnych lub zasadowych nośnikach, takich jak glinki, krzemionka, bentonit bądź zeolity i poddawane działaniu promieniowania mikrofalowego. Podłoża mogą również być domieszkowane odczynnikami nieorganicznymi (Loupy i in.1998, Strauss i in. 1995, Varma 1999). Ze względu na brak rozpuszczalnika nie ma obawy o bezpieczeństwo w odniesieniu do zagrożeń związanych z pożarem i eksplozją, a reakcje mogą być przeprowadzane w otwartych naczyniach. Dodatkowo brak rozpuszczalnika ułatwia zwiększenie skali prowadzenia reakcji. Wady stosowania metody bezrozpuszczalnikowej obejmują niski stosunek reagentów organicznych do stałego nośnika i typowo brak urządzeń do mieszania reakcji w związku z tym temperatura nie jest znana i / lub nie jest jednorodna w całej próbce.

4.2 Systemy ciśnieniowe

Reakcje takie są prowadzone pod zwiększonym ciśnieniem, co zapobiega parowaniu rozpuszczalnika pomimo wysokiej temperatury osiągniętej dzięki mikrofalom. System ten bezpośrednio wykorzystuje efekt przegrzania mieszaniny w celu przyspieszenia reakcji, jednak dzięki zwiększonemu ciśnieniu nie ma możliwości wybuchu spowodowanej gromadzeniem się par rozpuszczalnika (Linstrom i in. 2001).

4.3 Systemy strumieniowe

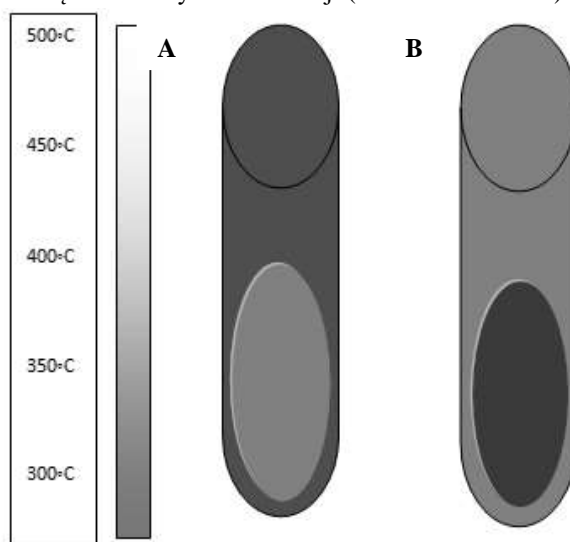
Opracowano wiele systemów, aby móc wykorzystać rozpuszczalniki w syntezie organicznej wspomaganą mikrofalami bez ryzyka wybuchu. Ryzyko eksplozji w systemach strumieniowych jest niewielkie, ponieważ znajdują się one pod ciśnieniem atmosferycznym, a łatwopalne opary nie przedostają się do komory mikrofalowej. Temperatura jednak nie może zostać zwiększona o więcej niż 13-26 °C powyżej normalnej temperatury wrzenia rozpuszczalnika i tylko przez określony czas (Linström i in. 2001).

4.4 Systemy nieprzerwanego płynięcia

Jest to system stosowany w przypadku pracy z dużymi objętościami mieszanin reakcyjnych > 500 ml. System polega na stosowaniu nieprzerwanego przepływu mieszaniny reakcyjnej przez mikrofałę. Pozwala to na częściowe napromieniowanie próbki w czasie. W ten sposób można otrzymać ten sam efekt grzewczy jak przy ciągłym napromieniowaniu próbki jednak z pominięciem możliwości wybuchu par rozpuszczalnika. Wadą tego systemu jest to, że wszystkie substraty reakcji, jak i jej produkty muszą być rozpuszczalne, ponieważ w przeciwnym razie mogłoby to spowodować zablokowanie przewodów przepompowujących mieszaninę reakcyjną (Linström i in. 2001).

5. Porównanie ogrzewania konwencjonalnego i mikrofalowego

Podczas konwencjonalnego ogrzewania zewnętrzne źródło ciepła musi ogrzać ścianki naczyń a dopiero później rozpuszczalnik i reagenty. Minusem tradycyjnego ogrzewania próbki jest długi czas nagrzewania, który zależy od przewodnictwa temperaturowego zastosowanego naczynia oraz nierównomierny rozkład temperatury w naczyniu reakcyjnym. Wadą tej metody jest także ograniczona kontrola reakcji oraz trudności wiążące się z chłodzeniem próbki. Z kolei ogrzewanie mikrofalowe umożliwia szybki wzrost temperatury reagentów, ze względu na to, iż nagrzewanie nie zależy od przewodnictwa termicznego naczynia, ponadto w prosty sposób można kontrolować reakcję, a po wyłączeniu źródła promieniowania pozostaje tylko wtórne ciepło (Kappe 2004, Strauss 2002). Zastosowanie mikrofały ogranicza bądź eliminuje obecność szkodliwych rozpuszczalników, co niesie za sobą wiele korzyści dla środowiska. Zwiększa się również selektywność i czystość wytwarzanych produktów. Duży wpływ na popularność tej metody ma zmniejszenie kosztów procesu technologicznego ze względu na skrócenie czasu całego procesu. Przyczyną znacznego zwiększenia szybkości reakcji jest możliwość rozgrzania rozpuszczalników powyżej ich temperatury wrzenia oraz istnienie tzw. „gorących punktów”. Zajęcie już 2% objętości mieszaniny przez „gorące punkty” umożliwia kilkukrotne zwiększenie szybkości reakcji (Sawicka i in. 2007).

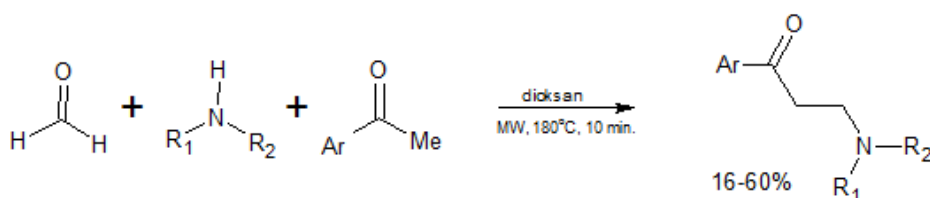


Rys. 2. Różnice w profilach temperaturowych. A: Łaźnia olejowa, B: Mikrofała.

6. Przykłady syntez z udziałem mikrofal

Reakcja Mannicha jest znana od początku XX wieku i od tego czasu była jedną z najważniejszych transformacji do produkcji β -amino-ketonów. Wadą niniejszej reakcji jest konieczność stosowania drastycznych warunków, długi czas reakcji oraz niskie wydajności produktów. Luthman i współpracownicy opisali reakcje Mannicha wspomaganą mikrofalami, w której zastosowano paraformaldehyd jako źródło formaldehydu, drugorzędową aminę w postaci jej chlorowodorku i podstawiony acetofenon (rys. 3) (Lehmann i in. 2003).

W celu wytworzenia pożądaných β -amino-ketonów z dobrymi wydajnościami zoptymalizowano warunki reakcji wybierając równomolowe ilości reagentów, dioksan jako rozpuszczalnik, 180 °C jako temperaturę prowadzenia reakcji, promieniowanie mikrofalowe oraz czas prowadzenia reakcji 8-10 min. Reakcję przeprowadzono zarówno w skali 2-mmolowej przy użyciu jednomodowego reaktora mikrofalowego, jak również w skali 40-mmolowej przy użyciu urządzenia wielomodowego i uzyskano prawie identyczne wydajności w skali 2-mmol i 40-mmol bez potrzeby ponownej optymalizacji warunków reakcji.



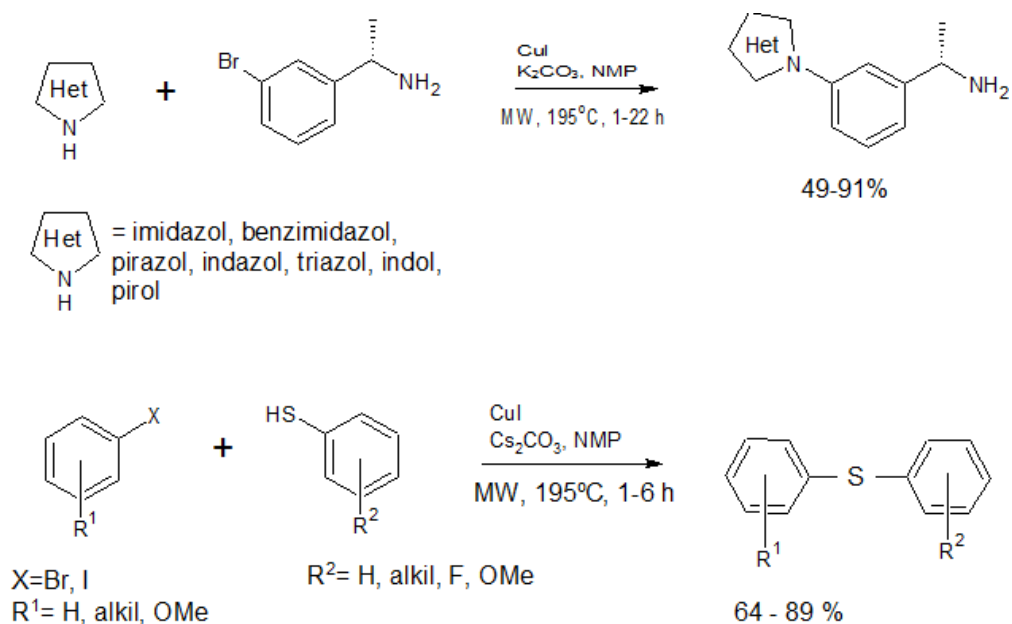
Rys. 3. Schemat kondensacji Mannicha.

Tradycyjna wersja reakcji Ullmanna wymaga ostrych warunków reakcyjnych i znana jest z braku stabilności w otrzymywaniu produktów, dlatego podjęto próby zoptymalizowania warunków reakcji przy użyciu promieniowania mikrofalowego (rys. 4.).

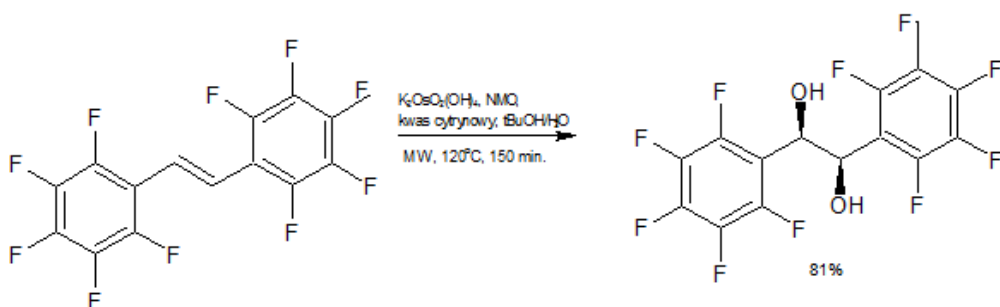
W pierwszym przykładzie (S)-1-(3-bromofenyl)etyloaminę sprzężono z jedenastoma heteroarenami zawierającymi grupy N-H w obecności 10 mol% CuI i 2 równoważników K_2CO_3 . W celu sprzężenia 3,5-dimetylopirazolu konieczne było ogrzewanie mikrofalami przez 22 godziny, aby uzyskać 49% wydajności wyizolowanego produktu. Średnie czasy reakcji to 2-3 godziny. W drugim przykładzie, podobne warunki wybrano do reakcji głównie aromatycznych tioli z bromkami i jodkami arylu z uzyskaniem siarczków arylu (Wu i in. 2003).

Dodanie tetratlenku osmu do olefin w celu wytworzenia wicynalnego diolu, jest jedną z najbardziej selektywnych i niezawodnych transformacji organicznych. Niedawne prace Sharplessa, Fokin i współpracowników wykazały, że olefiny z niedoborem elektronów mogą zostać przekształcone w odpowiednie diole znacznie wydajniej, gdy środowisko reakcji jest zakwaszone (Dupau i in. 2002). Jednym z najbardziej przydatnych dodatków w tym kontekście jest kwas cytrynowy, który w połączeniu z N-tlenkiem 4-metylomorfoliny (NMO) jako środkiem utleniającym dla Os^{VI} i $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$ (0,2 mol%) jako trwały, nietlotny zamiennik OsO_4 , umożliwia konwersję wielu olefinowych substratów w ich odpowiednie diole w temperaturze pokojowej. W szczególnych przypadkach, reakcję musiano prowadzić z napromienianiem mikrofalami w temperaturze 120 °C z wytworzeniem czystego diolu z 81% wydajnością (rys. 5).

Wczesne przykłady syntezy organicznej na nośniku stałym w kontrolowanych warunkach mikrofalowych obejmowały użycie mikrofal w jednym etapie w celu przyłączenia lub odłączenia żywicy (Lew i in. 2002). Badanie opublikowane w 2001 roku wykazało, że ogrzewanie mikrofalowe w wysokiej temperaturze (200 °C) można skutecznie stosować do przyłączania kwasów karboksylowych do żywic chlorometylowanych polistyrenu (Merrifield i Wang) (rys. 7). W porównaniu z konwencjonalną metodą termiczną czas reakcji został skrócony z 12-48 godzin przy konwencjonalnym ogrzewaniu w 80 °C do 3-15 minut z ogrzewaniem mikrofalowym w 200 °C w NMP w otwartych szklanych naczyniach (Stadler i in. 2001).

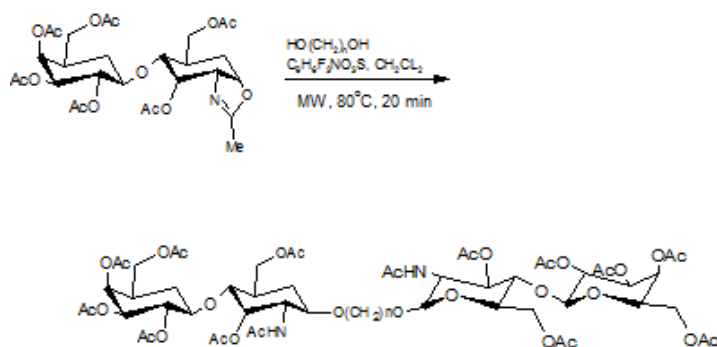


Rys. 4. Sprzężanie Ullmanna.

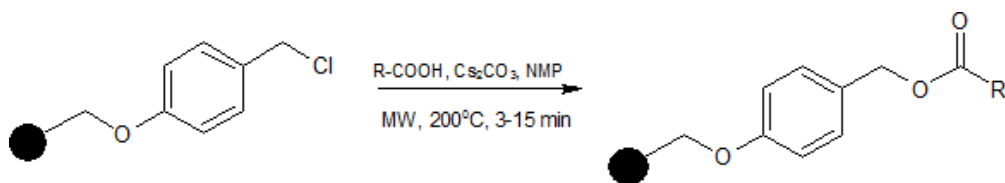


Rys. 5. Katalizowana przez tetratlenek osmu reakcja dihydroksylowania.

Reakcje glikozylacji (rys. 6) z udziałem donorów oksazoliny są na ogół powolne i wymagają dłuższego czasu reakcji ze względu na niską reaktywność donorów. Oscarson wraz z współpracownikami opracowali metodę niniejszej reakcji z udziałem mikrofal (Mohan i in. 2003). Szybkie i wydajne sprzężenie osiągnięto w dichlorometanie z czterema różnymi diolami, stosując 2,2 równoważników każdego z donorów oksazoliny i trifluorometanosulfonianu pirydyniowego. Prowadzenie reakcji w temperaturze 80°C przez 20 minut oraz poddanie mieszaniny reakcyjnej działaniu mikrofal doprowadziło do zwiększenia wydajności w porównaniu z konwencjonalnym sposobem ogrzewania o 12-15%.



Rys. 6. Reakcja glikozylacji wspomagana mikrofalami.



Rys. 7. Przyłączanie kwasów karboksylowych do żywicy polistyrenowej.

7. Podsumowanie

W ciągu ostatnich kilku lat ogrzewanie za pomocą energii mikrofalowej stało się bardzo popularne i jest obecnie w pełni zaakceptowaną metodologią. Szeroko zakrojone badania wielu zespołów naukowców pozwoliły na urealnienie oczekiwań, co do tej techniki. Stosuje się ją w nowoczesnej chemii między innymi do syntezy leków, syntezy na fazie stałej oraz prowadzi się także reakcje typu „click chemistry”. Synteza mikrofalowa w warunkach naświetlania mikrofalami wydają się być efektywnym sposobem dostarczania energii, a dodatkowo daje możliwość powiązania z istniejącymi oraz nowymi technikami laboratoryjnymi.

8. Literatura

- Buffler CR (1993) Microwave Cooking and Processing: Engineering Fundamentals for the Food Scientist, Van Nostrand Reinhold, 1-68.
- Dupau P, Epple R, Thomas AA, Fokin VV i in. (2002) Osmium-Catalyzed Dihydroxylation of Olefins in Acidic Media: Old Process, New Tricks, *Adv. Synth. Catal.* 344, 421–433.
- Kappe CO (2004) Synthetic Methods Controlled Microwave Heating in Modern Organic Synthesis *Angew. Chem.Int. Ed.*, 43: 6250- 6284.
- Lehmann F, Pilotti A, Luthman K. (2003) Efficient large scale microwave assisted Mannich reactions using substituted acetophenones. *Mol Divers.* 7(2-4):145-52.
- Lew A, Krutzik PO, Hart ME , Chamberlin AR (2002) Increasing Rates of Reaction: Microwave-Assisted Organic Synthesis for Combinatorial Chemistry. *J. Comb. Chem.*, 4: 95–10.
- Lidström P, Tierney J, Wathey B i in. (2001) Microwave assisted organic synthesis-a review. *Tetrahedron*, 57: 9225-9283.
- Loupy A, Petit A, Hamelin J, Texier-Boullet F i in. (1998) New Solvent-Free Organic Synthesis Using Focused Microwaves, *Synthesis*, 9: 1213-1234.

- Mingos DMP, Baghurst, DR (1991) Tilden Lecture. Applications of microwave dielectric heating effects to synthetic problems in chemistry, *Chem. Soc. Rev.*,20:1-47.
- Mohan H, Gemma E, Ruda K i in. (2003) Efficient Synthesis of Spacer-linked Dimers of N-Acetyllactosamine Using Microwave-assisted Pyridinium Triflate-promoted Glycosylations with Oxazoline Donors, *Synlett*, 9: 1255–1256.
- Sawicka M, Soroka J, Soroka K, Gąsiorowska M (2007) Mikrowaves in organic synthesis, *Wiadomości Chemiczne, Polskie Towarzystwo Chemiczne*, 61: 891-911.
- Stadler A, Kappe CO (2001) High-Speed Couplings and Cleavages in Microwave-Heated, Solid-Phase Reactions at High Temperatures . *Eur. J. Org. Chem.*, 5: 919–925.
- Strauss CR (2002) *Handbook of Green Chemistry and Technology*, Oxford, 397-415.
- Strauss C R, Trainor RW (1995) Developments in Microwave-Assisted Organic Chemistry, *Aust. J. Chem.*, 48: 1665 – 1692.
- Varma R S (1999) Solvent-free organic syntheses. using supported reagents and microwave irradiation, *Green Chem.*, 1: 43-55.
- Wu YJ, He H, L’Heureux H (2003) Copper-catalyzed coupling of (S)-1-(3-bromophenyl)-ethylamine and N–H containing heteroarenes using microwave heating, *Tetrahedron Lett.*,44:4217-4218.
- Wu YJ, He H (2003) Copper-Catalyzed Cross-Coupling of Aryl Halides and Thiols Using Microwave Heating, *Synlett*, 1789–1790.

4. Metody oceny stanu środowiska w Polsce

Methods of assessing the environment state in Poland

Dawid Piwowarski

Katedra Inżynierii Środowiska, Wydział Mechaniczny, Politechnika Opolska

Promotor: Roman Ulbrich

Promotor pomocniczy: Stanisław Anweiler

Dawid Piwowarski: piwowarskidawid@o2.pl

Słowa kluczowe: monitoring, ekosystem, pomiar.

Streszczenie

Niniejsza praca zawiera skrócony opis Państwowego Monitoringu Środowiska podzielonego na poszczególne monitorowane elementy. Są nimi monitoring wód powierzchniowych i podziemnych, monitoring hałasu, pola elektromagnetycznego oraz powietrza.

1. Wstęp

Problematyka oraz konieczność ochrony środowiska została dostrzeżona już w dawnych czasach. Była to reakcja na szybki wzrost stopnia zanieczyszczenia miast. Rosnący nacisk na konieczność ochrony środowiska obserwujemy w chwili obecnej. Współczesne zdobycze techniki pozwalają na użycie narzędzi pozwalających na ochronę środowiska na najwyższym poziomie. Z drugiej strony gwałtowny rozwój przemysłu wiąże się z nowymi zagrożeniami i potencjalnymi obciążeniami środowiska naturalnego. Jest to więc walka pomiędzy siłami wzajemnie sprzecznymi, a jednocześnie mającymi swe źródło w rozwoju cywilizacji (Pikonia i Stelmach 2013).

Jednym z elementów ochrony środowiska jest jego monitoring. W Polsce system zajmujący się tym zagadnieniem nosi nazwę Państwowego Monitoringu Środowiska (PMŚ). Został on utworzony 10 lipca 1991r. Jego głównym założeniem jest dostarczanie wiarygodnych informacji o stanie środowiska. Zadania realizowane w ramach systemu były określone w wieloletnich programach monitoringu, zatwierdzanych przez kierownictwo Ministerstwa Ochrony Środowiska, Zasobów Naturalnych i Leśnych. Obecnie obowiązuje program monitoringu na lata 2016 – 2020 i obejmuje zadania wynikające z odrębnych ustaw, zobowiązań międzynarodowych oraz innych potrzeb wynikających ze strategii rozwoju oraz innych programów i dokumentów programowych (GIOŚ 2019).

2. Opis zagadnienia

Celem Państwowego Monitoringu Środowiska, zgodnie z art. 25 ust. 3 Prawa ochrony środowiska jest wspomaganie działań na rzecz ochrony środowiska (GIOŚ 2019).

Prowadzone jest to poprzez systematyczne informowanie organów administracji i społeczeństwa o (GIOŚ 2019):

- Jakości elementów przyrodniczych, dotrzymywaniu standardów jakości środowiska określonych poprzez przepisy oraz terenów w których zachodzą przekroczenia tych standardów,
- Zmianach jakościowych elementów przyrodniczych oraz powodów tych zmian.

Dane zebrane na rzecz PMŚ wykorzystywane są przez komórki administracji rządowej i samorządowej do działań związanych z operacyjnym zarządzaniem środowiska przy pomocy narzędzi prawnych, takich jak: postępowanie w sprawie ocen oddziaływania na środowisko, pozwolenia na wprowadzanie do środowiska substancji lub energii, programy i plany ochrony środowiska jako całości i jego poszczególnych elementów, plany zagospodarowania przestrzennego (GIOŚ 2019).

Informacje zebrane na rzecz PMŚ wykorzystane są również do celów monitorowania efektywności działań i strategicznego planowania w zakresie ochrony środowiska i zrównoważonego rozwoju na każdym poziomie zarządzania (GIOŚ 2019).

Cele PMŚ realizowane są poprzez wykonywanie następujących zadań (GIOŚ 2019):

- Prowadzenie badań wskaźnikowych opisujących poszczególne elementy środowiska,
- Prowadzenie obserwacji elementów przyrodniczych,
- Przechowywanie oraz analizę wyników badań oraz obserwacji,
- Ocenę stanu i trendów zmian jakości poszczególnych elementów środowiska w odniesieniu do ustalonych wyznaczników,
- Identyfikację terenów w których nastąpiły przekroczenia standardów jakości środowiska,
- Analizy przyczynowo skutkowe,
- Wykonanie zestawień oraz raportów i ich udostępnianie w formie drukowanej lub elektronicznej.

W stosunku do wszystkich typów zadań cząstkowych, zarówno pomiarowych, badawczych, analitycznych i informacyjnych, w PMŚ obowiązuje zasada okresowości oraz jednolitości metod – zgodnie z art. 26, ust.2 ustawy – Prawo ochrony środowiska (GIOŚ 2014).

Państwowy Monitoring Środowiska składa się z następujących elementów (WIOŚ 2014):

- Jakość środowiska,
- Emisja,
- Ocena i prognoza.

Blok jakości środowiska zawiera informacje dotyczące rzeczywistej koncentracji zanieczyszczeń w określonych elementach środowiska. Informacje zbierane w tej sekcji pochodzą z pomiarów wykonywanych w podsystemach jak (GIOŚ 2015):

- Monitoring jakości powietrza,
- Monitoring jakości wód,
- Monitoring jakości gleby i ziemi,
- Monitoring przyrody,
- Monitoring hałasu,
- Monitoring pól elektromagnetycznych,
- Monitoring promieniowania jonizującego.

Jednostka emisji gromadzi informacje dotyczące jakości i ilości zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska przez określone emitery. Dane te, pochodzą z bloku kontroli prowadzonego przez Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska, ze sprawozdań zakładów przemysłowych oraz innych jednostek gospodarczych. Informacje te niezbędne są przy wydawaniu decyzji administracyjnych oraz naliczaniu opłat i kar (WIOŚ 2014).

Oceny i prognozy powstają na podstawie zebranych danych, gromadzonych w blokach informacyjnych. Na rzecz tej jednostki wykonywane są działania jak (WIOŚ 2014):

- Ocena w oparciu o analizy przyczynowo skutkowe,
- Analiza i ocena poszczególnych problemów oraz zjawisk,
- Prognoza toku zjawisk z uwzględnieniem analizy trendów i modelowanie.

Współczynnikiem podstawowym charakteryzującym poszczególne zanieczyszczenia jest ich stężenie. Jest to liczba określająca ilość zanieczyszczenia przypadającego na jednostkę objętości powietrza. Parametrem podstawowym zanieczyszczeń pyłowych jest opad pyłu, czyli ilość pyłu opadającego na określoną powierzchnię ziemi w jednostce czasu. Imisja zanieczyszczeń uwarunkowana jest wielkością emisji zanieczyszczeń do atmosfery (Orzeł 2014).

Poziom zanieczyszczenia powietrza monitorowany jest przez (Orzeł 2014):

- Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska – pomiar i ocena poziomu substancji,

- Inspekcję Sanitarną – monitoring zdrowia,
- Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej,
- Zakłady przemysłowe w ramach realizacji obowiązku nałożonego decyzjami administracyjnymi.

Terminem *monitoring*, określa system przedsięwzięć, systematyczny i zaplanowany, którego celem będzie ocena jakości określonego elementu środowiska na danym obszarze. Wykorzystane przy tym metody ograniczone są jedynie przez wymagania wynikające z celów tego przedsięwzięcia dotyczące okresowości próbkowania oraz uzyskiwania wyników. W przybliżeniu, poprzez monitoring rozumie się pozyskiwanie próbek i analizę wykonywaną przez automatyczne analizatory pracujące w sposób ciągły lub okresowy (Biziuk 1998).

Poprzez termin *monitor* należy rozumować każdy analizator automatyczny, pracujący w trybie ciągłym bądź okresowym, spełniający przy tym wymagania stawiane przez cele monitoringu (Biziuk 1998).

Główne cele monitoringu powietrza to (Biziuk 1998):

- Sprawdzanie zgodności jakości powietrza i porównanie ich z wymogami normatywnymi. W tym przypadku wymagania odnośnie stosowanej metody są ściśle określone przepisami, najczęściej ze wskazaniem konkretnej metody,
- Identyfikowanie i określanie udziału określonych emiterów na płaszczyźnie emisji,
- Rozpatrywanie skutków oddziaływania skażenia na środowisko. Stworzenie systemu służącego do tego celu wymaga uwzględnienia rodzaju skutków, z którymi będą kontrolowane rezultaty pomiarów,
- Badanie tła i jego uwarunkowań. Określenie rozmiaru tła i jego trendu wymaga właściwej identyfikacji terenu objętego monitoringiem,
- Badanie procesów zachodzących w atmosferze. W tym celu konieczne jest wykorzystanie metod analitycznych. Charakteryzują się one dużą selektywnością. Wymagane jest to w przypadkach takich jak śledzenie procesów powstawania ozonu w wyniku reakcji fotochemicznych czy przemiany SO₂ do kwasu siarkowego H₂SO₄.
- Cel monitoringu określa rodzaj i klasę potrzebnych do niego urządzeń pomiarowych oraz wiele innych elementów jego przeprowadzania monitoringu, jak np. określenie powierzchni nim objętej, systematyczności pomiarów i zastosowanych metod.

Urządzenia prowadzące pomiary muszą spełniać następujące wymagania (Biziuk 1998):

- Urządzenie to musi pracować automatycznie, będąc w trybie długotrwałej pracy nie wymagać nadzoru ze strony obsługi. Wynikają z tego kolejne wymagania szczegółowe jak:
 - Zastosowane w urządzeniu elementy pomiarowe muszą się charakteryzować wysoką stabilnością pomiarów,
 - Monitor musi być wykonany z komponentów o wysokiej niezawodności,
 - Informacje dostarczone przez system pomiarowy muszą być ocenione, stąd wynika wymóg zainstalowania w monitorach urządzenia do przesyłu wyników do centrali monitoringu,
 - W niektórych przypadkach wymagana jest mobilność monitorów (monitory przenośne lub przewoźne). Urządzenia takie muszą być zdolne do prowadzenia pomiarów podczas ruchu środka transportującego. Wykorzystywane są one zazwyczaj podczas badania tła i jego trendów,
 - Dokładność oraz granica oznaczalności monitora musi być najlepsza do badania tła, natomiast w przypadku badań przemian chemicznych wymagana jest selektywność zastosowanych czujników.
 - W pewnych przypadkach wymagana jest możliwość prowadzenia zdalnych pomiarów. Szczególnie w przypadku określania wpływu skażenia na środowiska metodą fotografii lotniczej.

Rodzaje występujących skażeń mają wpływ na wymogi stawiane monitorom i ich konstrukcji. Urządzenia pomiarowe można podzielić ze względu na zanieczyszczenia jakie mierzą, czyli (Biziuk 1998):

- Gazowe,
- Ciekłe,
- Stałe (pyły)

Klasyfikując zanieczyszczenia ze względu na rodzaj rozróżnić można również mieszaniny (w przypadku węglowodorów i tlenków azotu) (Biziuk 1998).

Pierwsza przedstawiona klasyfikacja ma wpływ na sposób pozyskania próbki, które muszą uwzględnić możliwość zmiany składu próbki w wyniku adsorpcji na materiale przewodów lub reakcje chemiczne w samym materiale (Biziuk 1998).

Klasyfikacja druga, istotna jest w przypadku gdy celem prowadzenia monitoringu jest porównanie z normami, które często dotyczą wskaźników sumarycznych. Wymaga zastosowania urządzenia o odpowiedniej selektywności czujnika, określonej przez wymogi monitoringu środowiska (Biziuk 1998).

W stosunku do rodzaju skażenia, monitoring prowadzi się dla oceny (Biziuk 1998):

- Emisji związków toksycznych. Pomiar prowadzony jest u źródła,
- Imisji – prowadzenie pomiaru w oddaleniu od źródła,
- Transmisji – ilość zanieczyszczeń przenoszonych w powietrzu nad określonym obszarem,
- Depozycja – opad czynników skażających z atmosfery na określonym obszarze.

Najczęściej stosowane są monitory punktowe, które zbierają dane względnie blisko monitora. By uzyskać przestrzenny obraz rozkładu zanieczyszczeń, wymagana jest sieć monitorów punktowych rozmieszczonych zgodnie z wcześniej ustalonym schematem. Przy projektowaniu takich sieci należy uwzględnić przede wszystkim (Biziuk 1998):

- Typ terenu i jego ukształtowanie,
- Dominujące warunki atmosferyczne (głównie w przypadku wiatrów),
- Rodzaje oraz ogólną liczbę emitorów, istniejących jak i tych przewidywanych na określonym terenie,
- Cele monitoringu.

Typowa stacja pomiarowa jakości powietrza wygląda jak na rysunku nr 1.



Rys. 1. Stacja badawcza zanieczyszczeń w Raciborzu oraz jej wyposażenie (IMGW 2014).

Monitoring Powierzchni Ziemi (MPZ) jest jednym z ogniw PMS. Zakres prowadzonych działań ma na celu poprawę skuteczności działań w zakresie ochrony powierzchniowej warstwy Ziemi wraz z glebą. Jednym z zadań MPZ jest analiza, ocena oraz przewidywanie jakościowe i ilościowe zmian w strukturze ekologicznej, będących wynikiem działań takich jak (GIOŚ 2019):

- Radykalna działalność człowieka,
- Długotrwałe użytkowanie środowiska,
- Antropopresja przyległych i odległych terenów,
- Żywioty naturalne.

Do najczęstszych przyczyn wywołujących degradację ziemi należą (GIOŚ 2019):

- Zmiany w sposobie użytkowania ziemi,
- Zabudowa powierzchni ziemi,
- Górnicze wydobycie surowców,
- Składowiska odpadów,
- Wysoki wskaźnik chemizacji rolnictwa,
- Zmiany i zakłócenia stosunków wodnych.

Obowiązek okresowego badania jakości gleb na rzecz PMŚ wynika z art. 26 i art. 109 ustawy Prawo Ochrony Środowiska (Dz. U. z 2018 r. poz. 799, z późn. zm.). Monitoring jakości gleby i ziemi należy do zadań starosty (GIOŚ 2019).

Monitoring gleb oraz ziem rolnych w Polsce ma na celu wskazanie w skali kraju obszarów, na których zachodzą przekroczenia norm jakości gleb i ziemi. Stwarza to podstawy do rozpoczęcia działań prowadzących do usunięcia negatywnych skutków. Wskazanie miejscowych przekroczeń w jakości ziem należy do zadań starosty. Proces ten składa się z wielu etapów, w których najważniejszą rolę pełni wskazanie terenów, na których zaobserwowano występowanie zanieczyszczeń. Obszary te wymagają ustalenia rzeczywistego poziomu skażenia w trzech etapach (GIOŚ 2019):

- Etapem pierwszym jest określenie związków i substancji które mogą występować na określonym obszarze,
- W etapie drugim przeprowadza się pomiary. Mają one na celu potwierdzić bądź wykluczyć obecność związków wytypowanych w poprzednim etapie,
- Etapem ostatnim jest przeprowadzenie wnikliwych badań, których celem jest określenie ilości (stężenia) substancji stwierdzonych w poprzednim etapie. Będzie to stanowiło bazę do określenia zakresu oraz sposobu przeprowadzenia rekultywacji gleby.

Monitoring gleb może być również prowadzony przez Wojewódzki Instytut Ochrony Środowiska w ramach sieci wojewódzkich w odniesieniu do konkretnego zapotrzebowania regionu (GIOŚ 2019).

W badaniach tych określa się 40 parametrów fizyko chemicznych, Okresowość prowadzenia badań wynosi 5 lat. Mierzy się w nich (GIOŚ 2019):

- Skład granulometryczny,
- Zawartość procentowa próchnicy,
- Procentowa zawartość CaCO_3 ,
- Współczynnik pH,
- Kwasowość hydrolityczna i wymienna,
- Zawartość fosforu (P_2O_5)
- Zawartość magnezu, azotu ogólnego, siarki, węgla organicznego,
- Zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i inne.

Funkcjami monitoringu gleb są (GIOŚ 2019):

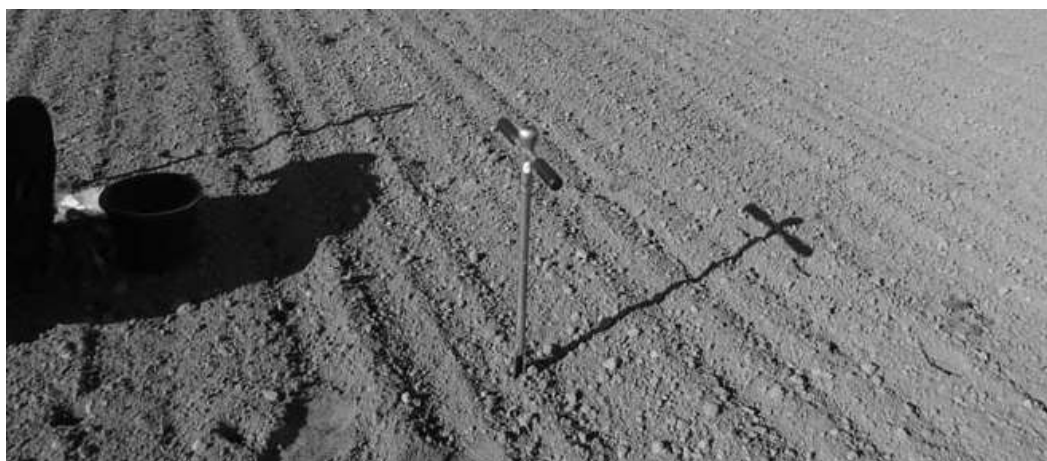
- Przeciwdziałanie degradacji gleb w wyniku ostrzegania w czasie rzeczywistym o powstaniu w glebach zmian,
- Wykluczenie gleby z produkcji żywności,
- Przesyłanie informacji dotyczących strat ekologicznych w gospodarce rolnej oraz leśnej będących skutkiem degradacji gleby, powietrza i imisji zanieczyszczeń przemysłowych.

Sieć pomiarowa monitoringu gleb powinna być określona razem z siecią zintegrowanego monitoringu środowiska przy użyciu jednolitego układu odniesienia przestrzennego. Badania prowadzone są w niezmiennych polach oznaczonych w sieci pomiarowej. Umiejscawiane są one przeważnie niedaleko stacji opadowych IMGW, znajdujących się w zasięgu różnych rejonów zanieczyszczeń powietrza. Sieć pomiarowa powinna się składać z około tysiąca punktów, z tego około sto położonych powinno być w stacjach krajowego monitoringu środowiska, przykładowo w zakładach instytutów Polskiej Akademii Nauk. Placówek takich jest w Polsce 162. W następnych

200 obszarach wskazuje się punkty pomiarowe sieci monitoringu gleb na obszarach podwyższonego ryzyka pod względem występujących zanieczyszczeń (GIOŚ 2014).

Badania w sieci pomiarowej przeprowadzane są w okresach wieloletnich oraz rocznych (GIOŚ 2019):

- Badanie kontrolne profilów glebowych prowadzone jest w okresach 10-cio letnich,
 - Kontrolne badanie warstwy wierzchniej gleby prowadzi się corocznie w okresach 3-5 lat,
 - Badanie kontrolnych ekosystemów leśnych przeprowadza się w 2-3 letnich okresach,
 - Badania roślin wskaźnikowych przeprowadza się każdego roku,
- Pobranie próbki gleby do analizy przedstawia rysunek 2.



Rys. 2.Przyrząd służący do pobierania próbki gleby (GIOŚ 2019).

Monitoring wód ma na celu dostarczenia informacji na temat jakości, stanu chemicznego, śledzenia zmian oraz powiadamianie o zagrożeniach w skali kraju (GIOŚ 2019).

Monitoring wód w Polsce, podzielić można na dwa podsystemy:

- Monitoring wód powierzchniowych,
- Monitoring wód podziemnych.

Na rzecz podsystemu monitoringu wód powierzchniowych realizowane są następujące zadania (Geopomerania 2014):

- Badanie i ocena stanu rzek i jezior,
- Badanie i ocena stanu wód przejściowych i przybrzeżnych.

Celem wspomnianych badań jest stworzenie fundamentów do działań prowadzących do poprawy stanu wód oraz ich ochrony (Geopomerania 2014).

W ramach Państwowego Monitoringu Środowiska, obowiązek prowadzenia badań i oceny wód wynika z art. 155a ust. 2 ustawy z dnia 18 lipca 2001 r. – Prawo wodne (Dz. U. z 2018 r. Nr 239, poz. 2019 z późniejszymi zmianami) według którego badania jakości wód powierzchniowych w obszarze elementów fizykochemicznych, chemicznych i biologicznych należą do kompetencji wojewódzkiego inspektora ochrony środowiska (GIOŚ 2019).

Jednostką podstawową gospodarki wodami stanowi JCW (jednolite części wody). Uwzględnić je należy jako oddzielne elementy wód powierzchniowych (Geopomerania 2014).

Zbiór informacji na rzecz JCW prowadzony jest przez trzy rodzaje monitoringu (Geopomerania 2014):

- Diagnostyczny, który dostarcza informacji na temat ogólnej oceny stanu jednolitych części wód każdej zlewni i podzlewni znajdujących się na obszarze dorzecza oraz oceny długoterminowych zmian w środowisku naturalnym i oddziaływań wynikających w sposób pośredni lub bezpośredni z działalności człowieka.

- Operacyjny, prowadzony w celu określenia stanu jednolitych części wód, które sklasyfikowane zostały w wyniku analizy presji w oparciu o dane z monitoringu diagnostycznego, jako zagrożone nieosiągnięciem celów środowiskowych, określenie stanu jednolitych części wód, dla których wyznaczono specjalny cel użytkowania. Cel i zakres pomiarów obejmuje wskaźniki biologiczne, wspomagane przez wskaźniki fizykochemiczne.
- Monitoring badawczy prowadzony gdy zajdzie taka potrzeba, min. gdy określa się wpływ zanieczyszczeń awaryjnych na jakość wód.

Celem monitoringu wód podziemnych jest dostarczenie informacji na temat stanu chemicznego wód podziemnych, śledzenie zmian oraz ostrzeżenie o zagrożeniach w skali kraju (GIOŚ 2014).

Badania wód podziemnych prowadzone są przez Państwowy Instytut Geologiczny (Geopomerania 2014).

Sieć krajowa w latach 2010 – 2012 na obszarze samego województwa zachodniopomorskiego obejmowała 76 punktów zlokalizowanych w 17 jednolitych częściach wód podziemnych (Geopomerania 2014).

Podobnie jak w przypadku monitoringu wód powierzchniowych, wyróżnić możemy trzy zasadnicze typy monitoringu (Geopomerania 2014):

- Diagnostyczny,
- Operacyjny,
- Badawczy.

Ich zadania są analogiczne jak w przypadku monitoringu wód powierzchniowych.

Monitoring hałasu jest podsystemem Państwowego Monitoringu Środowiska. Ma on za zadanie zbior danych na temat emisji hałasu i oceny klimatu akustycznego (WIOŚ 2014).

Na rzecz monitoringu hałasu funkcjonuje sieć krajowa i regionalna. Punkty pomiarowe zbierają informacje w porze dziennej, nocnej oraz w trzech okresach – wiosennym, letnim i jesiennym. (WIOŚ 2014).

Hałasem określa się dźwięki, które w określonych warunkach mogą być uciążliwe bądź powodować zagrożenie życia. Dźwiękiem określamy rozchodzące się zaburzenie – drgania cząstek powietrza. Można je opisać poprzez ciśnienie bądź częstotliwość drgań cząsteczek (WIOŚ 2014).

Ocenę stanu środowiska akustycznego wykonuje się przede wszystkim dla (WIOŚ 2014):

- Siedlisk ludzkich o łącznej liczbie mieszkańców przekraczającej 100 tysięcy – wykonywane są mapy akustyczne,
- Terenów poza aglomeracjami (ujęte w art. 179 ust. 1).

Hałas mierzony jest w stacjach automatycznych i mobilnych. Stacje automatyczne pozwalają na ciągłe, wielodobowe pomiary hałasu, np. komunikacyjnego. Na rok 2014 stacje takie znajdują się min. w Bydgoszczy, Włocławku, Toruniu i Grudziądzu i prezentują się jak na rysunku nr 3 (WIOŚ 2014):



Rys. 3. Stacje do pomiaru hałasu w trybie ciągłym (WIOŚ 2014).

Stacje mobilne pozwalają na cykliczny pomiar według ujednoczonych zasad i metod w określonej sieci punktów. Dane pomiarowe pozyskiwane są dzięki stacjom mobilnym takim jak pokazano na rysunku nr 4.



Rys. 4. Mobilna stacja pomiarowa służąca do pomiaru hałasu (WIOŚ 2014).

Monitoring poziomów pól elektromagnetycznych stanowi kolejny element Państwowego Monitoringu Środowiska. Prowadzone są w tym celu okresowe badania na podstawie których powstaje rejestr terenów na których wykryto przekroczenie dopuszczalnych poziomów pól elektromagnetycznych (WIOŚ 2014).

Wartości dopuszczalnych poziomów pól elektromagnetycznych dla miejsc dostępnych dla ludzi przedstawia tabela 1 (WIOŚ 2014).

Tab. 1. Dopuszczalne poziomy pól elektromagnetycznych dla miejsc dostępnych dla ludzi (WIOŚ 2014).

Wielkość fizyczna Zakres częstotliwości promieniowania		Składowa elektryczna	Składowa magnetyczna	Gęstość mocy
Lp.	1	2	3	4
1	0 Hz	10 kV/m	2500 A/m	-
2	od 0 Hz do 0,5 HZ	-	2500 A/m	-
3	od 0,5 Hz do 50 HZ	10 kV/m	60 A/m	-
4	od 0,05k Hz do 1 kHz	-	3f A/m	-
5	od 0,001 MHz do 3 MHz	20 V/m	3 A/m	-
6	od 3 MHz do 300 MHz	7 V/m	-	-
7	od 300 MHz do 300 GHZ	7 V/m	-	0,1 W/m ²

Wartości dopuszczalnych poziomów pól elektromagnetycznych dla terenów przeznaczonych pod zabudowę mieszkaniową przedstawia tabela 2 (WIOŚ 2014):

Bezzałogowe statki powietrzne w służbie Państwowego Monitoringu Powietrza mają duży potencjał.

Przede wszystkim mogą to być urządzenia służące do przetransportowania, wyniesienia miernika, bądź całego zespołu pomiarowego nad określony obszar, określoną wysokość do wskazanego miejsca.

System GPS sprzęgnięty z systemem FPV (z ang. First Person View) i OSD (z ang. On Screen Display) pozwala na dokładne określenie pozycji, wysokości i prędkości multicopter. Daje to możliwość zaprogramowania określonej trasy i wykonywania lotów w sposób zdalny. Obsługa platformy będzie się ograniczać do wymiany/naładowania źródła zasilania coptera, ewentualnych napraw i kalibracji oraz interpretacji uzyskanych pomiarów.

Tab. 2. Wartości dopuszczalnych poziomów pól elektromagnetycznych dla terenów przeznaczonych pod zabudowę (WIOŚ 2014).

Wielkość fizyczna		Składowa elektryczna	Składowa magnetyczna	Gęstość mocy
Zakres promieniowania	częstotliwości			
Lp.	1	2	3	4
1	50 Hz	1 kV/m	60 A/m	-

3. Podsumowanie

Państwowy Monitoring Środowiska jest realizowany poprzez systematyczne informowanie organów administracji i społeczeństwa o jakości elementów przyrodniczych, dotrzymany standardów jakości środowiska określonych przepisami oraz obszarach występowania przekroczeń tych standardów. Odpowiedzialny jest również za informację na temat występujących zmian jakości elementów przyrodniczych i przyczynach tych zmian, w tym powiązań przyczynowo skutkowych występujących pomiędzy emisjami i stanem elementów przyrodniczych (GIOŚ 2019)

Dzięki prowadzeniu statystyk oraz badań możliwa jest obserwacja tendencji zmian w środowisku naturalnym oraz celniejsze przeciwdziałanie tym zmianom. Rozbudowany system pomiarów, ocen i prognoz stanu środowiska stanowi cenną informację z punktu widzenia ochrony środowiska i zachowania bądź przywrócenia jego stanu.

4. Literatura

- Biziuk M., (1998). Metody kontroli zanieczyszczeń środowiska (pod red. Namieśnik J., Jamrógiewicz Z. i inni), WNT Warszawa 1998
- Główny Inspektor Ochrony Środowiska (GIOŚ) (2015) Program Państwowego Monitoringu Środowiska na lata 2016-2020, Dostępny w Internecie:
<http://powietrze.gios.gov.pl/pjp/publications/card/3156> [dostęp 29.01.2019]
- Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej (IMGW), Dostępny w Internecie: www.klimat.imgw.pl [dostęp 22.06.2014].
- Orzeł I. (2014). Powietrze: Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie
- Pikonia K., Stelmach S. (2013). Współczesne problemy ochrony środowiska, Gliwice 2013. System Geopomerania. Dostępny w Internecie: www.geopomerania.pl [dostęp 23.06.2014].
- Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie (WIOŚ). Dostępny w Internecie www.wios.lublin.pl [dostęp 23.06.2014]

5. Wprowadzenie do konstrukcji bezzałogowego statku powietrznego do monitoringu środowiska. Podstawy teoretyczne oraz wymagania prawne.

Introduction to the construction of an unmanned aerial vehicle for environmental monitoring. Theoretical foundations and legal requirements.

Dawid Piwowarski

Katedra Inżynierii Środowiska, Wydział Mechaniczny, Politechnika Opolska

Promotor: Roman Ulbrich

Promotor pomocniczy: Stanisław Anweiler

Dawid Piwowarski: piwowarskidawid@o2.pl

Słowa kluczowe: dron, projekt, konstrukcja

Streszczenie

Niniejsza praca zawiera skrócony opis założeń projektowych bezzałogowego statku powietrznego przeznaczonego do monitoringu elementów środowiska. Przedstawiono podstawowe założenia, możliwe konfiguracje oraz osiągi. Pracę zakończono dyskusją i wnioskami.

1. Wstęp

Statek powietrzny jest definiowany przez Organizację Międzynarodowego Lotnictwa Cywilnego (akronim ICAO) jako „każde urządzenie, które może uzyskiwać nośność w atmosferze z oddziaływań powietrza, innych niż pochodzące z oddziaływań powietrza na powierzchnię ziemi” (Gregorski 2017). Bezzałogowe statki powietrzne UAV (Unmanned Aerial Vehicle) pojawiły się w terminologii wojskowej w latach 90. NATO definiuje je jako „statek powietrzny o napędzie silnikowym, jednorazowego lub wielorazowego użytku, wykorzystujący siły aerodynamiczne dla zapewnienia siły nośnej, który lata niezależnie lub jest pilotowany zdalnie; zdolny do przenoszenia ładunków śmiertelnych lub obojętnych” (AAP-6 2011). Pojęcie to można rozszerzyć do bezzałogowego systemu powietrznego – UAS (z ang. Unmanned Aerial System) który jest obecnie najbardziej rozpowszechnionym określeniem w tej dziedzinie. Zamiana słowa „statek” na „system” zwraca uwagę na fakt, że w przypadku maszyn bezzałogowych bardzo ważnym składnikiem ich działania jest kontrola naziemna (np. operator). Według NATO, UAS to „system składający się z bezzałogowego statku powietrznego, systemu wsparcia oraz całości wyposażenia i personelu niezbędnego do kierowania bezzałogowym statkiem powietrznym” (AAP-6 2011). Samo słowo „bezzałogowy” może sprawiać kłopoty w interpretacji. Intuicyjnie oznacza ono, że na pokładzie nie ma żadnych członków załogi. Jednak w rzeczywistości i tak potrzebny jest personel, który będzie sprawował kontrolę nad statkiem powietrznym. Tym samym UAS w większości przypadków jest również obsługiwany przez osoby, które można nazwać załogą. Wyjątkiem są systemy autonomiczne, działające na podstawie ustalonych wcześniej algorytmów (Gregorski 2017).

ICAO wprowadziła w 2011 roku w okólniku 328 (ICAO 2011) pojęcie „zdalnie sterowany statek powietrzny” – RPA (z ang. Remotely Piloted Aircraft), który jest elementem „zdalnie sterowanego systemu powietrznego” – RPAS (z ang. Remotely Piloted Aircraft System).

Bezzałogowe statki powietrzne znajdują zastosowanie jako sprzęt militarny naukowy oraz rekreacyjny. W czasach obecnych są szeroko stosowane w badaniach naukowych. Wyposażone w specjalistyczny sprzęt potrafią zbierać informacje o stanie powietrza, wykonywać zdjęcia kolorowe oraz termowizyjne.

Ciągła konieczność monitoringu środowiska stwarza bardzo szerokie pole do zastosowania tych urządzeń. Na dzień dzisiejszy do celów monitoringu środowiska wykorzystuje się specjalne zabiegi oraz narzędzia. Warto wspomnieć, że inżynieria środowiska traktuje nie tylko o ochronie środowiska naturalnego, a skupia się przede wszystkim na działaniach mających na celu zminimalizowanie negatywnych skutków działania człowieka. Jedną z możliwości prowadzenia takich działań jest wykorzystanie bezzałogowych statków powietrznych (Piwowarski 2018).

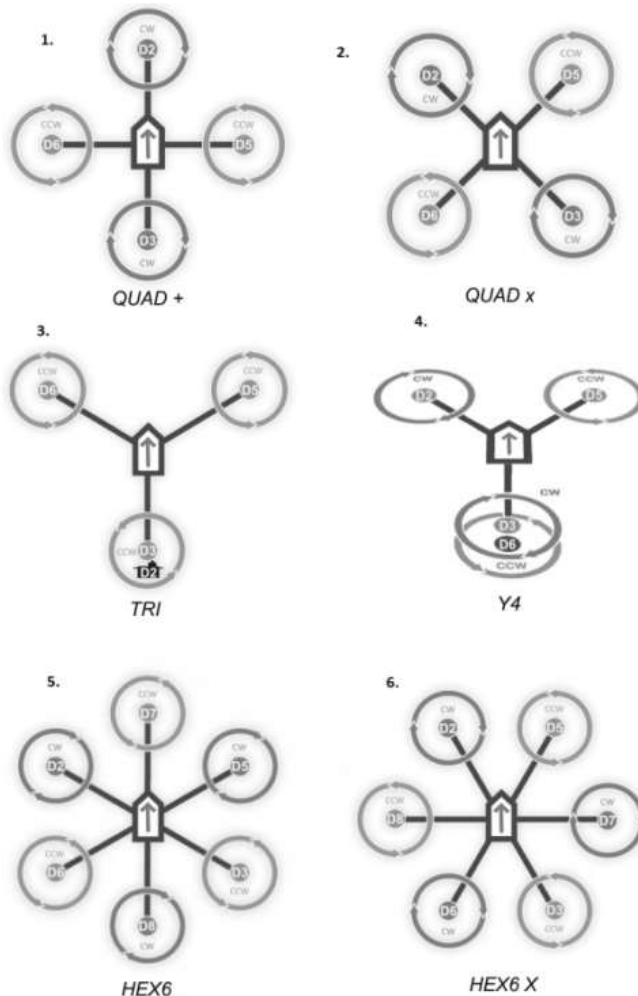
2. Materiały i metody

Bezzałogowy statek powietrzny z systemem FPV (z ang. First Person View) jest to dziedzina modelarstwa, najczęściej z zakresu lotnictwa, pozwalająca spojrzeć z perspektywy pilota. Zawdzięcza się to kamerze umieszczonej na platformie. Sygnał wideo przekazywany jest drogą radiową, najczęściej na częstotliwości 900 MHz/1.2 MGz/2.4 GHz/5.8GHz. Wraz z obrazem może być przesyłany dźwięk oraz dane telemetryczne.

Platforma FPV musi wykazywać się zdolnością do uniesienia dodatkowego obciążenia. Najprostszy zestaw będzie się składał z modelu, kamery bądź aparatu fotograficznego oraz nadajnika i odbiornika obrazu wideo. Bardziej rozbudowane układy wyposażone są w osobne źródło zasilania czy systemy pozwalające na obrót kamery bez względu na położenie platformy (Niezabitowski 2016).

Na chwilę obecną można przedstawić przynajmniej 11 różnych typów platform. Odróżniać je będzie liczba silników oraz sposób ich ułożenia. Do najczęściej spotykanych należą:

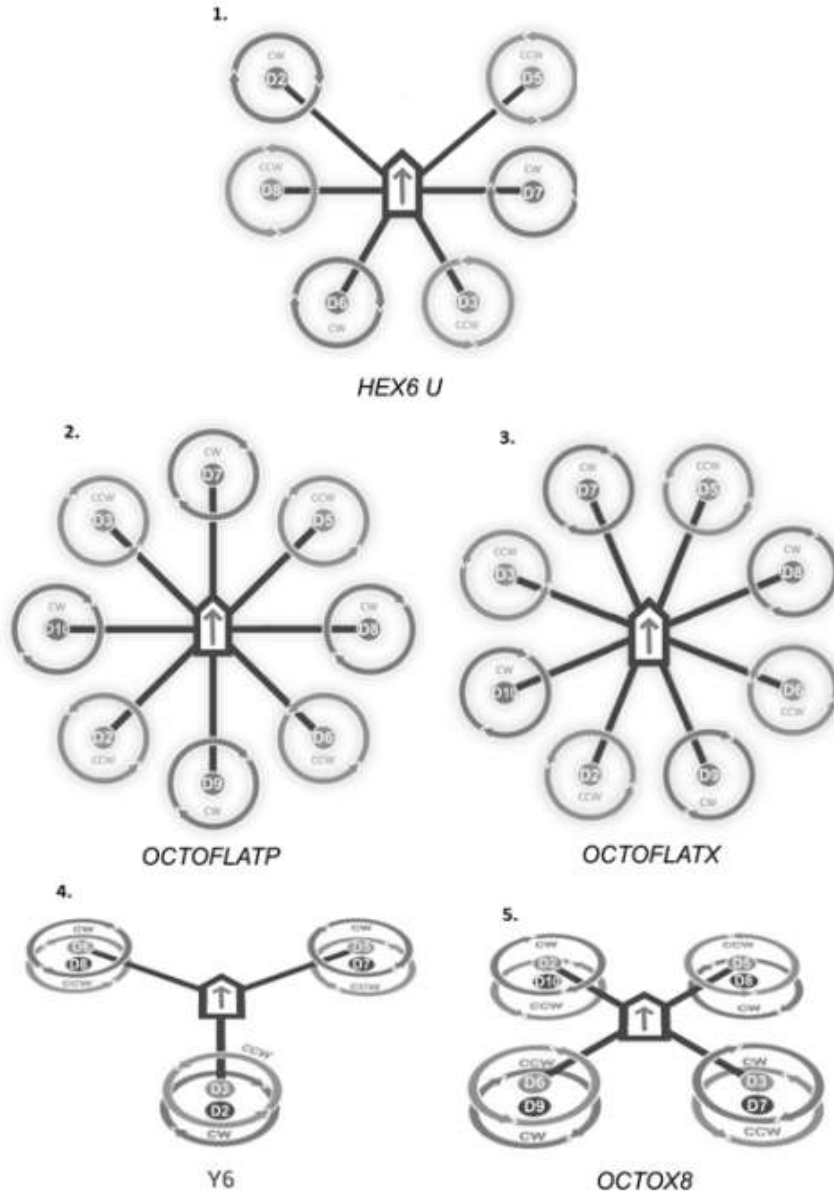
- Quadcopter w konfiguracji Plus-coptera – nr 1 na rysunku 1,
- Quadcopter w konfiguracji X-coptera – nr 2,
- Tricopter – nr 3,
- Y4 copter – nr 4,
- Hexacopter w konfiguracji Plus i X – kolejno numery 5 i 6.



Rys. 1. Podstawowe konfiguracje platform.

Rzadziej spotykane konfiguracje to:

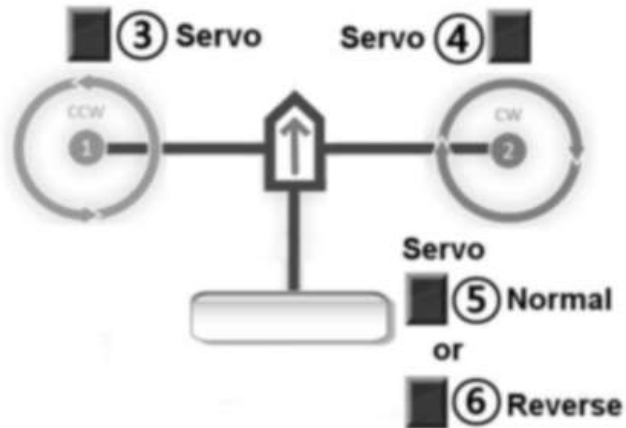
- Hexakopter w konfiguracji U – nr 1 na grafice 2.
- Oktokopter w konfiguracji Plus oraz X – kolejno nr 2 i 3.
- Y6 copter – nr 4.
- Oktokopter X8 – nr 5.



Rys. 2. Podstawowe konfiguracje platform.

Spotkać się można również z prototypami quadro i hexakopterów, których silniki ułożone są w literę H. Ciekawą, choć rzadko spotykaną wersją multicopter jest *Twincopier*. Rzadkość w podejmowaniu próby skonstruowania takiego urządzenia wynika z konieczności zastosowania precyzyjnej mechaniki sterującej położeniem łopatek wirników oraz brak konkretnego wsadu dla procesora kontrolera.

Uproszczony schemat Twincopiera przedstawiono na rysunku poniżej.



Rys. 3. Uproszczony schemat Twincoptera (fot. D. Piwowarski).

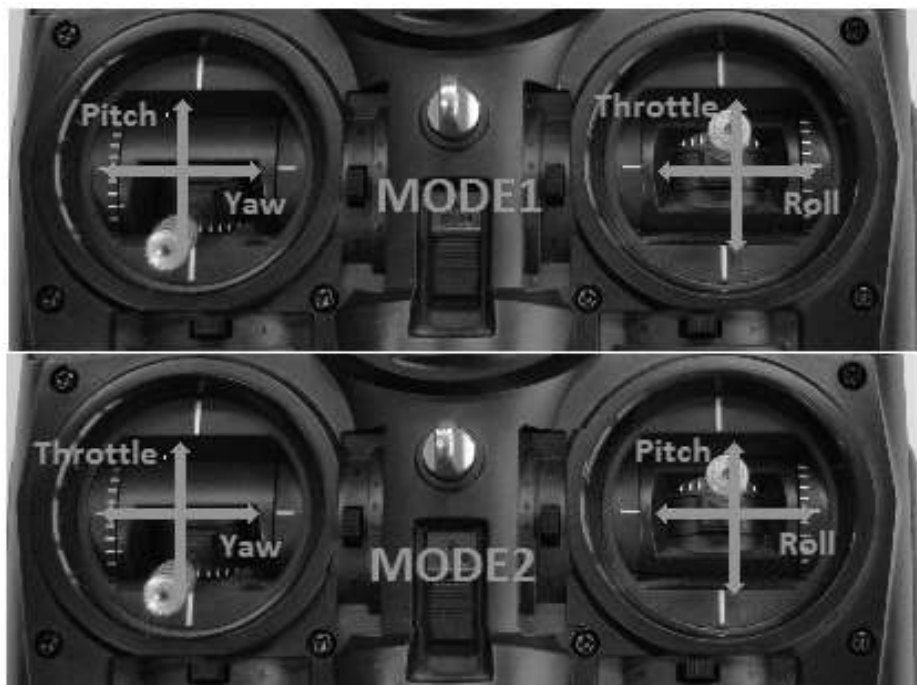
Jednym z podstawowych elementów statku powietrznego jest aparatura sterująca – nadajnik i odbiornik.

Nadajnik jest urządzeniem elektronicznym, który poprzez sygnał radiowy komunikuje się z odbiornikiem. Poruszając drążki aparatury, przekazujemy w sposób proporcjonalny informacje do odbiornika o tym ruchu. Głównymi elementami aparatury są dwa manipulatory – manetki, pozwalające kontrolować model. Ponadto, ta sama aparatura może występować w różnych konfiguracjach nazywanych:

- MODE1 – obroty silnika sterowane są manetką prawą.
- MODE2 – obroty silnika sterowane są poprzez manipulator lewy.

Wspomniane powyżej, dwa tryby, są jednymi z najpopularniejszych. Spotkać się można również z trybem MODE 3 i 4.

W zależności od posiadanego trybu, rozłożenie kanałów wygląda następująco:



Rys. 4. Przypisanie kanałów do manipulatorów wg trybu aparatury (Fot. D. Piwowarski).

Throttle – odpowiada za prędkość obrotów silnika.

Pitch, Yaw, Roll – nazwy przypisane trzem osiom, według których sterowany jest model.

Podstawowymi parametrami charakteryzującymi aparatury jest wspomniany wyżej tryb oraz:

- Ilość kanałów: czyli ilość urządzeń, którymi sprzęt może sterować niezależnie. Najprostsze aparaty posiadają od 2 do 6 kanałów. Do sterowania multicopterem minimalna ilość kanałów to 4, zalecana to przynajmniej 5-6.
- Częstotliwość pracy nadajnika: czyli rodzaj pasma na jakim pracuje aparatura. W Polsce dla modelarstwa lotniczego zarejestrowana jest częstotliwość 35MHz. Nowocześniejsze nadajniki pracują w paśmie 2.4GHz, a firmy produkujące takie urządzenia prześcigają się w technologii ich wykonania.

Dodatkowo aparatura może być wyposażona w komputer, czyli mikrokontroler liczący w sposób programowy parametry potrzebne do sterowania jak np. trymery cyfrowe, miksery poszczególnych kanałów oraz pamięć modeli.

Maksymalna moc nadajnika wg. obwieszczenia Ministra Cyfryzacji z dnia 6 grudnia 2016 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Administracji i Cyfryzacji w sprawie urządzeń radiowych nadawczych lub nadawczo-odbiorczych, które mogą być używane bez pozwolenia radiowego (Dz. U. z 2017 r. poz. 96, z późn. zm.), aneksu nr 3, określającego warunki pracy urządzeń nadawczo – odbiorczych lokalnych radiowych łączy w paśmie 2,4 GHz bez konieczności posiadania pozwolenia radiowego dopuszcza moc promieniowania EIRP (ang. Effective Isotropical Radiated Power), która nie może przekraczać: 20dBm tj. 100mW (Niezabitowski 2016).

Odbiornik, czyli urządzenie elektroniczne odbierające sygnał z nadajnika przetwarzając go na impulsy elektryczne, zrozumiałe dla układów sterujących modelem, np. serwomechanizmów.

Podstawowe parametry charakteryzujące odbiornik to:

- Ilość kanałów: maksymalna liczba urządzeń, którymi odbiornik jest w stanie sterować,
- Częstotliwość pracy odbiornika: jak w nadajniku.

Dodatkowo odbiorniki możemy podzielić ze względu na ich wagę, od bardzo lekkich, o wadze nawet 1g wykorzystywanych w mikromodelach do standardowych rozmiarów 15-20g+. Dodatkowo parametrem różnicującym może być napięcie zasilania, rodzaj przemiany sygnału itp.

Kolejnym istotnym elementem jest kontroler lotu. Jest to układ elektroniczny wyposażony przynajmniej w trzyosiowy żyroskop, oraz procesor, odpowiedzialny za sterowanie pracą silników. Prowadzenie lotu wspierane jest przez następujące czujniki: żyroskop, akcelerometr, barometr i magnetometr. Żyroskop jest odpowiedzialny za utrzymanie położenia kąтового, działający w oparciu o zasadę zachowania momentu pędu. Akcelerometr odpowiedzialny jest za pomiar przyspieszeń liniowych i kątowych. Barometr na podstawie pomiaru zmian ciśnienia jest w stanie określić czy lot jest wznoszący czy opadający. Magnetometr natomiast monitoruje zmiany pola elektromagnetycznego. Przeciwdziała obrotowi wokół własnej osi platformy. Sercem takiego układu jest często procesor z rodziny Atmega. Dużą zaletą kontrolera jest możliwość podłączenia do niego modułu OSD oraz GPS.

Duża różnorodność kontrolerów na rynku sprawia, że każdy przyszły konstruktor może znaleźć coś dla siebie. Różnica pomiędzy poszczególnymi kontrolerami lotu wynika zazwyczaj z użytych komponentów, możliwych dalszych opcji rozbudowy oraz możliwości współpracy z innymi urządzeniami na platformie.

Przeglądając dostępne na rynku kontrolery lotu, można trafić na Polskie konstrukcje. Polski inżynier Marcina Kukle stworzył kilka modeli opartych o otwarte środowisko MultiWii. Produkt cieszy się uznaniem w środowisku modelarskim za swoją niezawodność.

Rama nośna nośnik wszystkich urządzeń wielowirnikowca. Materiałami wykorzystywanymi do budowy ramion ramy są zazwyczaj profile/rurki duraluminiowe i węglowe. Elementy łączeniowe ramion najczęściej wykonane są z laminatu szklano epoksydowego.

Na rynku można spotkać się z gotowymi projektami ram przystosowanych pod konkretną konfigurację. Wymagającymi jedynie zamontowania elektroniki.

Sterowanie oraz lot bezzałogowego statku powietrznego odbywa się poprzez zmianę obrotów śmigieł o stałym skoku. Jest to przewaga platform wielowirnikowych nad helikopterami które do lotu wykorzystują precyzyjną mechanikę.

Pracę regulacji obrotów wykonuje regulator ESC (z ang. Electronic Speed Controller). Standardowe regulatory wyposażone są w wbudowany BEC (z ang. Battery Eliminator Circuit) – czyli dodatkowy układ zasilania z napięciem wyjściowym na poziomie 5 [V] oraz maksymalnym prądzie zazwyczaj z przedziału 1-2 [A]. Spotkać się można również z takimi w wersji OPTO, czyli bez dodatkowego liniowego zasilania.

Czas reakcji na ruchy manipulatorów aparatury przy standardowym ESC może okazać się zbyt duży do szybkich manewrów platformy. Powstała w ten sposób koncepcja przeprogramowania regulatorów do pracy przy wyższej częstotliwości.

Dobierany regulator powinien być o mocy większej niż maksymalna wydajność silnika.

Wraz z pojawieniem się modelarskich wersji silników trójfazowych, całkowicie wyparły one starsze wersje silników szczotkowych. Silniki 3f charakteryzujące się większą sprawnością oraz niższym poborem prądu. Stały się idealnym rozwiązaniem w multicopterach. Parametrem różnicującym poszczególne modele silników to ich maksymalna moc, waga oraz współczynnik KV określający liczbę obrotów przypadających na jeden volt zasilania.

Nadajnik oraz odbiornik AV - są to urządzenia pozwalające na transmisję obrazu z modelu. Podstawowymi parametrami różniącymi poszczególne zestawy jest:

Częstotliwość pracy:

- 900MHZ,
- 1.2GHz.

Są to zakresy fali wymagające posiadania koncesji, gdyż korzystanie z tego pasma może spowodować utrudnienia w komunikacji GSM.

- 2.4GHz,
- 5.8GHz.

Dopuszczalne jest korzystanie z urządzeń pracujących w tym paśmie dla prywatnych zastosowań bez posiadania koncesji. Maksymalna moc takiego urządzenia to 100mW dla 2.4GHz i 10mW dla 5.8GHz.

Moc zestawu: jest to kolejny parametr charakteryzujący. Najczęściej można się spotkać z urządzeniami

- Małej mocy – 10mW,
- Średniej mocy – 100-500mW,
- Dużej mocy – powyżej 500mW sięgając nawet do 2W.

Należy zaznaczyć, że nadajnik i odbiornik AV nie może pracować w tym samym paśmie co aparatura, gdyż doprowadzi to do wzajemnego oddziaływania na siebie urządzeń. Ponadto, nawet jeśli nadajnik wideo pracuje w innej częstotliwości, a jest średniej bądź dużej mocy i umieszczony w zbyt małej odległości od innych urządzeń na platformie, może spowodować zakłócenia w pracy innych urządzeń, a nawet utratę/zmniejszenie maksymalnego zasięgu sterowania.

Kamera to jeden z ważniejszych elementów systemu FPV. Stosowane kamery wyposażone są w matryce CCD (z ang. Charge Coupled Device). Są to zazwyczaj kamery przemysłowe, wykorzystywane do monitoringu. Pracują one w systemie NTSC lub PAL (w tym samym systemie musi też pracować nadajnik video jak i monitor na ziemi). W Europie najpopularniejszy jest system PAL w USA oraz Chinach jest to system NTSC.

Jakość obrazu kamery często określana jest przez współczynnik TVL – linie poziomej rozdzielczości (ang. Lines of (horizontal) resolution). Jednakże przetwornik w kamerze CCD jest analogowy i nie zawiera żadnej rozdzielczości w poziomie co pozwala wnioskować że „TVL” jest parametrem stworzonym przez branżę kamer płytkowych nie odzwierciedlający żadnego rzeczywistego parametru kamery.

OSD (z ang. On Screen Display) – system odpowiedzialny za nakładanie parametrów lotu na obraz video przekazywany na ziemię. Ułatwia nawigację oraz prowadzenie platformy podając informacje jak np. czas lotu, prędkość, przebyta droga, napięcie akumulatora, sztuczny horyzont itp. Złożoność układu OSD wzrasta wraz z liczbą podawanych przez niego parametrów.

GPS (z ang. Global Positioning System) został opracowany przez Armię USA – Departament Obrony Stanów Zjednoczonych. Obejmuje swoim zasięgiem całą kulę ziemską. Pozwala na precyzyjne określenie obiektu na globie ziemskim za pomocą sygnałów przesyłanych przez satelity krążących wokół ziemi. Do prawidłowego określenia lokalizacji wymagana jest widoczność z minimum 3-ma satelitami. W zastosowaniach FPV, gdzie wymagana jest większa precyzja liczby minimalnych widocznych satelitów na poziomie 5-ciu (z maks. 12 widocznych) (Niezabitowski 2016).

Za pomocą modułu GPS można określić parametry takie jak:

- Wysokość – jedynie zgrubnie, pod warunkiem, że obiekt jest w ruchu,
- Prędkość przemieszczania,
- Położenie geograficzne N/E.

Duża powszechność oraz łatwość w dostępie do bezzałogowych statków powietrznych w ostatnim czasie doprowadziła do zaostrenia prawa w tym zakresie. Każdego pilota bezzałogowego statku powietrznego, niezależnie od charakteru odbywanego lotu – czy to loty komercyjne, rekreacyjne, naukowe czy też sportowe, obowiązuje to samo prawo lotnicze. Do wykonywania lotów innych niż rekreacyjne i sportowe, wymagane jest Świadectwo Kwalifikacji. Potwierdzające odbyty kurs pilota bezzałogowego statku powietrznego oraz odbytego egzaminu ze skutkiem pozytywnym. Odpowiedzialność operatora statku powietrznego została określona w Załączniku 6 oraz załączniku 6a do Rozporządzenia Ministra Transportu, Budownictwa i Gospodarki Morskiej z dnia 26 marca 2013 (Dz.U. 2013 poz. 440, z późn. zm.). Według tego rozporządzenia, pilot statku powietrznego musi zachować szczególną ostrożność, unikać wszelkiego działania lub zaniechania, które mogłyby doprowadzić do zagrożenia bezpieczeństwa w tym zagrożenia bezpieczeństwa ruchu lotniczego, utrudniać ruch lotniczy, zakłócić spokój lub porządek publiczny oraz narazić osoby trzecie na szkodę. Dodatkowo osoba pilotująca bezzałogowy statek powietrzny zobowiązana jest do prowadzenia lotu w sposób umożliwiający uniknięcia kolizji z innym statkiem powietrznym. Należy pamiętać również, że każdy załogowy statek powietrzny ma pierwszeństwo nad bezzałogowym statkiem. Przed przystąpieniem do lotu, należy zdać sobie sprawę, że odrywając statek powietrzny od ziemi ponosi się odpowiedzialność za bezpieczeństwo wykonywanych operacji lotniczych. Stosowanie takiego urządzenia powinno odbywać się zgodnie z zaleceniami oraz ograniczeniami przez producenta. Przed przystąpieniem do lotu należy dokonać oceny stanu technicznego bezzałogowego statku powietrznego, a lot powinien być wykonywany tylko przez pełni sprawne urządzenie.

Kolejnym ważnym aspektem, o który należy zadbać przed przystąpieniem do lotu jest aktualne ubezpieczenie OC (Załącznik nr 7 do rozporządzenia Ministra Transportu, Budownictwa i Gospodarki Morskiej z 26 marca 2013 r., Dz.U. 2013 poz. 440, z późn. zm.). Załącznik ten określa wymagania dotyczące ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej osób eksploatujących lotnie, parolotnie, którymi możliwy jest start pieszy, spadochrony oraz wspomniane już bezzałogowe statki powietrzne o masie startowej do 20kg (zaktualizowany punkt 1.1. w załączniku nr 7 do Rozporządzenia Ministra Transportu Budownictwa i Gospodarki Morskiej z dnia 26 marca 2013 r.)

Warto również wspomnieć o różnych strefach lotniczych. Część z nich nie dopuszcza do lotu żadnych statków powietrznych. Przed przystąpieniem do latania, należy się rozpoznać jaka strefa lotnicza występuje na obszarze na którym prowadzone będą manewry lotnicze. W przypadku lotów rekreacyjnych i sportowych, lot należy prowadzić w zasięgu wzroku, z dala od ludzi i pojazdów (minimalny dystans to 30 m w poziomie) oraz zabudowań (minimum 100m w poziomie). Wyjątkiem są bezzałogowe statki o maksymalnej masie startowej do 600 gram. Bezwzględny zakaz lotów obowiązuje nad portami morskimi oraz lotniczymi, ujęciami wodnymi, wodociągami, oczyszczalniami ścieków, rurociągami paliwowymi, zaporami wodnymi oraz śluzami. Obostrzenie to dotyczy również linii energetycznych i telekomunikacyjnych, banki, elektrownie, muzea, archiwa państwowe.

Loty w polskiej przestrzeni powietrznej muszą być wykonywane zgodnie z zasadami określonymi w Rozporządzeniu Ministra Transportu, Budownictwa i Gospodarki Morskiej z dnia 26 marca 2013 r. w sprawie wyłączenia zastosowania niektórych rodzajów statków powietrznych oraz określenia warunków i wymagań dotyczących używania tych statków.

Polska przestrzeń powietrzna nosi nazwę FIR EPWW (z ang. Flight Information Region, EPWW – Warszawa, inaczej FIR Warszawa) i rozciąga się nad polskim obszarem lądowym, wodami wewnętrznymi i morzem terytorialnym (polską przestrzenią powietrzną), oraz tę przestrzeń nad wodami pełnego morza – Bałtyk. Definicja ta odnosi się do granic poziomych. Jeśli chodzi o granice pionowe, FIR EPWW rozciąga się od ziemi do Poziomu Lotu 660 (Flight Level 660 = FL660). Aby wartość tę przeliczyć na metry, należy dodać dwa zera, co skutkuje otrzymaniem wartości w stopach, czyli 66000 stóp. Po przeliczeniu stóp na metry otrzymujemy wartość 20117 metrów. Jasno to określa, że Polska przestrzeń powietrzna sięga 20km w górę.

Dla pewnego ułatwienia oraz jasnego określenia gdzie jakie loty można wykonywać, przestrzeń powietrzna została podzielona na klasy: C,D i G. Klasa C i D są to przestrzenie kontrolowane. Przestrzeń G jest natomiast niekontrolowana. Przestrzeń G jest to obszar, w którym niewymagane jest zezwolenie na lot bezzałogowym statkiem powietrznym. Lotu nie trzeba więc zgłaszać żadnym służbom. Należy jednak pamiętać o wspomnianym wcześniej, minimalnym dystansie od siedlisk ludzkich oraz zabudowań.

Jak łatwo się domyślić, przestrzeń C i D, ze względu na to, że są to przestrzenie kontrolowane - wymagane jest zgłoszenie lotu, odpowiednio wcześniej odpowiednim służbom.

Przestrzeń kontrolowana obejmuje cały teren FIR Warszawa FL95 (Flight Level 95 – 2895 metrów). Niektóre przestrzenie klasy C, zaczynają się już od ziemi a są nimi: CTR – strefa kontrolowana lotniska (z ang. Control Area) oraz TMA – rejon kontrolowany lotniska (z ang. Terminal Control Area). Są to przestrzenie, które swym obszarem obejmują rozległe komunikacje lotnisk cywilnych.

Podsumowując stałe elementy przestrzeni powietrznej, mamy doczynienia: strefa P (z ang. Prohibited). Czyli strefa o całkowitym zakazie prowadzenia lotów. Tworzone są nad obszarami/objektami o znaczeniu strategicznym oraz nad obiektami których uszkodzenie mogło być tragiczne w skutkach – zakłady chemiczne, elektrownie. Strefa R (z ang. Restricted) swym obszarem obejmuje strefy o ograniczonym ruchu powietrznym – parki narodowe. Strefy CTR i MCTR natomiast to strefy kontrolowane lotniska. Mówimy tutaj o lotniskach cywilnych jak i militarnych. Kolejną strefą jest RMZ (z ang. Radio Mandatory Zone). W strefie tej obowiązkowa jest łączność radiowa. Strefa AWY (z ang. Airway) to droga lotnicza.

3. Wnioski

Bardzo dynamiczny rozwój bezzałogowych statków powietrznych w ostatnim czasie spowodowany jest dużym zainteresowaniem społeczeństwa w tej materii. Kolejne generacje tych urządzeń posiadają coraz bardziej wyrafinowany system prowadzenia lotu oraz szerszy zakres możliwości. W ostatnim czasie, pojawiły się nawet bezzałogowe statki powietrzne wyposażone w kamery termowizyjne pozwalające do badanie pola temperatury, wykrywanie strat ciepła, elementów emitujących nadmierne ilości ciepła, poszukiwanie osób zaginionych w trudnym terenie, czy też wykrywanie źródeł ognia. Tematyka bezzałogowych statków powietrznych była podejmowana w historii już wielokrotnie. Na dzień dzisiejszy, osoba nie czująca się pewnie w konstrukcji własnego statku powietrznego, może zdecydować się na jeden z ogólnie dostępnych modeli. Kolorowa kamera, która aktualnie stanowi podstawowe wyposażenie takiego urządzenia pozwala na prowadzenie wielu różnych badań na rzecz inżynierii środowiska oraz monitoringu środowiska. Aspektem, najbardziej ograniczającym w tej materii jest jedynie wyobraźnia operatora.

W chwili obecnej bezzałogowe statki powietrzne prowadzą pomiary warstwy ozonowej, badają obszary podbiegunowe, zliczają populację zwierząt, tworzą mapy, mierzą grubość lodu, badają zanieczyszczenia atmosfery oraz przepływ aerzoli nad Oceanem Spokojnym.

Bardzo restrykcyjne prawo odnośnie lotów bezzałogowych statków powietrznych jest wynikiem wielu incydentów lotniczych z udziałem tych urządzeń. Przed przystąpieniem do lotu należy sprawdzić czy lot w danej strefie jest w ogóle możliwy, jakie działania należy podjąć przed jego wykonaniem oraz czy nie niesie ze sobą zagrożeń dla osób postronnych.

Warto wspomnieć, że Polskie Prawo Lotnicze nie przewiduje wykroczeń. Każde złamanie tego prawa traktowane jest jako przestępstwo i może bardzo skomplikować życie pilota bezzałogowego statku powietrznego.

4. Literatura

- AAP-6 (2011) Słownik terminów i definicji NATO zawierający wojskowe terminy i ich definicje stosowane w NATO, Agencja Standaryzacyjna NATO, Bruksela 2011, s. 386, 413.
- Gregorski M. (2017) Regulacje dotyczące bezzałogowych statków powietrznych w prawie Unii Europejskiej w kontekście międzynarodowym: Studia Europejskie 2/2017, s. 137-159
- ICAO (2011) Unmanned Aircraft Systems (UAS), Cir. 328.AN/190, Montreal 2011
- Niezabitowski P. (2012) Encyklopedia FPV, Dostępny w Internecie: www.fpvdrones.pl [dostęp: 15.08.2016]
- Piwowarski D. (2018) Wykorzystanie platform wielowirnikowych w Inżynierii Środowiska: Młodzi Naukowcy 06.2018.

6. Biofilm bakteryjny wielogatunkowy – metody badania i wizualizacji na powierzchniach abiotycznych. Część I – przegląd metod barwiących i metabolicznych.

Multispecies bacterial biofilm – research and visualization methods on abiotic surfaces. Part I – staining and metabolic assays.

Zuzanna Sycz

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. J. Mikulicza-Radeckiego 9, 50-345 Wrocław

Opiekun naukowy: Dorota Wojnicz

Zuzanna Sycz: sycz.zuzanna@gmail.com

Słowa kluczowe: biofilm mieszany, adhezja, egzopolisacharyd, metody mikroplótkowe, analiza ilościowa i jakościowa biofilmu

Streszczenie

Badanie biofilmu wymaga połączenia wielu metod jakościowych i ilościowych. Najpopularniejszym sposobem charakterystyki fenotypowej drobnoustrojów oraz badania macierzy biofilmu są metody barwiące tj. mikroplótkowe z użyciem barwników: fioletu krystalicznego (CV), błękitu 1,9-dimetylo-metylenowego (DMMB), diocjanu fluoresceiny (FDA) lub O-nitrofenylo- β -D-galaktopiranozydu (ONPG). Do badania żywych komórek służy technika Live/Dead BacLight oraz metody metaboliczne tj. spektrofotometryczne: z resazuryną, ze związkami tetrazoliowymi (XTT, TTC, MTT, NBT, CTC, INT) oraz BioTimer (BTA). Podsumowując, badania *in vitro* z jak najdokładniejszym odtworzeniem warunków *in vivo* są najlepszą metodą analizy ilościowej i jakościowej biofilmów. Kompleksowe badania biofilmów bakteryjnych, zwłaszcza wielogatunkowych, mają fundamentalne znaczenie dla zdrowia publicznego w obliczu stale wzrastającej oporności drobnoustrojów na antybiotyki.

1. Wstęp

Biofilm bakteryjny jest to zespół wzajemnie komunikujących się mikroorganizmów osiadłych na określonym podłożu, przylegających do siebie i otoczonych warstwą substancji organicznych i nieorganicznych, produkowanych przez te drobnoustroje. Zjawisko biofilmu polega na wytworzeniu zatopionych w macierzy agregatów komórek bakteryjnych, powodujących pokrywanie powierzchni organicznych i nieorganicznych. Dzięki temu drobnoustroje tworzące biofilm stają się niedostępne dla układu immunologicznego gospodarza czy dla antybiotyków. Proces tworzenia biofilmu przebiega wieloetapowo: 1) początkowe przyleganie (adhezja odwracalna); 2) nieodwracalne przyleganie, produkcja egzopolisacharydu (EPS); 3) tworzenie mikrokolonii; 4) tworzenie macierzy; 5) rozproszenie. Rozprzestrzenianie się biofilmu po powierzchni odbywa się poprzez: toczenie, falowanie, rozpraszanie, odrywanie, płynięcie.

Biofilm bakteryjny może być utworzony przez komórki jednego lub wielu gatunków drobnoustrojów. Biofilmy wielogatunkowe występują w środowisku naturalnym, w organizmie człowieka, na powierzchniach biomateriałów oraz w instalacjach przemysłowych. Są czynnikami etiologicznymi zakażeń przewlekłych, nawracających i szpitalnych, stanowią istotne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzkiego.

Badania biofilmów mogą być prowadzone na modelach doświadczalnych w warunkach laboratoryjnych *in vitro*, jak również na zwierzętach doświadczalnych *in vivo*. Dotyczą one składu gatunkowego, etapów powstawania i mechanizmów funkcjonowania, cech fenotypowych, sposobów komunikacji między bakteriami (*quorum sensing*), interakcji międzygatunkowych (synergizm, antagonizm), zmian w ekspresji genów, a także mechanizmów wzrostu oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe oraz na odpowiedź immunologiczną gospodarza.

Złożoność biofilmów utrudnia wyczerpującą analizę ich powstawania i rozwoju oraz wymaga połączenia różnych metod eksperymentalnych. Dynamika biofilmów i ich architektura stwarzają wyzwania dla podstawowych pomiarów dotyczących liczby żywych komórek, ilości wytworzonej biomasy, morfologii biofilmu i innych właściwości. Wyzwania te nie występują w samych pomiarach, ale raczej w braku określenia optymalnych i standardowych protokołów dla konkretnych badań. Np. pomiary akumulacji biofilmu mogą skupiać się na całkowitej suchej masie, całkowitym węglu organicznym, liczbie żywych komórek lub całkowitej liczbie komórek (żywych i martwych). W ramach badań biofilmów można oceniać wielkość mikrokolonii, stopień adhezji drobnoustrojów do powierzchni oraz wzajemne relacje ilościowe pomiędzy poszczególnymi gatunkami. Badania morfologii biofilmów mogą obejmować wizualizację dwuwymiarowych struktur powierzchni poprzez techniki barwienia i mikroskopii świetlnej. Za pomocą nowoczesnych metod mikroskopowych można przeprowadzić analizę trójwymiarowych struktur tj. przestrzennego zróżnicowania umiejscowienia bakterii z poszczególnych gatunków w obrębie biofilmu, a nawet analizę przestrzennych interakcji różnogatunkowych komórek bakterii (Trafny 2012, Wilson 2017).

2. Opis zagadnienia

Zdolność do adhezji jest rzeczywistą reakcją mikroorganizmu na warunki panujące w środowisku. Wysokie właściwości adhezyjne są wynikiem nie tylko mechanizmów fizykochemicznych, ale zależą również od obecności wici, fimbrii lub produkcji zewnątrzkomórkowych substancji polimerowych, np. egzopolisacharydu. Adhezję bakterii do powierzchni abiotycznej, tj. mikropłytki lub biomateriału oraz zdolność do tworzenia biofilmu można oznaczyć odpowiednio za pomocą analizy ilościowej lub jakościowej.

Ilościowe oznaczenie adhezji komórek bakteryjnych i wielkości tworzonego biofilmu wykonuje się na 96-dołkowych płytkach polistyrenowych (płytki titracyjne, mikropłytki). Po wypełnieniu dołków zawiesiną badanych szczepów, hodowle bakteryjne inkubuje się w odpowiednich temperaturach przez kilka dni. Następnie hodowle przemywa się w celu usunięcia nie związanych ze strukturą biofilmu komórek planktonicznych. Następnie dodaje się roztwór barwnika, który wnika w macierz biofilmu. Następnie za pomocą rozpuszczalnika ekstrahuje się barwnik, otrzymane roztwory przenosi do nowej płytki i dokonuje odczytu absorbancji przy określonej długości fali. Na tej podstawie badane drobnoustroje zalicza się do grup charakteryzujących zdolność szczepu do tworzenia biofilmu.

Jakościowe oznaczenie adhezji komórek bakteryjnych do powierzchni abiotycznych oraz zdolności do tworzenia na nich biofilmu, wykonuje się z wykorzystaniem różnych biomateriałów. Adhezja bakterii do biomateriału jest uzależniona od rodzaju materiału syntetycznego, z jakiego jest on wykonany. Za biomateriał uznaje się ciało stałe, które bezpośrednio kontaktuje się z tkankami, płynami ustrojowymi i gazami oddechowymi organizmu. Biomateriały pod względem właściwości mechanicznych i fizycznych można podzielić na: metale, materiały ceramiczne i polimery. Polimery są najczęściej używanymi materiałami w medycynie. Rozróżnia się homopolimery (np. polietylen — PE, polipropylen — PP) i kopolimery (np. poliuretany). Np. cewniki i stenty urologiczne mogą być wykonane m.in. z lateksu, polichlorku winylu, poliuretanu, polietylenu, lateksu silikonowanego bądź czystego silikonu, natomiast nici chirurgiczne z polipropylenu, tereftalanu polibutylenu bądź poliamidu. W diagnostyce zakażeń ważne jest szybkie wykrycie biofilmu tworzącego się na powierzchni biomateriału wprowadzonego pacjentowi (Kwiecińska-Piróg 2011, Paduch 2005).

Niniejsza monografia zawiera przegląd metod służących do oceny jakościowej i ilościowej biofilmów. Niektóre metody są odpowiednie tylko do ilościowej oceny macierzy biofilmu (EPS), podczas gdy inne są w stanie określić zarówno żywe, jak i martwe komórki lub ilościowo ocenić wyłącznie żywe komórki w biofilmie. W przedstawionej charakterystyce podkreślono zarówno zalety jak i ograniczenia w stosowaniu określonej metody. W Części I niniejszej monografii znajduje się przegląd metod barwiących i metabolicznych, natomiast bardziej zaawansowane metody zostaną omówione w drugiej części niniejszej monografii (Biofilm bakteryjny wielogatunkowy – metody

badania i wizualizacji na powierzchniach abiotycznych. Część II – przegląd metod genetycznych, fizycznych i mikroskopowych).

3. Przegląd literatury

3.1 Metody barwiące (*staining assays*)

Są to metody mikropłytkowe, kolorymetryczne, z użyciem barwników takich jak: fiolet krystaliczny (CV), błękit 1,9-dimetylo-metylenowy (DMMB), dioctan fluoresceiny (FDA), O-nitrofenylo- β -D-galaktopiranozyd (ONPG). Metody te są odpowiednie do badania zdolności bakterii do adhezji i wytwarzania macierzy biofilmu. Do tej grupy należy także metoda Live/Dead BacLight służąca do badania żywych komórek. W przyszłości metody barwiące zostaną oparte na barwieniach wielokrotnych, w których zostaną zastosowane przynajmniej dwa barwniki oznaczające różne markery żywotności komórek oraz barwniki fluorescencyjne w połączeniu z takimi narzędziami badawczymi jak mikroskopia fluorescencyjna czy cytometria przepływowa.

Barwienie fioletem krystalicznym (CV)

Przykładowo, wg procedury opisanej przez Anderssona (Andersson 2009), 96-dołkowe płytki polistyrenowe wypełnione zawiesiną badanych szczepów inkubuje się w temperaturach 4, 22 i 37°C, w obecności roztworu barwnika tj. fioletu krystalicznego (CV). Fiolet krystaliczny wiąże ujemnie naładowane cząsteczki tj. komórki bakteryjne oraz EPS wchodzący w skład macierzy biofilmu. Tuż przed dodaniem barwnika zaleca się dodanie etapu utrwalania z etanolem lub metanolem w temp. 60 °C przez 1 h. Następnie zaadsorbowany przez biofilm barwnik jest ekstrahowany za pomocą rozpuszczalnika (np. 96% etanolu, 33% kw. octowego). Ekstrakt fioletu krystalicznego przenosi się do nowej płytki i dokonuje się odczytu gęstości optycznej OD (*Optical Density*). Ilość wyeluowanego barwnika mierzona spektrofotometrycznie przy długości fali 590 nm, jest wprost proporcjonalna do ilości macierzy biofilmu. Szczepy klasyfikuje się do jednej z 4 kategorii wg Zhanga (Zhang 2014) w zależności od wartości OD: (1) = Ac – brak zdolności tworzenia biofilmu, (2) Ac \leq (2xAc) – słaba zdolność tworzenia biofilmu, (3) (2xAc) \leq (4xAc) – średnia zdolność tworzenia biofilmu, (4) (4xAc) \leq silna zdolność do tworzenia biofilmu; gdzie Ac jest średnią absorbancji próbki negatywnej zawierającej podłoże hodowlane.

Zalety metody: badanie zdolności bakterii do adhezji i zdolności do wytwarzania biofilmu. Ograniczenia metody: nie znajduje zastosowania w badaniach wielogatunkowych biofilmów ze względu na brak swoistości znaczników do poszczególnych gatunków drobnoustrojów; niska odtwarzalność (eksperymentalne warunki wzrostu biofilmu, stężenie rozpuszczalnika, czas elucji); brak informacji o liczbie żywych komórek (fiolet krystaliczny wiąże się zarówno do bakterii żywych i martwych jak i do macierzy biofilmu); nie nadaje się do oceny skuteczności środków antybakteryjnych (Azeredo 2017, Biedroń 2016, Pantanella 2013, Peeters 2008).

Barwienie błękitem 1,9-dimetylo-metylenowym (DMMB)

Barwienie DMMB jest metodą ilościową, specyficzną tylko dla bakterii *Staphylococcus aureus*, których EPS jest złożony z międzykomórkowej adhezyny polisacharydowej (PIA), będącej polimerem N-acetyloglukozaminy. Pod względem struktury chemicznej PIA to liniowy, β -1,6-N-acetylo-D-glukozaminoglikan, w 80% acetylowany. W procesie tworzenia biofilmu przez gronkowce koagulazoujemne istotne znaczenie przypisuje się ekspresji operonu, w skład którego wchodzi geny *ica*ABCD. Badania wskazują, że kodowana przez gen *icaA* N-acetylotransferaza jest kluczowym enzymem biorącym udział w syntezie PIA. Metoda polega na wiązaniu przez kationowy błękit 1,9-dimetylo-metylenowy ujemnie naładowanych cząsteczek glikozaminoglikanów (GAG) oraz pokrewnych strukturalnie PIA. Następnie skompleksowany barwnik jest eluowany za pomocą roztworu dekompleksacyjnego. Ilość wyeluowanego barwnika mierzona spektrofotometrycznie przy długości fali 600-620 nm jest wprost proporcjonalna do ilości macierzy biofilmu.

Zalety metody: łatwa i szybka do przeprowadzenia, a przy tym ekonomiczna. Ograniczenia metody: uzyskane informacje o ilości żywych bakterii mogą być niedokładne (Bartoszewicz 2005, Pantanella 2013, Peeters 2008).

Barwienie dioctanem fluoresceiny (FDA)

Dioctan fluoresceiny nie wykazuje własnej fluorescencji, jest bezbarwny i niepolarny (lipofilny), dzięki czemu przenika przez dwuwarstwą lipidową błony komórkowej bakterii i dociera do miejsc w komórce, gdzie umiejscowione są enzymy esterazy. Następnie jest przez nie hydrolizowany do zielonej fluoresceiny. Fluoresceina jest związkiem polarnym i nie może wydostać się z żywych komórek na zasadzie prostej dyfuzji. W związku z tym pozostaje w ich wnętrzu, co wykorzystuje się do spektrofotometrycznego (494-518 nm), ilościowego oznaczania żywych komórek. Martwe komórki natomiast szybko pozbywają się fluoresceiny i są praktycznie bezbarwne. Można wykonać dodatkowe barwienie martwych komórek za pomocą np. jodku propidyny (PI), co ułatwia rozróżnienie komórek żywych i martwych. Obecnie w praktyce wykorzystuje się nie tylko FDA, ale też jego pochodne wykazujące wyższą retencję wewnątrz żywych komórek, np. dioctan karboksylfluoresceiny (CFDA) i jego estry np. CFDA/SE czy też komercyjne zestawy, takie jak ChemChrome B i ChemChrome V6.

Zalety metody: łatwa i szybka do przeprowadzenia, a przy tym ekonomiczna. Istnieje możliwość szybkiego uzyskania wyników (przy zastosowaniu np. cytometru przepływowego już po kilkunastu minutach od wybarwienia próbki). Ograniczenia metody: nie nadaje się do badań ilościowych na dojrzałym biofilmie ze względu na jego grubość. Wówczas wyniki mogą być traktowane jako półilościowe (Lis 2016, Pantanella 2013, Peeters 2008, Sadowska 2009).

Barwienie O-nitrofenylo-β-D-galaktopiranozydem (ONPG)

Aktywność bakteryjnego enzymu β-galaktozydazy można badać, stosując sztuczny substrat, O-nitrofenylo-β-D-galaktopiranozyd (ONPG). β-galaktozydaza katalizuje rozkład ONPG, a jednym z produktów reakcji jest nitrofenol, mający żółte zabarwienie. Aktywność β-galaktozydazy mierzy się po liczbie komórek i jest ona proporcjonalna do liczby bakterii w jednostce objętości w modelu permeabilizowanym (otwarcie porów błony komórkowej przy użyciu SDS). Intensywność żółtego zabarwienia mierzy się spektrofotometrycznie przy długościach fali 420, 550 i 600 nm. Całkowita aktywność β-galaktozydazy oznaczana jest w tzw. jednostkach Millera i wyliczana ze wzoru: 1 jednostka Millera = $1000 \times [(OD_{420} - 1,75 \times OD_{550})] / (T \times V \times OD_{600})$; gdzie: T - czas reakcji (w minutach); V - objętość zawiesiny komórkowej użytej do testu (w ml); OD₆₀₀ - absorbancja zawiesiny komórkowej w buforze Z; OD₄₂₀ i OD₅₅₀ - absorbancja mieszaniny reakcyjnej. Stąd 1 jednostka Millera zależna jest od A₄₂₀/min/ml zawiesiny komórkowej/OD₆₀₀ (Paduch 2005).

Technika Live/Dead BacLight

Jest to metoda barwienia fluorescencyjnego, w której stosuje się gotowy zestaw odczynników firmy Thermofisher (Invitrogen) LIVE / DEAD™ Bac Light™ Bacterial Viability Kit, for microscopy & quantitative assays (nr kat. L7012). Jest to zestaw dwóch barwników – SYTO®9 oraz jodku propidyny – PI, obydwa reagują z kwasami nukleinowymi, lecz różnią się zdolnością do przenikania przez nieuszkodzone błony bakteryjne. SYTO®9 o małej masie cząsteczkowej dyfunduje biernie do wnętrza komórki przez spójne błony cytoplazmatyczne, a PI o dużej masie cząsteczkowej przenika tylko do tych z uszkodzeniami w błonach. Zastosowanie zestawu LIVE/DEAD® umożliwia zatem zróżnicowanie populacji bakterii na komórki żywe i komórki martwe pod względem różnic w ciągłości błon cytoplazmatycznych. Barwnik SYTO®9 znaczący komórki żywe i martwe, niezależnie od kondycji ich błon komórkowych, tworząc barwne kompleksy koloru zielonego, podczas gdy jodek propidyny wnika wyłącznie do bakterii z uszkodzonymi błonami i barwi je na kolor pomarańczowo-czerwony. Następnie obserwuje się wybarwione komórki w mikroskopie epifluorescencyjnym lub mierzy spektrofotometrem fluorescencyjnym (przy długościach fali 485-498 nm).

Zalety metody: pozwala na rozróżnienie komórek żywych i martwych, a więc jest najdokładniejsza spośród wyżej opisanych metod barwiących. Ograniczenia metody: wysoki koszt odczynników, do obserwacji pod mikroskopem należy wybrać próbkę biofilmu reprezentatywną dla całej populacji, ale i tak niemożliwe jest całkowite zliczenie wszystkich komórek bakteryjnych.

Wówczas wyniki mogą być traktowane jako półilościowe (Paduch 2005, Pantanella 2013, Peeters 2008, Olszewska 2016).

Na podstawie dwóch ostatnich opisanych metod, tj. barwienia O-nitrofenylo- β -D-galaktopiranozydem (ONPG) oraz techniki Live/Dead BacLight, o ile były one przeprowadzone jakościowo tj. na powierzchni biomateriału, można przeprowadzić analizę ilościową adhezji bakterii (tzw. enumerację). Wyliczenie rzeczywistej liczby bakterii w biofilmie wciąż stanowi wielkie wyzwanie dla mikrobiologów. W celu ilościowej oceny fragmenty biomateriałów pokryte biofilmem bakteryjnym odmywa się poprzez wprowadzenie do roztworu saponiny o określonym stężeniu (zazwyczaj 0,5-1%), inkubuje, a następnie wytrząsa w celu oderwania od powierzchni biomateriału i uwolnienia do roztworu komórek zawartych w biofilmie. Otrzymaną zawiesinę bakteryjną rozcieńcza się seryjnie, posiewa ilościowo na podłożu stałym, a następnie inkubuje. Wynik stanowi liczba jednostek koloniotwórczych na mililitr zawiesiny (CFU/ml) (Bartoszewicz 2006, Kwiecińska-Piróg 2011).

Inną metodą umożliwiającą oderwanie od powierzchni biomateriału i uwolnienie do roztworu komórek zawartych w biofilmie jest sonikacja. Fragmenty biomateriału pokryte biofilmem umieszcza się na lodzie w sterylnych polietylenowych probówkach z przykrywką, dodaje roztwór roboczy lub PBS i umieszcza w kąpeli sonikacyjnej (60 Hz, 1,5 W). Sonikatora laboratoryjnego używa się przez kilkadziesiąt sekund, ponieważ sonikacja dłuższa niż 60 sekund spowoduje spadek aktywności β -galaktozydazy; może zaburzyć integralność błony i ściany komórkowej oraz znacznie zmniejszyć przeżywalność bakterii. Zawiesinę bakteryjną po sonikacji można użyć do oznaczeń liczebności i metabolizmu bakteryjnego za pomocą metod barwienia ONPG lub Live/Dead BacLight (Bartoszewicz 2006, Paduch 2005).

3.2 Metody metaboliczne (*metabolic assays*)

Są to metody spektrofotometryczne: z resazuryną (Alamar Blue), ze związkami tetrazoliowymi (XTT, TTC, MTT, NBT, CTC, INT) oraz BioTimer (BTA). Są oparte na aktywności metabolicznej żywych komórek, dlatego służą do odróżniania żywych komórek tworzących biofilm bakteryjny od martwych.

Test z resazuryną (Alamar Blue)

Resazuryna jest to 10-tlenek 7-hydroksy-3-okso-3H-fenoksazyny, biologiczny, nie fluoryzujący, niebieski barwnik. Jest on wykorzystywany do wykrywania żywych mikroorganizmów w celu ilościowego określenia faktycznej liczby żywych komórek w biofilmie. Nie uszkadza żywych komórek, pod wpływem bakteryjnych dehydrogenaz komórkowych ulega redukcji do różowej, fluoryzującej rezorufiny (proces nieodwracalny), aż do osiągnięcia całkowicie zredukowanego stanu bezbarwnego (proces odwracalny). Wartość różowej fluorescencji rezorufiny mierzona spektrofotometrycznie przy długościach fali 560-590 nm jest wprost proporcjonalna do liczby żywych bakterii w biofilmie. Test ten jest bardzo podatny na wydajność oddechową bakterii, która z kolei jest związane z fazą wzrostu, wiekiem i grubością biofilmu mikrobiologicznego.

Zalety metody: do oznaczania liczby żywych komórek w biofilmie, do badania skuteczności środków antybakteryjnych. Resazuryna nie jest toksyczna dla prokariotycznych ani eukariotycznych komórek i jest tania. Ogólnie istnieje dobra korelacja pomiędzy wynikami uzyskanymi w teście z resazuryną, a wynikami posiewu ilościowego (CFU/ml). Ograniczenia metody: trudna do standaryzowania (duża podatność na aktualną fazę wzrostu i na grubość biofilmu); w obecności środków antybakteryjnych zmniejsza się zdolność bakterii do redukcji resazuryny; wysoki dolny limit wartości kwantyfikacji (więcej niż 10^6 - 10^7 CFU/ml wykrywa sygnał wyższy niż tło); różne mikroorganizmy metabolizują resazurynę w różnym tempie, co wymaga odmiennej inkubacji dla biofilmów tworzonych przez różne gatunki i utrudnia zastosowanie tej metody do biofilmów wielogatunkowych (Azeredo 2017, Pantanella 2013, Peeters 2008, Srivastava 2016).

Testy ze związkami tetrazoliowymi (XTT, TTC, MTT, NBT, CTC, INT)

Są to metody kolorymetryczne, określające aktywność dehydrogenazy, enzymu będącego wskaźnikiem aktywności metabolicznej żywych komórek bakteryjnych. Dehydrogenazy należą do enzymów występujących we wszystkich komórkach żywych. Są one obecne między innymi

w szlakach oddechowych, w tym także w cyklu kwasu cytrynowego pod postacią np. dehydrogenazy bursztynianowej. Aktywność metaboliczna jest oceniana na podstawie reakcji redukcji związków tetrazoliowych, np. XTT [2, 3 – bis (2 – metoksy – 4 – nitro – 5 – sulfofenilo) – 2 H – tetrazolium – 5 – carboksyanilidu] do rozpuszczalnego w wodzie brązowego formazanu; lub TTC (chlorku 2,3,5-trójfenylo-tetrazoliowego) do rozpuszczalnego w wodzie, czerwonego, widocznego makroskopowo tryfenyloformazanu. Związki tetrazoliowe są polarne i nie są w stanie przenikać przez błony komórkowe na zasadzie prostej dyfuzji. Docelowe zaś enzymy, czyli dehydrogenazy, umiejscowione są w błonie komórkowej bakterii od jej wewnętrznej strony, konieczne jest zatem pobieranie ich w sposób aktywny przez mikroorganizmy. Związki tetrazoliowe pełnią rolę akceptorów elektronów w procesach oksydo-redukcyjnych prowadzonych przez dehydrogenazy. Dzięki temu, że powstałe formazany są rozpuszczalne w wodzie, można je natychmiast wykryć za pomocą analizy spektrometrycznej.

Jeśli analiza była przeprowadzona na mikropłytkce, czyli w sposób ilościowy, wówczas ilość wytworzonego produktu mierzy się spektrofotometrycznie przy 480 nm (TTC) i przy 490 nm (XTT). Absorbancja supernatantu komórkowego jest proporcjonalna do liczby aktywnych metabolicznie komórek drobnoustrojów. Odczytu wyników dokonuje się na podstawie sporządzonej wcześniej krzywej wzorcowej. W przypadku użycia pozostałych związków tetrazoliowych (MTT, NBT, CTC, INT), powstałe w wyniku ich redukcji formazany są nierozpuszczalne w wodzie, lecz krystalizują i zostają uwiecznione wewnątrz błony komórkowej. Krystalizują one, dlatego można oceniać za pomocą cytometrii przepływowej oraz mikroskopii fluorescencyjnej. Mogą też zostać rozpuszczone w rozpuszczalniku, takim jak DMSO lub alkohol z 0,1 N HCl, w celu całkowitego oznaczenia ilościowego.

Natomiast jeśli reakcja była przeprowadzona z użyciem biomateriału, czyli w sposób jakościowy, wówczas uzyskane wyniki również są jakościowe i ocenia się je wizualnie. Powszechnie stosowana wizualna metoda Richardsa została przedstawiona przez Różalską i wsp. (Różalska 1998). Jałowe biomateriały, pocięte na fragmenty w warunkach aseptycznych, wprowadza się do zawiesiny badanych szczepów bakteryjnych, a następnie inkubuje z roztworem TTC. Wyniki, czyli stopień redukcji substratu, ocenia się wizualnie jako zmianę zabarwienia biofilmu pokrywającego fragment biomateriału w umownej skali od 1 do 4. Kolejne stopnie skali korelują ze stopniem intensywności wybarwienia ocenianego fragmentu biomateriału. Za wynik ujemny, oznaczany jako 0, przyjmuje się brak zmiany zabarwienia.

Zalety metody: zmiana barwy związku tetrazoliowego niezależnie od rodzaju biomateriału (jego rodzaju, barwy i kształtu), na którym powstał biofilm. Ograniczenia metody: są związane ze złożonością i niejednorodnością struktury biofilmu (dojrzały biofilm spowalnia reakcję redukcji do formazanu), test ten jest najbardziej kosztowny i czasochłonny spośród pozostałych opisanych w niniejszej pracy (Bartoszewicz 2006, Kwiecińska-Piróg 2011, Lis 2016, Pantanella 2013, Peeters 2008, Wilson 2017, Zalas-Więciek 2009).

Test BioTimer (BTA)

W teście BioTimer stosuje się specyficzne odczynniki, różne dla poszczególnych grup bakterii: dla bakterii fermentujących (np. *Streptococcus*) stosuje się odczynnik czerwony „BioTimer-fenol” (BT-PR), a dla bakterii niefermentujących (np. *Pseudomonas*) - odczynnik niebieski „BioTimer-resazurin” (BT-RZ). BTA mierzy metabolizm drobnoustrojów poprzez czas wymagany do zmiany koloru odczynników: BT-PR – z czerwonego do żółtego; BT-RZ – z niebieskiego do różowego. Czas ten jest skorelowany z początkowym stężeniem bakterii. Ilość wytworzonego produktu mierzy się spektrofotometrycznie przy długościach fali 450-650 nm.

Zalety metody: do zliczania żywych bakterii w biofilmie wielogatunkowym, do weryfikowania jakości mikrobiologicznej żywności i do oceny podatności biofilmu na antybiotyki; łatwa i szybka do przeprowadzenia, brak manipulacji próbkami, niski koszt. Ograniczenia metody: mniej efektywne wykorzystanie tego testu dla oceny biofilmu wielogatunkowego (Pantanella 2011 i 2013, Srivastava 2016).

4. Podsumowanie

Kompleksowe badanie biofilmu wymaga zastosowania wielu metod, z których każda ma inne zalety i wady i pozwala scharakteryzować inne aspekty biofilmu. Oczywistym jest, że jedna metoda pozwalająca na pełną analizę biofilmu nie istnieje, a parametry takie jak ilość EPS, aktywność metaboliczna bakterii, całkowita liczba żywych bakterii, struktura 3D określonego biofilmu wymagają zastosowania więcej niż jednej metody. Dlatego też znajomość zalet i ograniczeń różnych metod jest warunkiem wstępnym umożliwiającym właściwy wybór metodologii do własnych badań naukowych.

5. Bibliografia

- Andersson S, Dalhammar G, Land C et al. (2009) Characterization of extracellular polymeric substances from denitrifying organism *Comamonas denitrificans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82: 535–543.
- Azeredo Joana, Azevedo N, Briandet R et al. (2017) Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology*, 43, 3: 313–351.
- Bartoszewicz M, Rygiel A (2006) Biofilm jako podstawowy mechanizm zakażenia miejsca operowanego - metody prewencji w leczeniu miejscowym. *Chirurgia Polska* 8, 3: 171–178.
- Bartoszewicz M, Nowicka J, Kustrzycki W i in. (2005) Charakterystyka gronkowców koagulazoujemnych kolonizujących cewniki naczyniowe u pacjentów leczonych kardiologicznie. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 14, 2: 287–292.
- Biedroń I, Traczewska TM, Płaza G. (2016) Charakterystyka mikroorganizmów biofilmów pochodzących z punktów czerpalnych wody do picia. *Annual Set The Environment Protection Rocznik Ochrona Środowiska*, 18: 86–99.
- Kwiecińska-Piróg J, Bogiel T, Gospodarek E (2011) Porównanie dwiema metodami tworzenia biofilmu przez pałeczki *Proteus mirabilis* na powierzchni różnych biomateriałów. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, 63: 131–138.
- Lis A, Pasoń Ł, Stepniak L (2016) Przegląd stosowanych metod oznaczania aktywności biologicznej filtrów węglowych. *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 19, 3: 413–425.
- Olszewska MA, Kocot AM, Motuk I (2016) Metoda barwienia fluorescencyjnego LIVE/DEAD BACLIGHT™ w badaniach stanu fizjologicznego *Lactobacillus* spp. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5, 108: 72–81.
- Paduch DA, Niedzielski J. (2005) Materiały biomedyczne. Część I: Pojęcie filmu biologicznego (biofilmu) i fizykochemiczne podstawy przyczepności substancji organicznych do biomateriałów. *Chirurgia Polska*, 7, 3: 180–191.
- Paduch DA, Niedzielski J. (2005) Materiały biomedyczne. Część II: Ocena przyczepności pałeczki okrężnicy do materiałów biomedycznych w oryginalnym dynamicznym układzie przepływowym. *Chirurgia Polska*, 7, 4: 252–266.
- Pantanella F, Berlutti F, Passeri D et al. (2011) Quantitative Evaluation of Bacteria Adherent and in Biofilm on Single-Wall Carbon Nanotube-Coated Surfaces. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2011:291513. doi: 10.1155/2011/291513. Epub 2011 Oct 5.
- Pantanella F, Valenti P, Natalizi T et al. (2013) Analytical techniques to study microbial biofilm on abiotic surfaces: pros and cons of the main techniques currently in use. *Ann Ig*, 25: 31–42.
- Peeters E, Nelis HJ, Coenye T (2008) Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *Journal of Microbiological Methods* 72: 157–165.
- Różalska B, Sadowska B, Więckowska M i in. (1998) Wykrywanie biofilmu bakteryjnego na biomateriałach medycznych. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, 50: 115–22.
- Sadowska J, Grajek W (2009) Analiza stanu fizjologicznego pojedynczych komórek bakterii za pomocą barwienia fluorescencyjnego. *Biotechnologia*, 4, 87: 102–114.
- Srivastava S, Bhargava A (2016) Biofilms and human health. *Biotechnology Letters*, 38: 1–22.
- Trafny EA (2012) Jak zdobyć i wykorzystać wiedzę o wielogatunkowych biofilmach? *Postępy Mikrobiologii*, 51, 3: 205–211.

- Wilson C, Lukowicz R, Merchant S (2017) Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Research & Reviews: Journal of Engineering and Technology*, 6, 4: 1–25.
- Zalas-Więcek P, Gospodarek E, Piecyk K (2009) Adhezja pałeczek *Escherichia coli* do cewników moczowych. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, 61: 335–341.
- Zhang D, Xia J, Xu Y et al. (2014) Biological features of biofilm-forming ability of *Acinetobacter baumannii* strains derived from 121 elderly patients with hospital-acquired pneumonia. *Clinical and Experimental Medicine*, 16: 73–80.

7. Biofilm bakteryjny wielogatunkowy – metody badania i wizualizacji na powierzchniach abiotycznych. Część II – przegląd metod genetycznych i fizycznych.

Multispecies bacterial biofilm – research and visualization methods on abiotic surfaces. Part II – genetic and physical assays.

Zuzanna Sycz

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. J. Mikulicza-Radeckiego 9, 50-345 Wrocław

Opiekun naukowy: Dorota Wojnicz

Zuzanna Sycz: sycz.zuzanna@gmail.com

Słowa kluczowe: biofilm mieszany, adhezja, egzopolisacharyd, ekspresja genów, analiza ilościowa i jakościowa biofilmu

Streszczenie

Do metod genetycznych stosowanych w badaniach biofilmów należą m.in.: standardowa reakcja łańcuchowa polimerazy oraz ilościowa z odwrotną transkryptazą w czasie rzeczywistym, hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ*, odwrotna hybrydyzacja z użyciem analizy szachownicy, elektroforeza w żelu z użyciem czynnika denaturującego, polimorfizm długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych. Analizę biofilmów wielogatunkowych umożliwiają techniki fizyczne: spektrometria mas, spektrometria mas metodą desorpcyjnej jonizacji przez rozpylanie w polu elektrycznym, mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera, spektroskopia Ramana.

1. Wstęp

Niniejsza praca stanowi kontynuację tematyki podjętej w pierwszej części monografii (Biofilm bakteryjny wielogatunkowy – metody badania i wizualizacji na powierzchniach abiotycznych. Część I – przegląd metod barwiących i metabolicznych). Złożoność biofilmów utrudnia ich wyczerpującą analizę z wykorzystaniem metod barwiących i metabolicznych, natomiast wymaga połączenia różnych technik eksperymentalnych, do których należą metody genetyczne i fizyczne. W przedstawionej poniżej charakterystyce tych metod podkreślono zarówno ich zalety jak i ograniczenia.

2. Opis zagadnienia

Metody genetyczne z wykorzystaniem technik biologii molekularnej umożliwiają charakterystykę genotypową badanych populacji i pozwalają na wykrycie drobnoustrojów żywych, lecz nie dających się hodować na bogatych w składniki odżywcze podłożach mikrobiologicznych. Do technik tych należą m.in.: PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy), qRT-PCR (ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkryptazą w czasie rzeczywistym), hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* (FISH), odwrotna hybrydyzacja z użyciem analizy szachownicy (RCCH), elektroforeza w żelu z użyciem czynnika denaturującego (DGGE) oraz polimorfizm długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (TRFLP).

Wyczerpującą analizę biofilmów wielogatunkowych umożliwiają techniki fizyczne: spektrometria mas (MS), spektrometria mas metodą desorpcyjnej jonizacji przez rozpylanie w polu elektrycznym (DESI), mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), spektroskopia Ramana (RS).

3. Przegląd literatury

3.1 Metody genetyczne (*genetic assays*)

PCR (Polymerase Chain Reaction)

Reakcja łańcuchowa polimerazy pozwala zidentyfikować obecność konkretnych sekwencji genetycznych należących do poszczególnych gatunków bakterii. Jest to wydajna i czuła metoda,

dzięki której można otrzymać w ciągu kilku godzin aż 10^6 – 10^9 kopii wyjściowego fragmentu powielanego DNA. Po przeprowadzeniu reakcji łańcuchowej polimerazy próbki poddaje się elektroforezie analitycznej. Odmienna ruchliwość elektroforetyczna produktów PCR określana jest na podstawie rozdziału markera mas. Jednak badania jakościowe z użyciem techniki PCR są obarczone pewnym błędem wynikającym ze stosowania w metodzie PCR starterów o sekwencjach DNA i RNA zaczerpniętych z baz danych, w których gromadzone są najczęściej sekwencje tych gatunków drobnoustrojów, które możliwe są do namnażania w laboratorium.

Ograniczenia metody: nie jest odpowiednia do ilościowego badania biofilmu (tj. nie może być używana do liczenia żywych komórek), ponieważ amplifikuje całe DNA znajdujące się w próbce (pochodzące zarówno od żywych, jak i martwych komórek). Ze względu na swoją wysoką czułość, może dawać wyniki fałszywie dodatnie, pochodzące od naturalnego zanieczyszczenia (Pantanella i in. 2013, Paster i in. 2009, Trafny 2012).

qRT-PCR (Quantitative Reverse Transcriptase Real-Time PCR)

Ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkryptazą, przebiegająca w czasie rzeczywistym, polega w pierwszym etapie na przeprowadzeniu reakcji odwrotnej transkrypcji próbki zawierającej RNA do komplementarnego DNA (cDNA). Najczęściej wybieranym do amplifikacji rodzajem RNA są wysoce konserwatywne i gatunkowo specyficzne geny kodujące 16S rRNA (fragment budujący mniejszą podjednostkę rybosomu prokariotycznego). Również bakteryjne mRNA o krótkim okresie półtrwania może podlegać amplifikacji, gdyż jest obiecującym wskaźnikiem żywotności komórek. Przebieg drugiego etapu reakcji, tj. po otrzymaniu cDNA, jest analogiczny do typowej reakcji PCR, w którym próbki zawierają DNA. Sygnał fluorescencyjny pochodzący od barwnika (np. SYBR Green) jest mierzony w czasie rzeczywistym (*real-time*) w każdym cyklu amplifikacji i jest wprost proporcjonalny do liczby wygenerowanych amplikonów. SYBR Green łącząc się do małego rowka podwójnej helisy (dsDNA), emituje 1000 razy większą fluorescencję niż wtedy, gdy jest zawieszony w roztworze. Im większa jest liczba cząsteczek związanego barwnika, tym silniejszy jest sygnał fluorescencji. Zjawisko fluorescencji pozwala zatem monitorować proces namnażania się DNA w czasie rzeczywistym i tym samym zmierzyć liczbę cząsteczek produktu w fazie jego wzrostu wykładniczego. Jego wartość bezwzględną określa się poprzez sporządzenie tzw. krzywej standardowej dla danego genu, tzn. serii rozcieńczeń znanej liczby cząsteczek, służących jako matryca w reakcji PCR. Wartość względna odnosi się do tzw. genów referencyjnych. Po fazie początkowej, charakteryzującej się logarytmicznym wzrostem następuje tzw. faza eksploatacyjna (faza *plateau*), będąca wynikiem zużywania się reagentów. Oznacza to, że liczba cząsteczek produktu może wzrosnąć tylko do pewnej wartości granicznej. Początkową liczbę cząsteczek DNA wyznacza się na podstawie tego z cykli, w którym sygnał fluorescencji osiągnął wartość graniczną, pozwalającą na jego wykrycie.

Zalety metody: należy do najbardziej czułych metod przydatnych do wykrywania niewielkiej liczby cząsteczek RNA w próbce; a zatem nadaje się nie tylko do wykrycia, ale również do ilościowego oznaczenia konkretnego mikroorganizmu w biofilmie, w obrębie biofilmu. Ograniczenia metody: próbka musi być wolna od zanieczyszczeń i ewentualnych inhibitorów PCR, sekwencje starterów powinny być tak dobrane, aby nie doszło do amplifikacji niefunkcyjnych genów, wysoki koszt i trudność wykonania, czasochłonna analiza. Wykonanie ilościowej analizy składu gatunkowego złożonej populacji z użyciem qRT-PCR jest zadaniem praktycznie niewykonalnym ze względu na olbrzymi nakład pracy (Azeredo i in. 2017, Pantanella i in. 2013, Paster i in. 2009, Trafny 2012).

FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)

Hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* to technika służąca do wykrywania w materiale genetycznym określonej sekwencji DNA za pomocą sond oligonukleotydowych DNA (mających długość zazwyczaj 15-25 nukleotydów), znakowanych na końcu 5' barwnikami fluorescencyjnymi (np. DAPI, rodamina, fluoresceina, kumaryna). Sondy mogą być również specjalnie zaprojektowane do wiązania rRNA w żywych komórkach bakteryjnych. W celu zapewnienia kontrolowanej hybrydyzacji sondy do sekwencji docelowej, badane komórki zostają utrwalone i permeabilizowane. Intensywność sygnału fluorescencyjnego jest skorelowana z zawartością komórkowego RNA oraz

etapem wzrostu danego mikroorganizmu, dzięki czemu możliwa jest ocena poziomu metabolizmu komórkowego, wynikającego z liczby aktywnych rybosomów w komórce. Aby móc jednoznacznie potwierdzić, że zidentyfikowana sekwencja, specyficzna dla danego organizmu, jest sekwencją poszukiwaną, należy wykorzystać co najmniej dwie różne sondy, co umożliwi zidentyfikowanie ewentualnych artefaktów. W przypadku standardowej metody FISH jedynie ograniczona liczba sond może zostać jednorazowo użyta w pojedynczym eksperymencie. W celu identyfikacji i topograficznej wizualizacji różnych gatunków bakterii w wieloskładnikowym biofilmie, konieczne jest połączenie FISH z mikroskopią konfokalną, fluorescencyjną lub konfokalną laserową mikroskopią skaningową (CLSM). Wówczas, poza analizą jakościową, FISH umożliwia również analizę ilościową poprzez mikroskopową ocenę liczebności populacji mikroorganizmów w analizowanej próbce. Zalety metody: odpowiednia do identyfikacji poszczególnych mikroorganizmów w biofilmie wielogatunkowym, wysoka jakość wyników, brak konieczności wcześniejszego izolowania DNA lub RNA. Ograniczenia metody: utrudnienia związane z prawidłową interpretacją obrazu mikroskopowego (niska intensywność sygnału, autofluorescencja tła, niedostępność/ograniczony dostęp do sekwencji wiążącej się z sondą), metoda nie wykrywa komórek o obniżonym metabolizmie (w stanie uśpionym) dlatego wyniki są półilościowe, procedura przygotowawcza jest czasochłonna i droga.

Aby przezwyciężyć napotkane ograniczenia, powstały pochodne techniki FISH, w których istnieją rozwiązania mające na celu wzmocnienie sygnału m.in. poprzez zastosowanie fluorochromu o intensywniejszej emisji lub drugiego fluorochromu na końcu 3' sekwencji. Metoda DOPE-FISH (*Double Labelling of Oligonucleotide Probes FISH*) opiera się na zastosowaniu podwójnie znakowanej sondy oligonukleotydowej (znaczniki fluorescencyjne zostają przyłączone do końców 3' i 5' sekwencji oligonukleotydowej), co powoduje ok. 3-krotny wzrost intensywności sygnału sondy bez dodatkowego wpływu na kinetykę reakcji hybrydyzacji i swoistość sondy. Niska zawartość rRNA w komórkach docelowych wymaga zastosowania metody CARD-FISH (*Catalyzed Reporter Deposition FISH*), w której sygnał zostaje wzmocniony poprzez zastosowanie układu HRP (peroksydazy chrzanowej) i tyramidu TSA (*Tyramide Signal Amplification*). W większości przypadków techniki FISH są stosowane w połączeniu z technikami „fingerprint”, m.in. DGGE i T-RFLP (Azeredo i in. 2017, Brzeszcz i in. 2013, Pantanella i in. 2013, Raszka i in. 2009, Trafny 2012).

Oligonukleotydowe sondy znakowane różnymi barwnikami fluorescencyjnymi hybrydują specyficznie z wybranymi fragmentami rRNA drobnoustrojów. Gdy badany gen ulega ekspresji, wówczas uzyskuje się fluorescencyjny sygnał – GFP (*Green Fluorescent Protein*). Do badania biofilmów wielogatunkowych używa się sondy PNA (*Peptide Nucleic Acid Probes*), są to syntetyczne analogi DNA, które wiążą się z wybranymi sekwencjami RNA/DNA z wyższym powinowactwem, ponieważ ich wypadkowy ładunek elektryczny jest obojętny. W PNA-FISH (*Peptide Nucleic Acid Probes FISH*) wykorzystuje się fluorescencyjnie znakowane sondy PNA, które różnią się pod względem chemicznym od sond wykorzystywanych w standardowej metodzie FISH, CARD-FISH, DOPE-FISH. Sondy PNA to cząsteczki kwasu peptydonukleinowego, które naśladują cząsteczkę DNA, jedyna różnica polega na zastąpieniu ujemnie naładowanego szkieletu fosforanowo-cukrowego obojętnym elektrycznie fragmentem poliamidowym lub peptydowym. Niestety, sekwencje powszechnie używanych sond oligonukleotydowych nie mogą być prosto przeniesione na sekwencje sond PNA; ponadto wymaga się, aby były one krótsze (14-15 nt). Powyższe czynniki oraz koszt tej metody znacząco ograniczają jej wykorzystanie (Brzeszcz i in. 2013, Raszka i in. 2009, Wilson i in. 2017).

RCCH (Reverse-Capture Checkerboard Hybridization)

Hybrydyzacja kwasów nukleinowych polega na tym, że z cząsteczek pojedynczych łańcuchów polinukleotydowych o wzajemnie komplementarnych sekwencjach powstają stabilne dwuniciowe struktury. Hybrydyzacja zachodzi między dwoma jednoniciowymi łańcuchami kwasów nukleinowych: DNA i DNA, DNA i RNA oraz RNA i RNA. Do badań wykorzystuje się kwasy nukleinowe o znanej sekwencji nukleotydów, które są komplementarne do określonych sekwencji genomu badanych bakterii. Technika nazwana „odwrotną hybrydyzacją z użyciem analizy szachownicy” polega na amplifikacji fragmentów genów kodujących 16S rRNA od 30 znanych mikroorganizmów i połączeniu ich z membraną. Następnie tak przygotowaną membranę poddaje się

hybrydyzacji z odcinkami genu 16S rDNA mikroorganizmów z całej populacji badanego biofilmu, powielonymi w reakcji PCR. Startery do amplifikacji genu 16S rRNA w badanej próbce są wyznakowane za pomocą uniwersalnych sond, zdolnych do chemifluorescencji. Stosuje się także sondy molekularne wyznakowane technikami nieradioaktywnymi, polegającymi na przyłączeniu do nich fluorochromów biotyny lub digoksygeniny.

Zalety metody: technika RCCH umożliwia jednoczesną hybrydyzację 1350 prób 16S rDNA na jednej membranie. Ograniczenia metody: praco- i czasochłonność, dlatego częściej stosuje się metody genetyczne niezwiązane z hybrydyzacją, takie jak PCR (Korona-Główniak i in. 2017, Nascimento i in. 2006, Paster i in. 1998, Trafny 2012).

DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)

Elektroforeza w żelu z użyciem czynnika denaturującego, tzw. mikrobiologiczna technika „odcisków palców” (*fingerprint*), umożliwia pozyskanie informacji o strukturze genotypowej mikroorganizmów obecnych w badanym biofilmie na podstawie analizy różnic w wybranych sekwencjach genomu. W przypadku bakterii najczęściej wykorzystuje się sekwencje w obrębie genu 16S rDNA. Na matrycy całkowitego DNA bakteryjnego amplifikują się fragmenty DNA o określonej długości. Uzyskuje się mieszaninę fragmentów tej samej długości, różniących się sekwencją nukleotydów, ponieważ w próbce znajduje się znaczna liczba odmiennych genotypów bakteryjnych. Każdy z tych genotypów ma inną, zależną od liczby wiązań wodorowych, temperaturę topnienia DNA. Dodatkowo w procesie amplifikacji dołączane są do amplikonów startery z tzw. ogonem GC, tj. fragmentem ok. 30-40 par GC o wysokiej temperaturze topnienia, zapobiegającym w trakcie rozdzielania elektroforetycznego całkowitemu rozdzieleniu - denaturacji nici materiału genetycznego. Rozdział mieszaniny produktów PCR następuje w elektroforezie poliakrylamidowej, z utworzonym podczas wylewania żelu gradientem (w zakresie 30-60%, a nawet 20-80%) stężenia substancji denaturującej DNA, którą najczęściej jest mocznik. Po przeprowadzonej elektroforezie żel wybarwia się (zazwyczaj bromkiem etydydy), a otrzymany wzór prążków DNA „*fingerprint*”, różniący się temperaturą topnienia i obrazujący złożoność genotypową próbki, wizualizuje się z wykorzystaniem światła UV. Liczba pozyskanych prążków świadczy o stopniu różnorodności badanego środowiska. Wzory prążków można porównywać między sobą, a pojedyncze, dobrze oddzielone prążki DNA można wycinać z żelu i poddawać identyfikacji przez sekwencjonowanie. Istnieje też metoda PCR-DGGE (*Polymerase Chain Reaction – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), która łączy amplifikację metodą reakcji łańcuchowej polimerazy z użyciem specyficznych starterów z elektroforezą w gradiencie czynnika denaturującego. Obecnie, metoda DGGE ustępuje miejsca swoim odmianom (TGGE, TTGE, CDGE), których główną zaletą jest wyeliminowanie z użycia żeli z gradientem chemicznego czynnika denaturującego.

Zalety metody: możliwość badania różnorodności mikroorganizmów oraz monitorowania jej zmian w czasie, możliwość identyfikacji gatunkowej poszczególnych szczepów bakterii bez konieczności ich hodowli. Ograniczenia metody: informacja dotycząca sekwencji populacji mikroorganizmów jest ograniczona do fragmentu 500 pz 16S rRNA. Występowanie wielu prążków na wzorach jest związane z heterogenicznością w obrębie 16S rRNA (Brzeszcz i in. 2013, Moric-Janiszewska i Węglarz 2010, Trafny 2012, Ziemińska-Buczyńska i in. 2014).

TRFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)

W metodzie pod nazwą „polimorfizm długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych”, przedmiotem badań są amplikony pozyskane z wykorzystaniem specyficznych starterów znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi. Analizie poddaje się pozycje miejsca restrykcyjnego najbliższego w stosunku do końca amplifikowanego fragmentu genu. Wynikiem takiej analizy jest charakterystyczny „odcisk palca” (*fingerprint*) badanej populacji drobnoustrojów. Metoda ta pozwala na wykazanie powiązań międzygatunkowych pomiędzy poszczególnymi mikroorganizmami poprzez porównywanie wzorów polimorficznych. Modyfikacje tej techniki opierają się na zastosowaniu hybrydyzacji typu Southern Blot, polegającej na przeniesieniu z żelu agarozowego na filtr nitrocelulozowy danego fragmentu restrykcyjnego oraz jego denaturacji. Powstałe w ten sposób zdenaturowane fragmenty DNA hybrydują z sondą (ok. 300-350 pz), wyznakowaną radioaktywnym izotopem (^{32}P lub ^{35}S), biotyną lub fluorochromem. Po odpłukaniu nadmiaru sondy

miejsca, do których dołączyła się sonda, można obserwować wykorzystując autoradiografię. Metoda ta jest silnie uzależniona od: etapu amplifikacji 16S rRNA w reakcji PCR, wyboru metody ekstrakcji DNA i wyboru starterów.

Zalety metody: wysoka czułość i rozdzielczość podczas wykrywania różnic w długości fragmentów restrykcyjnych DNA (przy założeniu użycia dużej ilości wyjściowego DNA, niezbędnego do trawienia). Ograniczenia metody: wymagane użycie wielu enzymów restrykcyjnych, aby zobrazować populację mikroorganizmów; brak możliwości uzyskania pełnej informacji filogenetycznej, ponieważ prążki odpowiadające poszczególnym sekwencjom są zbyt krótkie, aby móc dokonać ich sekwencjonowania (Blackwood i in. 2003, Brzeszcz i in. 2013, Srivastava i Bhargava 2016, Trafny 2012).

3.2 Metody fizyczne (*physical assays*)

MS (Mass Spectrometry)

Metoda ta oparta jest na jonizacji cząsteczek lub atomów, a następnie detekcji liczby jonów w funkcji stosunku ich masy do ładunku elektrycznego. Wyniki działania spektrometru mas są przedstawiane w postaci tzw. widma masowego (spektrum). W spektrometrii tej nie wykorzystuje się zjawiska absorpcji ani emisji promieniowania elektromagnetycznego jak to ma miejsce w spektroskopiiach UV, IR czy NMR. Widmo masowe obrazuje rozpad cząstek analizowanej substancji na mniejsze, naładowane dodatkowo fragmenty powstające pod wpływem różnych czynników jonizujących. Mieszanka powstałych jonów jest rozdzielana w polu magnetycznym wg stosunku ich masy do ładunku elektrycznego (m/z). Jony docierając do detektora wywołują przepływ prądu o natężeniu proporcjonalnym do ich ilości. Zmiany te przedstawiane są graficznie w postaci wykresu, na którym na osi Y zaznaczana jest intensywność sygnałów, a na osi X wartość stosunku masy jonów do ich ładunku. Spektrometria mas jest metodą pozwalającą wyznaczyć masę cząsteczkową badanego związku oraz masy fragmentów na jakie ten związek rozpada się w trakcie jonizacji w spektrometrze masowym. Spektrometria mas służy do jakościowej i ilościowej analizy złożonych mieszanin związków chemicznych (nawet o dużej masie molowej), precyzyjnego ustalania ich składu i struktury, a nawet do badania metabolomu.

Zalety metody: możliwość określenia ekspresji i modyfikacji potranslacyjnych dla specyficznego genu bakteryjnego zawartego w biofilmie. Ograniczenia metody: jest wysoce inwazyjna dla próbki (wysoka próżnia, agresywny chemicznie rozpuszczalnik) (Azeredo i in. 2017, Pan i in. 2016, Pantanella i in. 2013, Ravindran i in. 2018).

DESI (Desorption Electro Spray Ionization)

W metodzie spektrometrii mas metodą desorpcyjnej jonizacji przez rozpylanie w polu elektrycznym, analiza przeprowadzana jest pod ciśnieniem atmosferycznym i próbka jest utrzymywana w warunkach otoczenia. DESI jest techniką, która dzięki jonizacji umożliwia charakterystykę oraz koncentrację cząstek występujących w określonym miejscu komórki. Technika ta nadaje się do analizy stężenia wewnątrzkomórkowych metabolitów. Jest czuła nawet w przypadku wysokich stężeń cząsteczek i daje możliwość zbadania sposobu, w jaki gradienty chemiczne zależą od odległości między bakteriami. Całe, niezniszczone komórki bakteryjne rozpylane są wraz z jonizującym rozpuszczalnikiem przy wlocie do analizatora spektrometru masowego, dzięki czemu nie ma konieczności specjalnego przygotowywania próbek do analiz. Różne próbki pobrane z jednej kolonii bakteryjnej oraz próbki pobrane z podobnych morfologicznie kolonii tego samego gatunku dawały identyczne wyniki (widma masowe). Natomiast próbki otrzymane z kolonii różnych gatunków wykazywały całkowicie odmienną odpowiedź spektrometryczną. Rozróżnienie pomiędzy poszczególnymi gatunkami bakterii jest możliwe dzięki określeniu różnic w zawartości kwasów tłuszczowych oraz fosfolipidów. W jednej z odmian DESI, tj. spektrometrii mas typu MALDI-TOF z użyciem desorpcji/jonizacji laserowej, wspomaganej matrycą z analizatorem czasu przelotu, identyfikacja drobnoustroju wykonywana jest w trakcie kilku minut, na podstawie unikatowego profilu białkowego mikroorganizmów (białka rybosomalne), tzw. molekularny „odcisk palca”, co w porównaniu z 24-48 godzinnym czasem potrzebnym do oznaczenia drobnoustrojów metodami konwencjonalnymi jest dużą oszczędnością czasu.

Zalety metody: pozwala na bezpośrednią i nieniszczącą analizę złożonych próbek biofilmu będącego na różnym etapie wzrostu. Ograniczenia metody: wymaga zaawansowanego sprzętu, jest droga i czasochłonna (Azeredo i in. 2017, Pan i in. 2016, Pantanella i in. 2013, Srivastava i Bhargava 2016).

FTIR (Fourier Transform Infrared Microspectroscopy)

Mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera łączy w sobie dwie techniki badawcze, tj. spektroskopię w podczerwieni i mikroskopię. Promieniowanie podczerwone nie jest niszczące dla materiału biologicznego tak jak UV, promieniowanie X czy γ . Metoda ta umożliwia jednoznaczną analizę związków chemicznych w mikroobszarach badanego materiału z rozdzielczością przestrzenną rzędu pojedynczych mikrometrów. Jest narzędziem analitycznym do badania biofilmów i pojedynczych komórek; umożliwia analizę topograficzną związków chemicznych zawartych w badanym materiale oraz ocenę wielkości mikrokolonii i stopnia adhezji drobnoustrojów do powierzchni.

Zalety metody: możliwość rejestracji anomalii składu chemicznego z mikrometrową rozdzielczością przy minimalnej preparatyce próbek, nie wymagającej utrwalania materiału ani stosowania markerów biochemicznych (Pan i in. 2016, Pantanella i in. 2013, Srivastava i Bhargava 2016).

RS (Raman Spectroscopy)

Spektroskopia Ramana (mapowanie ramanowskie) opiera się na wzorach rozproszenia światła wykrytych po napromieniowaniu próbki światłem monochromatycznym. Wiązka promieniowania elektromagnetycznego o znanej długości fali uderza w analizowaną próbkę. Mierzy się rozproszenie promieniowania i przesunięcie w energii. Spektroskopia Ramana została wykorzystana do zdefiniowania chemii materiałów matrycowych w biofilmach. Częstotliwość rozproszenia światła w biofilmie różni się od częstości jego rozproszenia przez poszczególne substraty, co może być wykorzystane do badania składu chemicznego biofilmu. Spektroskopia ramanowska wzajemnie uzupełnia się ze spektroskopią w podczerwieni (IR), ale widmo ramanowskie jest łatwiejsze w interpretacji.

Zalety metody: mniejsza niż w IR długość fali światła wzbudzającego pozwala uzyskać lepszą przestrzenną rozdzielczość sygnału; woda daje słabsze pasmo niż w IR, dlatego istnieje lepsza możliwość rejestracji *in situ* widm układów zawierających wodę (np. membrany biologiczne). Ograniczenia metody: mała czułość w porównaniu z IR, barwne próbki wykazują fluorescencję (Azeredo i in. 2017, Pan i in. 2016, Pantanella i in. 2013, Wilson i in. 2017).

4. Podsumowanie

W niniejszej pracy przeglądowej przedstawiono i krótko scharakteryzowano metody genetyczne i fizyczne, służące do badania i wizualizacji biofilmów bakteryjnych. Nadal istnieje wyzwanie w badaniu abiotycznych i biotycznych interakcji powierzchniowych biofilmów, co wiąże się z opracowaniem nowych metod. Obecnie najbardziej użytecznym narzędziem biologii molekularnej, pozwalającym monitorować zmiany genotypowe zachodzące w biofilmach, staje się transkryptomika. Badania transkryptomiczne dostarczają informacji na temat wzorców ekspresji genów unikalnych dla komórek biofilmu. Do niedawna badania te opierały się na qRT-PCR i mikromacierzach DNA, teraz możliwe jest analizowanie całego transkryptomu biofilmów za pomocą RNAseq, sekwencjonowanie bibliotek cDNA generowanych z puli RNA. Wówczas liczbę transkryptów RNA dla każdego genu można określić ilościowo dla komórek rosnących w różnych warunkach, takich jak biofilm i komórki planktonowe (Wilson i in. 2017, Zhang i in. 2012).

5. Literatura

Azeredo Joana, Azevedo N, Briandet R et al. (2017) Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology*, 43, 3: 313–351.

- Blackwood CB, Marsh T, Kim SH (2003) Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Data Analysis for Quantitative Comparison of Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 2: 926–932.
- Brzeszcz J, Kapusta P, Turkiewicz A (2013) Zastosowanie metod molekularnych w badaniach bioremediacji substancji ropopochodnych. *Nafta-gaz*, 11: 829–842.
- Korona-Główniak I, Siwiec R, Berger M i in. (2017) Diagnostyka molekularna zapalenia przyzębia. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* (online), 71: 47–56.
- Moric-Janiszewska E, Węglarz L (2010) Zalety i ograniczenia technik przesiewowych SSCP i DGGE w diagnostyce molekularnej. *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy*, 12: 27–33.
- Nascimento C, Mardegan Issa JP, Watanabe E (2006) DNA Checkerboard Method for Bacterial Pathogen Identification in Oral Diseases. *International Journal of Morphology*, 24, 4: 619–624.
- Pan M, Zhu L, Chen L (2016) Detection Techniques for Extracellular Polymeric Substances in Biofilms: A Review. *BioResources*, 11, 3: 8092–8115.
- Pantarella F, Valenti P, Natalizi T et al. (2013) Analytical techniques to study microbial biofilm on abiotic surfaces: pros and cons of the main techniques currently in use. *Ann Ig*, 25: 31–42.
- Paster BJ, Bartoszyk IM, Dewhirst FE (1998) Identification of oral streptococci using PCR-based, reverse-capture, checkerboard hybridization. *Methods in Cell Science* 20: 223–231.
- Paster BJ, Dewhirst FE (2009) Molecular Microbial Diagnosis. *Periodontology* 2000, 51: 38–44.
- Raszka A, Ziemińska A, Wiechetek A (2009) Metody i techniki biologii molekularnej w biotechnologii środowiskowej. *Czasopismo Techniczne. Środowisko*, 106, 2: 101–114.
- Ravindran SJ, Kumar R, Srimany A (2018) Early Detection of Biofouling on Water Purification Membranes by Ambient Ionization Mass Spectrometry Imaging. *Analytical Chemistry* 90: 988–997.
- Srivastava S, Bhargava A (2016) Biofilms and human health. *Biotechnology Letters*, 38: 1–22.
- Trafny EA (2012) Jak zdobyć i wykorzystać wiedzę o wielogatunkowych biofilmach? *Postępy Mikrobiologii*, 51, 3: 205–211.
- Wilson C, Lukowicz R, Merchant S (2017) Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Research & Reviews: Journal of Engineering and Technology*, 6, 4: 1–25.
- Zhang M, Liu W, Nie X (2012) Molecular Analysis of Bacterial Communities in Biofilms of a Drinking Water Clearwell. *Microbes and Environments*, 27, 4: 443–448.
- Ziemińska-Buczyńska A, Cema G, Kalbarczyk M i in. (2014) Wykorzystanie metody PCR-DGGE do badania zmienności genotypowej bakterii zasiedlających złożę tarczowe oczyszczające modelowe ścieki koksownicze. *Ochrona Środowiska*, 36, 1: 3–8.

8. Agregacja gleby – mechanizm zjawiska i czynniki determinujące

Soil aggregation – the phenomenon mechanism and determining factors

Szewczuk-Karpisz Katarzyna, Sokołowska Zofia

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Szewczuk-Karpisz Katarzyna: k.szewczuk-karpisz@ipan.lublin.pl

Słowa Kluczowe: koagulacja, połączenia organiczno-mineralne, flokulacja, środki strukturotwórcze

Streszczenie

Struktura to cecha morfologiczna gleby determinująca m.in. właściwości termiczne i stosunki wodno-powietrzne podłoża. Biorąc ją pod uwagę, wyróżnia się gleby agregatowe i bezagregatowe. W rolnictwie odpowiednia agregacja podłoża jest niezbędna do właściwego wzrostu roślin oraz uzyskania wysokich plonów. Tworzenie agregatów glebowych jest uwarunkowane przez szereg czynników i procesów. Rozpoczyna się ono od powstawania połączeń organiczno-mineralnych pomiędzy minerałami glebowymi i materią organiczną. Utworzone jednostki stanowią zaczątki dla większych agregatów. Formowanie oraz stabilność agregatów glebowych uzależnione są od procesów biologicznych, biofizycznych, fizycznych i chemicznych zachodzących w środowisku glebowym. Najważniejsze wydają się procesy chemiczne (tj. adsorpcja, reakcje utleniania/redukcji oraz wytrącanie), które są odpowiedzialne za powstawanie i cementowanie połączeń minerałów pierwotnych z materią organiczną. Stopień agregacji gleb ornych jest często niewystarczający i konieczne jest stosowanie różnego rodzaju kondycjonerów. Najczęściej są to substancje polimerowe syntetyzowane na bazie poliakrylamidu lub polikwasu akrylowego, które stymulują tworzenie skupisk cząstek glebowych w oparciu o zjawisko flokulacji. W ostatnich latach podejmowano również próby poprawy agregacji gleby poprzez dodawanie biowęglu oraz kwasów huminowych. Przeprowadzone prace doświadczalne wykazały, że powyższe substancje wpływają korzystnie na strukturę gleby poprzez zwiększenie rozmiarów i stabilności jej agregatów. Co więcej, ich dodatek może się przyczynić do poprawy właściwości wodnych gleb.

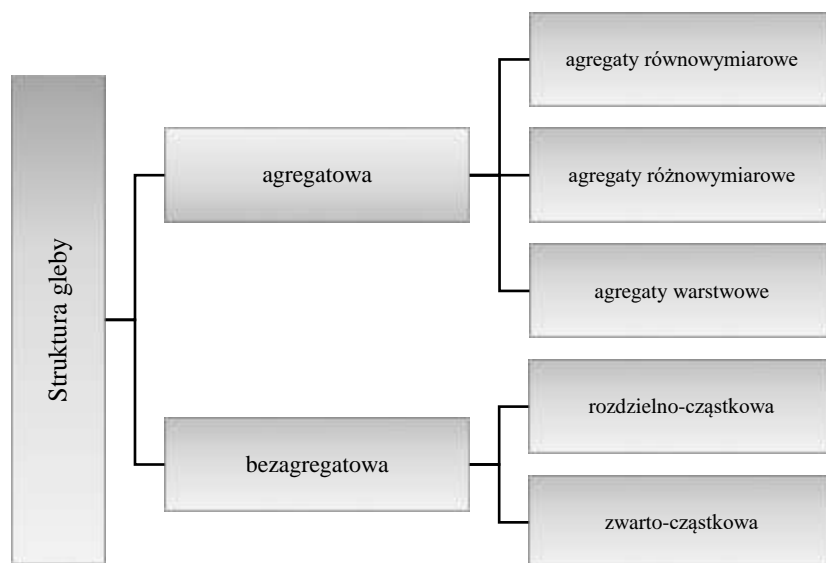
1. Wstęp

Tworzenie agregatów glebowych to wysoce skomplikowany proces, który ze względu na swoją złożoność jest obiektem badań wielu naukowców. Stopień agregacji gleby decyduje m.in. o urodzajności gleby i wielkości uzyskiwanych plonów, a także jej podatności na erozję. Biorąc pod uwagę wielkość, agregaty glebowe podzielono na mikroagregaty (o średnicy poniżej 250 μm) i makroagregaty (o średnicy powyżej 250 μm). W tej pracy przedstawiono mechanizm agregacji gleby oraz czynniki wpływające na ten proces. Opisano ważną rolę połączeń organiczno-mineralnych w powstawaniu mikroagregatów, a także wskazano procesy, które mogą determinować trwałość utworzonych skupisk. Rozdział zawiera również charakterystykę działania środków strukturotwórczych, tj. flokulantów syntetycznych, oraz innych substancji organicznych, które mogą poprawiać strukturę gleby (biowęgiel i kwasy huminowe).

2. Opis zagadnienia i przegląd literatury

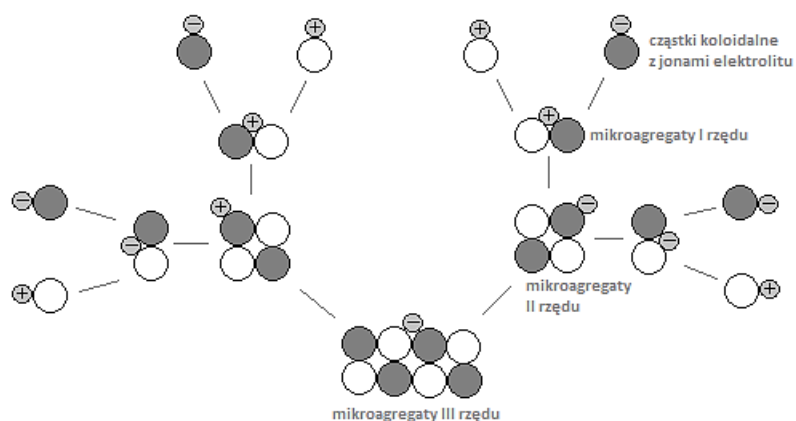
Struktura to jedna z cech morfologicznych gleby, którą można określić już w terenie, posługując się jedynie wzrokiem. Określa ona przestrzenny rozkład cząstek fazy stałej przy uwzględnieniu ich kształtu i wielkości. Gleby mineralne mogą posiadać dwojaką strukturę: agregatową lub bezagregatową (Rys.1). Pierwsza grupa charakteryzuje się obecnością agregatów równowymiarowych, różnowymiarowych lub warstwowych, które to mogą być utworzone w sposób sztuczny (w wyniku zabiegów agrotechnicznych, nawożenia i płodozmianu) lub naturalnie (na terenach nieuprawianych). Gleby zaliczane do drugiej grupy posiadają budowę bezagregatową rozdzieleno-cząstkową lub zwarto-cząstkową. Powyższy podział został opracowany przez profesora

H. Uggle (1976). Struktura gleby wpływa na różne jej właściwości, głównie wodno-powietrzne i termiczne. Odpowiednia agregacja przyspiesza filtrację wody w głąb profilu glebowego i jednocześnie ogranicza jej parowanie. W rezultacie zwiększa się ilość wody dostępnej dla roślin (Uziak i Klimowicz 2002).



Rys. 1. Klasyfikacja struktur glebowych (Uggle 1976; Uziak i Klimowicz 2002).

Agregacja cząstek koloidalnych może zachodzić w oparciu o kilka mechanizmów. Jednym z nich jest koagulacja, czyli tworzenie agregatów koloidów pod wpływem zdysocjowanych elektrolitów neutralizujących ładunek powierzchniowy ciała stałego. W ich obecności dochodzi do zagęszczenia warstwy dyfuzyjnej wokół cząstki jonami o znaku przeciwnym do znaku jej powierzchni. W rezultacie następuje obniżenie potencjału dzeta (ξ) do wartości bliskich 0 i naruszenie stabilności układu koloidalnego. W wielu przypadkach powstające mikroagregaty zachowują pozostałość ładunku elektrycznego, dzięki czemu możliwe jest wzajemne przyciąganie różnoimiennie naładowanych skupisk i tworzenie mikroagregatów rzędu II, III itd. Opisane zjawisko przedstawiono schematycznie na Rys. 2 (Kaczyński 1962, Beddow 2010).



Rys. 2. Powstawanie agregatów na drodze koagulacji cząstek koloidalnych (Kaczyński 1962).

Tworzenie agregatów glebowych jest zjawiskiem bardziej skomplikowanym, zależnym od szeregu czynników. W czasie ostatniego pięćdziesięciolecia opracowano wiele teorii odnośnie agregacji gleby. Pierwsze prace dotyczyły związku między agregacją gleby i termodynamiczną funkcją stanu – entropią. Dexter (1977) stwierdził, że tworzenie agregatów glebowych na polu uprawnym jest równoznaczne ze spadkiem entropii strukturalnej. Natomiast Andraud wraz z zespołem (1997) uznał entropię za parametr właściwy do oceny mikrostrukturalnej heterogeniczności ośrodków porowatych. W kolejnych latach zwrócono uwagę na rolę połączeń organiczno-mineralnych w powstawaniu mikroagregatów glebowych. Chorover i in. (2004) stwierdzili, że tworzą się one na drodze oddziaływań elektrostatycznych, a Christensen (2001) uznał połączenia organiczno-mineralne za jednostki podstawowe dla większych agregatów glebowych (ang. *primary associations*).

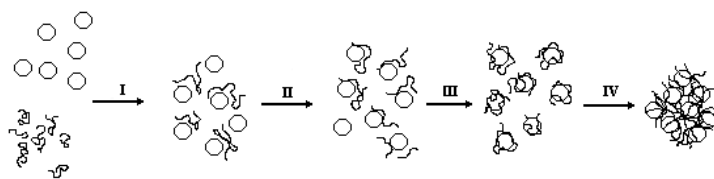
Połączenia organiczno-mineralne tworzą się pomiędzy materią organiczną (OM) i nieorganiczną obecną w glebie. Tę pierwszą stanowią: mikroorganizmy i strzępki grzybów, drobne korzenie roślinne, kwasy huminowe, zwęglona biomasa, komórki i tkanki pochodzące ze szczątków organicznych, biopolimery wytwarzane przez organizmy (białka, polisacharydy, lipidy, substancje śluzowe). Natomiast składnikami nieorganicznymi gleby są: minerały pierwotne (kwarc, skalenie), krzemiany warstwowe (illit, kaolinit, muskowit, montmorylonit), krystaliczne hydroksytlenki (getyt, gibbsyt), hydroksytlenki o słabo uporządkowanej strukturze (boemit, birnessit), a także węglany, siarczany i tlenki krzemu (kalcyt, dolomit, gips). Węglany, wodorotlenki i tlenki żelaza i glinu oraz minerały ilaste (glinokrzemiany) są uważane za najważniejsze substancje mineralne biorące udział w mikroagregacji gleby. Ich wietrzenie prowadzi do powstawania wysoce złożonych i reaktywnych minerałów wtórnych składających się z krzemianów warstwowych, tlenków i wodorotlenków metali, a także glinokrzemianów (Churchman 2010). Dokładne śledzenie poszczególnych etapów tworzenia mikroagregatów glebowych, zwłaszcza tych o średnicy poniżej 20 μm , nie jest jednak możliwe. Jest to spowodowane niedostateczną krystalizacją niektórych minerałów, która wyklucza ich zarejestrowanie w mikroskopie elektronowym. Według niektórych badaczy pierwotne mikroagregaty glebowe tworzą się na drodze otaczania szczątków organicznych drobnymi cząstkami minerałów (Tisdall i Oades 1982). Powstałe otwory posiadają średnicę mniejszą niż 20 μm i są stabilizowane różnymi substancjami syntetyzowanymi przez mikroorganizmy i grzyby, a także strzępkami grzybni i mikrokoloniami bakterii (Oades i Waters 1991).

Powstawanie mikroagregatów glebowych jest determinowane różnymi procesami. Są to procesy biologiczne, biofizyczne, fizyczne oraz chemiczne, które mają wpływ zarówno na formowanie, jak i stabilizację opisywanych skupisk. Do procesów biologicznych zalicza się m.in. kolonizację przez bakterie i grzyby (prowadzącą do zmian właściwości powierzchniowych i zwilżalności minerałów) oraz aglutynację (stabilizującą mikroagregaty; zachodzącą przy udziale egzopolisacharydów, tj. czynników 'zlepiających', syntetyzowanych przez mikroorganizmy). Procesy biofizyczne obejmują wszelkiego rodzaju zjawiska mechaniczne zachodzące przy udziale korzeni roślin i mezofauny. Prowadzą one m.in. do zmiany rozmiarów porów, a także mieszania i transportu poszczególnych składników gleby. Procesy fizyczne to kolejny rodzaj procesów determinujących tworzenie i stabilność mikroagregatów glebowych. Są to: zamrażanie i rozmrażanie podłoża, kurczenie i pęcznienie poszczególnych składników gleby (prowadzące najczęściej do przesuwania mikroagregatów oraz ich stabilizacji), siły kapilarne (w tym siły kohezji zapobiegające rozrywaniu mikroagregatów), dyfuzja (czyli przemieszczanie substancji rozpuszczonych oraz składników mikroagregatów), adwekcja (przyczyniająca się do transportu substancji rozpuszczonych i materiału koloidalnego), zabiegi agrotechniczne (prowadzące do niszczenia i przenoszenia mikroagregatów), a także zalewanie podłoża (w tym powodzie powodujące rozpad i destabilizację skupisk). Chemiczne procesy są również bardzo ważnym czynnikiem kształtującym proces mikroagregacji. Zaliczono do nich: adsorpcję, wytrącanie, utlenianie i redukcję oraz kompleksowanie (Totsche i in. 2018). Adsorpcja jest głównie odpowiedzialna za tworzenie połączeń organiczno-mineralnych oraz stabilizację mikroagregatów. Jej przebieg zależy ściśle od właściwości powierzchniowych cząstek minerałów glebowych (Keiser i Guggenberger 2003). Wytrącanie oraz reakcje utleniania-redukcji zachodzą w określonych warunkach pH i siły jonowej środowiska glebowego, a powstające w ich wyniku substancje są zazwyczaj trudno rozpuszczalne w wodzie (np.

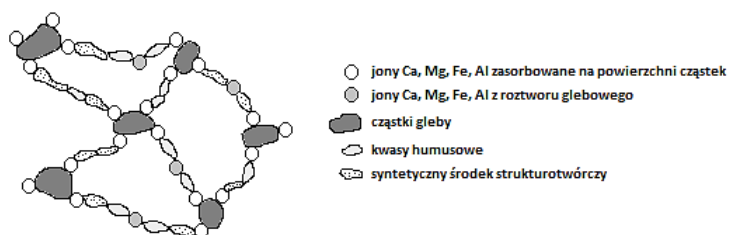
$\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Pełnią one rolę „substancji cementujących” dla tworzących się jednostek podstawowych (ang. *building units*). Stwierdzono, że mikroagregaty glebowe powstają w oparciu o inne procesy niż makroagregaty, co sprawia, że są one stabilizowane przez siły innego rodzaju (Totsche i in. 2018).

Jak już wcześniej wspomniano, odpowiednia agregacja podłoża jest wymagana dla właściwego wzrostu roślin i otrzymania odpowiednio wysokich plonów. Z tego też powodu w wielu ośrodkach naukowych na świecie prowadzi się badania mające na celu określenie efektywności wybranych substancji na wzrost trwałości agregatów glebowych. Naukowcy dążą do opracowania skutecznych dodatków do gleby, które mogłyby poprawić strukturę różnego rodzaju gleb, a zwłaszcza tych nieurodzajnych, ubogich w związki próchniczne.

Jednym z zabiegów prowadzących do poprawy agregacji gleby jest stosowanie syntetycznych środków strukturotwórczych, czyli polimerów. Powodują one tzw. flokulację cząstek koloidalnych obecnych w glebie. Na początku polimer wprowadzony do podłoża adsorbuje się na powierzchni cząstek glebowych. Zazwyczaj oddziałuje on z jonami wapnia i magnezu zaadsorbowanymi na cząstkach glebowych poprzez wodór grupy karboksylowej lub hydroksylowej. Po procesie adsorpcji następuje tzw. „mostkowanie” polegające na łączeniu poszczególnych cząstek glebowych za pośrednictwem łańcuchów polimerowych zaadsorbowanych na co najmniej dwóch z nich (Beddow 2010). Proces mostkowania przedstawiono na Rys. 3. Oprócz minerałów glebowych, polimer może również tworzyć połączenie z huminami wapnia, magnezu, żelaza i glinu, co zostało przedstawione na Rys. 4.



Rys. 3. Proces flokulacji cząstek koloidalnych w obecności substancji polimerowej (Beddow 2010): I – dodanie polimeru, II – adsorpcja polimeru na powierzchni cząstek, III – pokrycie powierzchni cząstek łańcuchami polimerowymi, IV – agregacja cząstek dzięki utworzonym mostkom



Rys. 4. Schematyczne przedstawienie połączeń, które mogą się tworzyć w procesie mostkowania (opracowanie własne)

Środki strukturotwórcze można klasyfikować biorąc po uwagę różne kryteria, np. skład chemiczny czy też dziedzinę stosowania. Podział ze względu na sposób działania wyróżnia:

- substancje działające pośrednio na glebę – środki nie zawierające wody i powietrza, nie wpływające na zawartość tych składników w glebie,
- substancje działające bezpośrednio na glebę – substancje pianotwórcze posiadające zdolność chłonięcia i magazynowania wody,
- substancje działające zarówno pośrednio, jak i bezpośrednio na glebę – np. emulsje bitumiczne.

Oprócz poprawy struktury gleby, kondycjonery mogą również zwiększać odporność podłoża na erozję wodną i wietrzną. Po ich zastosowaniu gleba staje się bardziej plastyczna i wodoodporna. W Instytucie Agrofizyki PAN w Lublinie przeprowadzono badania mające na celu określenie efektywności poliakrylamidu anionowego jako flokulanta glebowego. Prace doświadczalne wykonano z wykorzystaniem minerałów glebowych, tj. gibbsytu (Szewczuk-Karpisz i in. 2018a) i getytu (Szewczuk-Karpisz i in. 2018b). Wykazały one, że niezależnie od pH środowiska substancja polimerowa adsorbuje się na powierzchni powyższych ciał stałych i sprzyja agregacji minerałów. W pH kwaśnym i neutralnym, polimer oddziałując z powierzchnią ciała stałego przyczynia się do neutralizacji jej ładunku, dzięki czemu możliwy staje się wzajemny kontakt cząstek oraz tworzenie skupisk. W pH zasadowym zachodzi zjawisko mostkowania gibbsytu i getytu za pośrednictwem łańcuchów polimerowych.

W ostatnich latach zwrócono również uwagę na możliwość poprawy struktury gleby przy wykorzystaniu biowęgla (Juriga i Simansky 2018). Naukowcy z Chin (Ouyang i in. 2013) zbadali stopień agregacji gleby pylastej i piaszczystej zawierających 0 lub 2% biowęgla otrzymanego w wyniku pirolizy osadów mleczarskich. Doświadczenie było prowadzone w warunkach laboratoryjnych przez 3 miesiące, a próbki do badań pobierano co 10 dni. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że biowęgiel sprzyja tworzeniu makroagregatów w przypadku obu gleb, ale efekt ten jest silniejszy dla gleby piaszczystej. Zwiększenie ilości makroagregatów w glebach wzbogaconych biowęgłem wiązało się ze wzrostem średniej wielkości porów glebowych (zwiększenie ilości makroporów), co z kolei przekładało się na właściwości wodne badanego materiału. W obecności biowęgla krzywe retencji wodnej uległy zmianie w kierunku zwiększenia maksymalnej pojemności wodnej gleb i w rezultacie wzrostu ilości wody dostępnej dla organizmów. Simansky (2016) przeprowadził doświadczenie polowe, w którym glebę płową wzbogacał jednocześnie biowęgłem otrzymanym z masy papierowej i łusek nasion oraz nawozem azotowym. Na podstawie uzyskanych rezultatów stwierdził, że największą stabilność posiadają agregaty wytworzone w obecności biowęgla dodanego w ilości 20 t ha⁻¹ wraz z nawozem azotowym w ilości 80 kg ha⁻¹. Dodatkowo, dawka biowęgla równa 20 t ha⁻¹ przyczyniła się do wzrostu akumulacji węgla w glebie płowej.

Piccolo i in. (1997) wzbogacali gleby typowe dla klimatu śródziemnomorskiego substancjami humusowymi, poddając je jednocześnie cyklowi zwilżania i suszenia. Gleby wykorzystane w doświadczeniach charakteryzowały się obecnością różnych minerałów ilastych, a użyte kwasy huminowe były ekstrahowane z węgla. Uzyskane rezultaty wykazały, że dodatek kwasów huminowych w ilości 200 kg ha⁻¹ zwiększa stabilność agregatów w przypadku wszystkich badanych gleb. Podłoże wzbogacone substancjami humusowymi posiadało bardziej stabilną strukturę i było mniej podatne na destrukcyjne działanie cykli zwilżania i suszenia. Wzrost stabilności agregatów glebowych po zastosowaniu kwasów huminowych wykazał również zespół Mamedova (2014), który to przeprowadził szereg doświadczeń z wykorzystaniem gleby gliniastej, ilastej i piaszczystej.

3. Literatura

Andraud C i in. (1997) Local entropy characterization of correlated random microstructures.

Physica A: Statistical Mechanics and its Applications 235: 307-318.

Beddow V (2010) Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment. IWA Water Wiki.

Chorover J, Amistadi MK, Chadwick OA (2004) Surface charge evolution of mineral organic complexes during pedogenesis in Hawaiian basalt. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68: 4859-4876.

Christensen BT (2001) Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European Journal of Soil Science* 52: 345-353.

- Churchman GJ (2010) Is the geological concept of clay minerals appropriate for soil science? A literature-based and philosophical analysis. *Physics and Chemistry of the Earth Parts, A/B/C* 35: 927-940.
- Dexter AR (1977) A statistical measure of the structure of tilled soil. *Journal of Agricultural Engineering Research* 22: 101-104.
- Juriga M, Simansky V (2018) Effect of biochar on soil structure. *Acta fytotechnica et zootechnica* 21: 11-19.
- Kaczyński NA (1962) Istota powstawania struktury w glebach i próba sztucznego jej tworzenia za pomocą związków polimerycznych. *Roczniki gleboznawcze t. XII*. PWN. Warszawa.
- Keiser K, Guggenberger G (2003) Mineral surfaces and soil organic matter. *European Journal of Soil Science* 54: 219-236.
- Mamedov AI, Bar-Yosef, Levkovich I, Rosenberg R, Silber A, Fine P, Levy GJ (2014) Amending soil with sludge, manure, humic acid, orthophosphate and phytic acid: effects on aggregate stability. *Soil Research* 52(4): 317-326.
- Oades JM, Waters AG (1991) Aggregate hierarchy in soils. *Australian Journal of Soil Research* 29: 815-828.
- Ouyang L i in. (2013) Effects of biochar amendment on soil aggregates and hydraulic properties. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(4): 991-1002.
- Piccolo A, Pietramellara G, Mbagwu JSC (1997) Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability. *Geoderma* 75(3-4): 267-277.
- Simansky V (2016) Effect of biochar and biochar with nitrogen on soil organic matter and soil structure in Haplic Luvisol. *Acta fytotechnica et zootechnica* 19(4): 129-138.
- Szewczuk-Karpisz i in. (2018a) Electrical double layer at the gibbsite/anionic polyacrylamide/supporting electrolyte interface – Adsorption, spectroscopy and electrokinetic studies. *Journal of Molecular Liquids* 261: 439-445.
- Szewczuk-Karpisz i in. (2018b) Anionic polyacrylamide efficiency in goethite removal from aqueous solutions: goethite suspension destabilization by PAM. *International Journal of Environmental Science and Technology*, <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2064-5>.
- Tisdall JM, Oades JM (1982) Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33: 141-163.
- Totsche KU i in. (2018) Microaggregates in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 181: 104-136.
- Uggla H (1976) *Gleboznawstwo rolnicze*. PWN. Warszawa.
- Uziak S, Klimowicz Z (2002) *Elementy geografii gleb i gleboznawstwa*. Wydawnictwo UMCS. Lublin.

9. Badanie mechanizmu adsorpcji poliakryloamidowych flokulantów glebowych na powierzchni montmorylonitu w obecności jonów metali ciężkich

Investigation of the adsorption mechanism of polyacrylamide soil flocculants on the montmorillonite surface in the presence of heavy metal ions

Szewczuk-Karpisz Katarzyna⁽¹⁾, Fijałkowska Gracja⁽²⁾, Wiśniewska Małgorzata⁽²⁾

⁽¹⁾Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

⁽²⁾Zakład Radiochemii i Chemii Koloidów, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Szewczuk-Karpisz Katarzyna: k.szewczuk-karpisz@ipan.lublin.pl

Słowa Kluczowe: poliakryloamid, ołów(II), chrom(VI)

Streszczenie

Działalność gospodarcza człowieka zwiększa ryzyko zanieczyszczenia środowiska (m.in. metalami ciężkimi) oraz przyspiesza proces degradacji gleb. Częstym problemem dla rolnictwa jest również zjawisko erozji, które przyczynia się do spadku produkcji rolnej i pustynnienia obszarów. Na gruntach podatnych na erozję prowadzone są specjalne zabiegi przeciwerozyjne, do których zalicza się stosowanie środków strukturotwórczych (tzw. flokulantów glebowych). Substancje te odpowiadają za zwiększenie spójności podłoża i jednocześnie wpływają na akumulację substancji odżywczych i metali ciężkich. W tej pracy zbadano wpływ pH roztworu oraz jonów chromu(VI) i ołowiu(II) na adsorpcję poliakryloamidu na powierzchni montmorylonitu, a także określono, w jaki sposób wybrane flokulanty glebowe determinują akumulację jonów metali ciężkich.

1. Wstęp

W ostatnich latach skażenie wody, powietrza oraz gleb przez metale ciężkie stanowi jedno z najważniejszych zagadnień ochrony środowiska. Rozwój cywilizacji i wielokierunkowa działalność człowieka przyczynia się do nieustannego zwiększania poziomu zanieczyszczenia środowiska (Kowalski i in. 2018, Piekut i in. 2018). Koncentracja metali ciężkich w środowisku może być zróżnicowana i zależy od wielu czynników, m.in. od właściwości fizykochemicznych pierwiastka, jego zdolności do tworzenia rozpuszczalnych związków kompleksowych, pH środowiska. Czynniki te determinują również jaka ilość pierwiastka zostanie unieruchomiona w glebie na drodze chemisorpcji, sorpcji fizycznej lub biologicznej, a jaka zostanie pobrana przez rośliny. Toksyczność danego metalu ciężkiego uwarunkowana jest rodzajem związku w jakim on występuje, jego rozpuszczalnością w płynach ustrojowych i lipidach, odpornością danego osobnika, a także czasem ekspozycji organizmu (Romanowska-Duda 2015, Ouali et al. 2018, Gasco et al. 2004, McBride 2003, Kumpiene et al. 2007, Ociepa 2011).

Metale ciężkie mogą wykazywać zarówno działanie stymulujące, jak i toksyczne. Pierwiastki takie jak żelazo, miedź, cynk to metale, które w małej ilości stanowią niezbędne mikroelementy, natomiast w dużej – mogą wykazywać już działanie negatywne w stosunku do organizmów żywych. Toksyczność metali ciężkich stanowi czynnik stresujący, który wywołuje mechanizmy obronne w roślinie i prowadzi do naruszenia homeostazy. Należy jednak zaznaczyć, że szkodliwe i toksyczne działanie metali ciężkich dla większości roślin obserwuje się dopiero przy znacznym zanieczyszczeniu gleb. Wchłanianie toksycznych metali zachodzi poprzez powierzchnię ciała, układ oddechowy lub pokarmowy. Mechanizmy ochronne organizmów opierają się głównie na zjawiskach absorpcji, transformacji, wydalaniu i bioakumulacji. Często jednak nie są one wystarczające, aby zapobiec negatywnym skutkom zatrucia (Mocek-Płóćiniak 2010; Ociepa 2011; Romanowska-Duda 2015; Ociepa-Kubicka i Ociepa 2012).

Chrom (Cr) ze względu na swoje właściwości fizyczne został zaliczony do metali ciężkich. Może on występować na wielu stopniach utlenienia (od 0 do VI), a jego związki posiadają różną barwę. Związki chromu wykorzystywane są w wielu gałęziach przemysłu m.in. w przemyśle metalurgicznym, chemicznym (produkcja pigmentów), włókienniczym (farby, barwniki), garbarstwie (wyprawianie skór) lub podczas wytwarzania materiałów ogniotrwałych. W środowisku naturalnym chrom posiada dwa stabilne stopnie utlenienia i występuje jako Cr(III) lub Cr(VI). Właściwości fizykochemiczne oraz toksyczność obu tych form są jednak różne. Chrom(III) w małej ilości jest pierwiastkiem niezbędnym dla organizmów. Uczestniczy on w metabolizmie glukozy oraz niektórych lipidów i białek u ssaków, a także ułatwia wchłanianie tego cukru do komórek krwi, utrzymując jego stężenie na właściwym poziomie. W nadmiarze chrom(III) może stanowić czynnik uczulający i powodować alergię. Druga forma chromu, tj. chrom(VI), jest bardzo silnym utleniaczem, charakteryzującym się dobrą rozpuszczalnością w szerokim zakresie pH, dzięki czemu w łatwy sposób pokonuje on bariery biologiczne i przenika do ustroju. Jest on odpowiedzialny za utlenianie wiązań nienasyconych w kwasach nukleinowych i białkach. Chrom(VI) wykazuje wysoką toksyczność w stosunku do roślin ze względu na uszkodzanie aparatu fotosyntetycznego. U ludzi i zwierząt odpowiada on za uszkodzenia przewodu pokarmowego, dróg oddechowych, zmiany skórne i stanowi silny czynnik alergiczny. Ponadto, Cr(VI) wykazuje działanie mutagenne, teratogenne i kancerogenne (Hadjispyrou et al. 2001; Ociepa-Kubicka i Ociepa 2012; Szymański 2009).

Kolejnym metalem ciężkim, który znajduje szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, jest ołów (Pb). Do antropogenicznych źródeł zanieczyszczenia środowiska tym pierwiastkiem zaliczyć można głównie spaliny, emisje przemysłowe z hut, cementowni, przemysł gumowy, naftowy, stalowy, wytwarzanie materiałów wybuchowych oraz środków ochrony roślin. W małych ilościach metal ten wykazuje korzystne działanie dla organizmów, ponieważ ułatwia on proces nityfikacji i jednocześnie hamuje amonifikację. Natomiast w wysokich stężeniach stanowi on wysoce toksyczny pierwiastek wpływający negatywnie na praktycznie każdy układ i podstawowe procesy życiowe roślin. Powoduje on zaburzenia fotosyntezy i podziału komórki, a także powoduje na liczne zaburzenia w metabolizmie azotowym i gospodarce wodnej. W przypadku organizmu człowieka ołów charakteryzuje się silnym działaniem mutagennym, rakotwórczym i embriotoksycznym już przy małych stężeniach. Zatrucie tym metalem może powodować zaburzenia neurologiczne, psychiczne oraz upośledzenie funkcji rozrodczych. Bez trudu przekracza on barierę krew-mózg, niszcząc osłonki mielinowe neuronów. To prowadzi z kolei do upośledzenia wzrostu neuronów, zmniejszenia ich liczby i ostatecznie zaburzenia neurotransmisji (Szymański 2009; Gouder de Beauregard i Mahy 2002; Vasquez-Murrieta et al. 2006; Pueyo et al. 2004; Romanowska-Duda 2015).

Intensywny rozwój cywilizacji oraz działalność gospodarcza człowieka nie tylko podwyższa ryzyko zanieczyszczenia środowiska toksycznymi metalami ciężkimi, ale i zwiększa szybkość procesu erozji gleb, czyli naturalnego procesu ich degradacji. W rezultacie dochodzi do obniżenia jakości danej gleby i tym samym niszczenia upraw roślin. Dodatek flokulantów glebowych stanowi jedną z technik przeciwoerozyjnych. Są to substancje wielkocząsteczkowe, które w wyniku tworzenia mostków między cząstkami i łączenia ich w większe agregaty, przyczyniają się do wzmocnienia struktury i spójności gleby, w tym gleb ilastych bogatych we frakcje glinokrzemianowe m.in. montmorylonit (Romanowska-Duda 2015; Lee i Schlautman 2015). Głównym celem pracy było określenie wpływu pH roztworu oraz jonów Cr(VI) i Pb(II) na adsorpcję poliakrylamidowych flokulantów glenowych na powierzchni montmorylonitu, a także zbadanie wpływu obecności flokulantów glebowych na akumulację jonów metali ciężkich.

2. Materiały i metody

W badaniach wykorzystano minerał glebowy – montmorylonit (*Sigma-Aldrich*). Jest to glinokrzemian trójwarstwowy typu 2:1, gdzie glinotlenowa warstwa oktaedryczna znajduje się pomiędzy dwiema tetraedrycznymi warstwami krzemotlenowymi, zwróconymi do siebie wierzchołkami. Pomędzy tymi warstwami znajdują się przestrzenie, w których obecne są kationy międzypakietowe kompensujące niewielki ładunek występujący w strukturze minerału. Powierzchnię właściwą i porowatość montmorylonitu wyznaczono metodą niskotemperaturowej

adsorpcji/desorpcji azotu (*Micromeritics ASAP 2020 analyzer*). Użyty minerał charakteryzował się silnie rozwiniętą powierzchnią właściwą – 259 m²/g. Skład pierwiastkowy minerału wyznaczono przy użyciu metody XRF (*Panalytical ED-XRF type Epsilon 3 spectrometer*), natomiast technika FTIR umożliwiła określenie jego grup funkcyjnych.

W doświadczeniach wykorzystano również dwie odmiany poliakryloamidu anionowego (AN PAM) o zbliżonej masie cząsteczkowej (13 000 oraz 14 000 kDa) i różnej zawartości grup karboksylowych zdolnych do dysocjacji – 5% i 30%. Wartości pK_a badanych polimerów wynosiły odpowiednio 3,3 i 3,2. W pH równym tym wartościom połowa grup funkcyjnych PAM jest zdysocjowana. W zakresie badanych wartości pH (5 i 7) polimer jest praktycznie całkowicie zdysocjowany, co wpływa na konformację jego łańcuchów.

Pomiary adsorpcyjne były przeprowadzone przy dwóch wartościach pH, tj. 5 i 7 (± 0,1), typowych dla gleb bogatych we frakcje glinokrzemianowe, w temperaturze 25°C, w obecności elektrolitu podstawowego NaCl o stężeniu 0,001 mol/L. Wielkość adsorpcji poliakrylamidu oraz jonów metali ciężkich na powierzchni montmorylonitu wyznaczono metodą statyczną, która opiera się na różnicy stężenia PAM lub jonów metali ciężkich w roztworze przed i po procesie adsorpcji na ciele stałym.

W celu oznaczenia stężenia anionowej odmiany poliakryloamidu w roztworze wykorzystano metodę zaproponowaną przez Crummetta i Hummela (Crummett i Hummel 1963). Polega ona na spektrofotometrycznym pomiarze zmętnienia roztworu, które powstało w wyniku reakcji PAM z hyaminą 1622. Intensywność otrzymanego zmętnienia jest wprost proporcjonalna do stężenia polimeru. Do kolbek miarowych o pojemności 25 mL odmierzano po 5 mL badanych roztworów AN PAM o stężeniach: 20, 40, 60, 80, 100 i 150 mg/L. Następnie do każdej kolbki dodano 1 mL 20% roztworu NaOH. Tak przygotowane próbki ogrzewano w suszarce w temperaturze 90°C przez 40 minut. Po tym czasie roztwory schładzano do temperatury pokojowej, a następnie ustalano ich pH do wartości 10 ± 0,1. W kolejnym etapie do każdej próbki dodawano 1 mL 1% roztworu hyaminy 1622 i rozcieńczano wodą redestylowaną do objętości 25 mL. Powstałe zmętnienie mierzono po upływie 15 minut przy długości fali równej 500 nm. Na podstawie otrzymanych wyników sporządzono krzywą kalibracyjną, będącą zależnością absorbancji roztworu PAM od jego stężenia ($ABS = f(cPAM)$).

Metoda difenylokarbazydowa została wykorzystana w celu oznaczenia stężenia chromu(VI). Podstawą tej metody jest reakcja redoks zachodząca pomiędzy jonami Cr(VI) i difenylokarbazydem. W kwaśnym środowisku Cr(VI) utlenia 1,5-difenylokarbazyd(I) do difenylokarbazonu(II), a sam redukuje się do Cr(III). Powstały elektrododatni kompleks jonów Cr(III) z difenylokarbazonem ma barwę fioletową i pochłania promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie widzialnym przy długości fali 546 nm. Początkowo, do kolbek o pojemności 25 mL wprowadzano odpowiednio 0,0; 0,025; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 2; 2,5 oraz 3,75 mL roztworu Cr(VI) o wyjściowym stężeniu 1000ppm. Następnie do każdej kolbki dodano 1 mL świeżo przygotowanego 0,25% roztworu difenylokarbazydu w acetonie. Kolbki uzupełniono 0,05M roztworem H₂SO₄ do kreski i mierzono absorbancję otrzymanych roztworów przy długości fali równej 546 nm.

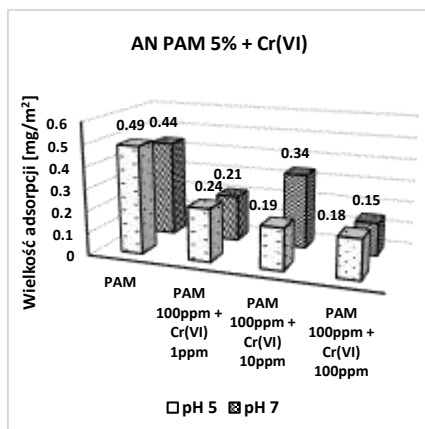
Podstawę oznaczenia stężenia ołowiu stanowiła reakcja jonów Pb(II) z 4-(2-pirydyloazo)-rezorcynolem (PAR) w środowisku buforu amonowego o pH 10. W reakcji tej powstaje trwały chelatowy kompleks o barwie czerwonej, w którym stosunek Pb:PAR wynosi 1:1. Pochłania on promieniowanie o długości fali równej 520 nm. Na początku do kolbek o pojemności 25 mL wprowadzono odpowiednie objętości roztworu Pb(II) o stężeniu 1000ppm. Następnie do każdej kolbki dodawano 4 mL odczynnika PAR i 10 mL buforu o pH 10. Kolbki uzupełniano wodą destylowaną do kreski i mierzono absorbancję otrzymanych roztworów przy długości fali równej 520 nm.

W celu wyznaczenia izoterm adsorpcji anionowego poliakrylamidu oraz jonów chromu(VI) i ołowiu(II) do erlenmajerek o pojemności 25 mL dodawano 10 mL roztworu zawierającego odpowiednie objętości Cr(VI), Pb(II) i AN PAM (o stężeniach wyjściowych 1000 mg/L) oraz po 0,003g montmorylonitu. Następnie ustalano pH próbek do wartości 5 lub 7 przy użyciu rozcieńczonych roztworów HCl i NaOH. Sporządzone suspensje umieszczano w wytrząsającej łaźni wodnej na okres 24 godzin. Po upływie tego czasu roztwory przenoszono do probówek i poddawano wirowaniu przez 20 minut. W kolejnym etapie z każdej probówki pobierano 5 mL klarownego

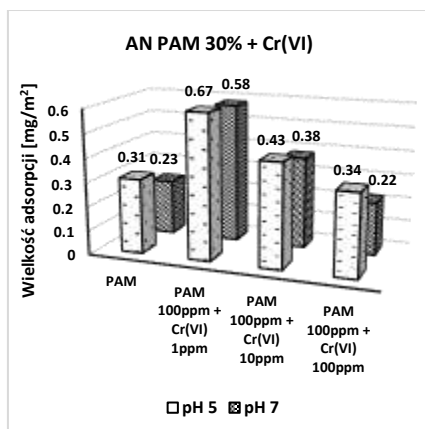
roztworu do kolbki o pojemności 25 mL i dalej postępowano analogicznie jak przy wyznaczaniu krzywej kalibracyjnej. Ilość zaadsorbowanego polimeru lub jonów metali ciężkich określono z różnicy stężenia anionowego PAM lub jonów chromu(VI) i ołowiu(II) w roztworze przed i po procesie jego adsorpcji na montmorylonicie.

3. Wyniki i dyskusja

Zarówno pH roztworu, jak i stężenie jonów Cr(VI) wpływają na wielkość adsorpcji poliakryloamidu anionowego 5% i 30% na powierzchni montmorylonitu (Rys. 1-4). Większą adsorpcję obserwuje się w układzie zawierającym poliakryloamid anionowy o mniejszej ilości grup karboksylowych zdolnych do dysocjacji oraz w pH 5, które to odpowiada punktowi zerowego ładunku montmorylonitu (pH_{pzc}). Dodatek chromu(VI) przyczynia się do zmniejszenia wielkości adsorpcji polimeru AN PAM 5%. Jest to związane tworzeniem wiązań wodorowych między jonami Cr i grupami amidowymi polimeru. Prowadzą one do zwiększenia ładunku ujemnego makrocząsteczki i w konsekwencji spadku adsorpcji kompleksów polimer-metal na powierzchni ciała stałego. W przypadku AN PAM 30% oddziaływanie jonów Cr z grupami amidowymi jest ograniczone (ze względu na ich silniejsze odpychanie elektrostatyczne z grupami karboksylowymi polimeru), co skutkuje specyficznymi zmianami konformacyjnymi zaadsorbowanych łańcuchów i określoną wielkością adsorpcji polimeru.

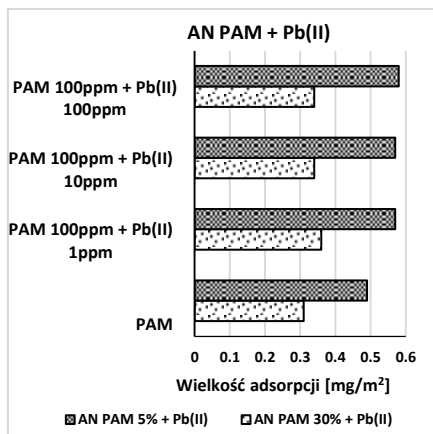


Rys. 1. Wpływ pH roztworu oraz stężenia jonów Cr(VI) na wielkość adsorpcji poliakryloamidu anionowego 5%



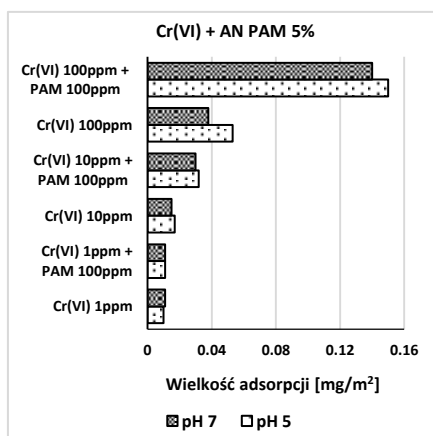
Rys. 2. Wpływ pH roztworu oraz stężenia jonów Cr(VI) na wielkość adsorpcji poliakryloamidu anionowego 30%

Obecność jonów Pb(II) podwyższa wielkość adsorpcji poliakryloamidu (Rys. 3). Jony ołowiu oddziałują elektrostatycznie z makromolekułami PAM, w wyniku czego tworzą się kompleksy kation metalu-polimer, które mogą mieć postać wewnątrzcząsteczkową lub międzycząsteczkową. W badanym układzie przeważają kompleksy, w których jeden kation Pb wiąże się ze zdysocjowanymi grupami karboksylowymi w obrębie jednego łańcucha polimerowego.

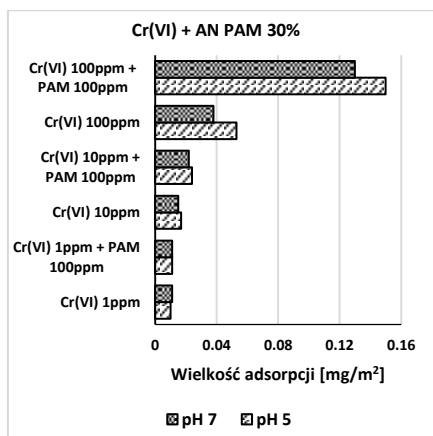


Rys. 3. Wpływ stężenia jonów Pb(II) na wielkość adsorpcji PAM

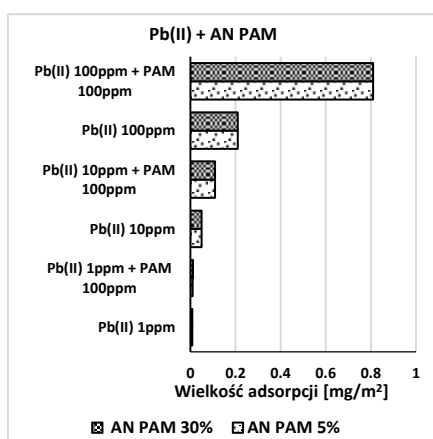
W układach zawierających PAM obserwuje się większy poziom adsorpcji zarówno jonów chromu, jak i ołowiu (Rys. 4-6). Adsorpcja Cr(VI) w obecności poliakryloamidu była prawie trzykrotnie wyższa w porównaniu do układu bez polimeru, natomiast w przypadku jonów ołowiu – prawie czterokrotnie wyższa. Oznacza to, że jonowy poliakryloamid zaadsorbowany na powierzchni montmorylonitu wychwytuje skutecznie jony metali ciężkich z roztworu przyczyniając się w ten sposób do znacznego wzrostu ich adsorpcji. Warto również zauważyć, że większa ilość chromu adsorbuje się w obecności polimeru o mniejszej zawartości grup karboksylowych, co jest związane z tworzeniem mostków wodorowych między grupami amidowymi PAM i jonami Cr(VI). Co więcej, na widmach otrzymanych techniką spektroskopii rozproszonego odbicia zaobserwowano częściową redukcję toksycznych jonów Cr(VI) do Cr(III) w polimerowej warstwie adsorpcyjnej. Jest to zjawisko bardzo korzystne dla środowiska naturalnego.



Rys. 4. Efekt pH roztworu i obecności AN PAM 5% na wielkość adsorpcji Cr(VI)

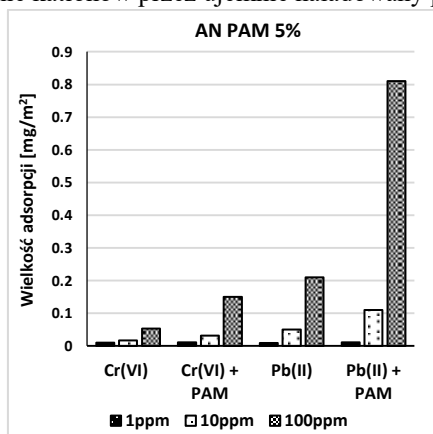


Rys. 5. Efekt pH roztworu i obecności AN PAM 30% na wielkość adsorpcji Cr(VI)

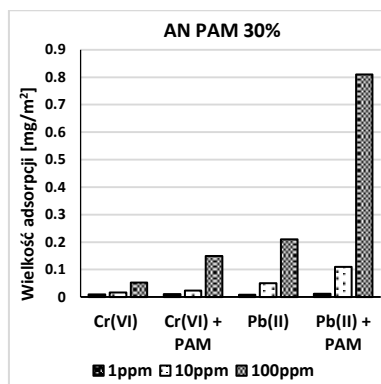


Rys. 6. Wpływ dodatku AN PAM do układu na wielkość adsorpcji Pb(II)

Z porównania wielkości adsorpcji jonów chromu i ołowiu na powierzchni montmorylonitu w obecności PAM (Rys.7 i 8) wynika, że w badanym układzie jony ołowiu są akumulowane w większej ilości. Ma to związek z występowaniem sprzyjających warunków elektrostatycznych, które zapewniają efektywne wiązanie kationów przez ujemnie naładowany polimer.



Rys. 7. Porównanie wielkości adsorpcji jonów Cr(VI) i Pb(II) w obecności AN PAM 5% na powierzchni montmorylonitu



Rys. 8. Porównanie wielkości adsorpcji jonów Cr(VI) i Pb(II) w obecności AN PAM 30% na powierzchni montmorylonitu)

4. Wnioski

Na podstawie otrzymanych wyników można sformułować następujące wnioski:

(1) większą adsorpcję AN PAM na powierzchni montmorylonitu obserwuje się przypadku polimeru zawierającego mniejszą ilość grup karboksylowych oraz w roztworze o pH 5 (słabsze odpychanie polimeru z powierzchnią ciała stałego),

(2) zmiany wielkości adsorpcji PAM w obecności jonów Cr(VI) i Pb(II) mogą być spowodowane tworzeniem wiązań wodorowych między grupami amidowymi polimeru i anionami chromianowymi oraz powstawaniem kompleksów polimer-kation,

(3) w określonych warunkach cząstki montmorylonitu z zaadsorbowanym flokulantem poliakryloamidowym kumulują większe ilości jonów metali ciężkich niż pod nieobecność polimeru,

(4) w przypadku chromu obserwuje się jego częściową redukcję w polimerowej warstwie adsorpcyjnej (Cr(VI) do Cr(III)), co jest bardzo korzystnym zjawiskiem dla środowiska naturalnego.

5. Literatura

- Crummett WB, Hummel RA (1963) The determination of traces of polyacrylamides in water. Journal - American Water Works Association 1: 209-219
- Gasco G, Martinez-Inigo M, Lobo M (2004) Soil organic matter transformation after a sewage sludge application. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 3: 716-723.
- Gouder de Beaugard AC, Mahy G (2002) Phytoremediation of heavy metals: the role of macrophytes in stormwater basin. Ecohydrology and Hydrobiology 2(1-4): 290-294.
- Hadjispyrou S, Kungolos A, Anagnostopoulos A (2001) Toxicity, bioaccumulation and interactive effects of organofin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. Ecotoxicology and Environmental Safety 49(2): 179-186
- Kowalski D, Wróbel M, Rybak J (2018) Ecotoxicological studies on the impact of copper smelter "Legnica" on living organisms. Ecological Engineering 3: 30-35.
- Kumpiene J, Lagerkvist A, Maurice C (2007) Stabilization of Pb- and Cu-contaminated soil using coal ash and peat. Environmental Pollution 145: 365-373.
- Lee, BJ, Schlautman MA (2015) Effects of polymer molecular weight on adsorption and flocculation in aqueous kaolinite suspensions dosed with nonionic polyacrylamides. Water 7: 5896-5909.
- McBride MB (2003) Toxic metals in sewage sludge amended soil: Has promotion of beneficial use discounted the risks? Advances in Environmental Research 8: 5-19.
- Mocek-Płóciński A (2010) Wykorzystanie aktywności enzymatycznej do oceny wpływu antropogenicznych zmian wywołanych przez metale ciężkie w środowisku glebowym, Nauka Przyroda Technologie 4(6) #86.

- Ociepa E (2010) The effect of fertilization on yielding and heavy metals uptake by maize and virginal fanpetals (*Sida Hermaphrodita*). *Archives of Environmental Protection* 37(2): 123-129.
- Ociepa-Kubicka A, Ociepa E (2012) Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 15: 169-180.
- Ouali N, Belabed BE, Zeghdoudi F, Rachedi M, 2018, Assessment of metallic contamination in sediment and mullet fish (*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758) tissues from the East Algerian coast, *Journal of Water and Land Development* 38, 115-126
- Piekut A, Krzysztofik L, Gut K, 2018, Narażenie mieszkańców Zabrza na metale ciężkie emitowane z hałd przemysłowych, *Journal of Water and Land Development* 38, 115-126
- Pueyo M, Lopez-Sanchez JF, Rauret G, 2004, Assessment of CaCl₂, NaNO₃, and NH₄NO₃ extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils, *Anal.Chim. Acta* 504, 217-225
- Romanowska-Duda Z, 2015, Metale ciężkie jako specyficzne zanieczyszczenia środowiska wodnego, Centrum Badań i Innowacji Pro-Akademia, Baza Wiedzy
- Stearns DM, Kennedy LJ, Courtney KD, Giangrande PH, Phieffer LS, Wetterhahn KE, 1995, Reduction of chromium (VI) by ascorbate leads to chromium—DNA binding and DNA strand breaks in vitro, *Biochemistry* 34, 910
- Szymański K, 2009, Związki ołowiu i chromu w środowisku naturalnym i odpadach, *Rocznik Ochrona Środow.* 11, 173-181
- Vasquez-Murrieta MS, Migules-Garduno I, Franco-Hernandez O, Govaerts B, Dendooven L, 2006, C and N mineralization and microbial biomass in heavy-metal contaminated soil, *Eur. J. Soil Biol.* 42, 89-98

10. Zastosowanie biowęgla jako sorbenta do usuwania mineralnych i organicznych zanieczyszczeń z wody i gleby

The use of biochar as sorbent for the removal of mineral and organic contaminants from water and soil

Agnieszka Tomczyk, Zofia Sokołowska, Patrycja Boguta

Zakład Fizykochemii Materiałów Porowatych, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego
Polskiej Akademii Nauk, Lublin

Opiekun naukowy: Zofia Sokołowska

Opiekun pomocniczy: Patrycja Boguta

Tomczyk Agnieszka: atomczyk@ipan.lublin.pl

Słowa kluczowe: biowęgiel, sorbent, kationy, aniony, związki organiczne, dekontaminacja

Streszczenie

Biowęgiel charakteryzuje się dużą powierzchnią właściwą, rozwiniętą porowatością oraz zasadowym odczynem. Dzięki temu jest skutecznym adsorbentem metali ciężkich, antybiotyków, pestycydów i innych związków organicznych oraz nieorganicznych będących niepożądanymi zanieczyszczeniami wody i gleby.

1. Wstęp

Procesy degradacji chemicznej i fizycznej wód i gleb, reakcje roślin w stresie abiotycznym są to procesy mające wpływ na jakość środowiska i warunki wzrostu roślin. Obecnie coraz częściej dochodzi do zubożenia gleb w materię organiczną. Jest to związane z jej nasiloną mineralizacją (Sapek i Sapek 2006), emisją „gazu cieplarnianego”, a także tworzeniem ruchliwych połączeń składników mineralnych z rozpuszczalnym węglem organicznym i ich wymywaniem do wód gruntowych (Conen i in. 2003). Wynikiem tego dochodzi do zbyt dużej kumulacji zanieczyszczeń gleb metalami ciężkimi oraz toksycznymi związkami organicznymi. Ich obecność w dużej mierze wpływa na rozwój roślin, mikroorganizmy oraz jakość wód gruntowych. Głównie produkowane są przez koncerny przemysłowe takie jak: górnictwo, hutnictwo, garbarnie, rafinerie, farbiarnie, firmy produkujące nawozy sztuczne i preparaty do ochrony roślin.

Dotychczas opracowano wiele konwencjonalnych metod oraz technologii wykorzystywanych do usuwania zanieczyszczeń z gleb czy ścieków m. in. metody chemicznej precypitacji, wymiany jonowej, chemicznego utleniania i redukcji, filtracji, technologii membranowej, odwrotnej osmozy, neutralizację, elektrodializę, flotację i wiele innych. Jednak, kiedy stężenie substancji toksycznej wykazuje zbyt niską wartość, wiele z tych metod stają się nieefektywne i zbyt drogie. Dowiedziono, że spośród różnych technologii najbardziej odpowiednią, szybką, uniwersalną oraz tanią metodą jest adsorpcja. Zjawisko adsorpcji można opisać jako gromadzenie się danej substancji, gazu lub pary, czyli adsorbentu na powierzchni ciała stałego, czyli adsorbenta. Właściwości adsorpcyjne sorbentów zależą od stopnia rozwinięcia ich powierzchni (powierzchnia właściwa), struktury przestrzennej i charakteru chemicznego. Na rynku dostępne są różne sorbenty, zarówno naturalne jak i syntetyczne. Jednakże największej korzyści w usuwaniu organicznych jak i nieorganicznych zanieczyszczeń ukazały sorbenty pochodzenia węglowego (np. aktywny węgiel, biowęgiel).

2. Opis zagadnienia

Jednym z sorbentów wykorzystywanych do dekontaminacji wód i gleb może być biowęgiel. Biowęgiel jest karbonatem o strukturze drobnoziarnistej, który wykazuje wysoką zawartość węgla oraz pośrednią biodegradowalność. Znany jest również jako odnawialne, stałe paliwo, które otrzymuje się z biomasy w procesie pirolizy. Do produkcji tego karbonatu wykorzystuje się różne

materiały m.in. rośliny energetyczne (np. wierzbę), obornik bydlęcy, odpady leśne, biomasę rolniczą (głównie kukurydzę i rzepak), odpady z przetwórstwa spożywczo-rolniczego (np. łuski ryżowe). Jednakże wybór odpowiedniego materiału do otrzymania biowęgla jest uzależniony od właściwości fizykochemicznych materiału wyjściowego (np. od zawartość węgla lub wody, rozmiaru cząstek, itp.), zastosowania (np. do produkcji energii), parametrów procesu pirolizy oraz atrybutów logistycznych. W procesie pirolizy z biomasy, bez dostępu powietrza i w temperaturze 100 - 900°C, otrzymuje się produkty ciekłe, gaz syntetyczny oraz biowęgiel. Proporcje tych produktów są różne i w głównej mierze zależą od warunków, w których prowadzi się pirolizę - temperatury, ciśnienia, tempa przyrostu temperatury oraz czasu rozkładu. Wyróżnia się: pirolizę szybką, umiarkowaną, biokarbonizację i gazyfikację. Parametry poszczególnych procesów oraz proporcje otrzymywanych produktów przedstawiono w Tab. nr 1.

Tab. 1. Procesy otrzymywania biowęgla.

Proces	Ciśnienie	Temperatura	Proporcje produktów otrzymywanych w procesie pirolizy		
			[%]		
			Ciekłe produkty	Gaz syntetyczny	Biowęgiel
Szybka piroliza	Próżnia atmosferyczna	500°C (czas przebywania w temperaturze końcowej: 1 s)	75	13	12
Umiarkowana piroliza	Atmosferyczne	500°C (czas przebywania w temperaturze końcowej: 10-20 s)	50	30	20
Wolna piroliza (Biokarbonizacja)	Atmosferyczne	500°C (czas przebywania w temperaturze końcowej: 5-30 min)	30	35	35
Gazyfikacja	Atmosferyczne podwyższone	>800°C (czas przebywania w temperaturze końcowej: 10-20 s)	5	85	10

Proces pirolizy eliminuje także różnorodne patogeny oraz inne drobnoustroje, które są obecne w substratach i powoduje przekształcenie metali ciężkich w mniej toksyczne związki. Jednak istnieje również ryzyko, że podczas pirolizy niektórych materiałów wyjściowych dojdzie również do wytworzenia kancerogennych, fitotoksycznych związków.

Biowęgiel znalazł liczne zastosowania. Jednym z najpowszechniejszych jest wykorzystanie go w elektrociepłowniach oraz w elektrowniach, jako paliwo. Jego wartość opałowa wykazuje wyższą wartość od węgla kamiennego czy brunatnego. Ponadto produkowany jest z biodegradowalnych odpadów i dzięki temu pozwala na odzyskanie energii z wytworów śmieciowych znajdujących się na wysypiskach. Dlatego też może stanowić poważną konkurencję dla paliw kopalnych. Innymi, dotychczas znanymi zastosowaniami są: optymalizacja kompostowania, ograniczenie emisji amoniaku, sekwestracja węgla w glebie (dzięki niemu węgiel w glebie jest długookresowo

stabilizowany i magazynowany), retencja i wymiana substancji pokarmowych w glebie. (Malińska 2012). Ze względu na dużą powierzchnię właściwą oraz mikroporowatość biowęgiel znalazł również zastosowanie do usuwania organicznych jak i nieorganicznych związków z gleb.

3. Przegląd literatury

Opracowano szereg modeli koncepcyjnych i mechanizmów opisujących sorpcję zanieczyszczeń w glebach. Naturalne sorbenty, takie jak materia organiczna gleby, są uważane za heterogeniczne sorbenty, które składają się z dwóch głównych typów domen sorpcyjnych: "miękkiej" domeny węglowej analogicznej do kauczukowatych polimerów i "twardej" domeny węglowej analogicznej do szklistych polimerów (Xia i Ball 1999). Te różne typy domen wykazują różne mechanizmy sorpcyjne. Sorpcja w domenie „miękkiej” będzie charakteryzować się mechanizmem podziału, który będzie wykazywał liniową i niekonkurencyjną charakterystykę sorpcji, podczas gdy sorpcja w obszarze „twardej” będzie mechanizmem wypełnianym pory, a jego zachowanie adsorpcyjne wykaże nieliniowość i konkurencyjność w stosunku do substancji rozpuszczonej. Niektóre badania wykazały, że nieliniową i konkurencyjną sorpcję w glebach przypisano obecności szklistych domieszek węglowych, takich jak czarny węgiel (sadza i węgiel) (Xia i Pignatello 2001).

Biowęgiel wyprodukowany w procesie pirolizy jest w pełni karbonizowany. Karbonizowane i niekarbonizowane frakcje biowęgla generalnie reprezentują różne mechanizmy sorpcji (Cao i in. 2009). W przeciwieństwie do naturalnej materii organicznej, karbonizowana frakcja biowęgla jest zbliżona do szklistej, druga frakcja jest do miękkiej. Sorpcja na karbonizowanej fazie biowęgla charakteryzuje się nieliniową adsorpcją, podczas gdy sorpcja na fazie niekarbonizowanej zachodzi za mechanizmem podziału, który można opisać za pomocą liniowej izotermy.

3.1 Metale ciężkie

Zanieczyszczenie gleb i wód metalami ciężkimi jest coraz częściej spotykanym środowiskowym problemem. Związki metali ciężkich wykazują dużą toksyczność oraz małą podatności na rozkład. Głównie produkowane są przez koncerny przemysłowe takie jak: górnictwo, hutnictwo, garbarnie, rafinerie, farbiarnie, firmy produkujące nawozy sztuczne i preparaty do ochrony roślin. Obecność metali ciężkich w glebach wpływa w dużej mierze na rośliny, mikroorganizmy oraz wody powierzchniowe. Zbyt duża ich kumulacja może doprowadzić do pewnych nieprawidłowości w ekosystemie.

Chen i in. 2011 wykazali, że biowęgiel wytworzony z pozostałości roślin lub odpadów rolnych może działać jako skuteczny sorbent metali ciężkich. Badano adsorpcję miedzi i cynku na biowęglu otrzymanym na drodze pirolizy drzewa liściastego oraz słomy kukurydzy. Autorzy wykazali, że pomimo wzrostu stężenia biowęgla efektywność adsorpcji metali ciężkich może zmniejszać się. Sugeruje to, że agregacja jest czynnikiem, który również musi być brany pod uwagę. Również należy stosować określone dawki biowęgla, aby efektywność unieruchamiania (adsorpcji) metali ciężkich była odpowiednia.

Dobrowolski i współpracownicy (2015) przetestowali dwa różnego rodzaju biowęgle: jeden wyprodukowany z *Sida hermaphrodita* (ślazowiec pensylwański, uprawiany w Polsce jako roślina energetyczna), a drugi ze słomy pszenicy. Wykazano, że maksymalna adsorpcja metali ciężkich jest z roztworów zasadowych. Najszybszym procesem była adsorpcja miedzi, następnie cynku, a najwolniejsza kadmu. Ponadto wykazano, że jony Cl^- negatywnie wpływają na zdolność adsorpcji metali i są bardziej niepożądanymi anionami niż aniony azotanowe. Jednak prostota przygotowania biowęgli, ich niska cena, dostępność na szeroką skalę, szybkie usuwanie metali ciężkich z roztworów oraz wysoka zdolność adsorpcji decydują o tym, że są one jednym z najbardziej użytecznych i ekonomicznych sorbentów.

Celem kolejnej pracy (Kilic i in. 2013) było przetestowanie biowęgla otrzymanego na drodze pirolizy powłok migdałów jako adsorbenta w adsorpcji jonów niklu i kadmu z roztworu wodnego. Autorzy stwierdzili, że warunki adsorpcji w głównej mierze zależą od pH, dawki adsorbenta, stężenia jonu metalu, czasu kontaktu oraz temperatury. Stwierdzili również, iż izoterma Langmuira idealnie opisuje adsorpcje niklu i kadmu, a biowęgiel pochodzący z pirolizy powłok migdałów to tani, efektywny, wydajny i skuteczny sorbent do usuwania jonów metali ciężkich.

Jiang, Huang i inni (2016) badali jak niskie (kwasowe) pH i zasolenie siarczanami wpływa na zdolność adsorpcji jonów cynku i miedzi na biowęglu otrzymanym z pirolizy roślin iglastych oraz liściastych. Wnioski były następujące: karbonat pochodzący z roślin iglastych adsorbuje o wiele więcej jonów cynku i miedzi od karbonatu pochodzącego z roślin liściastych; zasolenie siarczanami mało wpływa na zdolność adsorpcji; biowęgiel pochodzący z roślin iglastych ma większą mikroporowatość oraz wyższe pH; podniesienie pH do 6 powoduje obniżenie ładunku powierzchniowego biowęgla i podwyższenie adsorpcji cynku oraz miedzi.

Tong i inni (2011) badali zdolności adsorpcyjne trzech różnych rodzajów biowęgla otrzymanych na drodze pirolizy słomy orzechowej, z soi oraz rzepaku. Stwierdzili, że największą zdolność adsorpcyjną ma biowęgiel pochodzący ze słomy orzechowej, następnie z soi, a najmniejszą zdolność posiada karbonat ze słomy rzepaku. Dowiedli, że adsorpcja miedzi polega głównie na tym, że metal tworzy kompleksy z grupami powierzchniowymi biowęgla m. in. $-\text{COOH}$ oraz fenolowymi grupami hydroksylowymi.

Innym doświadczeniem było zbadanie kinetyki i adsorpcji jonów metali ciężkich na biowęglu (Kołodzyńska i in. 2012). Wywnioskowano, że najlepszym pH do całkowitego usunięcia zanieczyszczeń jest pH od 5 do 6. Stwierdzono również, że kinetykę adsorpcji prawidłowo opisuje równanie pseudo-drugiego rzędu. Poza tym wykazano, że wraz ze wzrostem stężenia metali w roztworze rośnie procentowa zdolność adsorpcji.

Guo, Yang, Cheng i Yin (2015) badali adsorpcję jonów miedzi na biowęglu otrzymanym na drodze pirolizy łupin orzechów. Dowiedziono, że grupy powierzchniowe biowęgla m. in. $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ reagują z Cu(II) tworząc wiązania $-\text{O}-\text{Cu}-$.

Tan i inni (2015) prowadzili doświadczenia dotyczące adsorpcji chromu (III) i (VI) na biowęglu otrzymanym z osadów komunalnych. Wykazano, że w grupy funkcyjne na powierzchni karbonatu tylko nieznacznie przyczyniają się do adsorpcji chromu. Natomiast sam mechanizm adsorpcji chromu (III) na biowęglu polega głównie na tworzeniu osadu (wodorotlenek chromu (III)) oraz wymianie kationów między rozpuszczalnym jodem Cr^{+3} a kationami znajdujących się powierzchni karbonatu.

3.2 Antybiotyki

Antybiotyki są stosowane w lekach dla ludzi i zwierząt do zwalczania bakterii chorobotwórczych, a także są dodawane do paszy dla zwierząt. Znaczna część antybiotyków, zarówno niezmienionych, jak i ich metabolitów, jest wydalana do środowiska wodnego i glebowego przez ścieki czy też fekalia zwierząt gospodarskich. Związki te, ze względu na ich bioaktywność i biodostępność, również mogą także wpływać na inne organizmy. Jedną z najczęściej stosowanych na świecie rodzin antybiotyków są sulfonamidy. To związki toksyczne dla organizmów wodnych oraz dla ludzi (poprzez łańcuch pokarmowy i wodę pitną). Dlatego też zagrożenia środowiskowe związane z nadużywaniem antybiotyków stanowią globalny problem zdrowia publicznego.

Zheng i inni (2013) zbadali adsorpcję sulfametazolu na biowęglach otrzymanych w różnych temperaturach. Dowiedziono, że sorpcja antybiotyku na biowęglach była zależna od ich stężenia i pH. Neutralne cząsteczki sulfametazolu były dominujące dla sorpcji między pH 1 a pH 6. Powyżej pH 7 sorpcja tych cząsteczek wzrastała wraz z pH i stopniowo stawała się dominująca, prawdopodobnie ze względu na tworzenie wiązań wodorowych z ujemnie naładowaną powierzchnią biowęgla. Dlatego też biowęgle mogą być w szerokim zakresie pH skuteczne w remediacji gleby lub wody zawierającej sulfonamidy. Natomiast badania nad biowęglami, otrzymanymi w różnych temperaturach, wykazały, że usunięcie frakcji nieorganicznej zmniejszyło sorpcję antybiotyku na biowęglach niskotemperaturowych (np. 300°C), ale zwiększyło sorpcję sulfametazolu na biowęglach wysokotemperaturowych (np. 600°C). Obserwacje mogą być użyteczne do projektowania biowęgla jako sorbentów inżynierskich, w celu zmniejszenia dostępności biologicznej antybiotyków i / lub przewidywania zachowania się sulfonamidów w glebach.

Celem kolejnej pracy (Li i in. 2019) było zbadanie adsorpcji dwóch antybiotyków (sulfadiazyny oraz tetracykliny) na drzewnym biowęglu otrzymanym w warunkach tlenowych, w temperaturach $600-800^{\circ}\text{C}$. Autorzy analizowali wpływ porowatości biowęgla, wielkości cząsteczek antybiotyków oraz pH na proces sorpcji. Stwierdzono, że wprowadzenie tlenu do procesu

otrzymywania biowęgla poprawiło jego mezoporowatość, a co, za czym idzie jego powinowactwo do sorbowania antybiotyków ze środowiska wodnego. Ponadto, te biowęgłe zachowały wysoką zdolność adsorpcji w szerokim zakresie pH (3.5-10). Wyjątkowa wydajność sorpcyjna mezoporowatego biowęgla związana była z wykorzystaniem większej powierzchni wewnętrznej porów do adsorpcji, co sprzyjało adsorpcji cząsteczek sulfadiazyny o mniejszych rozmiarach. Natomiast silniejsze interakcje między tetracykliną i biowęgłem przyczyniły się do stosunkowo wyższej adsorpcji. Natomiast badania desorpcji wskazują na nieodwracalną adsorpcję antybiotyków tj. biowęgiel trwale je wiąże i prawdopodobnie nie dojdzie do ich wymywania w glebie.

3.3 Pestycydy

Pestycydy to szeroka grupa substancji używanych w rolnictwie do zwalczania szkodliwych organizmów. Obecne są głównie w środkach do ochrony roślin w postaci: herbicydów, fungicydów, bakteriocydów. Mają pozytywne działanie np. zwiększenie plonu roślin jadalnych, ale również negatywne m.in. skażenie gleby, wód powierzchniowych oraz gruntowych. Najbardziej znanymi są pestycydy pochodzenie organofosforowego, chloroorganicznego, karbaminianowego, tri azynowego oraz chlorofenyksowego.

Klasson i inni (2013) dowiedli, że biowęgiel otrzymany na drodze pirolizy powłok migdałów w 650°C adsorbuje w 100% dibromochloropropan z wód studniowych.

Również biowęgiel wyprodukowany z mieszanki zrębków klonowych, wiązowych i dębowych w 450°C sprawdził się w adsorpcji triazonowych pestycydów: atrazyny i symazyny z wodnego środowiska (Zheng i in. 2010). Zbadano wpływ wielkości cząstek biowęgla, czas kontaktu, stosunek ciało stałe/roztwór i pH. Wyniki wykazały, że biowęgiel o małej wielkości cząstek potrzebował mniej czasu do osiągnięcia równowagi sorpcji; powinowactwo sorpcyjne biowęgla do pestycydów wzrosło wraz ze spadkiem stosunku ciało stałe/roztwór; izotermy sorpcji pestycydów są zgodne z modelem Freundlicha (tj. są nieliniowe); przy pH <7, powinowactwo do sorpcji atrazyny i symazyny zmniejszyło się wraz ze wzrostem pH roztworu oraz sorpcja pestycydów na biowęgłu jest połączonym mechanizmem podziału z adsorpcją powierzchniową występującymi na karbonizowanych i niezwiązanych z węglem frakcjach.

3.4 PAH

PAH (z ang. polycyclic aromatic hydrocarbons) są to policykliczne węglowodory aromatyczne, które wykazują silne właściwości kancerogenne, genotoksyczne, mutagenne. Związki te powstają ze spalania paliw kopalnych i biomasy. Również używane są do produkcji pestycydów, tworzyw sztucznych czy leków. Nie tylko obecność PAH w produktach spożywczych może być wynikiem zanieczyszczenia środowiska glebowego [Kumirska 2010], ale też sploty drogowe, odpady przemysłowe czy osady suche lub mokre.

Chen i Yuan (2011) zbadali wpływ biowęgla (wyprodukowanego z igieł sosny w różnych temperaturach) na sorpcję naftalenu, fenantrenu oraz pirenu w glebie. Dowiedziono, że biowęgiel niskotemperaturowy odznacza się niższą zdolnością sorpcyjną PAH niż biowęgiel wysokotemperaturowy. Zwiększone powinowactwo i mechanizmy sorpcji zależały od struktury biowęgla, stężenia sorbatu oraz dawki biowęgla. Izotermy sorpcji były praktycznie liniowe dla biowęgla uzyskanego w 100°C, natomiast nieliniowe dla biowęgla otrzymanych w temperaturach od 300 do 700°C. Uzyskane wyniki stanowią teoretyczne uzasadnienie zastosowania biowęgla do usuwania zanieczyszczeń typu PHA w glebie.

4. Podsumowanie

Prostota przygotowania biowęgla, ich niska cena, dostępność na szeroką skalę, właściwości fizyko-chemiczne i powierzchniowe oraz wysoka zdolność adsorpcji decydują o tym, że są one jednym z najbardziej użytecznych i ekonomicznych sorbentów.

Biowęgiel może być wykorzystywany do usuwania różnorodnych zanieczyszczeń z gleb i wód na drodze procesu sorpcji. W badaniach uwzględniono m. in. różne rodzaje biowęgla, różne rodzaje zanieczyszczeń oraz parametry, które wpływają na ich adsorpcję. W wyniku sorpcji biowęgiel blokuje dostęp szkodliwych związków do mikroflory żyjącej w glebie oraz do wód

powierzchniowych i podziemnych i może być używany z powodzeniem jako dekontaminant i środek modyfikujący właściwości sorpcyjne.

Publikacja powstała w ramach projektu pt. „Woda w glebie - monitoring satelitarny w poprawie retencji wodnej przy użyciu biowęglu (nr umowy BIOSTRATEG3/345940/7/NCBR/2017) finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” BIOSTRATEG.

5. Literatura

- Cao X, Ma L, Gao B et al. (2009) Dairy-manure derived biochar effectively sorbs lead and atrazine. *Environ. Sci. Technol.* 43: 3285-3291.
- Chen B, Yuan M (2011) Enhanced sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil amended with biochar. *Journal of Soils and Sediments* 11: 62-71.
- Chen X, Chen G, Chen L et al. (2011) Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution. *Bioresource Technology* 102: 8877-8884.
- Conen F, Yakutin MV, Sambuu AD (2003) Potential for detecting changes in soil organic carbon concentration resulting from climate change. *Global Change Biol.* 9: 1515-1520.
- Dobrowolski R, Oleszczuk P, Bogusz A (2015) Application of laboratory prepared and commercially available biochars to adsorption of cadmium, copper and zinc ions from water. *Bioresource Technology* 19: 540-549.
- Guo H, Yang F, Cheng Z et al. (2015) Adsorption Kinetics of Copper by Biochar. *Proceedings of the 3rd International Conference on Advances in Energy and Environmental Science*: 115-120.
- Jiang S, Huang L, Nguyen TAH et al. (2016) Copper and zinc adsorption by softwood and hardwood biochars under elevated sulphate-induced salinity and acidic pH conditions. *Chemosphere* 142: 64-71.
- Kilic M, Kirbiyik C, Cepeliogullar O et al. (2013) Adsorption of heavy metal ions from aqueous solutions by biochar. *Applied Surface Science* 283: 856-862.
- Klasson KT, Ledbetter CA, Uchimiya M, Lima IM (2013) Activated biochar removes 100% dibromochloropropane from field well water. *Environ. Chem. Lett.* 11 (3): 271-275.
- Kołodzyńska D, Wnętrzak R, Leahy JJ et al. (2012) Kinetic and adsorptive characterization of biochar in metal ions removal. *Chemical Engineering Journal* 197: 295-305.
- Kumirska J, Gołebowski M, Paszkiewicz M i in. (2010) Analiza żywności. Skrypt z ochrony środowiska. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk: 65-67.
- Li C, Zhu X, He H et al. (2019) Adsorption of two antibiotics on biochar prepared in air-containing atmosphere: Influence of biochar porosity and molecular size of antibiotics. *Journal of Molecular Liquids* 274: 353-361.
- Malińska K. (2012) Biowęgiel odpowiedzią na aktualne problemy ochrony środowiska. Instytut Inżynierii Środowiska Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa.
- Sapek A, Sapek B (2006) Mineralizacja związków azotu w glebie łąki nawożonej różnymi dawkami azotu i nawadnianej deszczownicą. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 513: 355-364.
- Tan C, Zeyu Z, Sai X et al. (2015) Adsorption behavior comparison of trivalent and hexavalent chromium on biochar derived from municipal sludge. *Bioresource Technology* 190: 388-394.
- Tong X, Li J, Yuan J et al. (2011) Adsorption of Cu(II) by biochars generated from three crop straws. *Chemical Engineering Journal* 172: 828-834.
- Xia G, Ball WP (1999) Adsorption-partitioning uptake of nine low-polarity organic chemicals on a natural sorbent. *Environ. Sci. Technol.* 33: 262-269.
- Xia G, Pignatello JJ (2001) Detailed sorption isotherms of polar and apolar compounds in a high-organic soil. *Environ. Sci. Technol.* 35: 84-94.
- Zheng H, Wang Z, Zhao J et al. (2013) Sorption of antibiotic sulfamethoxazole varies with biochars produced at different temperatures. *Environmental Pollution* 181: 60-67.
- Zheng W, Guo M, Chow T et al. (2010) Sorption properties of greenwaste biochar for two triazine pesticides. *J. Hazard. Mater.* 181: 121-126.

11. Właściwości węgla brunatnego i jego rolnicze wykorzystanie

The properties of brown coal and his agricultural use

Agnieszka Tomczyk, Zofia Sokołowska, Patrycja Boguta

Zakład Fizykochemii Materiałów Porowatych, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego
Polskiej Akademii Nauk, Lublin

Opiekun naukowy: Zofia Sokołowska

Opiekun pomocniczy: Patrycja Boguta

Tomczyk Agnieszka: atomczyk@ipan.lublin.pl

Słowa kluczowe: węgiel brunatny, lignit, nawóz, gleba

Streszczenie

Węgiel brunatny jest naturalnym kopalnym paliwem stałym oraz stanowi mikroheterogeniczną osadową skałę organiczną. Zawiera sporo związków organicznych i ma luźną konsystencję, co ułatwia mieszanie go z glebą i szybsze reakcje chemiczne. Spośród specyficznych właściwości węgla brunatnego najczęściej wymienia się zawartość związków humusowych, porowatą strukturę, zdolność do adsorpcji, pochłaniania i wymiany jonów, alkaliczny charakter, zawartość różnych pierwiastków.

1. Wstęp

Układy biogeniczne biolity (gr. bios-życie, lithos-skała) są to skały osadowe pochodzenia organicznego powstałe przy udziale organizmów roślinnych i zwierzęcych. Biolity dzielą się na akaustobiolity (skały niepalne), do których należą niektóre skały krzemionkowe, większość wapieni i skał fosforanowych oraz kaustobiolity (skały palne), obejmujące węgle kopalne, ropę naftową, ozokeryt, asfalt.

Ze względu na warunki powstawania wśród kaustobiolitów można wyróżnić kopalne paliwa: humusowe (humolity), saropelowe (saropelity), homosaporelity i liptobiolity. Węgiel jest kaustobiolitem - humolitem, organiczną skałą palną powstałą z materiału roślinnego, który w procesie karbonizacji wzbogacał się w węgiel (pierwiastek C). Materiałem wyjściowym dla złóż węglowych są składniki roślin, głównie drewno, a konkretnie celuloza, hemiceluloza, lignina, białka roślinne, żywice i woski. Materiał roślinny ulega biochemicznej fazie przeobrażenia, a następnie geochemicznemu stadium procesu uwęglania, wynikiem tego jest zmniejszenie się zawartości tlenu i wodoru (O i H) oraz części lotnych, a wzrasta ilość pierwiastka węgla (C). Czynniki decydującymi o przemianach w tym procesie są ciśnienie, temperatura i czas. Powstały węgiel brunatny charakteryzuje się obecnością kwasów humusowych rozpuszczalnych w zasadach (alkaliach). Dalsze przemiany węgla brunatnego w procesie metamorfozy prowadzi do powstania węgla kamiennego, zwierającego nierozpuszczalne huminy.

2. Opis zagadnienia

Pod względem zasobności i występowania różnych gatunków węgla brunatnego Polska należy do najbardziej wyróżniających się państw w Europie. Największe znaczenie i najważniejsze są węgle brunatne z trzeciorzędowych utworów Niżu Polskiego i zapadlisk podkarpackich, a związane jest to z zasobnością i głębokością jego zalegania. Miocenne pokłady węgla brunatnego, należące do I środkowopolskiej grupy pokładów węglowych eksploatowane są w kopalniach z okolic Konina i Turka, a te należące do II ścinawskiej grupy pokładów węglowych, w kopalniach Turów i Bełchatów.

Węgiel brunatny jest naturalnym kopalnym paliwem stałym i stanowi mikroheterogeniczną osadową skałę organiczną. W genetycznym szeregu uwęglania pierwotnego materiału węglotwórczego znajduje się pomiędzy torfem a węglem kamiennym. Węgiel brunatny to

żółtobrunatny lub czarny, ziemisty, słabo zwięzły i kruchy materiał, zawierający dodatkowo znaczne ilości wody. Ze względu na skład chemiczny i zwięzłość dzieli się go na węgiel humusowy miękki, twardy, lignity i węgiel saropelowy. Największe zróżnicowanie cech składników węgla występuje w grupie huminitu. Określenie *węgiel brunatny* (ang. brown coal) jest nazwą tradycyjną i ma na celu odróżnienie go od innych paliw stałych. W niektórych krajach funkcjonuje pojęcie *lignit* dla węgla brunatnego o mniejszej wartości opałowej. Często pojęcia *węgiel brunatny* i *lignit* używa się zamiennie.

W Polsce zasadniczymi parametrami chemiczno-technologicznymi węgla brunatnych określającymi ich przydatność przemysłową są: wartość opałowa, zawartość popiołu, prasmoły, bituminów i alkaliów. Często parametry te są uzupełniane np. przez podania zawartości węgla, siarki, substancji lotnych. Pełny zestaw parametrów dla paliw stałych określa Polska Norma PN-91/G-04510.

W polskich, miocenijskich węglach brunatnych średnie zawartości (w %) popiołu, siarki całkowitej, siarki palnej, siarki popiołowej, parasmały, bitumin i alkaliów (suma Na_2O i K_2O) wynoszą odpowiednio: 1505-2634; 8-30; 0.45-5.7; 0.35-4.5; 0.1-1.2; 6-15; 2.3-5.7; 0.01-0.86, a średnia wartość opałowa 6.3-10.9 MJ/kg. Inną ważną cechą węgla brunatnego jest jego wilgotność i jest ona wskaźnikiem stopnia uwęglenia substancji organicznej oraz wskazuje także na potrzebę jego suszenia przed zastosowaniem do konkretnych celów.

Wartość opałowa surowego węgla brunatnego może się zmieniać w szerokim zakresie od 5.86 do 29.9 MJ/kg. Dla miękkich węgli ziemistych średnia wartość opałowa wynosi 8.4 MJ/kg, a ciepło spalania 25.1 MJ/kg. Ponieważ węgiel brunatny jako surowiec energetyczny ma niską wartość dlatego też pozyskuje się go z płytko położonych złóż metodą odkrywkową. Wydobywanie węgla brunatnego tym sposobem jest szkodliwe dla środowiska i niekoniecznie ekonomiczne. Ponadto przy spalaniu go alkaliczne i kwaśne składniki popiołu zanieczyszczają paleniska i kotły, wydzielają się też agresywne i trujące gazy i pary powodujące korozję palenisk i zanieczyszczające atmosferę, a także produkty rozkładu termicznego i utleniania substancji organicznej węgla, co obniża sprawność kotłów. Stąd też poszukuje się innych niż spalanie, sposobów zagospodarowania węgla brunatnego.

3. Przegląd literatury

3.1 Węgiel brunatny jako nawóz, nawozy organiczne na bazie węgla, współdziałanie węgla brunatnego i nawozów mineralnych

Jedną z dróg jest wykorzystanie go jako sorbentu różnych substancji, źródła materii organicznej, materiału do produkcji kwasów humusowych/huminowych lub podłoża ogrodniczych. Węgla brunatnego jest w Polsce bardzo dużo, nie jest to surowiec drogi. Węgiel brunatny ziemisty posiada substancje o właściwościach zbliżonych do właściwości substancji próchnicznych gleby. Przydatność węgla brunatnego do poprawy właściwości fizyko-chemicznych gleby wynika zarówno z jego budowy petrograficznej, składu chemicznego jak i szeregu specyficznych właściwości fizycznych, fizykochemicznych i chemicznych. Do celów nawozowych wykorzystuje się węgiel odpadowy, tzw. pospółkę o rozdrobnieniu cząstek $\phi < 1$ mm i węgiel rozdrobniony do frakcji 8 mm. Działanie nawozowe węgla brunatnego może być bezpośrednie, wynikające z zawartości pierwiastków nawozowych i składników grupowych oraz pośrednie, które wynika z właściwości fizycznych i fizykochemicznych węgla brunatnego.

Innym sposobem jego wykorzystania jest produkcja nawozów organo-mineralnych. Węgiel brunatny zawiera sporo związków organicznych i ma luźną konsystencję, co ułatwia mieszanie go z glebą i szybsze reakcje chemiczne. W efekcie tego kontaktu powstają związki chelatowe, wiążące trwale metale ciężkie i „niekonsumowane” przez rośliny. Właściwość tę wykazuje preparat o nazwie Rekulter, opracowany na Politechnice Warszawskiej przez zespół prof. A. Maciejewskiej. Rekulter to naturalny nawóz do rekultywacji gleb i terenów zdewastowanych, gleb wadliwych, zbyt ciężkich i zbyt lekkich, gleb zakwaszonych przez przemysł. Kwiatkowska – Malina (2009) w obszernym opracowaniu przedstawiła ocenę przydatności węgla brunatnego oraz Rekultera pod kątem wzbogacenia gleb w trwałą materię organiczną, wpływ zróżnicowanych dawek węgla brunatnego na

właściwości substancji humusowych gleby, kształtowanie struktury kwasów huminowych, właściwości fizyczne i chemiczne gleb oraz aktywność mikroorganizmów glebowych.

3.2 Specyficzne właściwości węgla brunatnego i nawozów organicznych z niego wytworzonych

Śród specyficznych właściwości węgla brunatnego najczęściej wymienia się zawartość związków humusowych, porowata struktura, zdolność do adsorpcji, pochłaniania i wymiany jonów, alkaliczny charakter, zawartość różnych pierwiastków (Bojakowska i Lech 2012).

Amarasekera i in. (1995) wyliczali powierzchnię właściwą węgla z izoterm adsorpcji azotu w przedziale ciśnień względnych 0.02-0.15 stosując równanie BET. Stwierdzili oni dla wszystkich badanych węgli obecność bardzo drobnych mikroporów o rozmiarach równoważnych ok. 1.3-1.4 nm i objętości ok. 0.06-0.08 cm³·g⁻¹, których powierzchnia wynosiła ok. 200 m²·g⁻¹. Tarasevich (2001) badał sorpcyjne właściwości młodego węgla z Dombasu. Izotermy adsorpcji pary wodnej charakteryzowały się wzrostem ilości zaadsorbowanej przy $p/p_0 > 0.6$ i pętlą histerezy przy $p/p_0 = 0.9-0.4$. Dla naturalnie porowatego węgla adsorpcja jest znacząca przy $p/p_0 = 0-0.2$, to jest 1/5 pojemności sorpcyjnej węgla w stosunku do pary wodnej. Nishino (2001) badał adsorpcje pary wodnej i dwutlenku węgla, w funkcji ilości grup karboksylowych na powierzchni, dla 20 różnych typów węgli. Ilość zaadsorbowanej pary wodnej i dwutlenku węgla wzrastała, kiedy zawartość tlenu w węglu wynosiła 6%. Podobną zależność stwierdzono dla obecnych na powierzchni węgla grup karboksylowych. Również powierzchnia właściwa badanych węgli była skorelowana z ilością grup karboksylowych na powierzchni i mieściła się w granicach od 110 do 285 m²·g⁻¹. Charakterystyki adsorpcyjne i desorpcyjne wody na średnio bitumicznych węglach badali Campbell i in. (2013). Wyniki adsorpcyjne były korelowane z właściwościami węgli takimi jak wielkość cząstek, porowatość, zawartość i rodzaj składników organicznych oraz mineralnych. Sokołowska i in. (2007) analizowała wybrane właściwości chemiczne i fizyczne węgli z Livino (Bośnia i Hercegowina) i Konina (Polska) pod kątem przydatności węgli do rekultywacji gleb. Badane węgle charakteryzowały się zawartością kwasów huminowych od 30 do 50%, dość dużą powierzchnią właściwą od 170 do 210 m²·g⁻¹ (z danych desorpcji pary wodnej), od ok. 44 do 250 m²·g⁻¹ (z danych niskotemperaturowej adsorpcji azotu), a ich całkowita porowatość wynosiła od 2 do 40% (z pomiarów porozymetrii rtęciowej). Autorzy stwierdzili, że parametry porowatości i powierzchni właściwej pozwalają rekomendować je jako materiały do rekultywacji gleb. Węgłe brunatne z Livino ze względu na wysoką kwasowość powinny być dodawane razem z dodatkiem wapnem nawozowego. Janos i in. (2001) w obszernym rozdziale przedstawili dokładną charakterystykę wybranych węgli brunatnych Centralnej Europy, obejmującą skład, właściwości kwasowo-zasadowe, adsorpcyjne, wymienne. Badania były prowadzone pod kątem wykorzystania węgla brunatnego dla potrzeb środowiska.

Węgiel brunatny jest sorbentem dla różnych związków i substancji, także zawiera w swoim składzie także szereg pierwiastków, zarówno makro jak i mikro elementów, może więc być ich źródłem dla roślin. Na przykład Bojakowska i Lech (2012) określili zawartość pierwiastków śladowych w 104 próbkach z neogeńskich pokładów węgla brunatnego, pochodzących ze złóż Turów, Bełchatów, Adamów, Lubstów, Pątnów i Koźmin. Stwierdzono, że węgle te różniły się zawartością analizowanych pierwiastków pomiędzy sobą, jak również z węglem brunatnym w złożach świata. Badając proces adsorpcji jonów cynku i kadmu (Zn⁺² i Cd⁺²) przez materiały organiczne takie jak, młode węgle brunatne i kwasy huminowe Pehlivan i Arslan (2006) stwierdzili, że zależy on od pH, rodzaju i pochodzenia materiału organicznego oraz właściwości jonów metalu. Yuliani i in. (2016) badali adsorpcję dwu- i trójwartościowych kationów (Co⁺², Cd⁺², Cr⁺³ i Fe⁺³) na naturalnym i potraktowanym wodą utlenioną węglu bitumicznym z Indonezji. Autorzy wykazali, że węgiel modyfikowany lepiej adsorbował kationy trójwartościowe, niż dwuwartościowe. Oprócz jonów cynku i kadmu Havelcova i in. (2009) badali sorpcję jonów ołowiu i miedzi (Pb⁺² i Cu⁺²). Wykazali oni, że współczynniki sorpcji były wyższe dla humin i niższe dla kwasów huminowych niż te dla naturalnego lignitu. Pozwoliło to na stwierdzenie, że lignity południowo-morawskie można wykorzystać jako źródło do otrzymania sorbentów do utylizacji toksycznych metali z wód odpadowych. Zajec i Tomáš (2005) przebadali 12 próbek lignitu pochodzących z kopalni węgla w zachodniej Słowacji pod kątem jego podstawowych właściwości charakteryzujących węgiel

organiczny, jego właściwości sorpcyjne oraz zawartość metali ciężkich. W podsumowaniu stwierdzili, że badany lignit może być dobrym glebowym kondycjonerem. Badając kationową pojemność wymienną (CEC) i reaktywność nisko uwęglonych węgli w funkcji pH, stopnia karbonizacji i liczby zawierających tlen grup funkcyjnych Skordas i in. (2014) stwierdzili, że jest liniowa korelacja pomiędzy CEC a zawartością grup funkcyjnych oraz tlenem elementarnym.

3.3 Wpływ węgla brunatnego i nawozów organicznych wytworzone na jego bazie na glebę i roślinę

Badano także sorpcyjne właściwości węgla brunatnych i wykorzystanie ich do remediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi i zasolonych, a także na rośliny. Leszczyńska i Kwiatkowska-Malina (2012) analizowali wpływ materii organicznej z węgla brunatnego (Rekultera) na biodostępność jonów Cd, Zn i Pb oraz plon i jakość żyta ozimego i pszenicy ozimej na glebach skażonych metalami ciężkimi. Stwierdzili pozytywne działanie Rekultera - obniżał biodostępność metali ciężkich kompleksując wolne jony, jego działanie wzrastało wraz z wielkością dawki. Także plon żyta był największy, a w ziarnie i słomie pszenicy wzrastała zawartość K, Mg, P i N. Stempkowska i in. (2017) badali właściwości jonowymienne węgla brunatnego oraz węgla brunatnego modyfikowanego. Okazało się, że naturalny węgiel brunatny wykazywał najwyższe powinowactwo sorpcyjne do chromu, a modyfikowany do wapnia. Stwierdzono również, że rozdrobnienie sorbenta miało znaczący wpływ na grupy funkcyjne – zarówno na dostępność istniejących jak i generowanie nowych, a suszenie i wygrzewanie zmniejszało powierzchnię właściwą i pojemność wymienną modyfikowanego węgla. Symanowicz i Kalebasa (2012) analizowali wpływ węgla brunatnych, osadów ściekowych i ich mieszanin na zawartość żelaza i molibdenu w materiałach organicznych, glebie i życicy wielokwiatowej, wykazali, iż badane materiały istotnie różnicowały wzrost ich zawartości w suchej masie życicy wielokwiatowej. Ociepa i in. (2011) sprawdzali w jakim stopniu nawożenie węglem brunatnym i preparatami wytworzonymi na jego bazie wpływa na zawartość w glebach rozpuszczalnych form ołowiu i cynku. Przeprowadzone badania dowiodły, że mogą one skutecznie ograniczyć mobilność cynku i ołowiu w glebie, a tym samym i w środowisku. Maciejewska i Pusz (2007) przeprowadziły doświadczenie wazonowe nad wpływem węgla brunatnego na zawartość metali ciężkich w trawach. Obiektem badawczym była gleba brunatna wytworzona z pyłów ilastych oraz gliny ciężkiej dla dwóch różnych poziomów zanieczyszczeń Cu, Pb, Cg i Zn. Autorki stwierdziły, że zastosowanie wzrastających dawek węgla brunatnego spowodowało zmniejszenie zawartości form metali ciężkich aktualnie i potencjalnie dostępnych dla roślin, statystycznie istotne zmniejszenie zawartości metali ciężkich w roślinach przy nieistotnej statystycznej zmianie poziomu zawartości metali ciężkich w glebach. W innych doświadczeniach badano wpływ dodatku węgla brunatnego na parametry struktury i właściwości fizyczne i wodne gleby. Wykazano, że podstawowe właściwości fizyczne i wodne warstw ornych gleb antropogenicznych rekultywowanych rolniczo były podobne do gleb uprawnych o zbliżonym uziarnieniu i zawartości węgla ogólnego, a efekt zastosowania dodatku pyłu z węgla brunatnego był widoczny nawet po 18 latach od aplikacji. Kwiatkowska-Malina (2015) wykazała, że nawóz otrzymany z węgla brunatnego zmienia właściwości fizyko-chemiczne, fizykochemiczne, powietrzno-wodne i strukturalne gleby. Dodatek nawozu z węgla brunatnego zmieniał również właściwości chemiczne i buforowe gleby. Kwiatkowska-Malina i Maciejewska (2012) badały aktywność dehydrogenazową mikroorganizmów w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi z dodatkiem węgla brunatnego, nawozu organo-mineralnego na bazie węgla oraz torfu. Obecność węgla brunatnego powodowała zmniejszenie endogennej aktywności dehydrogenazowej i obniżenie toksycznego wpływu metali ciężkich na mikroorganizmy i ich aktywność oddechową, ograniczając ich biodostępność. Zarówno węgiel brunatny jak i nawozy organiczne wytworzone na jego bazie dodane do gleby wpływają na zawartość i właściwości materii organicznej oraz zawartość i charakter natywnych, glebowych związków organicznych.

4. Podsumowanie

Węgiel brunatny może być wykorzystywany nie tylko jako odnawialne paliwo, ale również jako dodatek poprawiający jakość gleby. Węgla brunatnego jest w Polsce bardzo dużo, nie jest to

surowiec drogi. Posiada substancje o właściwościach zbliżonych do właściwości substancji próchnicznych gleby w wyniku, czego może być wykorzystany jako sorbent toksycznych substancji, źródło materii organicznej, materiał do produkcji kwasów huminowych/humusowych lub podłoży ogrodniczych. Przydatność węgla brunatnego do poprawy właściwości fizyko-chemicznych gleby wynika zarówno z jego budowy petrograficznej, składu chemicznego jak i szeregu specyficznych właściwości fizycznych, fizykochemicznych i chemicznych.

5. Literatura

- Amarasekera A, Scarlett MJ, Mainwaring DE (1995) Micropore size distributions and specific interactions in coals. *Fuel* 74: 115-118.
- Bojakowska I, Lech D (2012) Zróżnicowanie zawartości pierwiastków śladowych w węglu brunatnym złóż polski. *Biuletyn Państwowego Instytutu geologicznego* 448: 209-214.
- Campbell QP, Bernardo MD, Bunt JR (2013) Moisture adsorption and desorption characteristics of some South African coals. *The J. of the African Institute of Mining and Metallurgy* 113: 803-807.
- Havelcowa M, Mizera J, Sykorowa I et al. (2009) Sorption of metal ions on lignite and the derived humic substances. *J. Hazardous Materials* 161: 559-564.
- Janos P, Zavodska L, Lesny J et al. (2001) Young Brown coals for environmental application: composition, acid-base, ion-exchange, and sorption properties of selected Central European coals. In: *Coal Extraction*. Ed. J.J. Steward. Nova Science Publisher. Inc., chapter 4: 71-90.
- Kwiatkowska-Malina J (2015) The influence of exogenic organic matter on selected chemical and physicochemical properties of soil. *Polish J. Soil Sci.* XLVIII: 173-180.
- Kwiatkowska-Malina J, Maciejewska A (2012) Wpływ węgla brunatnego na aktywność mikroorganizmów w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi. *Roczniki Gleboznawcze* 63: 39-41.
- Leszczyńska D, Kwiatkowska-Malina M (2012) Effect of organic matter from various sources on yield and quality of plant on soil contaminated with heavy metals. *Ecological Chemistry and Engineering S* 18: 501-507.
- Maciejewska A, Pusz A (2007) Wpływ węgla brunatnego na zawartość metali ciężkich w roślinach. *Ochr. Środ. i Zasob. Natur.* IOS 31: 284-291.
- Nishino J (2001) Adsorption of water vapor and carbon dioxide at carboxylic functional groups on the surface of coal. *Fuel* 80: 757-764.
- Ociepa E, Lach J, Ociepa A (2011) Wpływ nawożenia gleb węglem brunatnym i preparatami wykonanymi na bazie węgla brunatnego na zmianę rozpuszczalności ołowiu i cynku w glebach. *Nauka Przyroda Technologie* 5 (41): 1-8.
- Pehlivan E, Arslan G (2006) Comparison of adsorption capacity of young brown coals and humic AIDs prepared from different coal mines in Anatolia. *J. Hazardous Materials B* 138: 401-408. PN-91/G-04510. Paliwa stałe: symbole i współczynniki przeliczeniowe.
- Skordas G, Kokorotsikos P, Serafidou M (2014) Cation Exchange capacity and reactivity of low-rank coal and chars. *Cent. Eur. J. Chem.* 12: 33-43.
- Sokołowska Z, Kwiatkowska J, Maciejewska A (2007) Adsorpcja pary wodnej na naturalnych węglach brunatnych różnego pochodzenia. *Acta Agrophysica* 9: 481-494.
- Stempkowska A, Izak P, Mastalska-Popławska J (2017) Wymiana kationowa w środowisku kwaśnym wybranych pierwiastków na powierzchni sorbentów wytworzonych na bazie modyfikowanego węgla brunatnego. *Gospodarka Surowcami Mineralnymi - Mineral Resources Management* 33: 130-150.
- Symanowicz B, Kalembasa S (2012) Effects of brown coal, sludge, their mixtures and mineral fertilisation on copper and zinc in soil land Italia ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *Fresen. Environ. Bull.* 21: 802-807.
- Tarasevich YI (2001) Porous structure and adsorption properties of natural porous coal. *Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects* 176: 267-272.
- Zaujec A, Tomáš J (2005) Contents of heavy metals extracted from lignite. *Chem. Listy* 99: 649-652.

Yuliani G, Setiabudi A, Laksono K, Ramadhani A (2016) Adsorption of Cr, Fe, Cd, Co ions onto raw and treated Indonesian sub-bituminous coal. ARPN J. of Engineering and Applied Sciences 11: 5217 - 5220.

12. Analiza wybranych parametrów jakości wód jezior Lubelszczyzny Analysis of selected water quality parameters of the Lublin region lakes

Gmitrowicz-Iwan Joanna, Trzcńska Joanna

Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania środowiska, Wydział Agrobiotechnologii,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: Sławomir Ligęza

Gmitrowicz-Iwan Joanna: joanna.gmitrowicz@gmail.com

Słowa Kluczowe: azot ogólny, fosfor ogólny, stan JCW, Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie

Streszczenie

Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie uznawane jest za jeden z najbardziej atrakcyjnych turystycznie regionów Lubelszczyzny - na obszarze mezoregionu znajduje się ponad 60 jezior, które głównie latem są chętnie odwiedzane przez turystów. Wykorzystanie jezior w celach rekreacyjnych, niekorzystne zagospodarowanie zlewni oraz wysoki stopień podatności jezior na degradację sprawia, że jeziora Pojezierza są narażone na proces eutrofizacji. Celem pracy była analiza zawartości azotu ogólnego i fosforu ogólnego w wodach dwunastu jezior Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego, w latach 1998-2017, oraz porównanie ich z wybranymi cechami morfometryczno-zlewniowymi zbiorników, tj. współczynnikiem Schindlera, głębokością średnią i maksymalną, powierzchnią oraz objętością. Badania wykazały, że średnie stężenia azotu ogólnego są niskie i zgodnie z obowiązującą klasyfikacją JCW zawierają się w najwyższej klasie czystości wód. Średnie stężenia fosforu ogólnego są bardziej zróżnicowane, zawartość P_{og} w sześciu jeziorach mieści się w 1 klasie czystości wód, stężenia w pozostałych określono mianem klasy 2. Ponadto, odnotowano istotne statystycznie zależności między zawartością azotu ogólnego a współczynnikiem Schindlera, głębokością średnią, głębokością maksymalną oraz objętością badanych jezior. W przypadku ogólnego fosforu zależności nie odnotowano. Oznacza to, że cechy morfometryczno-zlewniowe jezior mają istotny wpływ na stężenie azotu całkowitego w wodzie, a co za tym idzie, na stopień eutrofizacji zbiorników.

1. Wstęp

Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie obejmuje fragment Nizy Środkowoeuropejskiego między Wieprzem i Bugiem. Granice Pojezierza stanowią dolina Tyśmienicy na zachodzie, Bug na wschodzie, Wyżyna Lubelska na południu i Garb Włodawski na północy (Michalczyk i in. 2017). Zgodnie z regionalizacją Polski Kondrackiego (2001) mezoregion nosi nazwę Równiny Łęczyńsko-Włodawskiej (345.16), charakteryzuje się małym zróżnicowaniem wysokości bezwzględnych. Na Pojezierzu znajduje się ponad 60 jezior o powierzchni powyżej 1 ha oraz wiele mniejszych zbiorników (Krukowska i Krukowski 2009). Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie jest terenem rekreacyjnym województwa lubelskiego. Duże nagromadzenie turystów, podatność jezior na degradację oraz niekorzystne zagospodarowanie zlewni często jest przyczyną niszczenia walorów przyrodniczych oraz szybkiej eutrofizacji zbiorników – prawie 70% jezior Pojezierza uznawana jest za zbiorniki eutroficzne (Harasimiuk i in. 1998, Radwan i Kornijów 1998, Chmielewski 2001). Celem pracy było określenie zmian w zawartości azotu i fosforu ogólnego w wodach 12 jezior Pojezierza, w latach 1998-2017, oraz analiza zależności między stężeniem tych pierwiastków a cechami morfometryczno-zlewniowymi zbiorników.

2. Materiały i Metody

Dane wykorzystane do przeprowadzenia analizy pochodziły z raportów o stanie środowiska województwa lubelskiego z lat 2010-2018 (WIOŚ 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018). Dotyczyły one najważniejszych cech morfometryczno-zlewniowych oraz parametrów jakości wód dwunastu jezior Lubelszczyzny: Białego Włodawskiego, Białego Sosnowickiego, Błkce, Firlej,

Kleszczów, Krasne, Łukie, Piaseczno, Rogóźno, Spólne, Sumin oraz Uściwierz. Analizowanymi cechami morfometryczno-zlewniowymi były:

- współczynnik Schindlera (stosunek powierzchni zlewni do objętości zbiornika; obrazuje wpływ zlewni na wody jeziora),
- głębokość średnia,
- głębokość maksymalna,
- powierzchnia zwierciadła,
- objętość zbiornika.

Ponadto, wspomniane powyżej raporty o stanie środowiska województwa lubelskiego posłużyły zebraniu informacji na temat wybranych parametrów jakości wód: zawartości azotu ogólnego oraz fosforu ogólnego. Wykorzystane dane dotyczyły lat 1998-2017. W okresie dziewiętnastu lat wody jezior badane były od 4 do 6 razy, wyjątkiem było jedynie jezioro Białe Włodawskie, które jako jezioro reperowe badane było trzynastokrotnie.

Cechy morfometryczno-zlewniowe jezior oraz wybrane parametry jakości wód porównano ze sobą przez analizę korelacji. Wykonano również analizę skupień.

3. Wyniki

Wśród analizowanych jezior najmniejszym pod względem powierzchni oraz objętości było jezioro Kleszczów, jednocześnie zbiornik ten był naj płytszym z badanych akwenów (Tab. 1). Powierzchniowo największym było jezioro Uściwierz, które jest także największym jeziorem Lubelszczyzny (Kondracki 2000), największą objętość miało jezioro Białe Włodawskie. Najgłębsze badane jezioro to Piaseczno, będące równocześnie najgłębszym jeziorem województwa lubelskiego (Kondracki 2000). Współczynnik Schindlera przyjmował najwyższe wartości dla jezior Spólne i Sumin, odpowiednio 8,1 i 7,9; średnia wartość współczynnika dla wszystkich analizowanych akwenów to 2,95.

Tab. 1. Wybrane cechy morfometryczno-zlewniowe analizowanych jezior (WIOŚ 2010-2018).

Nr	Nazwa	Współczynnik Schindlera	Głębokość średnia	Głębokość maks.	Powierzchnia	Objętość
			m	m		
1	Białe Sosnowickie ^b	4,7	1,3	2,7	144,8	2018
2	Białe Włodawskie ^a	0,4	14,1	33,6	106,4	14889
3	Bikcze ^b	2,8	1,5	3,3	85	1269
4	Firlej ^b	0,9	5	9,6	91,3	4565
5	Kleszczów ^b	3,5	1,3	2,3	53,9	693
6	Krasne ^a	0,7	10,8	33	75,9	8180
7	Łukie ^b	3,5	1,8	6,5	150,1	2726
8	Piaseczno ^a	0,4	10,8	38,8	84,7	10674
9	Rogóźno ^a	1,9	7,2	25,4	57,1	4209
10	Spólne ^b	8,1	1,4	2,3	65,3	914
11	Sumin ^b	7,9	1,6	6,5	91,5	1454
12	Uściwierz ^b	0,6	3,23	6,6	284,1	9167
	min	0,4	1,3	2,3	53,9	693
	max	8,1	14,1	38,8	284,1	14889
	średnia	2,95	5,00	14,22	107,51	5063,2

Oznaczenia: ^a - typ abiotyczny jeziora 7a (wysoka zawartość wapnia, stratyfikowane), ^b - typ abiotyczny jeziora 7b (wysoka zawartość wapnia, niestratyfikowane)

Zawartości azotu ogólnego w wodach jeziornych w latach 1998-2017 wahały się od 0,06 mg·dm⁻³ dla jeziora Rogóźno w roku 2009 do 2,19 mg·dm⁻³ dla jeziora Kleszczów w roku 2008 (Tab. 2). Analizując dane pod względem obecnie obowiązującej klasyfikacji jednolitych części wód powierzchniowych (JCW), której zasady określa Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych (Dz. U. 2016 poz. 1187), stan JCW można określić jako dobry przy zawartości azotu ogólnego poniżej 1,5 mg·dm⁻³ dla jezior o typie abiotycznym 7a, oraz poniżej 2,0 mg·dm⁻³ dla jezior o typie abiotycznym 7b. Jak widać w Tab. 2, zawartość azotu ogólnego przekroczone jest jedynie w siedmiu przypadkach, dwukrotnie dla jezior Krasne i Rogóźno, oraz jednokrotnie dla jezior Firlej, Kleszczów i Spólne. W pozostałych przypadkach wartość tego wskaźnika jakości wód klasyfikowana była jako dobra.

Tab. 2. Zawartość azotu ogólnego w wodach jezior Lubelszczyzny [mgN·dm⁻³] (WIOŚ 2010-2018).

	Białe Sosn.	Białe Włodawskie	Bikeze	Firlej	Kleszczów	Krasne	Łukie	Piaseczno	Rogóźno	Spólne	Sumin	Uściwierz
1998		0,960				1,530						
1999					0,980						1,670	
2000		0,580	0,950			1,480		0,650				
2001	1,030						1,360		1,100			
2002												0,810
2003				1,680						2,060	1,660	
2004		0,600				1,020		0,780				
2005				1,360								
2006	1,150		1,730		0,960		1,390	1,100	1,020			
2007												
2008	1,550	0,940		2,070	2,190	1,430				1,500		
2009		0,840	0,965				0,382	0,750	0,063		1,240	0,912
2010		0,867			1,740					1,865		
2011	1,220	0,830						1,000	1,390		1,160	
2012		0,880	1,450	1,690		1,160	1,400					1,550
2013	1,470	1,070			1,510					1,880		
2014		1,110				1,140	1,300		1,570		1,610	
2015		0,970	1,010				1,700					1,390
2016	1,500	1,100										
2017		1,110				1,660		1,020	1,670			

Oznaczenia: **2,530** – 3 klasa czystości wód wg Dz. U. 2016 poz. 1187

Zawartości fosforu ogólnego w wodach wahały się od 0,000 mg·dm⁻³ (zawartość na granicy oznaczalności), do 0,185 mg·dm⁻³ (Tab. 3). Obie te wartości zostały odnotowane w wodach jeziora Piaseczno, najwyższe stężenie tego pierwiastka odnotowano w roku 2004, najniższe w 2017. Zgodnie z obowiązującą klasyfikacją wód (Dz. U. 2016 poz. 1187), zawartość P_{og} dla 1 klasy stanu jednolitych części wód powierzchniowych nie może przekroczyć 0,030 mg·dm⁻³ dla jezior o typie abiotycznym 7a, i 0,045 mg·dm⁻³ dla typu abiotycznego 7b. Wody otrzymują 2 klasę czystości dla zawartości

fosforu ogólnego w przedziale 0,030-0,080 mg·dm⁻³ dla typu 7a, oraz 0,045-0,060 mg·dm⁻³ dla typu 7b. Przy wartościach wyższych od podanych nadawana jest 3 klasa czystości JCW. W ośmiu przypadkach zawartość fosforu ogólnego w wodach analizowanych jezior można zaliczyć do klasy 2 JCW, zaś w 10 przypadkach do klasy 3.

Tab. 3. Zawartość fosforu ogólnego w wodach jezior Lubelszczyzny [mgP·dm⁻³] (WIOŚ 2010-2018).

	Białe Sosn.	Białe Włodawskie	Bikecze	Firlej	Kleszczów	Krasne	Łukie	Piaseczno	Rogóżno	Spólne	Sumin	Uściwierz
1998		<u>0,050</u>				<u>0,080</u>						
1999					0,040						<u>0,053</u>	
2000		0,030	0,045			<u>0,070</u>		0,055				
2001	0,108						<u>0,058</u>		0,160			
2002												0,031
2003				<u>0,051</u>						0,095	0,074	
2004		0,025				0,132		0,185				
2005				0,090								
2006	0,098		0,030		0,020		0,010	<u>0,050</u>	0,010			
2007												
2008	0,028	0,013		0,025	0,021	0,015				0,020		
2009		0,030	0,016				0,020	0,016	0,013		0,015	0,015
2010		0,019			0,020					0,109		
2011	0,005	0,003						0,003	0,011		0,006	
2012		0,018	0,013	0,014		0,007	0,003					0,003
2013	0,035	<u>0,037</u>			0,037					0,025		
2014		0,016				0,004	0,003		0,011		0,009	
2015		0,004	0,005				0,008					0,008
2016	0,009	0,009										
2017		0,011				0,013		0,000	0,006			

Oznaczenia: 0,037 – 2 klasa czystości wód wg Dz. U. 2016 poz. 1187, **2,530** – 3 klasa czystości wód wg Dz. U. 2016 poz. 1187

Średnia zawartość azotu ogólnego N_{og} z wielolecia dla wód analizowanych jezior w latach 1998-2017 mieściła się w przedziale od 0,88 mg·dm⁻³ dla wód jeziora Piaseczno, do 1,83 mg·dm⁻³ dla jeziora Spólne; było to jedyne jezioro, dla którego średnia zawartość tego pierwiastka odpowiadała klasie 3 JCW (Tab. 3). W pozostałych akwenach stężenia N_{og} zawierały się w klasie 2. Średnie stężenia fosforu ogólnego w sześciu przypadkach zawierało się w klasie 2, dotyczyło to jezior: Białego Sosnowickiego, Firlej, Krasne, Piaseczno, Rogóżno oraz Spólne. W pozostałych przypadkach stężenia P_{og} były niskie i można było je określić mianem 1 klasy czystości JCW.

Analiza jezior dotyczyła również sprawdzenia zależności między stężeniami azotu ogólnego i fosforu ogólnego a wybranymi cechami morfometryczno-zlewniowymi zbiorników. W tym celu wykonano analizę korelacji (Tab. 4). Przy poziomie istotności $\alpha=0,5$ i liczbie stopni swobody równej 10, wyniki były istotnie statystycznie dla współczynnika korelacji $r=0,576$. Nie odnotowano istotnych statystycznie zależności między stężeniem P_{og} a cechami morfometryczno-zlewniowymi. Istotne

zależności odnotowano zaś w przypadku zawartości azotu ogólnego. Istnieje silna dodatnia korelacja między zawartością tego pierwiastka, a współczynnikiem Schindlera, co oznacza, że im wyższy jest stosunek powierzchni zlewni do objętości jeziora, tym wyższa zawartość N_{og} w wodach. Zależność odwrotną odnotowano w powiązaniu z głębokością średnią i maksymalną. Wraz ze wzrostem głębokości spada zawartość N_{og} , podobnie jest w przypadku objętości, wraz z jej wzrostem stężenie azotu ogólnego zmniejsza się.

Tab. 3. Średnie stężenia azotu i fosforu ogólnego z lat 1998-2017 w wodach wybranych jezior Lubelszczyzny.

Nr	Nazwa	N_{og}	P_{og}
		$mg \cdot dm^{-3}$	$mg \cdot dm^{-3}$
1	Białe Sosnowickie ^b	1,32	0,047
2	Białe Włodawskie ^a	0,91	0,020
3	Bikcze ^b	1,22	0,022
4	Firlej ^b	1,70	0,045
5	Kleszczów ^b	1,48	0,028
6	Krasne ^a	1,35	0,046
7	Łukie ^b	1,26	0,017
8	Piaseczno ^a	0,88	0,052
9	Rogóżno ^a	1,14	0,035
10	Spólne ^b	1,83	0,062
11	Sumin ^b	1,47	0,031
12	Uściwierz ^b	1,17	0,014
min		0,88	0,014
max		1,83	0,062
średnia		1,309	0,0349

Oznaczenia: ^a - typ abiotyczny jeziora 7a (wysoka zawartość wapnia, stratyfikowane), ^b - typ abiotyczny jeziora 7b (wysoka zawartość wapnia, niestratyfikowane), N_{og} – azot ogólny, P_{og} – fosfor ogólny

Tab. 4. Współczynniki korelacji r analizowanych parametrów jezior.

		Współczynnik Schindlera	Głębokość średnia	Głębokość maks.	Powierzchnia	Objętość
	$mg \cdot dm^{-3}$		m	m	ha	tys. m^3
N_{og}	$mg \cdot dm^{-3}$	0,617*	-0,601*	-0,645*	-0,240	-0,687*
P_{og}	$mg \cdot dm^{-3}$	0,280	0,082	0,158	-0,490	-0,153

* - wyniki istotnie statystycznie dla $\alpha=0,05$, N_{og} – azot ogólny, P_{og} – fosfor ogólny

Analiza skupień pozwoliła wyodrębnić grupy jezior, najbardziej podobnych do siebie pod względem cech morfometryczno-zlewniowych oraz zawartości azotu i fosforu ogólnego (Rys. 1). Pierwszą grupą zbiorników podobnych do siebie były jeziora Białe Sosnowickie, Bikcze, Sumin, Kleszczów, Spólne i Łukie. Drugą, mniejszą grupę stanowiły jeziora Firlej i Rogóżno, trzecią Krasne, Uściwierz i Piaseczno. Jedynie jezioro Białe Włodawskie, będące jeziorem reperowym województwa lubelskiego, wyraźnie odróżniało się od pozostałych.

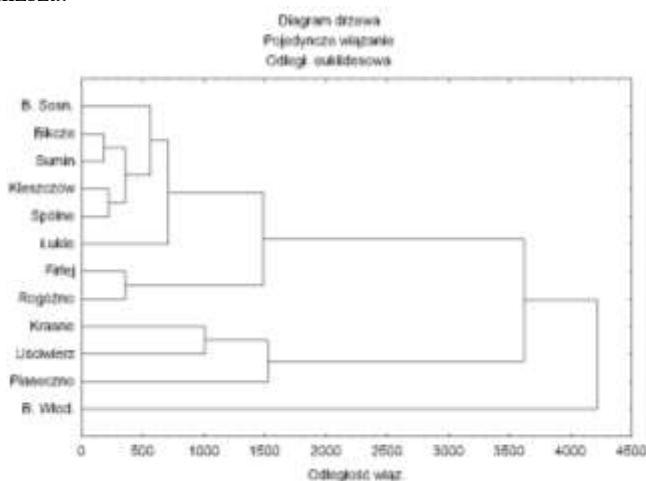
4. Dyskusja

Stężenia azotu i fosforu ogólnego przedstawione przez WIOŚ w latach 1998-2017 oraz średnie zawartości tych pierwiastków z wielolecia są zazwyczaj niższe od stężeń podawanych przez

innych autorów. W badaniach Michalczyka i in. (2014) dotyczących wód jeziornych położonych w dorzeczu Włodawki (wschodnia część Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego), prowadzonych w latach 2007-2009, stężenie azotu ogólnego zawierało się w przedziale 0,4-6,2 mg·dm⁻³, zaś fosforu ogólnego od <0,01-0,11 mg·dm⁻³. Analizowane zawartości P_{og} mieszczą się w podanym przedziale, jednak w przypadku N_{og} zawartości różnią się; według danych przedstawionych przez WIOŚ, stężenie azotu ogólnego zawierało się w przedziale 0,060-2,190 mg·dm⁻³, a więc było dużo niższe niż to opisywane przez Michalczyka i in. (2014). Wyższą zawartość azotu ogólnego w porównaniu do analiz WIOŚ odnotowali również Lenard i Solis (2009) w badaniach wód jeziora Piaseczno w latach 2006-2007. Według nich stężenie N_{og} kształtowało się na poziomie 1,00-3,33 mg·dm⁻³, dolna granica tego przedziału była zbliżona do zawartości azotu ogólnego w wodach jeziora Piaseczno w 2006 roku (1,100 mg·dm⁻³), która jednocześnie była najwyższą odnotowaną zawartością tego pierwiastka w latach 1998-2017. Być może wartość 3,33 mg·dm⁻³ odnosi się do roku 2007, wtedy WIOŚ nie prowadził badań wód jeziora Piaseczno.

Najwyższą zawartość fosforu ogólnego w wodach odnotowano w jeziorze Spółne. Według Zykubka (2005) zasilanie zewnętrzne jezior Spółne i Łukie fosforem całkowitym przewyższa ładunek niebezpieczny. Wykonana analiza wykazała, że wody jeziora Spółne w latach 1998-2017, zawierały średnio więcej fosforu całkowitego (0,062 mg·dm⁻³) niż wody pozostałych badanych jezior. Ponadto, w latach 2003 i 2010 stężenie P_{og} przyjmowało wartości odpowiadające 3 klasie czystości wód według obecnie obowiązujących zasad oceny stanu jednolitych części wód powierzchniowych (Dz. U. 2016 poz. 1187). Współczynnik Schindlera dla jeziora Spółne był wysoki (8,1). Oznacza to, że zlewnia miała duży wpływ na stan wód jeziora, znajduje to odzwierciedlenie w wysokich zawartościach P_{og}. Inaczej jest w przypadku jeziora Łukie – mimo wysokiego zasilania zewnętrznego fosforem całkowitym, średnie stężenie tego pierwiastka w wodach jeziora jedynie raz spełniło warunki dla 2 klasy JCW, w pozostałych przypadkach była to klasa 1, średnia z wielolecia była jedną z najniższych analizowanych. Współczynnik Schindlera dla tego akwenu wynosił 3,5, a więc był dużo niższy niż w przypadku jeziora Spółne.

Porównując analizowane jeziora Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego do podobnego pod względem cech morfometryczno-zlewniowych oraz zagospodarowania zlewni jeziora Symsar, położonego w północnej części województwa warmińsko-mazurskiego, można było zauważyć pewne podobieństwa (Sidoruk i Potasznik 2011). Najbardziej podobnymi jeziorami pod względem cech morfometryczno-zlewniowych były jeziora Białe Sosnowickie, Sumin, Uściwierz, Łukie, Firlej oraz Białe Włodawskie. Średnie stężenia N_{og} i P_{og} w wymienionych akwenach były podobne do stężeń w jeziorze Symsar (zawartości N_{og} i P_{og} kształtowały się na poziomie odpowiednio 1,41 mgN·dm⁻³ i 0,380 mgP·dm⁻³). Jedynym wyjątkiem było jezioro Białe Włodawskie, w którym zawartość obu pierwiastków była niższa.



Rys. 1. Analiza skupień.

5. Wnioski

- a) Zawartość azotu i fosforu ogólnego w wodach analizowanych lubelskich jezior jest niska, jedynie w sześciu z siedemdziesięciu jeden pomiarów stężenia N_{og} przekraczały obecnie obowiązujące normy dla najwyższej klasy czystości jednolitych części wód powierzchniowych, w przypadku zawartości P_{og} było to osiemnaście z siedemdziesięciu jeden prób.
- b) Analiza średnich zawartości N_{og} i P_{og} dla jezior w latach 1998-2017 wykazała, że w przypadku azotu ogólnego jedynym akwenem o przekroczonej normie zawartości dla najwyższej klasy JCW było jezioro Spólne. Zawartości fosforu ogólnego w połowie badanych zbiorników można przyporządkować do klasy 1, pozostałe sześć zbiorników do klasy 2.
- c) Nie odnotowano istotnych korelacji między zawartością fosforu ogólnego w wodzie a wybranymi parametrami morfometryczno-zlewniowymi jezior.
- d) Odnotowano istotną statystycznie, dodatnią korelację między stężeniem N_{og} i współczynnikiem Schindlera oraz ujemne zależności między zawartością tego pierwiastka a głębokością średnią, głębokością maksymalną i objętością jezior. Oznacza to, że cechy morfometryczno-zlewniowe jezior mają wpływ na zawartość azotu ogólnego w wodzie.
- e) Analiza skupień pozwoliła wyodrębnić trzy grupy zbiorników podobnych do siebie pod względem cech morfometryczno-zlewniowych oraz stężeń azotu i fosforu ogólnego. Jedynym jeziorem odróżniającym się od wszystkich pozostałych było jezioro Białe Włodawskie.

6. Literatura

- Chmielewski TJ (2001). Pojezierze Łęczyńsko – Włodawskie: przekształcenia struktury ekologicznej krajobrazu i uwarunkowania zagospodarowania przestrzennego [w:] Monografie. Polska Akademia Nauk. Komitet Ochrony Środowiska. Vol. 4. Lublin.
- Dz. U. 2016 poz. 1187. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych.
- Harasimiuk M, Michalczyk Z, Turczyński M. (1998). Jeziora łęczyńsko-włodawskie. Monografia przyrodnicza. Biblioteka Monitoringu Środowiska. Lublin.
- Kondracki J (2001) Geografia regionalna Polski. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Krukowska R, Krukowski M (2009) Ocena atrakcyjności turystycznej Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego. *Annales UMCS Sec. B* 64(1):77-96.
- Lenard T, Solis M (2009) Trophic diversity of three deep lakes – Piaseczno, Rogóźno and Krasne – in the years 2006-2007 (Łęczna-Włodawa Lake District). *Teka Kom. Ochr. Środ. Przyr. – OL PAN*, 6: 162-169.
- Michalczyk Z, Chmiel S, Głowacki S i in. (2014) Ocena zasobów wodnych w dorzeczu Włodawki. [w:] Dobrowolski R, Mroczek P (red.). *Potencjał przyrodniczy a zrównoważony rozwój powiatów Polesia Lubelskiego*. Lublin: 9-43.
- Michalczyk Z, Mięsiak-Wójcik K, Sposób J i in. (2017) Stan i zmiany stosunków wodnych Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego. *Przegląd geograficzny* 89(1): 9-28.
- Radwan S, Kornijow R (1998) Hydrobiologiczne cechy jezior - stan aktualny i kierunki zmian. [w:] Harasimiuk M, Michalczyk Z, Turczyński M (red.). *Jeziora łęczyńsko-włodawskie*. Monografia przyrodnicza. Biblioteka Monitoringu Środowiska. Wydawnictwo UMCS, Lublin: 129-144.
- Sidoruk M, Potasznik A (2011) Stan trofii jeziora Symsar i możliwości jego poprawy. *Inżynieria Ekologiczna* 26: 221-229.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2010) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2009 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2011) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2010 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.

- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2012) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2011 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2013) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2012 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2014) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2013 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2015) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2014 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2016) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2015 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2017) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2016 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- WIOŚ (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie) (2018) Raport o stanie środowiska w województwie lubelskim w 2017 r. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Lublin.
- Zykubek A (2005). Obciążenie fosforem jezior Polesia Lubelskiego. [w:] Bis B, Bocian J (red.). ECOSTATUS. I Ogólnopol. Konf. Nauk. „Wdrażanie Ramowej Dyrektywy Wodnej. Ocena stanu ekologicznego wód w Polsce”, Łódź, 7–9 grudnia 2005 r. Uniwersytet Łódzki – Główny Inspektorat Ochrony Środowiska – Polskie Towarzystwo Hydrobiologiczne Łódź: 66–67.

13. Wykorzystanie testu Q-Dixona, Grubbsa oraz Hampela do wykrywania obserwacji odstających w pomiarach piezometrycznych uzyskanych dla zapory Czaniec w latach 2010–2017

The application of Q-Dixon, Grubbs and Hampel tests in the detection of outliers in piezometric measurements at the Czaniec dam over the period 2010–2017

Stanisław Lach

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Katedra Kształtowania i Ochrony Środowiska

Stanisław Lach: slach@agh.edu.pl

Słowa kluczowe: błędy grube, zapory ziemne, bezpieczeństwo budowli wodnych

Streszczenie

Budowla piętrząca to budowla przegradzająca dolinę rzeki, przyczyniająca się do sztucznego spiętrzenia wód związanego z powstaniem zbiornika wodnego. Utworzony zbiornik ma za zadanie ustabilizowanie przepływu wody w rzece. Stabilizacja ta polega na magazynowaniu wody w zbiorniku w czasie, kiedy nie jest ona przydatna, a uwalnianiu jej w czasie zapotrzebowania przez odbiorców. Spiętrzona woda służy przede wszystkim do produkcji energii elektrycznej, prowadzenia nawodnień, zaopatrzenia zakładów przemysłowych oraz miast, praktykowania sportów wodnych, rozwijania rybołówstwa, wypoczynku oraz turystyki. Zapory ziemne to konstrukcje, które można wznosić na każdym gruncie pomijając podłoże organiczne zawierające zbyt dużo zbutwiałych części oraz podłoże rozpuszczalne takie jak wapień. Do ich budowy niezbędne są bardzo duże ilości materiału. Główny masyw zapory ziemnej utworzony jest z gruntu zagęszczonego, co bezpośrednio wpływa na stateczność budowli. Przekrój poprzeczny zapory ma kształt trapezu. Jednym z elementów zapory jest korpus, czyli nasyp ziemny wznoszony ponad powierzchnią terenu. Korpus zapory złożony jest z materiału ziemnego, elementów uszczelniających i drenażu ujściowego. Rodzaj gruntu powinien posiadać jak największy kąt tarcia wewnętrznego, co zapewnia większą odporność na obsuwanie się budowli. W celu ograniczenia filtracji wody uszczelnienie części korpusu wykonuje się z gruntu nieprzepuszczalnego (np. iłu, gliny). Drenaż ujściowy wykonuje się w dolnym fragmencie skarpy odpowietrznej z gruntów bardzo dobrze przepuszczalnych, którego zadaniem jest utrzymanie przesiąkającej wody wewnątrz korpusu. Celem pracy było wykorzystanie statystycznych testów Q-Dixona, Grubbsa oraz Hampela do wykrywania obserwacji odstających w pomiarach piezometrycznych uzyskanych dla zapory Czaniec w latach 2010–2017. Dane pomiarowe uzyskane dla zapory Czaniec obejmowały przedział czasowy od 10.06.2010 do 21.12.2017. Pomiary wykonywane były prawie zawsze 2 razy w miesiącu, co w okresie objętym analizą dało 178 wyników pomiarowych dla pojedynczego piezometru.

1. Wstęp

Wraz z czasem eksploatacji wzrasta podatność wodnych budowli piętrzących na uszkodzenia stwarzające zagrożenie dla życia lub zdrowia ludzi, bezpieczeństwa mienia i środowiska. Dotyczy to około 30% polskich budowli piętrzących wodę, pracujących ponad 50 lat. Zapewnienie bezpieczeństwa eksploatacji budowli piętrzących, takich jak zapory, wymaga stałego monitoringu. Monitoring budowli hydrotechnicznej polega na zorganizowanym sposobie obserwacji obiektu i zachodzących na nim procesów, zwykle jest on ciągły lub długoterminowy. Podstawową formą monitoringu zapór ziemnych są m.in. wielokrotne, okresowe pomiary piezometryczne, dzięki którym możliwa jest kontrola filtracji przez budowlę piętrzącą, a tym samym ocena zachowania się konstrukcji. Przed przystąpieniem do analizy danych piezometrycznych należy jednak zidentyfikować i odrzucić obserwacje odstające (błędy grube), które w sposób znaczący mogą wpłynąć na jej wynik oraz spowodować fałszywą ocenę lub interpretację badanego zjawiska (Lach i Opyrchal 2017).

Zapora Czaniec, jak i inne obiekty z nią związane, jest zaopatrzona w urządzenia kontrolno-pomiarowe służące do sprawdzenia zgodności prowadzonych robót budowlanych z dokumentacją projektową. Aparatura jest rozstawiona w sieci, natomiast rodzaj urządzeń, ilość oraz miejsce zamontowania punktów pomiarowych muszą być dobrane w taki sposób, aby istniała możliwość prześledzenia intensywności zjawisk, prawdopodobnych zagrożeń bezpieczeństwa oraz trwałości budowli (Sobczak 1971). W skład sieci kontrolno-pomiarowej wchodzi sieć geodezyjna służąca do pomiarów pionowych przemieszczeń obiektów hydrotechnicznych, a także sieć piezometryczna niezbędna do pomiarów stanu ciśnienia, zarówno w podłożu jazu, jak i w korpusie zapór ziemnych (*Materiały uzyskane od kierownictwa Zapory wodnej Czaniec*). Sieć geodezyjna składa się z 19 reperów kontrolowanych umieszczonych na obiektach betonowych (mury oporowe, jaz, przepławka dla ryb, ujęcie KSW), 20 reperów odniesienia oraz 110 reperów kontrolowanych znajdujących się na korpusie zapór bocznych, a także zapory czołowej, umiejscowionych w formie 21 przekrojów poprzecznych w stosunku do osi zapory. Sieć piezometryczna obejmuje 44 piezometry zlokalizowane w 19 przekrojach, które są prostopadłe w stosunku do osi zapory i 8 zafiltrowanych piezometrów pod fundamentami budowli jazu. Na wstępie zaprojektowano oraz nadzorowano stworzenie systemu aktualnej kontroli warunków filtracji zarówno w korpusie zapór, jak i podłożu w oparciu o sieć piezometryczną. Sieć została rozszerzona o kolejne piezometry zlokalizowane w pobliżu ujęcia infiltracyjnego, czyli studni, usytuowanych na terenie przed zaporą lewobrzezną. W tym samym czasie wykonano sieć geodezyjną w celu kontroli osiadań budowli betonowych oraz nasypów konstrukcji ziemnej. Po zamontowaniu sieci piezometrycznej przystąpiono do badania warunków filtracji szczególnie w obrębie korpusu zapór oraz podłoża. Przeprowadzono geofizyczne pomiary prędkości, a także kierunków filtracji oraz ciągle, wielodobowe obserwacje zachowania piezometrów w przypadku zmiany piętrenia zbiornika. Wykonano badania, których celem było ustalenie zarówno głębokości, jak również zasięgu lejów depresyjnych ujęć infiltracyjnych (Bałus 2007). W piezometrach otwartych dokonuje się pomiaru głębokości zalegania zwierciadła wody w odniesieniu do poziomu, czyli kryzy rury. Kryza jest okresowo kontrolowana ze względu na ewentualne osiadania piezometru. Do pomiaru wykorzystuje się taśmę stalową z sygnalizatorem akustycznym. Dokładność pomiaru zależy od rodzaju głębokościomierza jaki został użyty do pomiaru oraz odległości poziomu lustra wody względem kryzy rury. Wynikiem ostatecznym jest średnia z dwóch wykonanych pomiarów (Sobczak 1971). Sygnalizator akustyczny, jakim jest gwizdek, to metalowy cylinder o długości 18 cm i średnicy 2 cm. Na zewnętrznej stronie gwizdka znajduje się szereg pierścieniowych rowków, zaś w górnym końcu sygnalizatora jest szczelina. W momencie zanurzenia przyrządu w wodzie powietrze, które jest wypychane przez otwór z cylindra drga wydając gwizd. Głębokość odczytuje się z głębokościomierza na wysokości kryzy rury, dodając długość części gwizdka niezanurzonej w wodzie. Dokładność pomiaru wynosi 1 cm (Sobczak 1971).

2. Materiał i metody

Zbiornik Czaniecki jest zbiornikiem wyrównawczym, który usytuowany jest w gminie Porąbka, w powiecie Bielsko-Biała, w województwie śląskim. Zbiornik wodny zlokalizowany jest na 28,8 km rzeki Soły. Jego powierzchnia wynosi 43 ha. Głównym zadaniem zbiornika Czanieckiego jest wyrównanie przepływów dobowych rzeki Soły, a także możliwość poboru wody dla użytkowników poniżej zbiornika. Powierzchnia zlewni wynosi 1095 km². Pojemność zbiornika jest podzielona na pojemność całkowitą, użytkową i martwą. Pojemność użytkowa to pojemność zawarta pomiędzy poziomem piętrenia minimalnym, a poziomem piętrenia normalnym, jeśli chodzi o pojemność martwą określa ona pojemność znajdującą się poniżej poziomu piętrenia minimalnego. Pojemność całkowita do rzędnej 298,06 m n.p.m. wynosi 1,32 mln m³, użytkowa 1,16 mln m³, natomiast pojemność martwa do rzędnej 295,36 m n.p.m. sięga 0,16 mln m³. Przepływ średni wynosi 17,4 m³s⁻¹. W skład zapory wchodzi zaporą czołowa i dwie zapory boczne.

Zapora czołowa przedzielona jest jazem na dwie części, jej przedłużeniem są zapory boczne. Prawa część zapory czołowej ma długość 300 m, natomiast lewa część ze względu na znajdujący się przewał awaryjny składa się z dwóch odcinków o łącznej długości 248 m. Korona zapory ma szerokość 7 m i zlokalizowana jest na rzędnej 299,50 m n.p.m. Nachylenie skarpy odwodnej wynosi 1:2,5, natomiast skarpy odpowietrznej to 1:2. Na odcinku prawym o długości 15 m od przyczółka

budowli piętrzącej szerokość korony została poszerzona z 7 m do 12 m, pozwala to na swobodne manewrowanie pojazdom, które dostarczają elementy wyposażenia do jazu. Zarówno korona zapory, jak i skarpa odpowietrzna narażone są na destrukcyjne działanie czynników atmosferycznych. Z kolei skarpa odwodna oraz niekiedy dolny obszar skarpy odpowietrznej wystawione są na falowanie. Powierzchnie te wymagają odpowiedniego umocnienia (Bałus 2007). Skarpa odwodna jest ubezpieczona ekranem wykonanym z płyt żelbetowych na całej jej długości. Krawędź dolna płyt żelbetowych na skarpie odwodnej jest umocowana w fartuchu wykonanym z gliny i umieszczonym na rzędnej 294 m n.p.m. Zarówno fartuch gliniany, jak i pokrywająca go żwirowa obсыпка grubość 0,5 m. Szerokość fartucha jest stała i wynosi 20 m z wyjątkiem odcinka starorzecza Soły, gdzie szerokość wzrasta do 25 m (Rys.1).



Rys.2. Przekrój poprzeczny zapory czołowej Czaniec (Bałus 2007).

Nad płytami żelbetowymi skarpa odwodna jest pokryta darnią na warstwie organicznej. Koronę zapory zabezpiecza od strony wody dolnej żywopłot, natomiast od wody górnej kamienny murek. Skarpa odpowietrzna jest obsiana trawą na warstwie humusu, natomiast dolny jej pas ubezpieczony jest brukiem o grubości 15 cm, ułożonym na podsypce. Drenaż zapory wykonano w dolnym fragmencie warstwy odpowietrznej w formie przyzmy trapezowej, kamienno-żwirowej. Drenaż jest elementem, który umożliwia ujęcie oraz odprowadzenie wód filtracyjnych i gruntowych ze strefy ochronnej, redukując zawodnienie strefy oraz obciążenie spowodowane parciem wody czy też filtracją. Drenaż zaopatrzony jest w filtr odwrotny, zapobiegający wypłukiwaniu cząstek gruntu przez wyciekającą wodę. Materiał, z jakiego wykonany jest drenaż, cechuje się dużą wytrzymałością oraz mrozoodpornością. Skarpa odwodna ma nachylenie 1:2,5, natomiast skarpa odpowietrzna 1:2. W przewale wykonano groblę, której korona ma szerokość 1 m i znajduje się na rzędnej równej 299,00 m n.p.m. Nachylenie skarpy odwodnej wynosi 1:2,5, a skarpy odpowietrznej 1:1,5. Tak uformowana grobla łatwo ulegnie rozmyciu w razie przekroczenia stanu wody powyżej 299,00 m n.p.m. w zbiorniku. Aby temu zapobiec ławeczkę i skarpe odwodną ubezpieczono brukiem grubości 15 cm. Skarpa odwodna przelewu ubezpieczona jest brukiem, na której ułożony został ekran wykonany z gliny, przykryty żwirem. Tak wykonane warstwy stanowią uszczelnienie całego korpusu przewału. Skarpa odpowietrzna jest wykonana identycznie jak skarpa zapory czołowej, obsiana trawą na warstwie humusu. Korpus przewału posiada stały próg, redukujący poziom rozmycia, wykonany jest ze ścianki stalowej wraz z wieńcem żelbetowym, palisady drewnianej, a także ubezpieczeń kamiennych. Przyczółki przewału stanowią kątowe, żelbetowe ściany oporowe o grubości 0,75 m i wysokości 6,5 m. Ponur przewału na szerokości równej 15 m, w kierunku zbiornika został ubezpieczony za pomocą płyt betonowych. Pozostałe 5 m ponuru to bruk i fartuch gliniany (Bałus 2007).

Dla zapory Czaniec zlokalizowanej w województwie śląskim wykonano analizę pomiarów zmian zwierciadła wody w piezometrach otwartych w obrębie zapory czołowej i zapór bocznych (łącznie 63 piezometry), w piezometrach otwartych przy jazie (8 piezometrów) oraz przy studniach (5 piezometrów) obejmującą przedział czasowy od 10.06.2010 do 21.12.2017 roku. Pomiarów wykonywane były prawie zawsze 2 razy w miesiącu, co w okresie objętym analizą dało 178 wyników pomiarowych dla pojedynczego piezometru. W pracy wykorzystano trzy testy statystyczne służące do identyfikacji oraz odrzucenia obserwacji odstających: dwa warianty testu Q-Dixona (test oznaczony symbolem N9 oraz N13), test Grubbsa oraz test Hampela (Grubbs 1969, Verma i Quiroz-Ruiz 2006, Taylor 2013). Dixon (1950, 1951, 1953) zaproponował sześć różnych wariantów testu statystycznego służącego do wykrywania wyniku obciążonego błędem grubym. Za pracą Barnetta i Lewisa (1994) w literaturze przedmiotu testy te są zwyczajowo oznaczane symbolami N7 oraz N9-N13. W niniejszej pracy skoncentrowano się na dwóch wariantach: testach oznaczonych symbolami

N9 (weryfikacja hipotezy o pojedynczej obserwacji odstającej) oraz N13 (weryfikacja hipotezy o parze największych lub najmniejszych obserwacji odstających).

Test Q-Dixona jest wykorzystywany do sprawdzenia, czy w konkretnym zbiorze danych nie występuje wynik, który jest obarczony błędem grubym. Warunkiem niezbędnym do zastosowania testu jest jego liczebność. W pracy zastosowano dwa warianty testu: dla pojedynczych wartości odstających – test N9 i dla par wartości odstających – test N13. W Tab.1 przedstawiono pary hipotez testowanych w każdym wariancie testu.

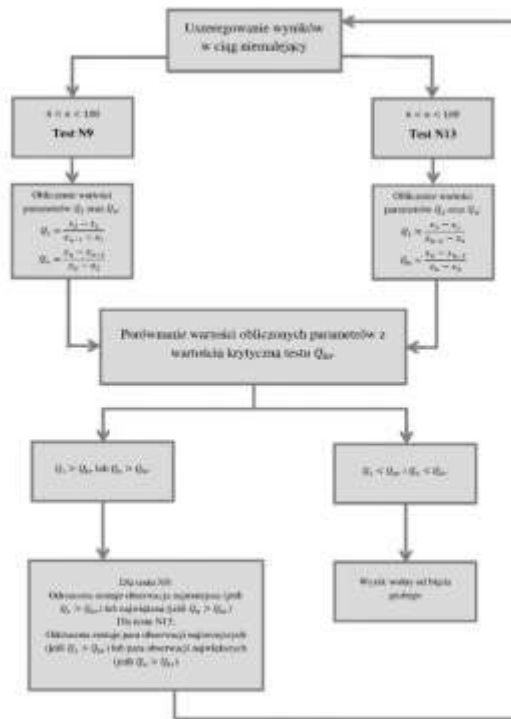
Tab.1. Hipotezy testowane w wariancie N9 oraz N13 dla testu Q-Dixona (Lach 2018).

Test N9	
Testowanie górnej wartości odstającej	Testowanie dolnej wartości odstającej
Hipoteza zerowa (H_0): $x_{(n)}$ nie jest wartością odstającą; Hipoteza alternatywna (H_1): $x_{(n)}$ jest wartością odstającą. Statystyka testowa: $Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_n - x_2}$	Hipoteza zerowa (H_0): $x_{(1)}$ nie jest wartością odstającą; Hipoteza alternatywna (H_1): $x_{(1)}$ jest wartością odstającą. Statystyka testowa: $Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{x_{n-1} - x_1}$
Test N13	
Testowanie pary największych wartości odstających	Testowanie pary najmniejszych wartości odstających
Hipoteza zerowa (H_0): para $(x_{(n)}, x_{(n-1)})$ nie jest parą wartości odstających; Hipoteza alternatywna (H_1): para $(x_{(n)}, x_{(n-1)})$ jest parą wartości odstających. Statystyka testowa: $Q_n = \frac{x_n - x_{n-2}}{x_n - x_3}$	Hipoteza zerowa (H_0): para $(x_{(1)}, x_{(2)})$ nie jest parą wartości odstających; Hipoteza alternatywna (H_1): para $(x_{(1)}, x_{(2)})$ jest parą wartości odstających. Statystyka testowa: $Q_1 = \frac{x_3 - x_1}{x_{n-2} - x_1}$

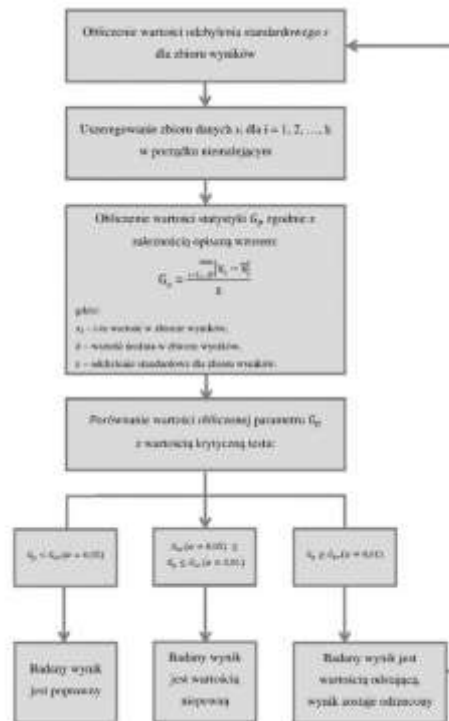
Przed wykonaniem testu Grubbsa zbiór wyników eksperymentalnych (próbkę statystyczną) należy uszeregować w ciąg niemalejący. Błędem grubym może być obarczona największa (x_{max}) lub najmniejsza (x_{min}) wartość wyniku w analizowanej próbce. Test ten jednorazowo, podobnie jak w przypadku testu Q-Dixona, daje możliwość wykrycia tylko jednej wartości odstającej, dlatego należy go powtarzać do momentu, gdy w zbiorze danych nie zaobserwuje się kolejnych wartości odstających od pozostałych wyników (Lach 2018).

Test Hampela jest wykorzystywany w celu wykrycia w analizowanym zbiorze danych wyników znacznie odbiegających od wartości przeciętnych. Dużą i niewątpliwą zaletą testu jest łatwość jego przeprowadzenia, gdyż nie występuje tutaj ograniczenie dotyczące liczebności badanego zbioru oraz nie ma konieczności odczytywania wartości krytycznej statystyki testowej ze specjalnych tablic (Lach 2018). Test ten wykazuje również tendencję do generowania znacznej ilości błędów. Duża liczba wykrytych obserwacji odstających dla statystycznego testu Hampela związana jest z konstrukcją tego testu. W przypadku, gdy w zbiorze danych występuje duża liczba obserwacji o tych samych wartościach podczas obliczenia wartości odchyień r_i od wartości mediany uzyskujemy wynik równy 0. Następnie wartość mediany ze zbioru odchyień również uzyskujemy równą 0, więc w przypadku, gdy wartość bezwzględna odchyień r_i przyjmuje wartość większą od 0 to obserwacja jest traktowana jako odstająca (Lach 2017).

Na Rys.2, Rys.3 oraz Rys.4 w sposób schematyczny zobrazowano algorytmy przeprowadzania wymienionych testów statystycznych, które mają na celu identyfikację oraz odrzucenie obserwacji odstających. Tradycyjne wnioskowanie w teście Grubbsa prowadzi się przy uwzględnieniu tylko jednego poziomu istotności (np. $\alpha=0.05$).



Rys.2. Algorytm postępowania podczas przeprowadzania testu Q-Dixona (Lach 2016).



Rys.3. Algorytm postępowania podczas przeprowadzania testu Grubbsa (Lach 2016).



Rys.4. Algorytm postępowania podczas przeprowadzania testu Hampela (Lach 2016).

3. Wyniki

Uzyskane wyniki zestawiono w Tab.2.

Tab.2. Zestawienie liczby wyników odstających dla statystycznych testów Q-Dixona, Grubbsa i Hampela dla zapory Czaniec w latach 2010-2017.

Oznaczenie piezometru	Liczba wykrytych obserwacji odstających dla statystycznych testów			
	Q-Dixona		Grubbsa	Hampela
	wariant N9	wariant N13		
<i>Piezometry otwarte znajdujące się w obrębie zapory czołowej oraz zapór bocznych</i>				
PO1	-	-	-	-
PO1A	-	-	-	-
PO1B	-	-	-	-
PO2	-	-	-	-
PO3	-	-	-	-
PO3A	2	-	1	-
PO4	-	-	-	-
PO5	-	-	-	-
PO6	-	-	-	-
PO7	-	-	-	-
PO8	-	2	-	-
PO9	-	-	-	-
PO10A	-	-	-	-
PO10B	-	2	-	1
PO11A	-	-	-	-
PO12A	-	-	-	-
PO13B	-	-	-	-
PO14	2	-	1	-
PO15	-	-	-	-
PO16A	-	-	-	-
PO17	2	-	1	-
PO18	-	-	-	-

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

PO19A	-	-	-	-
PO20	-	-	-	-
PO21	-	-	-	-
PO22A	2	-	1	-
PO22B	2	-	1	-
PO23	-	-	-	-
PO24	-	-	-	-
PO25A	-	2	-	-
PO26	-	-	-	-
PO27B	-	-	-	-
PO27C	-	-	-	-
PO28B	-	-	-	-
PO29	-	2	-	1
PO30B	-	-	-	-
PO31A	-	-	-	-
PO33B	-	-	-	-
PO35B	-	-	-	-
PO35E	-	-	-	-
PO35F	-	-	-	-
PO36	-	-	-	-
PO36A	-	2	-	-
PO36B	-	-	-	-
PO38A	-	1	-	1
PO39A	-	-	-	-
PO41A	2	-	1	-
PO42A	-	-	-	-
PO44	-	-	-	-
PO45	-	-	-	-
POB	-	-	-	-
PO51	-	2	1	1
PO52B	-	-	-	-
PO53	-	-	-	1
PO54	-	-	-	-
PO55B	-	-	-	-
PO56	-	-	-	-
PO57	-	-	-	-
PO58	-	2	-	1
PO59	-	-	-	-
PO60	2	-	1	-
PO61	-	-	-	-
PO62	-	-	-	-
<i>Piezometry otwarte znajdujące się w sąsiedztwie jazu</i>				
PO1	2	-	1	-
PO2	2	-	1	-
PO3	2	2	1	1
PO4	2	-	1	-
PO5	-	-	-	-
PO6	-	2	-	1
PO7	2	-	1	-
PO8	2	-	1	-
<i>Studnie</i>				
S1	-	-	-	-
S2	-	-	-	1
S5	-	-	-	-
S6	2	2	1	1
S7	-	-	-	-

4. Dyskusja i wnioski

W wyniku przeprowadzonej analizy danych pomiarowych uzyskanych dla zapory Czaniec z lat 2010-2017 w piezometrach otwartych o numerach: PO25A, PO29, PO36A, PO41A, PO58 i PO60 znajdujących się w obrębie zapory czołowej oraz zapór bocznych wykryto wyniki odstające.

Podobnie jest w przypadku piezometrów otwartych, zlokalizowanych w sąsiedztwie jazu o numerach: PO3 i PO6 oraz studni o numerze: S6. Weryfikacji poddano 71 piezometrów otwartych oraz 5 studni zapory Czaniec z czego we wszystkich studniach i 59 piezometrach (około 84%) linia trendu wykazuje tendencję wzrostową, czyli wzrasta w nich ciśnienie filtracyjne. W związku z tym wymagane jest dalsze monitorowanie ciśnienia wody. W pozostałych 12 piezometrach (16%) linia trendu wykazuje tendencję spadkową, czyli następuje spadek gradientów ciśnień filtracyjnych.

Praca została wykonana w ramach grantu dziekańskiego AGH nr 15.11.150.398.

5. Literatura

- Bałus S (2007) Kaskada rzeki Soły. Zbiorniki Tresna, Porąbka, Czaniec. Monografie budowli hydrotechnicznych w Polsce. Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, Regionalny Zarząd Gospodarki Wodnej w Krakowie, Warszawa.
- Barnett V, Lewis T (1994) *Outliers in Statistical Data*. Wiley, New Jersey.
- Dixon WJ (1950) Analysis of extreme values. *The Annals of Mathematical Statistics* Vol. 21(4): 488–506.
- Dixon WJ (1951) Ratios involving extreme values. *The Annals of Mathematical Statistics* Vol. 22(1): 68–78.
- Dixon WJ (1953) Processing data for outliers. *Biometrics* Vol. 9(11): 74–89. Grubbs FE (1969) Procedures for detecting outlying observations in Samples. *Technometrics* Vol. 11(1): 1–21.
- Lach S (2016). Wykrywanie oraz eliminacja obserwacji odstających w hydrotechnice. Monografie. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: woda i ścieki* / red. nauk. Jacek Leśny, Jędrzej Nyćkowiak, Poznań.
- Lach S, Opyrchal L (2017). Using the modified scalar product approach for testing the direction of seepage through the earth-fill dam in Pieczyńska. *Journal of Water and Land Development*. No. 33 p. 89-98. DOI: 10.1515/jwld-2017-0023.
- Lach S (2017) Wykrywanie oraz eliminacja błędów grubych w pomiarach piezometrycznych dla zapory Koronowo w latach 2010–2015. Monografie. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: nauki techniczne i inżynieryjne, Cz. 5* / red. nauk. Jędrzej Nyćkowiak, Bogdan H. Chojnicki, Poznań.
- Lach S (2018) The application of selected statistical tests in the detection and removal of outliers in water engineering data based on the example of piezometric measurements at the Dobczyce dam over the period 2012-2016. *E3S Web of Conferences*. No 45, 00045. DOI: 10.1051/e3sconf/20184500045.
- Materiały uzyskane od kierownictwa Zapory wodnej Czaniec.
- Sobczak J (1971) *Zapory ziemne*. Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, Kraków.
- Taylor JR (2013) *Wstęp do analizy błędów pomiarowego*. Tłumaczenie Adam Babiński i Rafał Bożek. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Verma SP, Quiroz-Ruiz A (2006) Critical values for six Dixon tests for outliers in normal samples up to sizes 100, and applications in science and engineering. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* Vol. 23(2): 133–161.

14. Analiza dynamiki zmian poziomu wody w piezometrach zamkniętych zapory Solina w latach 2010–2015

Analysis of the dynamics of water level changes in closed piezometers of the Solina Dam in the study period 2010–2015

Stanisław Lach

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Katedra Kształtowania i Ochrony Środowiska

Stanisław Lach: slach@agh.edu.pl

Słowa kluczowe: piezometr zamknięty, zapory betonowe, bezpieczeństwo budowli wodnych

Streszczenie

Budowa zapór oraz istnienie tworzonych przez nie zbiorników wodnych stanowią bardzo ważny element w życiu społeczeństwa. Zbiorniki umożliwiają magazynowanie wody w sytuacji gdy występuje ona w nadmiarze, a następnie jej wykorzystanie w czasie niedoboru. Zapory natomiast umożliwiają zapobieganie skutkom powodzi dzięki temu, iż modyfikują przebieg fali powodziowej oraz w znacznym stopniu pozwalają obniżyć jej szczyt. Budowle hydrotechniczne, ze względu na to, że są obiektami masywnymi, wymagają stosowania ciągłych metod diagnostycznych oraz podlegają stałej obserwacji. Ponieważ monitorowanie i diagnozowanie informuje o stanie technicznym obiektu, procesy te pomagają w sformułowaniu odpowiednich ocen, a w szczególności oceny bezpieczeństwa obiektu hydrotechnicznego. W związku z tym, iż celem zapór jest piętrzenie wody, obiekty te stanowią mogą poważne zagrożenie dla otoczenia. W celu prawidłowej pracy i bezpieczeństwa eksploatacji budowli piętrzących dokonuje się stałego monitoringu, którego celem jest rejestracja i prognozowanie zmian, jakie zachodzą w podłożu i konstrukcji budowli, a także ocena stanu technicznego budowli. Monitoring jest to najczęściej ciągły i długoterminowy, a także zorganizowany sposób obserwacji obiektu lub procesu. Monitorowanie obiektu określa więc systematyczne obserwacje, pomiary i badania służące do oceny stanu technicznego oraz bezpieczeństwa tego obiektu. W oparciu o materiały źródłowe uzyskane z Zespołu Elektrowni Wodnych (ZEW) Solina-Myczkowce S.A w Solinie przedstawiona oraz przeanalizowana została dynamika zmian stanu wód. W przypadku zapory Solina analizie poddane zostały pomiary zmian zwierciadła wody w 42 piezometrach zamkniętych – 18 piezometrów zlokalizowanych przed przesłoną oraz 24 za przesłoną. Zakres pracy obejmował dane uzyskane z okresu sześciu lat (od 2010 do 2015 roku). Dla każdego z 42 piezometrów analizie poddano 2191 punktów pomiarowych pozyskiwanych każdego dnia.

1. Wstęp

Według ustawy *Prawo budowlane* budowla, jest to każdy obiekt budowlany, niebędący budynkiem lub obiektem małej architektury, taki jak: budowle ziemne, hydrotechniczne, zbiorniki, oczyszczalnie ścieków czy też stacje uzdatniania wody (Ambrożewski 2006). Do obiektów budowlanych gospodarki wodnej zaliczane są natomiast budowle hydrotechniczne wraz z instalacjami i urządzeniami technicznymi, służące kształtowaniu wodnych zasobów oraz gospodarce wodnej. Wśród budowli hydrotechnicznych wyróżniane są m.in. zapory ziemne i betonowe (Opyrchal i in. 2017). Wszystkie budowle wodne wznoszone są w celu ochrony przed niszczącą siłą wody lub do wykorzystania wody. Do zestawu budowli stopnia wodnego zaliczane są m.in. budowle piętrzące wodę, czyli takie które umożliwiają stałe lub okresowe utrzymanie wzniesionego zwierciadła wody ponad przyległy teren lub akwen (Dziewański 2003). Oprócz zapewniania bezpieczeństwa przed żywiołem wodnym, zadaniem budowli piętrzących jest także zagwarantowanie dostaw wody na potrzeby komunalne i przemysłowe, polepszenie transportu wodnego oraz dostarczanie wody do nawodnienia. Jedną z czterech tego typu budowli są zapory betonowe (Dziewański 2003).

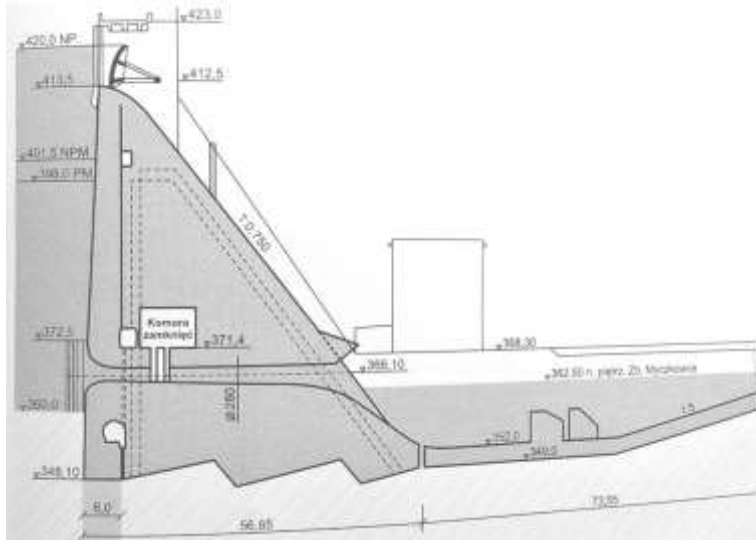
Zapory betonowe należą do budowli o wysokości ponad 15 m. Najwyższą zaporą betonową na świecie jest zbudowana w 2014 roku chińska zapora Jinping-I, której wysokość osiąga 305 m. W Polsce z kolei najwyższa jest zapora Solina na Sanie o wysokości 82 m. Głównym zadaniem tego typu zapór jest tworzenie zbiorników retencyjnych o zmieniających się rzędnych piętrzenia, zależnych od ilości wody zmagazynowanej w pewnym okresie. Zbiorniki te są obiektami czynnej ochrony przeciwpowodziowej oraz podstawą gospodarki wodnej (Depczyński i Szamowski 1999). Na podstawie ustawy *Prawo budowlane* z dnia 7 lipca 1994 r., Minister Środowiska wydał Rozporządzenie z dnia 20 kwietnia 2007 r. w sprawie warunków technicznych, jakim powinny odpowiadać budowle hydrotechniczne i ich usytuowanie. Zgodnie z Rozporządzeniem ustalony został podstawowy podział budowli hydrotechnicznych na budowle stałe i tymczasowe oraz podział budowli stałych na główne i drugorzędne. Budowle główne to te, od których zależy osiągnięcie zamierzonych zadań gospodarczych, takich jak piętrzenie wody, produkcja energii elektrycznej, retencjonowanie wody, transport wodny oraz te budowle, które muszą jednocześnie służyć bezpieczeństwu ludzi, a także dobrom kultury i środowiska. Budowle hydrotechniczne zaliczane są do jednej z czterech klas ważności (klasy I, II, III, IV). Najwyższą z wyróżnionych klas jest klasa I. Klasy głównych budowli hydrotechnicznych ustala się na podstawie określonych wskaźników oraz danych informacji na temat charakteru i funkcji budowli. Wśród około 10 typów zapór betonowych, Międzynarodowa Komisja Wysokich Zapór (CIGB – ICOLD) rozróżnia 5 podstawowych, do których zaliczane są m.in. zapory ciężkie (grawitacyjne). Obiekty te to konstrukcje masywne, równoważące swym ciężarem siły parcia poziomego wody. Poszczególne bloki podstawy, mające kształt prostokątów, oddzielone są dylatacjami. Ściany odwodne bloków są głównie pionowe, czasem lekko nachylone (Depczyński i Szamowski 1999). Można również wyróżnić zapory ciężkie z poszerzonymi szwami, czyli takie, w których „ujęto” trochę ciężaru w okolicach dylatacji. Ten typ jest typem pośrednim między zaporami ciężkimi a półciężkimi. W Polsce poszerzone szwy (2,0 m) ma zapora w Solinie, jednak zaliczana jest do zapór ciężkich (Depczyński i Szamowski 1999). Przy budowie wspomnianej zapory zastosowane zostało strefowanie betonów (I-IV) oraz podział na bloki robocze. By zapora w pełni mogła spełniać wymagania eksploatacyjnym, w poszczególnych strefach, rodzaje betonów posiadają różne cechy. W strefie I wymagany jest beton o dużej wytrzymałości i małej wodoprzepuszczalności. II strefa, z uwagi na fakt, iż obejmuje obszar wahań wody w zbiorniku i koronę zapory, wymaga betonów o dużej wytrzymałości, średniej wodoprzepuszczalności, ale o dużej mrozoodporności. Strefa III, ponieważ narażona jest jedynie na wpływy atmosferyczne, nie potrzebuje dużych wymagań związanych z mrozoodpornością. Strefy IVA i IVB stanowią natomiast statyczną część zapory, stąd wystarczający jest beton o średnich i małych wymaganiach co do stopnia wodoszczelności oraz małej zawartości cementu. Zapora w Solinie betonowana była warstwami grubości 3,0 m (Depczyński i Szamowski 1999).

2. Materiał i metody

Zalew Soliński to zbiornik powstały w samym sercu Bieszczadów. Jezioro Solińskie to sztuczny zbiornik, mający największą pojemność w Polsce, o powierzchni 22 km² oraz głębokości sięgającej nawet 63 m, przy wysokich stanach wody (Fanti 1972). Stworzenie jeziora było możliwe przez zalanie terenów kilku miejscowości. Pod wodą znalazły się: Solina, Teleśnica Sanna, Horodeł, Sokole, Chrewt i duża część Wołkowyji. Przytoczone miejscowości położone są na dnie sztucznego zalewu od kilkunastu do kilkudziesięciu metrów pod wodą, której tafla znajduje się na wysokości około 420 m n.p.m. Zbiornik Soliński znajduje się na terenach administrowanych przez trzy gminy: Solinę, Czarną i Ustrzyki Dolne.

Ze względu na parametry oraz przeznaczenie do celów energetycznych i przeciwpowodziowych, zapora Solina zaliczana jest do I klasy ważności. Zapora ta jest budowlą betonową typu ciężkiego, grawitacyjną z poszerzonymi fugami dylatacyjnymi. Długość zapory wynosi 664,80 m, natomiast maksymalna wysokość to 81,8 m. Szerokość w podstawie wynosi 56,85 m plus płyta wypadowa turbin o długości 73,55 m, co łącznie daje 130,40 m. Zapora podzielona jest na 43 sekcje o długości każdej sekcji równej 15 m. Oś zapory załamana została łukiem w kształcie litery V.

Przekrój statyczny obiektu jest trójkątny o pochyleniu ściany odwodnej 1:0,05. Szerokość zapory na rzędnej 422,4 m n.p.m. wynosi 6,70 m, na tym poziomie znajduje się konstrukcja korony zapory o szerokości 8,80 m, stanowiąca ścieżkę dla turystów zwiedzających ten imponujący obiekt. Przekrój zapory został podzielony na cztery strefy betonu. Znajdują się tam cztery poziome galerie kontrolnych o łącznej długości 2073 m. Dwie z czterech galerii udostępniane są zwiedzającym. Kubatura zapory to 760 000 m³. Omawiana zaporą ma trzy sekcje przelewowe o szerokości 17,52 m, zlokalizowane w dawnym korycie rzeki. Z zaporą związane są także obiekty pomocnicze, w skład których wchodzi: filar działowy, prawy mur oporowy oraz płyta wypadowa przelewów (*Dane uzyskane od Zespołu Elektrowni Wodnych Solina-Myczkowce*). Ogólny przekrój poprzeczny zapory (przelewy i upusty denne) zilustrowany został na Rys.1.



Rys.3. Przekrój poprzeczny zapory Solina (Kozicki 2011).

Zbiornik zaporowy Solina, jako że jest to sztuczny element krajobrazu, ma znaczny wpływ na środowisko, jakie go otacza. W przypadku obszarów górskich powiązanych z funkcjonowaniem zalewów ogromne znaczenie mają problemy natury hydrogeologicznej, do których zaliczyć można (Fiedler i in. 2007):

- straty i boczne ucieczki wody zmagazynowanej w zbiorniku do dolin sąsiednich;
- niekorzystne zmiany reżimu wód podziemnych w pobliżu brzegów zbiornika, które mogą prowadzić do zabagnienia oraz podtopienia sąsiednich terenów;
- zwiększoną filtrację w podłożu i przy przyczółkach zapory.

Charakterystyczną cechą zbiorników zaporowych jest możliwość utrzymania zmiennej wysokości zalegania zwierciadła wody w danych okresach roku. Wahania poziomu piętrzenia wody mogą niekorzystnie wpływać na zmiany zachodzące w środowisku przyrodniczym. Aby uniknąć negatywnych skutków oddziaływania na środowisko wodne, konieczne jest prowadzenie odpowiedniej gospodarki przestrzennej na terenach otaczających zbiornik.

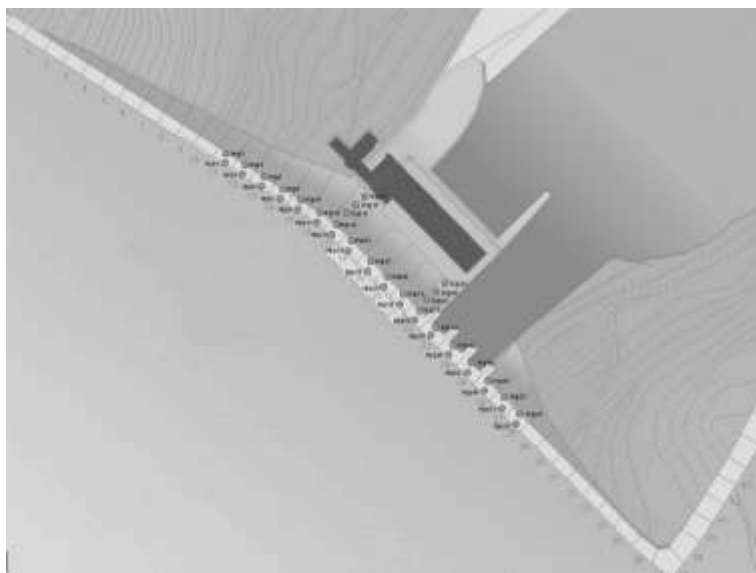
Zbiornik Solina jest wielozadaniowy. Jego głównymi zadaniami są (Fiedler i in. 2007):

- ochrona przeciwpowodziowa, która polega na utrzymaniu stałej rezerwy przeciwpowodziowej. Wartość ta zmienia się w ciągu roku od 0-50 mln m³, a także utrzymywana jest według ustalonego harmonogramu. W letnim sezonie powodziowym rezerwę tworzy się i utrzymuje w całości. Rezerwa maleje w okresie od 1 do 30 września rezerwa, a od 1 października do 20 kwietnia praktycznie nie jest zachowywana. W wiosennych miesiącach na zbiorniku w Solinie występuje niskie piętrzenie wody, co

spowodowane jest opróżnieniem zbiornika w miesiącach zimowych. Stwarza to warunki do przyjęcia nadwyżek wody;

- wykorzystanie do celów energetycznych. Polega to na zabezpieczeniu możliwości pracy elektrowni z przyjętą gwarancją mocy, utrzymaniu właściwego poziomu piętrzenia oraz wykorzystaniu całkowitego dopływu rocznego;
- utworzenie dobrych warunków dla rozwoju rekreacji i wypoczynku w rejonie zbiornika;
- retencjonowanie wody do celów komunalnych zapewnia maksymalne zmagazynowanie wody w zbiorniku przed szczytem energetycznym jesienno-zimowym w celu zaopatrzenia w wodę miast, osiedli i zakładów przemysłowych zlokalizowanych w dorzeczu rzeki San;
- podwyższenie przepływów minimalnych. Duża pojemność retencyjna zbiornika może przyczynić się do zwiększenia przepływów niżowych w rzece poniżej przegrodzenia doliny. Nawet w czasie występowania suchych zim w miesiącach XI-II utrzymuje się wysoki odpływ.

Badania pozwalające na prawidłową ocenę bezpieczeństwa obiektów piętrzących wodę prowadzone są m.in. w oparciu o pomiary stanów wody w piezometrach (Lach i Opyrchał 2017). Istnieją piezometry reagujące na zmiany stanu wody górnej lub wody dolnej. Najbardziej niebezpieczną sytuację stwarza znacząca reakcja na zmiany stanu wody górnej, gdyż stwierdzić można wtedy nieszczelność zabezpieczeń przeciwiłtracyjnych. Na podstawie materiałów źródłowych, otrzymanych od Zespołu Elektrowni Wodnych (ZEW) Solina-Myczkowce S.A. w Solinie, została przedstawiona i przeanalizowana dynamika zmian stanu wody w 42 piezometrach zamkniętych. Dla piezometrów zamkniętych (ciśnieniowych), znajdujących się na zaporze Solina, wartości ciśnień zostały przeliczone na wysokości słupa wody o ciężarze właściwym $\gamma = 9,807 \text{ kN m}^{-3}$. Uzyskane dane obejmują okres 6 lat (od 2010 do 2015 roku). Analizie poddane zostały zmiany zwierciadła wody w 42 piezometrach zamkniętych – 18 piezometrów zlokalizowanych przed przesłoną oraz 24 za przesłoną. Dla każdego piezometru analizie poddano 2191 punktów pomiarowych uzyskiwanych każdego dnia w ciągu tych 6 lat, mniej więcej o stałej porze, najczęściej o godzinie 12:00 lub 13:00. Systematycznymi pomiarami hydrogeologicznymi zostały objęte obszary przyzaporowe. Pomiary piezometryczne stanowiły podstawę do przeanalizowania i opracowania poziomów wód w Zbiorniku Solińskim. Szkic rozmieszczenia piezometrów zamkniętych dla zapory w Solinie ukazano na Rys.2.



Rys.2. Rozmieszczenie piezometrów zamkniętych na zaporze Solina.
(Dane uzyskane od Zespołu Elektrowni Wodnych Solina-Myczkowce)

Ze względu, iż w prawie wszystkich piezometrach zaobserwowano miejscowe spadki oraz skoki stanów wody, dla okresów, w których miały miejsce wspomniane anomalie, wykreślone zostały wykresy. Pozwoliło to, na dokładniejsze spojrzenie na zaistniałe nieprawidłowości, związane najprawdopodobniej z wadliwym działaniem lub zaprzestaniem pracy urządzeń kontrolno-pomiarowych, znajdujących się na zaporze Solina. Dla każdego z 42 piezometrów wykonano również wykres czasowego przebiegu stanu wody w okresie 2010–2015. W celu odrzucenia wartości stanów wody znacznie odbiegających od reszty danych, zaburzających przebieg linii trendu, spowodowanych najprawdopodobniej wadliwym działaniem urządzeń pomiarowych w danym okresie, zastosowana została reguła trzech sigm. Reguła ta powiązana jest z odchyleniem standardowym i rozkładem normalnym. Mówi o tym, że jeśli zmienna ma rozkład normalny lub zbliżony do rozkładu normalnego, to możliwe jest wyznaczenie ilości obserwacji znajdujących się w pewnym zakresie mierzonym odchyleniem standardowym (od średniej). Reguła trzech sigm, podobnie jak inne metody, może być stosowana w celu wykrycia obserwacji odstających (Lach 2016, Lach 2017, Lach 2018c). Jeżeli zmienna posiada rozkład normalny, a w obserwacjach tej zmiennej zauważone zostały punkty o wartościach odchylnych o więcej niż trzy odchylenia standardowe od średniej, prawdopodobne staje się stwierdzenie, że są to nietypowe wartości cech – błędy pomiaru. W dalszym kroku, dzięki wyznaczonej granicy minimalnej oraz granicy maksymalnej, dla każdego piezometru wykonany został wykres czasowego przebiegu stanu wody w okresie 2010–2015, czyli wykresy już po usunięciu obserwacji odstających. Umożliwiło to wykreślenie linii trendu dla każdego z piezometrów oraz wyznaczenie równań dla tych linii (Lach 2018a, Lach 2018b). Równania linii trendu z kolei, dały pogląd na zachowanie się ciśnienia piezometrycznego w każdym z analizowanych piezometrów. Spadki ciśnienia w piezometrach nie stanowią znaczącego zagrożenia dla bezpieczeństwa zapory. Inaczej jest natomiast, w sytuacji, kiedy ciśnienie wzrasta. Z tego właśnie względu te piezometry, przy których odnotowano rosnący przebieg linii trendu, poddane zostały szerszej analizie.

3. Wyniki

Uzyskane wyniki zestawiono w Tab.1.

Tab.1. Przebieg linii ciśnienia w piezometrach zlokalizowanych na zaporze Solina w latach 2010–2015.

Lokalizacja piezometru	Nazwa piezometru	Równanie linii trendu	Spadek/wzrost ciśnienia
Piezometry przed przesłoną	PZ101	$y = -0,0013x + 83,173$	spadek ciśnienia
	PZ103	$y = -0,0009x + 66,83$	spadek ciśnienia
	PZ105	$y = 0,00005x + 6,5271$	wzrost ciśnienia
	PZ107	$y = -0,0001x + 19,76$	spadek ciśnienia
	PZ109	$y = 0,0002x - 0,0364$	wzrost ciśnienia
	PZ111	$y = 0,0006x + 5,957$	wzrost ciśnienia
	PZ113	$y = 0,0012x - 36,87$	wzrost ciśnienia
	PZ118	$y = -0,0008x + 90,856$	spadek ciśnienia
	PZ120	$y = -0,0009x + 91,331$	spadek ciśnienia
	PZ122	$y = 0,0005x + 33,518$	wzrost ciśnienia
	PZ124	$y = -0,0011x + 91,845$	spadek ciśnienia
	PZ126	$y = -0,0003x + 56,274$	spadek ciśnienia
	PZ131	$y = 0,001x + 11,441$	wzrost ciśnienia
	PZ133	$y = -0,0007x + 75,712$	spadek ciśnienia
	PZ135	$y = -0,001x + 91,538$	spadek ciśnienia
	PZ137	$y = -0,0011x + 94,016$	spadek ciśnienia
	PZ139	$y = -0,0014x + 96,524$	spadek ciśnienia
	PZ141	$y = -0,0013x + 87,395$	spadek ciśnienia
	PZ102	brak danych	

Piezometry za przesłoną	PZ104	$y = -0,0003x + 2,1715$	spadek ciśnienia
	PZ106	brak danych	
	PZ108	$y = 0,00009x - 3,536$	wzrost ciśnienia
	PZ110	brak danych	
	PZ112	$y = -0,000,4x + 1,8892$	spadek ciśnienia
	PZ114	$y = -0,0001x + 7,2462$	spadek ciśnienia
	PZ115	$y = -0,0006x + 31,349$	spadek ciśnienia
	PZ116	$y = -0,0004x + 22,334$	spadek ciśnienia
	PZ117	$y = -0,0003x + 20,076$	spadek ciśnienia
	PZ119	$y = -0,0003x + 14,242$	spadek ciśnienia
	PZ121	$y = -0,0002x + 12,838$	spadek ciśnienia
	PZ123	$y = -0,0001x + 7,8678$	spadek ciśnienia
	PZ125	brak danych	
	PZ127	brak danych	
	PZ128	$y = -0,0005x + 28,069$	spadek ciśnienia
	PZ129	$y = -0,0006x + 34,369$	spadek ciśnienia
	PZ130	$y = -0,0003x + 19,652$	spadek ciśnienia
	PZ132	$y = 0,0002x - 7,4046$	wzrost ciśnienia
	PZ134	brak danych	
	PZ136	$y = -0,00007x + 3,1564$	spadek ciśnienia
PZ138	$y = 0,0001x - 4,2571$	wzrost ciśnienia	
PZ140	brak danych		
PZ142	$y = -0,00002x + 0,7711$	spadek ciśnienia	

4. Dyskusja i wnioski

Dla dwunastu z osiemnastu (66,7%) piezometrów zlokalizowanych przed przesłoną linia trendu maleje, natomiast w pozostałych sześciu (33,3%) piezometrach, po tej samej stronie zaporzy, trend jest rosnący. W przypadku piezometrów umieszczonych za przesłoną w czternastu z dwudziestu czterech (58,3%) następuje spadek ciśnienia piezometrycznego, a już tylko w trzech z nich (12,5%) ciśnienie to rośnie. W siedmiu z tych dwudziestu czterech (29,2%) piezometrów nie dysponowano danymi pomiarowymi. Biorąc pod uwagę łączną liczbę piezometrów znajdujących się na danej zaporze, kształtuje się to następująco: dwadzieścia sześć z czterdziestu dwóch (61,9%) daje trend malejący, dziewięć z czterdziestu dwóch (21,4%) ma trend rosnący oraz siedem z czterdziestu dwóch (16,7%), przy których nie odnotowano przebiegu linii trendu.

W przypadku wszystkich trzech piezometrów ciśnieniowych, które mieszczą się za przesłoną, na całym odcinku analizowanego okresu 2010–2015, czyli w przeciągu 6 lat, linia trendu przebiega rosnąco od wartości 0 do około 0,2-0,3 m n.p.m. Ponieważ w piezometrach zamkniętych umieszczonych przed przesłoną, występują odnotowania wyższych stanów wody, niż w przypadku tych wcześniej wspomnianych, dlatego też, w sześciu z nich, wzrastająca linia trendu, w tym samym, danym okresie 6 lat, podniosła się również o większą wartość, a dokładniej o około 1,5 m. Widoczne zależności pomiędzy średnimi stanami zwierciadła w zbiorniku zauważalne zostały w fazach dużego wzrostu lub nagłego spadku poziomu piętrzenia wody w zbiorniku Solińskim. Pomiędzy obserwowanymi trendami ciśnienia piezometrycznego i filtracji występuje więc empiryczna relacja. Najbardziej krytyczną sytuację stanowi wzrost obu tych wartości. Wówczas wtedy konieczna jest bardzo szczegółowa kontrola, a także niezbędne mogą okazać się wszelakie działania modernizacyjne. Również wtedy, gdy wartość ciśnienia piezometrycznego wzrasta, a maleje filtracja mamy do czynienia z sytuacją niekorzystną. Tutaj wymagane może być czyszczenie lub rozbudowa drenów. W sytuacji odwrotnej, tj. spadku ciśnienia piezometrycznego i równoczesnego wzrostu filtracji, występuje ryzyko erozji wewnętrznej. Nieuchronne są wtedy działania kontrolne umożliwiające sprawdzenie występowania drobnych cząstek w przeciekach. W sytuacji gdy ciśnienie oraz filtracja ulegają zmniejszeniu oznacza to poprawę stateczności budowli, dzięki czemu nie trzeba

podejmować żadnych działań. Mówiąc zatem o bezpieczeństwie obiektu hydrotechnicznego, najkorzystniejszą sytuacją jest wahająca się wokół stałej wartości wielkość ciśnienia wody w piezometrach lub poziom wody. Biorąc wobec tego pod uwagę spadki ciśnienia we wszystkich piezometrach zlokalizowanych na zaporze Solina, można powiedzieć, że nie stanowią one zagrożenia dla bezpieczeństwa zapory.

Praca została wykonana w ramach grantu dziekańskiego AGH nr 15.11.150.398.

5. Literatura

- Ambrożewski Z.J (2006). Zbiorniki wodne w Polsce i ich funkcje przeciwpowodziowe. *Gospodarka Wodna*. Wydawnictwo SIGMA-NOT, nr 2, s. 71.
- Depczyński W, Szamowski A (1999). *Budowle i zbiorniki wodne*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa.
- Dziewiański J (2003). Zmodernizowana elektrownia wodna Solina im. Karola Pomianowskiego na Sanie. Wydawnictwo Instytutu Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią PAN.
- Fanti K (1972). *Budowle piętrzące*. Wydawnictwo Arkady, Warszawa.
- Fiedler K. et al. (2007). *Awarie i katastrofy zapór – zagrożenia, ich przyczyny i skutki oraz działania zapobiegawcze*. IMGW, Warszawa.
- Dane uzyskane od Zespołu Elektrowni Wodnych Solina-Myczkowce.
- Kozicki Z (2011). *Zespół Elektrowni Wodnych Solina-Myczkowce*. Zielonczyn.
- Lach S (2016). *Wykrywanie oraz eliminacja obserwacji odstających w hydrotechnice*. Monografie. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: woda i ścieki* / red. nauk. Jacek Leśny, Jędrzej Nyćkowiak, Poznań.
- Lach S, Opyrchał L (2017). Using the modified scalar product approach for testing the direction of seepage through the earth-fill dam in Pieczyska. *Journal of Water and Land Development*. No. 33 p. 89-98. DOI: 10.1515/jwld-2017-0023.
- Lach S (2017) *Wykrywanie oraz eliminacja błędów grubych w pomiarach piezometrycznych dla zapory Koronowo w latach 2010–2015*. Monografie. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: nauki techniczne i inżynieryjne, Cz. 5* / red. nauk. Jędrzej Nyćkowiak, Bogdan H. Chojnicki, Poznań.
- Lach S (2018a). An analysis of the dynamics of changes to water levels in the open piezometers of the Pieczyska dam in the study period between January 2016 and April 2017. *E3S Web of Conferences*, vol. 45, art. no. 00044, s. 1–7. DOI: 10.1051/e3sconf/20184500044.
- Lach S (2018b). Analysis of changes in the trends recorded in piezometers of the Solina Dam in the study period 2010–2015. *Journal of Ecological Engineering*, vol. 19 iss. 1, s. 150–155. DOI: 10.1051/e3sconf/20184500044. DOI: 10.12911/22998993/79406.
- Lach S (2018c) The application of selected statistical tests in the detection and removal of outliers in water engineering data based on the example of piezometric measurements at the Dobczyce dam over the period 2012–2016. *E3S Web of Conferences*, vol. 45, art. no. 00045, s. 1–8. DOI: 10.1051/e3sconf/20184500045.
- Opyrchał L, Lach S, Bąk A (2017). *Wybrane obliczenia w inżynierii wodnej*. Wydawnictwa AGH, Kraków.

15. Interpretacja wyników pomiarów przemieszczeń uzyskanych na zaporze Dobczyce w roku 2015

Interpretation of the results of monitoring of the displacement of the Dobczyce Dam in 2015

Stanisław Lach

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Katedra Kształtowania i Ochrony Środowiska

Stanisław Lach: slach@agh.edu.pl

Słowa kluczowe: przemieszczenia, zapory ziemne, bezpieczeństwo budowli wodnych

Streszczenie

Celem pracy była ocena stanu technicznego i bezpieczeństwa zapory Dobczyce zlokalizowanej w województwie małopolskim wykonana w oparciu o analizę wyników pomiarów przemieszczeń. Ocena dotyczyła okresu 11.2014-11.2015 i obejmowała zapórę ziemną, blok przelewowo-spustowy oraz mur oporowy. Analizę wyników pomiarów przeprowadzono w nawiązaniu do całego okresu eksploatacji (od 1986 roku), uwzględniając w szczególności wyniki: bezwzględnych wartości przemieszczeń pionowych (niwelacja precyzyjna) oraz poziomych (pomiar trygonometryczny), a także przemieszczeń względnych (pomiar szczelinomierzy, pochylomierzy, wahadeł, niwelacji hydrostatycznej). Pomiary geodezyjne oceniono pod kątem poprawności ich wykonania. Zmiany przemieszczeń bezwzględnych i względnych odniesiono do wartości maksymalnych określonych w oparciu o przebiegi dotychczasowych wyników z uwzględnieniem podwójnego błędu wyznaczenia. Podsumowaniem analizy była ocena stanu technicznego obiektu oraz wnioski i zalecenia dotyczące dalszej eksploatacji zapory Dobczyce.

1. Wstęp

Monitoring budowli hydrotechnicznej polega na zorganizowanym sposobie obserwacji obiektu i zachodzących na nim procesów, zwykle ciągły lub długoterminowy (Lach i Opyrczał 2017). Są to zazwyczaj systematyczne obserwacje, pomiary i badania tych obiektów, które służą do oceny ich stanu technicznego i bezpieczeństwa (Lach 2018). O powodzeniu monitoringu możemy mówić wtedy, gdy dostarczy on odpowiedniego typu dane, w odpowiedniej ilości i we właściwym czasie. Dane te muszą mieć akceptowalną dokładność oraz formę, która pozwoli na dalszą interpretację i przetwarzanie. Skuteczność monitoringu silnie związana jest ze skutecznością metrologiczną oraz z trafnością rozmieszczenia czujników w obiekcie. Właściwe ułożenie punktów pomiarowych często zależy od specjalistycznej wiedzy inżynierskiej oraz doświadczenia projektanta, jak również może być wspierana przez symulacje komputerowe pracy obiektu. Prawne aspekty monitoringu budowli hydrotechnicznych zawarte są w ustawach: *Prawo budowlane* (Ustawa z dnia 7 lipca 1994 r. Dz.U. 2006, nr 156, poz. 1118 z późn. zm.) i *Prawo wodne* (Ustawa z dnia 20 lipca 2017 r. Dz.U. 2017 poz. 1566) oraz wydanych na ich podstawie przepisach, w tym techniczno-budowlanych (np. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 20 kwietnia 2007 r. w sprawie warunków technicznych, jakim powinny odpowiadać budowle hydrotechniczne i ich usytuowanie (Dz.U. 2007, nr 86, poz. 579), a także różnego rodzaju wytycznych i instrukcjach branżowych. Jednakże dla każdej zapory nadzór organizacyjny i prawny jest zupełnie inny (Kledyński 2011a, Kledyński 2011b). Dla konkretnej budowli hydrotechnicznej ustala się rodzaj i liczbę urządzeń kontrolno-pomiarowych oraz stopień dokładności pomiarów. Odbywa się to z uwzględnieniem klasy ważności, do której należy obiekt oraz rodzaju konstrukcji i podłoża.

Obowiązujący w Polsce Techniczny System Kontroli Zapór nie jest systemem spójnym. Oznacza to, że jego elementy są rozproszone instytucjonalnie oraz według kryteriów technicznych tj. klasy ważności budowli i własnościowych. W zasięg kontrolnych pomiarów budowli hydrotechnicznych zwykle wchodzi pomiary m.in.: wychyleń, przemieszczeń względnych

w dylatacjach, rozwarcia rys, osiadań i przemieszczeń poziomych, ciśnień porowych w rdzeniach glinowych, pomiary temperatury wody w piezometrach, temperatury powietrza atmosferycznego zewnętrznego i w galeriach, sił i naprężeń w betonie i skałach, odkształceń betonu i skał, wydatku дренаży, intensywności przecieków, ciśnień piezometrycznych pod budowlą, gruntu i wody w zbiorniku i systemie drenażowym, temperatury betonu, nacisków na podłoże i od zasypek, piezometryczne w korpusach nasypów hydrotechnicznych oraz sił i naprężeń w stali zbrojeniowej i sprężającej (Jankowski 2008).

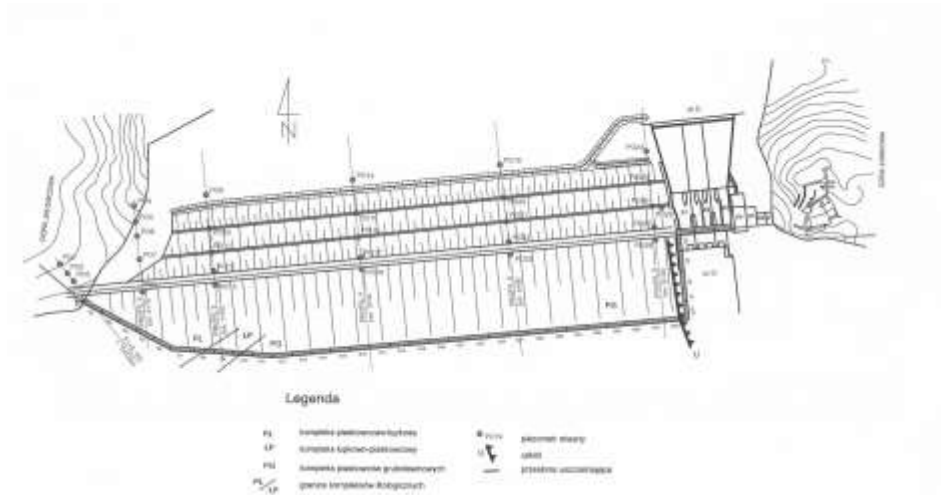
Budowle najwyższych klas ważności (klasa I i II) posiadają najszerszy zakres kontrolowanych wielkości (Kledyński 2006). Pomiary najczęściej są w pełni bądź częściowo zautomatyzowane, poza pomiarami geodezyjnymi, które wykonuje się przy udziale wyspecjalizowanej kadry geodetów. Podczas wykonywania bezwzględnych pomiarów przemieszczeń natrafia się na trudności z zautomatyzowaniem procesu poboru danych. Rozwiązaniem dla tego typu problemów jest wykorzystanie systemu GPS (ang. Global Positioning System), który również niesie ze sobą wiele niedogodności, takich jak: wysoka cena za urządzenia dostatecznie precyzyjne.

Każda budowla piętrząca posiada indywidualnie zaprojektowany Automatyczny System Technicznej Kontroli Zapór (ASTKZ), który jest współcześnie najbardziej zaawansowaną postacią monitoringu. System ten, to połączenie ze sobą wielu czujników, aparatów i przekaźników, odbierających sygnał, przetwarzających na odpowiednią wielkość i analizujących pobrane dane. W systemach ASTKZ najbardziej przydatne do pomiarów przemieszczeń względnych, liniowych okazały się szczelinomierze elektryczne: indukcyjno-transformatorowe (różnicowe) lub strunowe. Ich zakres pomiarowy zawiera się od 0 do 50 mm, a błąd pomiaru jest rzędu 0,5% maksymalnego zakresu. Szczelinomierze transformatorowe zainstalowane są w Porąbce, Dębem, Włocławku, Rożnowie i Porąbce-Żar, a szczelinomierze strunowe w Besku, Dobczycach, Tresnej, Włocławku i Jeziorsku. Stosowanie Automatycznych Systemów Technicznej Kontroli Zapór (ASTKZ) jest faktem, przy czym wielkie potencjalne możliwości tych systemów nie zawsze są w pełni wykorzystywane. Do zalet stosowania Automatycznych Systemów Technicznej Kontroli Zapór (ASTKZ) należy zaliczyć m.in.: możliwość obserwowania wszystkich szybko zmieniających się zjawisk, możliwość dokonywania zdalnych i bardzo szybkich, niemal jednoczesnych pomiarów nawet kilkuset czujnikami rozlokowanymi na całym obiekcie, natychmiastową sygnalizację przekroczeń wartości dopuszczalnych i granicznych, które decydują o bezpieczeństwie obiektu oraz gromadzenie bardzo dużej liczby danych.

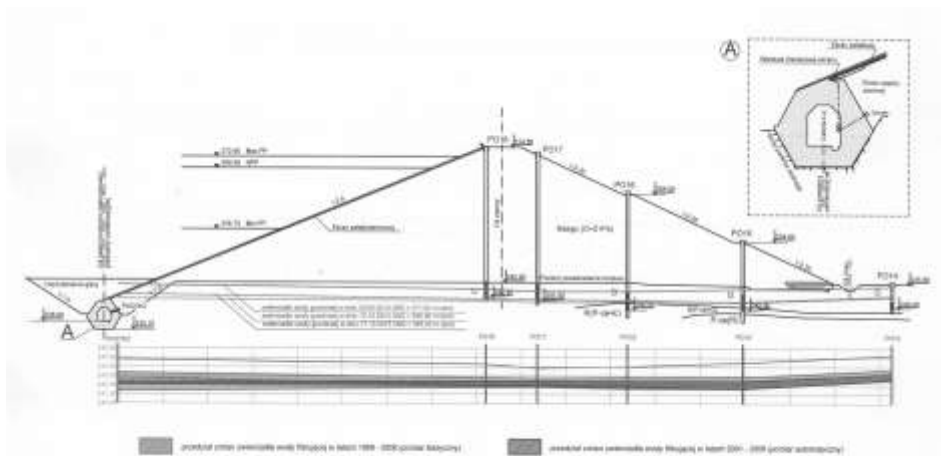
2. Materiał i metody

Zapora Dobczyce jest usytuowana w 60.1 km rzeki Raby, w gminie Dobczyce w województwie małopolskim. Do eksploatacji została oddana w 1986 roku. Na prawym brzegu poniżej zapory jest usytuowana elektrownia oddana do eksploatacji w 1993 roku (Rys.1, Rys.2). Podstawowe funkcje zbiornika to zaopatrzenie w wodę miasta Krakowa, redukcja fali powodziowej oraz retencja dla celów energetycznych, a jego główne parametry to:

• pojemność całkowita (przy Max PP)	141.74 mln m ³
• pojemność użytkowa (NPP – 269.90)	113.70 mln m ³
(NPP – 269.30)	107.87 mln m ³
• pojemność martwa (przy Min PP)	22.56 mln m ³
• rezerwa powodziowa (NPP – 269.90)	28.04 mln m ³
(NPP – 269.30)	33.87 mln m ³
• stany wody: Max PP	272.60 m n.p.m.
NPP	269.90 (269.30) m n.p.m.
Min PP	256.70 m n.p.m.



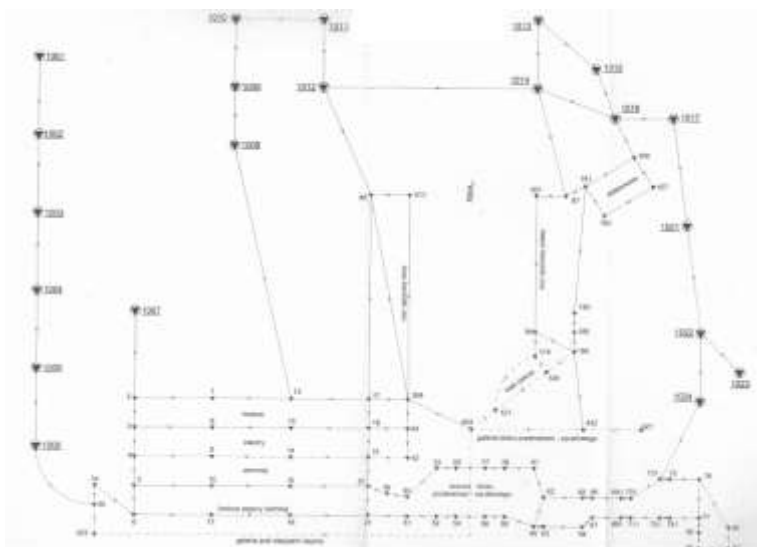
Rys.1. Plan sytuacyjny zapory Dobczyce (Materiały udostępnione przez RZGW w Krakowie).



Rys.2. Przekrój poprzeczny zapory Dobczyce w Hm 3+00 (Materiały udostępnione przez RZGW w Krakowie).

Sieć niwelacyjna (Rys.3) do wyznaczania bezwzględnych przemieszczeń pionowych zapory w Dobzycach składa się z:

- reperów odniesienia 21 szt. (repery ziemne, ścienne i na słupach obserwacyjnych)
- reperów kontrolowanych:
 - 20 reperów na zaporze ziemnej,
 - 2 repery na koronie szybu wejściowego do galerii G-1,
 - 33 repery na koronie bloku przelewowo-spustowego i wieży zamknięć sztolni energetycznej,
 - 65 reperów w galerii kontrolnej pod nasypem zapory,
 - 18 reperów w galerii bloku przelewowo-spustowego,
 - 14 reperów w hali zasuw,
 - 14 reperów w galerii murów oporowych,
 - 38 reperów na murach oporowych stanowiska dolnego,
 - 12 reperów na elektrowni.



Rys.3. Szkic sieci niwelacyjnej zapory w Dobczycach (Materiały udostępnione przez RZGW w Krakowie).

3. Wyniki

Pomiar bezwzględnych przemieszczeń pionowych i poziomych wykonano w dniach 11-16.05.2015 roku, przy średnim poziomie WG = 268.80 m n.p.m., temperaturze powietrza $T_p = 18^\circ\text{C}$, $T_{\text{pgal}} = 8^\circ\text{C}$. Poprzedni pomiar z 05.2014 roku był wykonany przy średnim poziomie WG = 268.73 m n.p.m., $T_p = 20^\circ\text{C}$, $T_{\text{pgal}} = 8^\circ\text{C}$. Analizując rzeczywiste wartości przemieszczeń jako istotne przyjmuje się przemieszczenia większe od podwójnej wartości średniego błędu ich wyznaczenia.

W przypadku przemieszczeń pionowych stan sieci reperów odniesienia oceniono jako zadowalający. Na ogólną liczbę 21 reperów warunek stałości w okresie 06.1993-05.2015 zachowało 7 reperów. Stan sieci reperów kontrolowanych był dobry. Uszkodzony w 2011 roku reper nr 7 u podnóża zapory został wznowiony i włączony do pomiarów. Prace terenowe wykonano poprawnie uzyskując średni błąd niwelacji na jedno stanowisko niwelatora z niezamknięć obwodnic $m_o = \pm 0,07 \text{ mm/st} \leq \pm 0,15 \text{ mm/st}$. Wstępne wyrównania wyników pomiarów: wyjściowego (06.1993) i badanego (05.2015) oraz przeprowadzona na ich podstawie analiza stałości reperów odniesienia wykazała wzajemną stałość reperów: 1002, 1003, 1007, 1017, 1021, 1022 i 1023. W nawiązaniu do nich w wyrównaniu ostatecznym wyznaczono wartości przemieszczeń reperów „ Δ ” i średnie błędy ich wyznaczenia, które wyniosły:

- dla reperów zewnętrznych $m\Delta = \pm(0.4 \div 0.6) \text{ mm}$,
- dla reperów w galeriach $m\Delta = \pm(0.6 \div 0.9) \text{ mm}$.

W przypadku przemieszczeń poziomych nie pogorszył się stan stanowisk obserwacyjnych, oceniany jako zadowalający. Z 12 stanowisk wzajemną stałość w okresie 05.2011-05.2015 zachowało 7. Stan 46 celowników (19 na sekcjach przelewowych i 27 na murach oporowych) nie budził zastrzeżeń. Sieć kątowno-liniową pomierzono precyzyjnie, o czym świadczy średni błąd kierunku średniego $m_k = \pm 2.0''$ i średni błąd długości $m_D = \pm(0.5 \text{ mm} + 0,5 \text{ mm/km})$. Wyznaczenie składowych przemieszczeń d_x i d_y zrealizowano przez wstępne wyrównanie różnic kierunków i długości z pomiarów: wyjściowego (05.2011) i badanego (05.2015) oraz analizę stałości stanowisk obserwacyjnych, która wykazała wzajemną stałość stanowisk 1, 2, 3, 7, 9, 12 i 14. W odniesieniu do nich w wyrównaniu ostatecznym wyznaczono wielkości składowe przemieszczeń d_x i d_y oraz ich średnie błędy, które wynoszą:

- $m_{d_x}, m_{d_y} = \pm(0.7 \div 1.0) \text{ mm}$ (dla konstrukcji bloku przelewowo-spustowego),
- $m_{d_x}, m_{d_y} = \pm(0.6 \div 1.0) \text{ mm}$ (dla korony murów oporowych niecki wypadowej),

- $m_{dx} = \pm(0.7\div 1.0)$ mm, $m_{dy} = \pm(1.3\div 1.4)$ mm (dla punktów kontrolowanych dolnej partii prawego muru oporowego).

Cykliczne obserwacje przemieszczeń względnych są prowadzone raz w miesiącu. Błędy średnie wyznaczenia przemieszczeń dla poszczególnych rodzajów pomiarów kształtowały się następująco:

- dla szczelinomierzy przestrzennych XYZ-S33 (43 szt.) $\pm(0.05\div 0.1)$ mm,
- dla pochyłomierzy PN-11 (10 szt.) ± 0.05 mm/1 m,
- dla wahadeł PZ-A1 (3 szt.) ± 0.1 mm,
- dla niwelacji hydrostatycznej (2 przęsła) $\pm 0.05/23.5$ m.

Galeria kontrolno-pomiarowa pod nasypem zapory

Względne przemieszczenia liniowe

Wzajemne przemieszczenia sąsiadujących ze sobą sekcji galerii z okresu 11.2014-11.2015 potwierdziły wieloletnią stabilizację obserwowanych zmian. W okresach rocznych wzajemne przemieszczenia korespondowały z sezonowymi zmianami temperatury. W dwóch ostatnich latach niższe amplitudy zmian temperatury otoczenia znajdowały wyraźne odbicie w amplitudach zmian wzajemnych przemieszczeń. W początkowej, lewobrzeżnej części galerii (sekcje G1-G5), gdzie wpływ temperatur zewnętrznych jest większy, średnie roczne amplitudy zmian przemieszczeń w kierunku d_y (prawy-lewy przyczółek) kształtowały się na poziomie 1.0-1.5 mm. Dla pozostałego odcinka galerii (G6-G33) amplituda zmian przemieszczeń tylko w kilku przypadkach osiągała w kierunku d_y wartość 0.2-0.3 mm. Większość szczelin na tym odcinku galerii jest trwale zaciśnięta (ruchy w trzech badanych kierunkach nie przekraczają 0.05 mm). Jest to wynikiem ograniczonego wpływu czynnika termicznego w części galerii pozostającej poza bezpośrednim oddziaływaniem temperatur zewnętrznych.

W przebiegu wzajemnych przemieszczeń sekcji galerii nie obserwowano narastania przemieszczeń o charakterze reologicznym. O ile pewne zmiany dało się zauważyć, miały one jednak charakter bardzo powolnych zmian długookresowych. Określone w prognozie przemieszczeń maksymalne zmiany: $d_x = 0.4$ mm, $d_y = 2.0$ mm, $d_z = 0.5$ mm dla sekcji 1-6 oraz $d_x = 0.3$ mm, $d_y = 0.5$ mm, $d_z = 0.2$ mm dla pozostałych sekcji galerii, tj. G7-G32, nie zostały przekroczone.

Bezwzględne wartości przemieszczeń pionowych

Zmiany przemieszczeń w analizowanym okresie 2014-2015 zawierały się w przedziale od -0.6 ± 0.5 mm nie przekraczając podwójnej wartości średniego błędu ich wyznaczenia. Kolejny pomiar potwierdził stabilizację przemieszczeń na poziomie obserwowanym od 1993 roku. Praktycznie od tego pomiaru nie obserwuje się przyrostów przemieszczeń trwałych, niezależnie od występujących różnic warunków geologicznych w podłożu sekcji. Na odnotowywaną w pomiarach stabilizację przemieszczeń sekcji galerii wpływ miało wykonywanie pomiarów w zbliżonych warunkach piętrzenia. Największe różnice piętrzenia, przy których dotychczas wykonywano pomiary nie przekraczały 3-4 m. W przypadku trzech ostatnich pomiarów różnic w piętrzeniu praktycznie nie było (0.1 m), co uzasadnia minimalne zmiany przemieszczeń. O przekroczeniu określonych w prognozie wartości maksymalnych (2.5 mm dla sekcji G1-G4 i 3,5 mm dla pozostałych sekcji) nie ma więc mowy.

Mur oporowy od strony wody górnej

Względne przemieszczenia liniowe

Wzajemne przemieszczenia pomierzone w 2015 roku potwierdziły ustabilizowaną pracę sekcji muru zależną w głównej mierze od sezonowych zmian temperatury. W przebiegu przemieszczeń nie obserwowano reakcji na ekstremalne piętrzenia z 2010 roku oraz niskie poziomy wody z lat 2011-2013 i te odnotowane w 2014 roku.

Zmiany przemieszczeń na szczelinach dylatacyjnych S1/S2 i S2/S3 w kierunku d_y (rozwarcie-zaciskanie szczelin) nie przekraczające 0.20 mm oraz nieistotne ruchy w pozostałych kierunkach pozwalały w dalszym ciągu na kwalifikację tych szczelin jako zaciśniętych. Amplitudy zmian wzajemnych przemieszczeń sekcji S3/S4 i S4/B1 o wielkości 0.20 mm w kierunku d_x , 0.40 mm w kierunku d_y były wyraźnie mniejsze, co niewątpliwie wynika z niższej amplitudy zmian temperatury otoczenia. Maksymalne zmiany przemieszczeń określone na: $d_x = 0.5$ mm, $d_y = 0.8$ mm, $d_z = 0.4$ mm nie zostały przekroczone.

Zmiana nachylenia

Wyniki względnego nachylenia sekcji muru z pomiaru pochylomierzem, potwierdziły obserwowaną od początku eksploatacji stabilizację zmian nachylenia w płaszczyźnie ZOY (woda dolna-woda górna). W kierunku ZOY (prawy-lewy przyczółek) zmiany nachylenia sekcji muru w 2015 roku były kontynuacją dotychczasowych zmian skorelowanych z sezonowymi zmianami temperatury z amplitudą na poziomie 0.2 mm/m. Maksymalne wartości zmian nachylenia ($d_x - 0.3$ mm/m, $d_y - 0.4$ mm/m) nie zostały przekroczone. O trwałym pochyleniu w kierunku prawego przyczółka można było mówić jedynie w przypadku sekcji S3. Tempo narastających zmian reologicznych nie przekraczało 0.03 mm/m/rok.

Bezwzględne wartości przemieszczeń pionowych

Zmiany przemieszczeń w 2015 roku to minimalne ruchy reperów od -0.3 do -0.1 mm. Przebieg osiadań sekcji muru w funkcji czasu wskazywał na wygasanie procesów reologicznych w podłożu. Od 2006 roku przemieszczeń trwałych praktycznie nie odnotowano. Trzeba dodać, że podłoże w rejonie sekcji muru od WG posiada udokumentowany badaniami największy stopień skomplikowania budowy geologicznej (uskok, przewarstwienia mułowca i łupka, liczne spękania i szczeliny). Tłumaczy to występujące nierównomierności w osiadaniu poszczególnych sekcji, a także nagłe ruchy odnotowane w przeszłości na szczelinomierzach.

Blok przelewowo-spustowy

Względne przemieszczenia liniowe

Minimalne ruchy w granicach 0.1 +/- 0.2 mm, obserwowane na szczelinach dylatacyjnych B2/B3 i B3/B4 kwalifikowały je jako zaciśnięte. Zmiany przemieszczeń na pozostałych szczelinach dylatacyjnych (B1/B2, B4/B4 i B5/B6) korelowały w trzech badanych kierunkach z sezonowymi zmianami temperatury, a wielkość rejestrowanych zmian była związana z wielkością zmian temperatury otoczenia. W ostatnich dwóch latach przed pomiarami amplituda zmian wzajemnych przemieszczeń była zauważalnie mniejsza. We wzajemnych przemieszczeniach sekcji bloku nie stwierdzono natomiast wpływu ekstremalnych warunków piętrzenia, choćby tych z 2010 roku.

Trwałą zmianę choćby w dotychczasowym przebiegu wzajemnych przemieszczeń odnotowano pomiędzy sekcjami B1/B2 w 2008 roku. Przemieszczenie skutkujące powiększeniem rozwarcia szczeliny i ruchem w kierunku WD było prawdopodobnie wynikiem zmian w podłożu skalnym. Niewielki rozmiar odnotowanej zmiany nie znalazł potwierdzenia w pomiarze niwelacyjnym, ani też w wyraźny sposób w pomiarze nachylenia.

Względne nachylenie sekcji bloku

Nachylenie sekcji bloku jest wyznaczane z pomiaru niwelacji hydrostatycznej (sekcje B2 i B3) w kierunku prostopadłym do osi zapory oraz z pomiaru wahadeł (sekcje B1 i B4) i klinometrów (sekcje B1-B6) w kierunkach prostopadłym i równoległym do osi zapory. Wymienione metody pomiaru poprzez wzajemne uzupełnienie potwierdziły ruchy sekcji i dały obraz pracy bloku jako całości. Generalnie praca sekcji bloku w okresach jednorocznych była skorelowana z sezonowymi zmianami temperatury. Pomiary z 2015 roku potwierdziły dotychczasowy charakter zmian nachylenia. Nieco większa skala zmian odnotowana w 2010 roku z pomiaru wahadłem i w latach 2010 i 2011 roku z pomiaru niwelacji hydrostatycznej była związana z wysokim piętrzeniem

(wezbranie w 2010 roku) oraz dużą amplitudą zmian termicznych (2011 rok). W kolejnych latach nastąpił powrót do normlanych wartości odpowiadających średnim warunkom.

W kierunku ZOX prostopadłym do osi zapory obserwowano się pochylenie sekcji bloku w kierunku WD towarzyszące wzrostom temperatury i w kierunku WG przy jej spadkach. W kierunku ZOY równoległym do osi zapory odnotowywało się pochylenie sekcji B1 i B4 w kierunku lewego przyczółka (LP) towarzyszące spadkom temperatury oraz w kierunku prawego przyczółka (PP) przy jej wzrostach. Dla pozostałych sekcji zmiany nachylenia w kierunku ZOY nie były tak wyraźne. Występujące w nachyleniu sekcji bloku tendencje trwałe to pochylenie sekcji B1, B2 i B3 w kierunku lewego przyczółka.

Bezwzględne wartości przemieszczeń pionowych

Przemieszczenia pionowe sekcji bloku są wyznaczane na trzech poziomach: w galerii, komorze zasuw oraz na koronie. Przemieszczenia pomierzone w 2015 roku, mieszczące się w podwójnych wartościach średnich błędów wyznaczania, wynosiły odpowiednio:

- ✓ od -0.5 ± 0.5 mm galeria,
- ✓ od -0.1 ± 0.2 mm komora zasuw,
- ✓ od $+0.4 \pm 1.3$ mm korona bloku.

Powyższe wielkości odnotowane w analizowanym okresie pozostawały bez wpływu na dotychczasowy charakter przemieszczeń.

Z nierównomiernego osiadania sekcji przelewowych wynikało ich trwałe pochylenie w kierunku lewego przyczółka, co znajduje potwierdzenie w pomiarze przemieszczeń poziomych i w pomiarze nachylenia. Sumaryczne osiadania sekcji bloku na poziomie galerii osiągają maksymalnie -4.00 mm, z wyjątkiem osiadań sekcji B1 od strony korpusu zapory ziemnej, które są dwa razy większe (-8.00 mm). Wychylenie sekcji przelewowych w kierunku lewego przyczółka potwierdziło wyniki pomiarów przemieszczeń na poziomie komory zasuw.

Na poziomie korony bloku największe osiadania, również dochodzące do -8.00 mm, dotyczyły sekcji B1 od strony korpusu zapory ziemnej. Osiedlenia całkowite reperów rozmieszczonych na koronie pozostałych sekcji przelewowych były coraz mniejsze. Przemieszczenia reperów z korony sekcji B4 i B5 oscylowały wokół pomiaru zerowego, natomiast repery na koronie sekcji B6 charakteryzowała tendencja do wypiętrzania w granicach od 0.25 - 0.40 mm/rok.

Bezwzględne wartości przemieszczeń poziomych

W przemieszczeniach cząstkowych z 2015 roku odnotowywało się niewielką przewagę ruchów punktów kontrolowanych sekcji bloku w kierunku WG (d_x) i lewego przyczółka (d_y). W perspektywie wielolecia dominujący pozostaje kierunek przemieszczeń w stronę lewego przyczółka, potwierdzający związek pomiędzy przemieszczeniami poziomymi sekcji przelewowych, a ich osiadaniem. Przemieszczenia w kierunku lewego przyczółka były również dominujące dla pozostałych sekcji bloku.

W kierunku prostopadłym do osi zapory (d_x) w wieloleciu (1987-2015) zaczynały dominować przemieszczenia sekcji przelewowych w kierunku WD. Sekcje B4 i B5 po przemieszczeniu w kierunku WG, któremu uległy w początkowym okresie eksploatacji, podlegały cyklicznym ruchom termicznym. W obrazie przemieszczeń sekcji B6 można zauważyć wpływ oddziaływania masywu skalnego prawego przyczółka. Zmiany przemieszczeń w analizowanym okresie zawierały się w granicach: $d_x = -1.6 \pm 0.5$ mm, $d_y = -2.4 \pm 0.1$ mm i nie przekraczały wartości maksymalnych ($d_x = 5.0$ mm, $d_y = 5.5$ mm).

4. Dyskusja i wnioski

- a) Sieć pomiarowo-kontrolna do wyznaczania przemieszczeń zapory Dobczyce jest w dobrym stanie technicznym i zapewnia pomiar bezwzględnych przemieszczeń pionowych oraz poziomych.

- b) W przypadku względnych przemieszczeń liniowych w okresach rocznych wzajemne przemieszczenia korespondowały z sezonowymi zmianami temperatury.
- c) Dla bezwzględnych wartości przemieszczeń pionowych zmiany przemieszczeń w badanym okresie 2014-2015 zawierały się w przedziale od -0.6 ± 0.5 mm i nie przekraczały podwójnej wartości średniego błędu ich wyznaczenia.
- d) Obserwacje piezometrów zasypki w 2015 roku potwierdziły utrzymywanie się stałego zróżnicowania rozkładu ciśnień za przesłoną, co wskazuje na jej niejednorodną szczelność, jednak w czasie szczelność nie ulega pogorszeniu, co można oceniać pozytywnie.
- e) Wzajemne przemieszczenia liniowe muru oporowego pomierzone w 2015 roku wskazują na ustabilizowaną pracę sekcji muru zależną w głównej mierze od sezonowych zmian temperatury. W przebiegu przemieszczeń nie obserwowano reakcji na ekstremalne piętrzenia z 2010 roku oraz niskie poziomy wody z lat 2011-2013 oraz te odnotowane w 2014 roku.
- f) Wyniki względnego nachylenia sekcji muru oporowego z pomiaru pochylomierzem wskazują na obserwowaną od początku eksploatacji obiektu stabilizację zmian nachylenia w płaszczyźnie ZOY (woda dolna-woda górna). W kierunku ZOY (prawy-lewy przyczółek) zmiany nachylenia sekcji muru w 2015 roku były kontynuacją dotychczasowych zmian skorelowanych z sezonowymi zmianami temperatury.
- g) Przebieg osiadań sekcji muru oporowego w funkcji czasu wskazuje na wygasanie procesów reologicznych w podłożu. Od roku 2006 przemieszczeń trwałych praktycznie nie odnotowano.

5. Literatura

- Jankowski W (2008) Ogólne wytyczne kontroli bezpieczeństwa budowli piętrzących wodę. Wydawnictwo IMGW, Warszawa.
- Kledyński Z (2006) Remonty budowli wodnych. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa.
- Kledyński Z (2011a) Monitoring i diagnostyka budowli hydrotechnicznych. cz. 1. Nowoczesne Budownictwo Inżynieryjne, nr a: 54–61.
- Kledyński Z (2011b) Monitoring i diagnostyka budowli hydrotechnicznych. cz. 2. Nowoczesne Budownictwo Inżynieryjne, nr 2: 36–38.
- Lach S, Opyrczał L (2017). Using the modified scalar product approach for testing the direction of seepage through the earth-fill dam in Pieczyska. Journal of Water and Land Development. No. 33 p. 89–98. DOI: 10.1515/jwld-2017-0023.
- Lach S (2018) Interpretation of the results of monitoring of the displacement of the Tresna dam in 2016. MATEC Web of Conferences, vol. 174 art. no. 01011, p. 1–11. DOI: 10.1051/mateconf/201817401011.
- Materiały udostępnione przez RZGW w Krakowie.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 20 kwietnia 2007 r. w sprawie warunków technicznych, jakim powinny odpowiadać budowle hydrotechniczne i ich usytuowanie (Dz.U. 2007 nr 86 poz. 579).
- Ustawa Prawo budowlane z dnia 7 lipca 1994 r. (Dz.U. 1994 nr 89 poz. 414 z późn. zm.).
- Ustawa Prawo wodne z dnia z dnia 20 lipca 2017 r. (Dz.U. 2017 poz. 1566).

16. Interpretacja wyników pomiarów przemieszczeń uzyskanych na zaporze Niedzica w roku 2016

Interpretation of the results of monitoring of the displacement of the Niedzica Dam in 2016

Stanisław Lach

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Katedra Kształtowania i Ochrony Środowiska

Stanisław Lach: slach@agh.edu.pl

Słowa kluczowe: przemieszczenia, zapory ziemne, bezpieczeństwo budowli wodnych

Streszczenie

Celem pracy była analiza wykonanych pomiarów przemieszczeń zaobserwowanych w obiekcie wodnym, jakim jest zapora w Niedzicy. Budowla ta została wzniesiona na rzece Dunajec i wskutek spiętrzenia powstał zespół dwóch zbiorników wodnych: Czorsztyń-Niedzica i Sromowce Wyżne. Zakres badań obejmował główne sekcje obiektu: galerię wejściową, blok elektrowni, portale oraz mury oporowe. Dane w postaci pomierzonych wartości przemieszczeń pochodzą z okresu przed rozpoczęciem działalności obiektu w 1997 roku aż do listopada 2016 roku. Podsumowaniem analizy była ocena stanu technicznego obiektu oraz wnioski i zalecenia dotyczące dalszej eksploatacji zapory Niedzica.

1. Wstęp

Budowle piętrzące z pewnością należą do jednych z największych i możliwe, że najstarszych obiektów budowlanych znanych ludziom. Najstarsza znana zapora zbudowana została w pobliżu miasta Jawa w Jordanii około 3 tys. lat p.n.e. W obecnych czasach najwyższe zapory sięgają nawet 300 m wysokości. Jako pierwszą należy wymienić Zaporę Nur na rzece Wachs w Tadżykistanie o wysokości 304 m. Konstrukcje takich obiektów pozwalają na piętrzenie nawet kilku miliardów m³ wody, które napierają na cały kompleks budowlany poczynając od korpusu, a kończąc na zboczach doliny rzecznej (Kwinta 2017). Budowla, jaką stanowi zapora wraz z urządzeniami w niej zamontowanymi, jest poddawana szeregowi oddziaływań statycznych i dynamicznych, które będą powodować odkształcenia i przesunięcia. Istotne jest więc, aby ustalić parametry, przy których eksploatacja obiektu będzie prawidłowa. Analiza deformacji budowli pozwala na ekonomiczną i bezpieczną eksploatację środowiska, do którego wprowadzamy nowy obiekt, jakim jest zapora (Brys 1996).

Wszystkie budowle służące do magazynowania, piętrzenia czy transportu wód są narażone na uszkodzenia oraz katastrofy. Jedną z bezpośrednich przyczyn awarii budowli hydrotechnicznych może być zjawisko filtracji, jak również niewłaściwa praca urządzeń drenażowych, czy też wymywanie materiału gruntowego z zapór lub ich podłoża (sufozja) (Lach 2016). Ponadto zapora ziemna podlega działaniu obciążeń, które powodują powstanie naprężeń i odkształceń, które również mogą prowadzić do katastrofy budowlanej obiektu. Jak proponuje Kledyński (2012) katastrofa budowlana to „utrata stateczności obiektu budowlanego, jej części lub podłoża, uniemożliwiająca jego normalne funkcjonowanie bez podjęcia odbudowy, związana z zagrożeniem bezpieczeństwa ludzi, mienia lub środowiska”. Ze wszystkich zapór wybudowanych przed 1950 rokiem zniszczeniu uległo 2,2% z nich, natomiast spośród zapór wzniesionych po 1950 roku – mniej niż 0,5%. Statystyki pokazują, że około 70% katastrof zapór następuje w okresie pierwszych 10 lat ich eksploatacji (Rak 2007).

Wieloletnie doświadczenia w zakresie projektowania oraz udoskonalanie technologii materiałów budowlanych, jak i samej sztuki budowania oraz nowoczesne technologie zapewniają bezpieczną i bezawaryjną eksploatację zbiornika wodnego (Fiedler 2007). Zapora sama w sobie jest obiektem bardzo wrażliwym na deformacje ze względu na mnogość procesów meteorologicznych,

hydrotechnicznych, geotechnicznych oraz eksploatacyjnych. W celu zapobiegania występowania negatywnych oddziaływań obserwuje się pracę takiego obiektu i prowadzi się je przy pomocy zaawansowanych geodezyjnych i fizycznych technik pomiarowych z wykorzystaniem instrumentów geodezyjnych i nowoczesnej aparatury kontrolno-pomiarowej. Ciągłe przetwarzanie uzyskanych danych pozwala tworzyć prognozy zachowania się zapory, a w przypadku odstępstwa od zaobserwowanych norm pozwala na uruchomienie procedur ostrzegawczych i zapobiegawczych (*Nadzór nad stanem technicznym i stanem bezpieczeństwa wodnych budowli...2007*).

Zasady, na jakich opiera się monitorowanie budowli hydrotechnicznych zawarte zostały w następujących dokumentach: *Prawo budowlane* (Ustawa z dnia 7 lipca 1994 r. Dz.U. 2006, nr 156, poz. 1118 z późn. zm.) i *Prawo wodne* (Ustawa z dnia 20 lipca 2017 r. Dz.U. 2017 poz. 1566) oraz przepisach, w tym techniczno-budowlanych (np. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 20 kwietnia 2007 r. w sprawie warunków technicznych, jakim powinny odpowiadać budowle hydrotechniczne i ich usytuowanie (Dz.U. 2007, nr 86, poz. 579), a także różnego rodzaju wytycznych i instrukcjach branżowych. Dla każdego obiektu hydrotechnicznego nadzór organizacyjny i prawny dobierany jest indywidualnie na podstawie ww. dokumentów (Kledyński 2011a, Kledyński 2011b).

Główny Urząd Nadzoru Budowlanego (GUNB) szacuje, iż w Polsce użytkowanych jest około 100 tys. obiektów budownictwa wodnego, które piętrzą wodę (łącznie z melioracjami szczegółowymi). Zalicza się do nich przede wszystkim: zapory ziemne oraz betonowe (z czego 99 budowli to obiekty tworzące zbiorniki wodne o pojemności przekraczającej 2 hm³), jazy, śluzy żeglugowe, przelewy, elektrownie wodne oraz wrota przeciwpowodziowe (Fiedler i in. 2003). Zapewnienie bezpieczeństwa eksploatacji budowli piętrzących, takich jak zapory, wymaga stałego monitoringu (Lach i Opyrczał 2017). Podstawową formą monitoringu zapór ziemnych są m.in. wielokrotne, okresowe pomiary piezometryczne, dzięki którym możliwa jest kontrola filtracji przez budowlę piętrzącą, a tym samym ocena zachowania się konstrukcji (Lach 2018a). Wszechstronna ocena wyników pomiarów i badań pozwala prawidłowo scharakteryzować przyczyny i skutki zachowania się obiektów, co pozwala na optymalizację systemów bezpieczeństwa i eksploatacji. Aby było to możliwe konieczna jest współpraca specjalistów z różnych dziedzin nie tylko w fazie projektowania i budowy, ale również w okresie wieloletniej eksploatacji (Bryś 1996).

Przemieszczenia to jeden z rodzajów geometrycznych zmian obiektu. Przemieszczenie obiektu to zmiana jego położenia w przestrzeni bez zmiany jego wymiarów i kształtu. W interpretacji geometrycznej to translacje i obroty. Zmiany oblicza się na podstawie zmian wyników pomiarów w stosunku do wyników wcześniejszych, które odbywały się w tym samym punkcie pomiarowym i o wyższej, lub przynajmniej zbliżonej dokładności. W czasie eksploatacji obiektów piętrzących wodę występują przemieszczenia oraz trwałe i przejściowe deformacje, nie tylko samej budowli, ale także przestrzeni posadowienia, skarp i zboczy, dna czaszy zbiornika oraz terenów znajdujących się poblizu zbiornika. Przemieszczenia przestrzenne oraz deformacje występują w formie: osiadania, wypiętrzania, przemieszczeń poziomych, wychyleń, pochyleń, ugięć, drgań oraz odkształceń własnych. Przemieszczenia oraz deformacje fragmentów obiektu są skutkiem oddziaływania na niego różnych sił, np. ciężarem własnym i użytkowym, warunkami atmosferycznymi oraz uwarunkowaniami środowiska, w którym znajduje się budowla wodna. Główne czynniki warunkujące odkształcenia obiektu piętrzącego to: konsolidacja korpusu zapory pod wpływem ciężaru własnego i obciążeń, osiadanie przestrzeni posadowienia, wysokość piętrzenia wody w zbiorniku, zmienność wartości ciśnień piezometrycznych w poszczególnych poziomach wodonośnych wywołaną wahaniami poziomu wód gruntowych, wypiętrzanie gruntu spowodowane jego pęcznieniem, przecieki oraz procesy filtracyjne przed i pod zaporą oraz przez przyczółki, technogene wpływy górotworu na terenach eksploatacji górniczej, współczesne ruchy skorupy ziemskiej na terenach głównych stref uskokowych, obciążenia typu sejsmicznego pochodzenia tektonicznego oraz wymuszone drgania dynamiczne wywołane falowaniem wiatrowym tafli wody, dobowe oraz sezonowe wahanie skorupy ziemskiej wywołane czynnikami geotermicznymi, strukturę geomorfologiczną i geologiczną podłoża zapory oraz wpływy klimatyczne i warunki meteorologiczne (Bryś 1996).

Prowadzenie okresowych i zsynchronizowanych pomiarów eksploatacyjnych jest wymagane w celu niezawodnej eksploatacji oraz stanu bezpieczeństwa (Lach 2018b). Pomiary te zwane są Geodezyjnymi Pomiarami Odkształceń i Przemieszczeń, w skrócie GOP. Przeprowadzanie tego typu pomiarów ma już ponad 100-letnią tradycję i zostały w dużej mierze udoskonalone przez takie kraje jak: Szwajcaria, Austria, Niemcy, USA i Polska. Wiele metod pomiarowych, technologii oraz aparatury zostało usprawnionych dzięki wieloletnim doświadczeniom wyżej wymienionych krajów. GOP są kluczowym elementem zapewniającym bezpieczeństwo podczas prowadzenia prac budowlanych przy obiektach eksperymentalnych, ochronie zabytków i pomników architektonicznych, a także podczas oceny stabilności podłoża budowlanego na terenach eksploatacji górniczej, osuwiskach i miejscach gdzie występują ruchy tektoniczne (Bryś 1996). Systematyczne prowadzenie GOP pozwala na określenie rzeczywistego zachowania się budowli oraz zmienności jej geometrii w czasie. Aby uzyskać najbardziej wiarygodne wyniki pomiarów, należy je prowadzić w ściśle określonych porach dniach i roku oraz zgodnie z opracowanym stałym harmonogramem. Efektem jaki chcemy uzyskać poprzez GOP jest wyznaczenie zmian położenia obiektu w czasie i przestrzeni względem stanu początkowego. Odkształcenie elementu konstrukcji lub obiektu budowlanego to nic innego jak zmiana jego kształtu lub wymiarów, związanych ze zmianami wzajemnych odległości punktów tego obiektu w funkcji czasu. Wyznaczanie przemieszczeń odbywa się na zasadzie porównawczej dwóch stanów danego obiektu: stanu zerowego w czasie t_0 oraz stanu aktualnego t_i . Wartość przemieszczenia w przedziale $\Delta t = t_i - t_0$ wynika z różnicy tych stanów. Podczas pomiarów przemieszczeń wyznaczone są trzy składowe od stanu P do stanu P' w określonym przedziale czasowym w jednolitym układzie współrzędnych (Bryś 1996):

$$\begin{aligned}X_{0-i} &= X_i - X_0 \\ \Delta Y_{0-i} &= Y_i - Y_0 \\ \Delta H_{0-i} &= H_i - H_0\end{aligned}$$

Pomiary mogą dotyczyć całego obiektu lub tylko jego fragmentu, jednak przemieszczenia pomierzone będą dotyczyć tylko punktów, gdyż one stanowią przedmiot analizy. W interpretacji zarówno analitycznej jak i graficznej, przemieszczenie zawsze będzie odnosić się do punktu i będzie wektorem o określonym zwrocie, kierunku i długości. Analiza uzyskanych wyników GOP umożliwi ocenę stanu bezpieczeństwa budowli oraz pozwala na przygotowanie prac prewencyjnych. Stwierdzenie najmniejszej nieregularności w przemieszczeniach na poszczególnych punktach pomiarowych może stanowić podstawę do zwiększenia częstotliwości GOP i wykonania szczegółowych ekspertyz, aby stwierdzić przyczyny odstępstw (Bryś 1996).

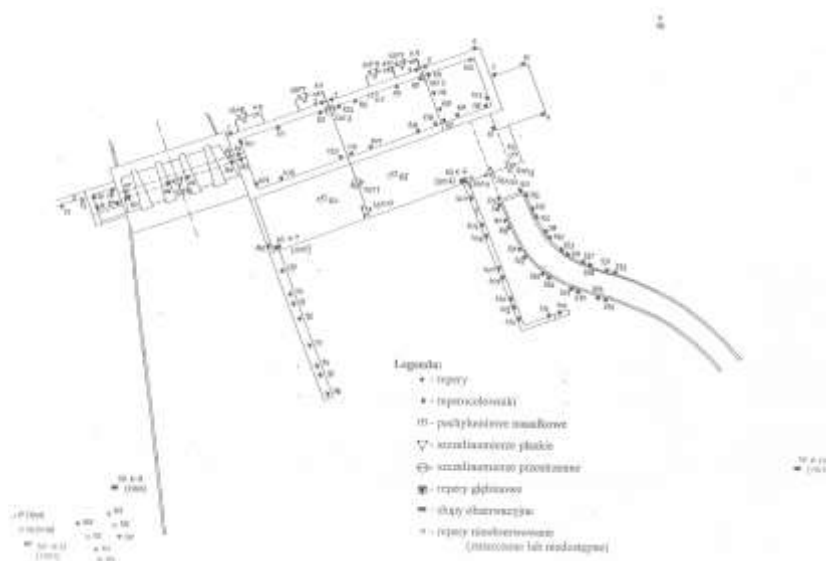
2. Materiał i metody

Zespół zbiorników wodnych Czorsztyn-Niedzica i Sromowce Wyżne położony jest we wschodniej strefie Kotliny Nowotarskiej. Zamyka zlewnię Górnego Dunajca o powierzchni prawie 1300 km². Składa się on z dwóch zbiorników powstałych na skutek przedzielania doliny przez dwie zapory: pierwszą główną Czorsztyn-Niedzica, znajduje się ona 300 m od zamku Niedzickiego oraz drugą piętrzącą wody w zbiorniku wyrównawczym, która została wybudowana pomiędzy zaporą główną, a miejscowością Sromowce Wyżne (Dziewański 1998). Pierwsze wzmianki o budowie zbiornika w okolicach Niedzicy pojawiły się w 1905 roku, w latach 20 XX wieku powstały plany budowy zbiorników wodnych na najgroźniejszych dopływach Wisły, m.in. Dunajcu. W 1994 roku oddano do użytku zbiornik wyrównawczy Sromowce Wyżne, a rok później rozpoczęto proces piętrzenia zbiornika głównego i jednoczesne wykonywanie górnej części korpusu zapory. W 1997 roku zakończono budowę wszystkich obiektów ujętych w projekcie inwestycji i oddano je do eksploatacji. Podstawowe parametry zapory przedstawiono w Tab.1.

Tab.1. Zestawienie podstawowych danych dotyczących obiektu (*Serwis internetowy Zespołu Elektrowni Wodnych Niedzica*).

Długość		404 m
Wysokość (od chodnika galerii)		56 m
Szerokość (w koronie)		7 m
Wydajność przelewu stokowego		975 m ³ s ⁻¹
Nachylenie skarpy odwodnej do poziomu 20 m		1:3.5
Nachylenie skarpy odwodnej powyżej poziomu 20 m		1:2.25
Nachylenie skarpy odpowietrznej		Zmienne: od 1:2.5 do 1:1.85
Ubezpieczenie skarpy odwodnej		Płyty betonowe o grubości 0.3 m
Ubezpieczenie skarpy odpowietrznej		Zazielenienie z instalacją zraszającą
Drenaż zapory		Rurowy Ø100 cm ze studniami kontrolnymi
Galeria kontrolno-zastrzykowa – długość		256.2 m
Galeria kontrolno-zastrzykowa – średnica chodnika		3 m
Przesłona uszczelniająca	rozstaw rzędów przesłony	1.5 m
	rozstaw otworów w rzędzie	2.0 m
	maksymalna głębokość przesłony	50 m
	długość przesłony	500 m

Szkic rozmieszczenia punktów pomiarowych na Zaporze w Niedzicy ukazano na Rys. 1.

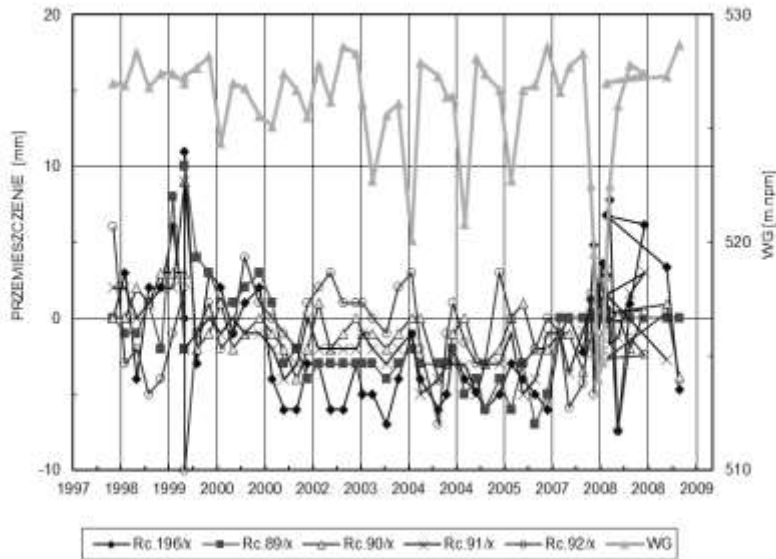


Rys.1. Szkic rozmieszczenia punktów pomiarowych na Zaporze w Niedzicy (Materiały udostępnione przez RZGW w Krakowie).

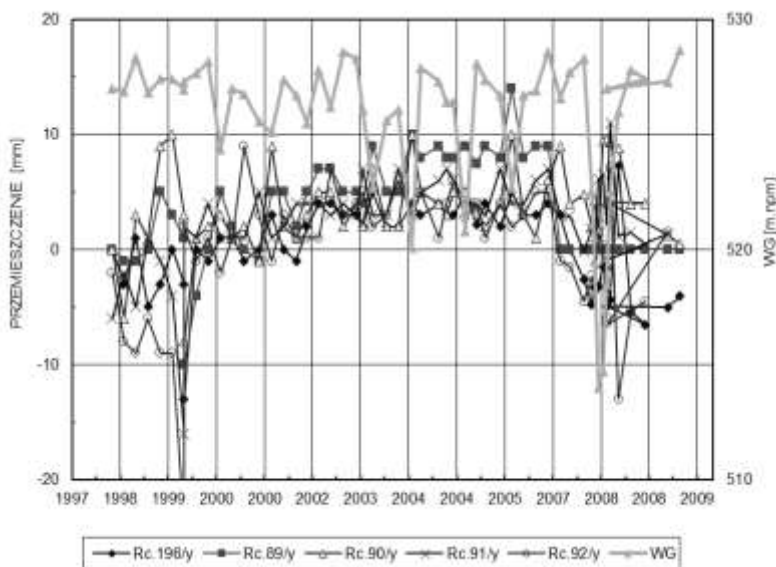
3. Wyniki

Mury oporowe od wody dolnej

Przykładowe przemieszczenia sytuacyjne reperocelowników na murach oporowych elektrowni ukazano na Rys.2 oraz Rys.3.



Rys.2. Przemieszczenia sytuacyjne reperocelowników 196-92 na murach oporowych elektrowni [d_x].



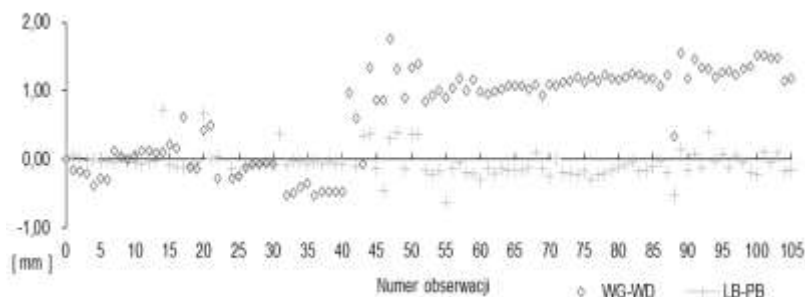
Rys.3. Przemieszczenia sytuacyjne reperocelowników 196-92 na murach oporowych elektrowni [d_y].

Reperocelowniki zostały rozmieszczone na dwóch leżących naprzeciwko siebie murach, wzdłuż każdego z nich. Przemieszczenia zarówno poziome jak i pionowe na przestrzeni lat utrzymywały się w granicach 10 mm z nielicznymi wyjątkami. Nie były one jednak losowe i można odczytać z wykresów, iż pokrywały się one czasowo.

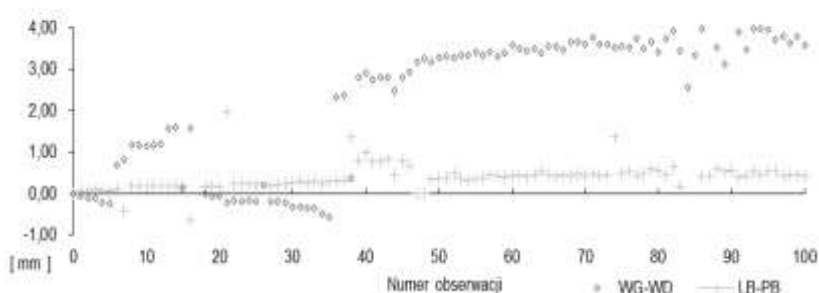
Styk portali z blokiem elektrowni

Największymi wartościami pochyłeń charakteryzowały się punkty K8 i K9, które znajdują się bliżej prawego brzegu (Rys.4. Rys.5). Od około 40-tej obserwacji widoczna była tendencja wzrostowa wartości pochyłeń dla płaszczyzny WG-WD. W punkcie K10 obserwacje dla płaszczyzny

WG-WD nie były prowadzone po otwarciu obiektu. Pozostałe wartości przemieszczeń wykazywały stałość w czasie.



Rys.4. Wykres przemieszczeń pochyłomierza nasadkowego PN-11 w punkcie K8 dla płaszczyzn WD-WG i PB-LB.



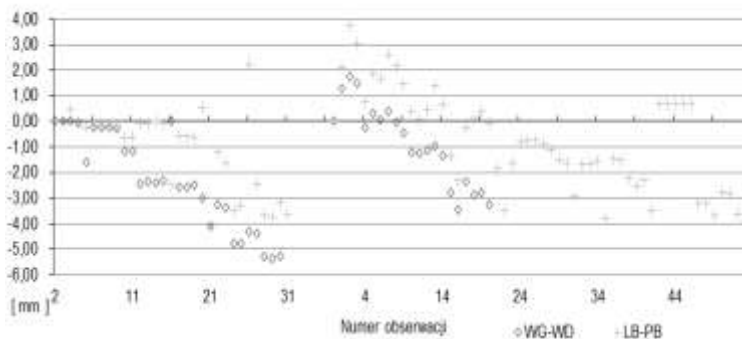
Rys.5. Wykres przemieszczeń pochyłomierza nasadkowego PN-11 w punkcie K9 dla płaszczyzn WD-WG i PB-LB.

Wartości przemieszczeń obserwowane na szczelinomierzach płaskich umieszczonych na połączeniach portali z blokiem elektrowni wykazywały stałość w czasie. Od początku pomiarów żaden z punktów pomiarowych nie wykazał większego przemieszczenia niż 1.5 mm, a kolejne wartości nie wykazywały dużego zróżnicowania w czasie.

Blok elektrowni

Przemieszczenia budynku elektrowni wykazywały swoistą stałość w czasie. Wyjątkiem był punkt pomiarowy K3 (Rys.6), czyli słup umieszczony na budynku elektrowni. Od początku pomiarów obserwowana była tendencja wzrostu wartości przemieszczeń i podczas obserwacji 34 (29.11.2002), a także 2 kolejnych zanotowano wychylenie poza wskaźnik. Pomiaru zostały wznowione, lecz dalej widoczny był wzrost wartości przemieszczeń i podczas obserwacji 21 po wznowieniu zanotowano pomiar poza zakresem, który utrzymywał się w dalszych pomiarach. Zarówno w płaszczyźnie woda górna-woda dolna, jak i lewy brzeg-prawy brzeg notowane były duże amplitudy przemieszczeń, co świadczy o zwiększonej pracy tej sekcji. Zmienność na początku pomiarów wykazał punkt K7 umiejscowiony na hali montażowej. Do pomiarów z dnia 09.02.1999 r. włącznie obserwowano tam przemieszczenie na poziomie około 3 mm, następnie można było zauważyć wyraźną stabilizację wartości przemieszczeń.

Obserwacje prowadzone na szczelinomierzach przestrzennych umiejscowionych w bloku elektrowni nie wykazywały znaczących zmian wartości przemieszczeń. Amplitudy przemieszczeń były powiązane bezpośrednio z temperaturą powietrza atmosferycznego podczas pomiarów. Zauważalny był charakterystyczny punkt, gdzie przemieszczenia osiągały wartość maksymalną i było to spowodowane częściowym opróżnieniem zbiornika na przełomie lat 2007/2008 z poziomu około 527 m n.p.m. do 514 m n.p.m.



Rys.6. Wykres przemieszczeń pochłomierza nasadkowego PN-11 w punkcie K3 (góra elektrowni-słup) dla płaszczyzn WD-WG i PB-LB.

Galeria wejściowa

Szczelinomierz płaski o oznaczeniu SSP14 znajduje się pod ujściem kanału przelewowego zapory w galerii wejściowej. Wahania wartości przemieszczeń na kierunku d_y mieściły się w zakresie do 1 mm z kilkoma wyjątkami występującymi w różnych sesjach pomiarowych. Zmiany wartości przemieszczeń d_x były znacznie większe i sięgały 3 mm pomiędzy pojedynczymi pomiarami. Wahania te były skorelowane z sezonowymi amplitudami temperatury atmosfery podczas wykonywania obserwacji. Wartości przemieszczeń z czasem nie zwiększały się i nie zauważało się tendencji wzrostowej.

4. Dyskusja i wnioski

- Sieć kontrolno-pomiarowa na zaporze w Niedzicy jest w stanie wystarczająco dobrym, aby przeprowadzić obserwacje i pomiary przemieszczeń pionowych oraz poziomych na tym obiekcie.
- Obserwacje punktów pomiarowych na przestrzeni lat, jeszcze przed rozpoczęciem działania obiektu aż do ostatnich pomiarów pokazują, iż wartości przemieszczeń są skorelowane z sezonowymi zmianami temperatury z nielicznymi wyjątkami.
- Stażność w czasie wartości przemieszczeń odnotowanych w poszczególnych sekcjach świadczy o prawidłowej pracy całego obiektu.
- Punkt pomiarowy K3 (słup) umiejscowiony na bloku elektrowni wykazywał dużą zmienność wartości przemieszczeń, zarówno w płaszczyźnie woda górna-woda dolna i lewy brzeg-prawy brzeg, co może świadczyć o intensywności pracy tej części sekcji.

5. Literatura

- Bryś H (1996). Geodezyjne pomiary odkształceń i przemieszczeń zapór wodnych. Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, Kraków.
- Dziewiański J (1998) Warunki geologiczno-inżynierskie podłoża zespoły zbiorników wodnych Czorsztyn-Niedzica i Sromowce Wyżne na Dunajcu. Wydawnictwo IGSMiE PAN, Kraków.
- Fiedler K, Jankowski M, Kloze J (2003) Przyczyny i skutki katastrof zapór oraz systemy ostrzegawcze i alarmowe, w tym ASTKZ, jako elementy technicznej kontroli zapór. Wydawnictwo Ośrodka Technicznej Kontroli Zapór IMGW, Warszawa.
- Fiedler K (2007) Awarie i katastrofy zapór – zagrożenia, ich przyczyny i skutki oraz działania zapobiegawcze. IMGW, Warszawa.
- Kledyński Z (2012) Awaria i katastrofa obiektu hydrotechnicznego. Nowoczesne Budownictwo Inżynieryjne, nr 5: 32–35.
- Kledyński Z (2011a) Monitoring i diagnostyka budowy hydrotechnicznych. cz. 1. Nowoczesne Budownictwo Inżynieryjne, nr a: 54–61.

- Kledyński Z (2011b) Monitoring i diagnostyka budowli hydrotechnicznych. cz. 2. Nowoczesne Budownictwo Inżynieryjne, nr 2: 36–38.
- Kwinta A (2017) Geodezja inżynieryjna (w hydrotechnice). Obliczanie objętości: http://zsbbrzozow.pl/wp-content/uploads/2015/01/GI_hydro_i_objętość.pdf (dostęp 17.10. 2017 r.).
- Lach S (2016) Zmodyfikowana metoda iloczynu skalarnego służąca do badania kierunku filtracji w zaporach ziemnych. Wydawnictwo Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie.
- Lach S, Opyrchal L (2017). Using the modified scalar product approach for testing the direction of seepage through the earth-fill dam in Pieczyska. Journal of Water and Land Development. No. 33 p. 89-98. DOI: 10.1515/jwld-2017-0023.
- Lach S (2018a) The application of selected statistical tests in the detection and removal of outliers in water engineering data based on the example of piezometric measurements at the Dobczyce dam over the period 2012-2016. E3S Web of Conferences. No 45, 00045. DOI: 10.1051/e3sconf/20184500045.
- Lach S (2018b) Interpretation of the results of monitoring of the displacement of the Tresna dam in 2016. MATEC Web of Conferences, vol. 174 art. no. 01011, p. 1–11. DOI: 10.1051/matecconf/201817401011.
- Materiały udostępnione przez RZGW w Krakowie.
- Rak J (2007) Katastrofy i awarie zapór wodnych. Zeszyty Naukowe Politechniki Rzeszowskiej nr 246, Budownictwo i Inżynieria Środowiska, Oficyna Wydawnicza Politechniki Rzeszowskiej, z. 46: 125–134.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 20 kwietnia 2007 r. w sprawie warunków technicznych, jakim powinny odpowiadać budowle hydrotechniczne i ich usytuowanie (Dz.U. 2007 nr 86 poz. 579).
- Serwis internetowy Zespołu Elekrowni Wodnych Niedzica: <http://www.zzw-niedzica.com.pl/> (dostęp 17.10.2017 r.).
- Ustawa Prawo budowlane z dnia 7 lipca 1994 r. (Dz.U. 1994 nr 89 poz. 414 z późn. zm.).
- Ustawa Prawo wodne z dnia z dnia 20 lipca 2017 r. (Dz.U. 2017 poz. 1566).