

Maria WŁODARCZYK-MAKUŁA

Politechnika Częstochowska, Katedra Chemii, Technologii Wody i Ścieków
ul. Dąbrowskiego 69, 42-200 Częstochowa

Porównanie biotycznych i abiotycznych zmian WWA w fazie stałej i ciekłej podczas beztlenowej przeróbki osadów

W pracy przedstawiono wyniki badań zmian ilościowych WWA w osadach ściekowych i cieczach nadosadowych podczas fermentacji osadów. Zawartości WWA w osadach podawane są w odniesieniu do suchej masy. Podczas fermentacji osadów następuje ubytek suchej masy wynikający z przemian biochemicznych związków organicznych. Stężenia WWA w cieczach nadosadowych często są pomijane. Ciecze zawracane są do ciągu technologicznego oczyszczania, zatem mogą wzbogacać ścieki surowe w dodatkowe ilości tych związków. Badania prowadzono z wykorzystaniem osadów surowych i przefermentowanych z miejskiej oczyszczalni ścieków, do której doprowadzane są ścieki bytowo-gospodarcze oraz przemysłowe. Osady po wymieszaniu inkubowano w ciemności w temperaturze 36°C (osady biotyczne). W tych samych warunkach przechowywano osady, w których aktywność mikroorganizmów została zahamowana przez dodatek azydku sodu (osady abiotyczne). WWA analizowano w osadach przed inkubacją oraz po 22 dobach przechowywania w warunkach anaerobowych. Ekstrakcję prowadzono w płuczce ultradźwiękowej z wykorzystaniem mieszaniny rozpuszczalników organicznych. Ekstrakty zatężano w strumieniu azotu i oczyszczano w warunkach próżniowych SPE. Oznaczanie ilościowe wykonano techniką GC-MS. Określono stężenia 16 WWA zgodnie z listą US EPA. Wartość odzysków WWA wyznaczono po wprowadzeniu mieszaniny standardowej do analizowanych materiałów (osady ściekowe, ciecze nadosadowe). Uwzględniając zmiany zawartość suchej masy osadów, objętości cieczy nadosadowych oraz stężenia WWA w osadach i cieczach, sporządzono bilans WWA w fazie stałej i cieczy nadosadowej. Średnia sumaryczna zawartość WWA w mieszaninie osadów przygotowanych do badań wynosiła 70 µg/l (w tym w fazie stałej 93%). Podczas fermentacji (osady biotyczne) nastąpiło obniżenie stężenia WWA w osadach o 50% (w fazie stałej o 53-57%), natomiast podczas przechowywania osadów, w których zahamowano aktywność mikroorganizmów, odnotowano ubytek WWA w granicach od 28 do 35% (w fazie stałej 35÷40%). Potwierdza to możliwość biodegradacji tych związków w warunkach anaerobowych. Zwiększone ilości WWA w fazie ciekłej wskazują na desorpcję WWA do cieczy nadosadowych w warunkach anaerobowych.

Słowa kluczowe: WWA, osady ściekowe, ciecze nadosadowe, GC-MS, warunki anaerobowe

Wstęp

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) podczas oczyszczania ścieków kumulują się w osadach ściekowych, gdyż wykazują powinowactwo do cząstek stałych [1-3]. Związki te, zaliczane do ksenobiotyków, w zmieniających się warunkach środowiska i w obecności mikroorganizmów mogą ulegać degradacji [4-5]. Na szybkość rozkładu WWA mają wpływ takie czynniki, jak: temperatura, odczyn środowiska, promieniowanie, a także obecność innych składników, w tym

tlenu i innych utleniaczy. Ocenia się, że w warunkach beztlenowych szybkość rozkładu tych związków może być nawet 100-krotnie mniejsza niż w warunkach tlenowych [6]. Osady ściekowe w dużych oczyszczalniach ścieków kierowane są do procesu fermentacji [7- 8]. W procesie tym obserwuje się wielokierunkowe zmiany stężeń WWA [9-11]. W literaturze opisano badania, podczas których po fermentacji obserwowano w osadach zwiększone stężenia WWA, zwłaszcza węglowodorów małowczątkowych i po fazie hydrolizy polimerów organicznych [10, 11]. Dostępne są także wyniki badań, podczas których następowała degradacja tych związków [12]. Jednoznaczne określenie, który z procesów, jakim podlegają WWA podczas beztlenowej przeróbki osadów, jest dominujący, sprawia trudności, gdyż oprócz procesów rozkładu możliwa jest także sorpcja i desorpcja z cząstek stałych do cieczy, jak i uwalnianie WWA z komórek mikroorganizmów [13]. Celem badań było porównanie zmian ilościowych WWA w osadach i cieczach nadosadowych w procesie fermentacji metanowej oraz w osadach inkubowanych w warunkach anaerobowych przy zahamowaniu aktywności mikroorganizmów.

1. Materiały i metody badań

1.1. Badane substraty

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem osadów z miejskiej oczyszczalni ścieków. Przeróbka osadów jest realizowana w procesie dwustopniowej fermentacji w zamkniętej i otwartej komorze fermentacji. Do badań pobrano dwie porcje osadów: surowy i przefermentowany. Osady surowe pochodziły z części mechanicznej oczyszczalni i zostały pobrane z zagęszczacza osadnika wstępnego. Osady przefermentowane pobrano na odpływie z zamkniętej komory fermentacji. Osady te stanowiły materiał zaszczepiający. Próbkę osadów, (po jednej z każdej porcji) pobrano dwukrotnie, losowo, z miejskiej oczyszczalni ścieków jako próbki jednorazowe. Osady surowe i przefermentowane wymieszano w stosunku objętościowym 1:10. W dobrze wymieszanych osadach wstępnych oznaczano, zgodnie z metodyką podawaną przez Hermanowicza [14], suchą masę oraz zawartość związków organicznych w fazie stałej, a w cieczy nadosadowej: odczyn, zasadowość, lotne kwasy tłuszczowe. Zawartość suchej masy w zmieszanych osadach wynosiła 40 g/l, zawartość związków organicznych była na poziomie 62% suchej masy. Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych wynosiła 5,1 mval/l, zasadowość 33 mval/l, a wartość pH - 7,8.

Ze zmieszanych osadów przygotowano próbkę kontrolną (osady biotyczne) oraz próbkę, do której wprowadzono azydek sodu w ilości 0,7 g/l (NaN_3) w celu dezaktywacji mikroorganizmów (osady abiotyczne) [2, 15].

1.2. Przebieg badań

Badania fermentacji prowadzono w warunkach laboratoryjnych. Do prowadzenia fermentacji przygotowano cztery bioreaktory o pojemności 5 litrów, do których

wprowadzono ww. mieszaniny osadów (w dwóch powtórzeniach). Bioreaktory przechowywano przez 22 doby w termostacie w stałej temperaturze 36°C. Codziennie wykonywano pomiar ciśnienia biogazu. Uwzględniając ciśnienie atmosferyczne wyliczono objętość powstającego biogazu według prawa Boile'a-Mariotta. Procesy przemian substancji organicznych kontrolowano, wykonując oznaczenia fizyczno-chemiczne przed inkubacją i po 22 dobach. Analizę ilościową WWA prowadzono równolegle w osadach i cieczach nadosadowych przed fermentacją oraz po 22 dobach przechowywania osadów w warunkach anaerobowych.

1.3. Metodyka oznaczania WWA

Oznaczenia WWA wykonywano z wykorzystaniem chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym. Wydzielenie fazy ciekłej (cieczy nadosadowej) uzyskiwano poprzez odwirowanie osadów. Przygotowanie próbek polegało na ekstrakcji z użyciem mieszaniny rozpuszczalników: cykloheksanu (polarność - 0,0) i dichlorometanu (polarność - 3,7) w proporcji objętościowej odpowiednio 5:1. Ekstrakcję matrycy organicznej z osadów (fazy stałej) prowadzono podczas sonifikacji w płuczce ultradźwiękowej. Ekstrakcja z cieczy odbywała się poprzez wytrząsanie z rozpuszczalnikami. Oddzielenie rozpuszczalników odbywało się poprzez odwirowanie w wirówce laboratoryjnej. Ekstrakty oczyszczano na żelu krzemionkowym w warunkach próżniowych. Oczyszczone ekstrakty zateżano w strumieniu azotu do objętości 1 ml i następnie analizowano chromatograficznie. Analizę jakościowo-ilościową przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu gazowego Fisons z kolumną kapilarną DB-5 o długości 25 m, i grubości filmu 25 µm. Ilościowo oznaczano węglowodory figurujące na liście EPA. Były to naftalen, acenftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, piren, benzo(a)antracen i chryzen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, dibenzo(ah)antracen, benzo(ghi)perylene oraz indeno(123cd)piren [15-16].

W celu weryfikacji procedury oznaczania WWA przyjętej w badaniach określono odzyski standardowej mieszaniny WWA z osadów. W tym celu do próbki wymieszanych osadów wprowadzono mieszaninę standardową WWA *Accu Standard Inc. USA* i przeprowadzono oznaczenie jakościowo-ilościowe WWA zgodnie z opisaną wyżej procedurą. Odzysk standardowej mieszaniny WWA (z uwzględnieniem początkowej zawartości w badanych materiałach) wahał się w granicach od 30% (naftalen) do 98% (benzo(ghi)perylene). Wartość średnia odzysku (z uwzględnieniem najbardziej lotnego naftalenu) wynosiła 67% i mieściła się w zakresie opisywanym w literaturze [2, 15, 18].

2. Wyniki badań i dyskusja

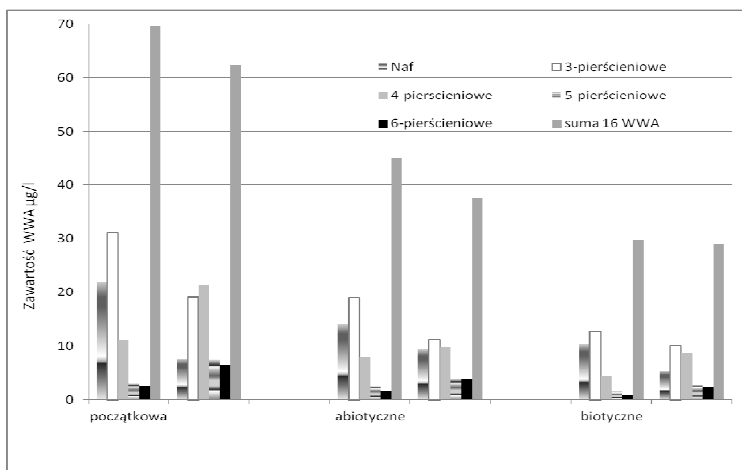
Po 22 dobach procesu fermentacji pH osadów wynosiło 8,1. Stężenie LKT spadło do wartości 2,5 mval/l. Podczas procesu zawartość suchej masy obniżyła się z 40 do 30 g/l. Substancje organiczne stanowiły 42% suchej masy. Objętość bioga-

zu wynosiła dla osadów abiotycznych i biotycznych odpowiednio 0,4 i 0,1 l. Zarejestrowano wzrost zasadowości do 7 val/l. Oznaczenie zawartości suchej masy oraz wyznaczenie objętości cieczy nadosadowej oraz w obu przypadkach stężeń WWA pozwoliło na wyznaczenie ilości WWA w jednostce objętości osadów jako mieszaniny.

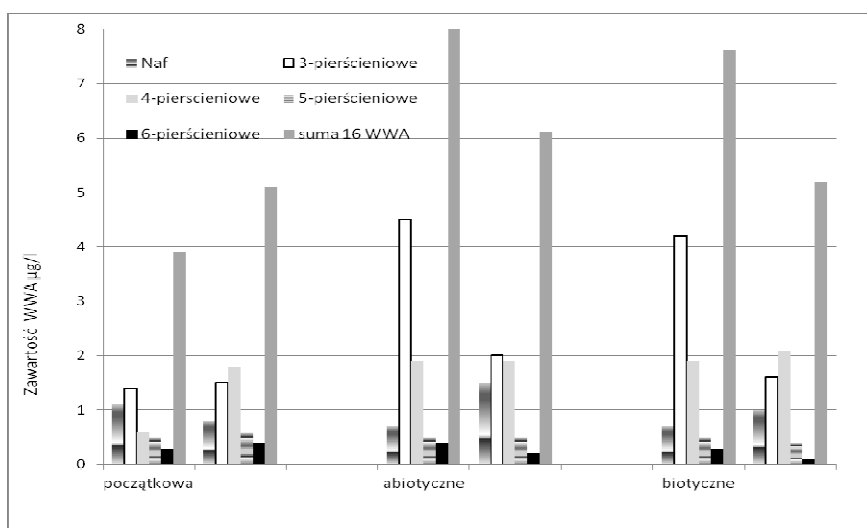
Sumaryczna zawartość WWA w mieszaninie osadów przygotowanych do badań wynosiła 73,5 oraz 67,4 $\mu\text{g/l}$. Przy uwzględnieniu objętości cieczy nadosadowej, suchej masy, stężeń związków oraz ilości WWA w fazie stałej, wyznaczona ilość WWA w fazie stałej stanowiła od 92 do 95% ogólnej zawartości. Potwierdza to zdolność WWA do sorpcji na cząstkach stałych. Największy udział w sumarycznej ilości WWA miały węglowodory małowcząsteczkowe, których współczynnik podziału świadczący o tych zdolnościach jest stosunkowo mały (poniżej 4), a rozpuszczalność w wodzie jest największa. Odnotowano, że w osadach w I serii badań WWA 2-, oraz 3-pierścieniowe stanowiły 76%, a w II serii - 43%. Najmniejszy udział w sumarycznej ilości WWA miały 5- i 6-pierścieniowe związki.

W cieczy nadosadowej zawartość WWA była niska - od 4 do 5 $\mu\text{g/l}$. Podobnie jak w fazie stałej, także i w cieczy dominowały związki o największej rozpuszczalności w wodzie (naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren). W przypadku cieczy nadosadowych i ścieków węglowodory te występują często w stężeniach większych niż rozpuszczalność graniczna określona dla stałych warunków. Przyczyną jest obecność w ściekach i w cieczach nadosadowych np. substancji powierzchniowo czynnych, wpływających korzystnie na rozpuszczalność WWA.

Po 22 dobach przechowywania w warunkach anaerobowych osadów, w których zahamowano aktywność mikroorganizmów, oznaczona sumaryczna ilość 16 WWA była o 28-35% mniejsza niż wartość początkowa. Zmiany stężeń węglowodorów w osadach i w cieczy nadosadowej były odmienne. Zmiany ilościowe WWA w fazie stałej oraz w ciekłej podczas przechowywania osadów w warunkach anaerobowych przedstawiono odpowiednio na rysunkach 1 oraz 2.



Rys. 1. Zawartość WWA w fazie stałej (osadach biotycznych i abiotycznych)



Rys. 2. Zawartość WWA w fazie ciekłej (cieczach nadosadowych z osadów biotycznych i abiotycznych)

W fazie stałej odnotowano obniżenie stężeń i tym samym spadek zawartości WWA w odniesieniu do stężenia początkowego (35-40%). W fazie ciekłej natomiast oznaczona ilość badanych związków była większa niż początkowa. Przyczyną ubytku WWA w fazie stałej w przypadku nieaktywnej mikroflory mogą być takie procesy jak ulatnianie, reakcje z innymi składnikami oraz sorpcja na cząstkach stałych. Ulatnianie dotyczy głównie tych węglowodorów, które charakteryzują się największymi wartościami prężności par. Reakcje z innymi składnikami prowadzą do powstawania pochodnych, które nie były analizowane w tych badaniach. Procesy sorpcji nie prowadzą do usuwania tych związków, lecz wpływają na zmniejszenie wydajności procesu ekstrakcji. Sorpcji ulegają zwykle węglowodory o największej wartości współczynnika podziału oktanol/woda, którymi są (spośród badanych) 5- i 6-pierścieniowe związki [3,6]. W fazie ciekłej odnotowano zwiększone ilości WWA (rys. 2). Dotyczy to szczególnie 2-, 3- oraz 4-pierścieniowych związków, charakteryzujących się lotnością i największą rozpuszczalnością. Przyczyną mogła być desorpcja WWA z osadów lub okresowe powstawanie małowcząsteczkowych WWA po rozpadzie węglowodorów bardziej rozbudowanych, dla których oznaczono mniejsze stężenia. Możliwe jest także uwalnianie tych związków z komórek mikroorganizmów po ich rozpadzie [13].

Po 22 dobach inkubacji osadów w warunkach fermentacji, zawartość WWA w jednostce objętości osadów była o około 50% mniejsza niż początkowa. W obu seriach badań wynosiła odpowiednio 37,4 oraz 34,2 µg/l. W fazie stałej zawartość WWA stanowiła 80-85% sumarycznej ilości tych związków. Zawartość węglowodorów pogrupowanych według ilości pierścieni była o 15,7 oraz 9,5 µg/l mniejsza niż w przypadku osadów abiotycznych. Zakładając podobny przebieg procesów abiotycznych i podobny ubytek WWA wynikający z procesów bez udziału mikro-

organizmów, można przypuszczać, że w osadach biotycznych węglowodory mogły ulegać biodegradacji. W odniesieniu do związków pogrupowanych według ilości pierścieni wyniki badań wskazują, że najbardziej trwale były WWA wielkocząsteczkowe (5- i 6-pierścieniowe). W fazie stałej w największym stopniu zmniejszyła się ilość naftalenu oraz 3- pierścieniowych związków. W cieczach nadosadowych natomiast ubytki nie były większe niż 0,5 µg/l, a sumaryczny ubytek nie przekraczał 1,1 µg/l.

Wnioski

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań w przyjętych warunkach doświadczenia można sformułować następujące wnioski:

1. Bilans masowy WWA w fazie stałej i ciekłej uwzględniający zmiany suchej masy w czasie inkubacji osadów, objętość cieczy oraz stężenia tych związków wskazuje, że w fazie stałej zgromadzone jest 92-95% WWA.
2. Podczas przechowywania osadów, w których zahamowano aktywność mikroorganizmów, ubytek WWA odnotowano w granicach od 28 do 35% (w fazie stałej 35-40%).
3. Podczas inkubacji osadów w warunkach fermentacji (osady biotyczne) nastąpiło obniżenie stężenia WWA w osadach o 50% (w fazie stałej o 53-57%), co w porównaniu z ubytkiem w osadach abiotycznych wskazuje na możliwość biodegradacji tych związków.
4. Podczas fermentacji osadów biotycznych oraz przechowywania osadów abiotycznych możliwa jest desorpcja WWA do cieczy nadosadowych, czego potwierdzeniem są odnotowane zwiększone ilości WWA w tej fazie.

Podziękowanie

Pracę wykonano w ramach BS/PB-402-301/11.

Literatura

- [1] Helaleh M.I.H., Al-Omair A., Nisar A., Gevao B., Validation of various extraction techniques for the quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using gas chromatography-ion trap mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 2005, 1083, 153-160.
- [2] Perez S., Guillamon M., Barcelo D., Quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants, *J. Chromatogr. A.* 2001, 938, 57-65.
- [3] Rogers H.R., Sources, behaviour and fate of organic contaminants during sewage treatment and in sewage sludges, *The Sci. of Total Environ.* 1996, 185, 3-26.
- [4] Chang B.V., Chang S.W., Yuan S.Y., Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in sludge, *Advances in Environmental Research*, 2003, 7, 623-628.
- [5] Bernal-Martinez A., Carrere H., Patureau D., Delgenes J-P., Ozone pre-treatment as improver of PAH removal during anaerobic digestion of urban sludge, *Chemosphere*, 68, 2007, 1013-1019.

- [6] Yakan S.D.; KAracik B.; Ceylan D., Dogu S., Okay O.S.; Okay O., Sorption kinetics of PAH by using various sorbents. Proceedings of the 2th International CEMEPE and SECOTOX Conference Mykonos, Greece, June 21-26, 2009, 1385-1390.
- [7] Sadecka Z., Inhibicja w procesie fermentacji metanowej., *Ochrona Środowiska*, 2005, nr 3, s. 60-64.
- [8] Sadecka Z., *Podstawy biologicznego oczyszczania ścieków*, Wydaw. Seidel-Przywecki, Warszawa 2010.
- [9] McNally D.L., Mihelcic J.R., Lueking D.R., Biodegradation of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and nitrate-reducing conditions, *Chemosphere*, 1999, 6, 1313-1321.
- [10] Kirk P.W.; Lester J.N., The rate of polycyclic aromatic hydrocarbons during sewage sludge digestion, *Environ. Technol.* 1990, 12, 13-20.
- [11] Włodarczyk-Makula M., Wiśniowska E., Changes of PAHs content during sewage sludge processing, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2004, 10, 936-940
- [12] Hamzawi N., Kennedy K.J., McLean D.D., Anaerobic digestion of co-mingled municipal solid waste and sewage sludge. *Water Science Technology*, 1998, 38.
- [13] Traczewska T.M., Biotoksyczność produktów mikrobiologicznych przemian antracenu i fenantrenu w wodzie oraz możliwość ich usuwania, *Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej*, 2003.
- [14] Hermanowicz W., Dojlido J., Zerbe J., Dożański W., Koziorowski B., *Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków*, Wydawnictwo Arkady, Warszawa 2003.
- [15] Mihelcic J.R., Luthy D.G., Degradation of PAH compounds under various redox conditions in soil-water systems, *Applied and Environmental Microbiology* 1998, 54, 1188-1198.
- [16] Haftka J.J.H., Govers H.A.J., Parsons J.R., Influence of temperature and origin of dissolved organic matter on the partitioning behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Environ Sci. Pollut Res.* 2010, 17, 1070-1079.
- [17] Miege C., Bouzige M., Nicol S., Dugay J., Pichon V., Hennion M.C., Selective immunoclean-up followed by liquid or gas chromatography for the monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban waste water and sewage sludges used for soil amendment., *Journal of Chromatography* 1999, 859, 29-39.
- [18] Enell A., Reichenberg F., Warfvinge P., Ewald G., A column method for determination of leaching of polycyclic aromatic hydrocarbons from aged contaminated soil, *Chemosphere*, 2004, 54, 707-71.

Comparison of Biotic and Abiotic Pahs Changes in Solid and Liquid Phase during Anaerobic Sewage Sludge Digestion

The aim of that investigation was the changes of the PAHs content in the solid phase of sewage sludge (dry mass) and in the supernatants during the methane fermentation process. Concentration of PAHs in sewage sludge is related to dry matter of sludge. Content of PAHs in supernatants from sewage sludge is omitted. During fermentation process the content of total of suspended solid decreased. In the studies, raw and stabilized sewage sludge from municipal treatment plant were used. Sewage sludges were mixed and incubated in darkness in temperature of 36°C (biotic samples). In the same conditions sewage sludge after inhibition of microorganisms activity was incubated (abiotic samples). The PAH determination in sludge and supernatants was carried out before and after digestion process. Extraction process for sewage sludge samples with organic solvents mixture was carried out in ultrasonic bath. Prepared extracts were concentrated down in nitrogen stream and purified using SPE technique. Quantitative analysis was done using GC-MS. The 16 PAHs listed by to US EPA were analyzed. Recoveries were determined by adding standard mixture to analyzed materials (sewage sludge, supernatant). Taking into account changes in the concentration of dry matter and change of supernatants volume as well as changes of PAHs concentration in solid phase and in liquid phase, PAHs were balanced as a mixture of liquid and solid particles. Average total PAH content in the sewage sludge mixture was 70 g/L (in the solid phase,

93%). During the fermentation (sludge biotic) PAH concentrations were reduced in sewage sludge by 50% (in the solid phase of 53-57%), and during storage of sludge, which inhibited the activity of micro-organisms, the loss of PAH covered in the range from 28 to 35% (in the solid phase 35-40%). This confirms the possibility of degradation of these compounds under anaerobic conditions. Increased levels of PAHs in the liquid phase indicated the PAHs desorption into liquid phase in aerobic conditions.

Keywords: PAHs, sewage sludge, supernatants, GC-MS, anaerobic conditions