

Izabela SIEBIELSKA, Robert SIDEŁKO, Bartosz WALENDZIK
Natalia KOŁACZ*, Anna SKUBAŁA*

Politechnika Koszalińska
ul. Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin
e-mail: izabela.siebielska@tu.koszalin.pl
* doktorantka

Ocena wykorzystania ekstrakcji za pomocą NaOH do oznaczania zawartości substancji humusowych w kompostowanym materiale

Metoda oznaczenia zawartości substancji humusowych zastosowana w badaniach jest powszechnie używana do oznaczania stężeń wspomnianych związków w kompostach. Celem przeprowadzonych badań wstępnych pracy była ocena przydatności metody ekstrakcji za pomocą roztworu 0,5 M NaOH w materiałach pobranych z kolejnych faz kompostowania w celu określenia stopnia dojrzałości produktu. Próbki do badań pobrano z miejskiej oczyszczalni ścieków Przedsiębiorstwa „Wodociągi Słupsk” o średniodobowym przepływie docelowym wynoszącym około 28 200 m³ ścieków. Wsadem do kompostowania były odwodnione i przefermentowane osady ściekowe zmieszane ze słomą, korą i zrębkami. Uzyskane w badaniach wyniki w przypadku materiałów z fazy gorącej były obciążone dużym błędem. Na tej podstawie uznano, iż ekstrakcja substancji humusowych za pomocą roztworu NaOH może być metodą zalecaną jedynie dla dojrzałego produktu kompostowania.

Słowa kluczowe: kompost, osad ściekowy, substancje humusowe, ekstrakcja

Wstęp

Kompostowanie jest metodą przetwarzania odpadów organicznych w pełni zgodną z zasadami zrównoważonego rolnictwa, które dąży do przeciwdziałania wyczerpywaniu się materii organicznej w glebie. Podczas kompostowania część substancji organicznej jest mineralizowana do ditlenku węgla, amoniaku oraz wody, natomiast druga część jest przekształcana w substancje humusowe, które są strukturalnie bardzo zbliżone do tych występujących w glebie [1]. Są to grupy organicznych polimerów o różnych masach cząsteczkowych, które powstają w wyniku działania mikroorganizmów oraz wydzielanych przez nie enzymów. Ich struktura zawiera zwykle kilka pierścieni aromatycznych, które połączone są z szeregiem grup funkcyjnych, tj. z grupami karboksylowymi, fenolowymi czy hydroksylowymi. Ich znaczna obecność w glebie wywiera korzystny wpływ na jej właściwości retencyjne, pH oraz właściwości odżywcze [2]. W skład substancji humusowych wchodzi kwasy huminowe, kwasy fulwowe, kwasy hmatomelanowe oraz huminy. Jednak to zawartość kwasów huminowych oraz kwasów fulwowych stanowi większą część substancji humusowych powstałych w procesie kompostowania.

Kwasy huminowe są zbiorem polimerów polikondensacyjnych o różnych masach cząsteczkowych, posiadających wysoką zdolność polidispersyjną [3]. Kwasy fulwowe obejmują natomiast struktury związków o mniejszej masie cząsteczkowej, ale stosunkowo większej aktywności i wyższym stopniu utlenienia w porównaniu z kwasami huminowymi.

Dojrzałość kompostu odnosi się głównie do stopnia humifikacji kompostowanego materiału. Niedojrzały kompost zawiera znaczną ilość kwasów fulwowych przy relatywnie niskiej zawartości kwasów huminowych. Wysoka zawartość kwasów huminowych świadczy o dojrzałości kompostu, a zatem o jego przydatności w rolnictwie [4]. Stąd monitorowanie zawartości poszczególnych frakcji substancji humusowych podczas procesu kompostowania jest bardzo ważnym aspektem z punktu widzenia jakości produktu końcowego.

Wielu autorów stosuje w swoich badaniach indeksy dojrzałości kompostów oparte głównie na zmianie zawartości substancji humusowych, kwasów huminowych i kwasów fulwowych [5-9]. Do izolacji badanych substancji humusowych wykorzystują oni standardową metodę ekstrakcji za pomocą roztworu 0,1 M NaOH, zalecaną przez Międzynarodowe Stowarzyszenie Substancji Humusowych (IHSS). Jednak mieszanina bioodpadów w początkowej fazie kompostowania zawiera znaczną ilość pochodnych ligniny, ligninocelulozy oraz polisacharydów, które również mogą ulegać ekstrakcji, a stanowią rdzeń powstających w późniejszym okresie struktur substancji humusowych. Powszechne stosowanie podczas kompostowania materiałów strukturotwórczych w postaci trocin oraz zrębków także dostarcza znaczną ilość lignin na początku procesu.

Celem przedstawionych badań było ukazanie, iż stosowana powszechnie w badaniach innych autorów ekstrakcja substancji humusowych za pomocą roztworu NaOH może być użyta jedynie w przypadku próbek pobieranych z końcowej fazy kompostowania (tzw. fazy dojrzewania). Trudności związane z izolowaniem czystej frakcji humusowej w pierwszych dniach kompostowania nie pozwalają zatem ocenić w tym okresie stopnia humifikacji w oparciu o zmiany w czasie wskaźników dojrzałości, których wartości wyznaczane są na podstawie ilości poszczególnych frakcji substancji humusowych.

1. Zakres badań

Do oceny stosowanej metody oznaczenia kwasów humusowych użyto przefermentowanego i odwodnionego osadu ściekowego (próbka 4), słomy pszenno-żytniej (próbka 5), kompostu pobranego z tej samej przyzmy w 2 tygodniu przyzmo-wania - faza gorąca kompostowania (próbka 1), w 5 tygodniu - koniec fazy gorącej kompostowania (próbka 2) oraz w 15 tygodniu przyzmo-wania - faza dojrzewania (próbka 3). Pobrano po 10 reprezentatywnych próbek z osadu ściekowego, słomy pszenno-żytniej oraz z materiału z kolejnych faz kompostowania. Proces kompostowania został przeprowadzony w kompostowni „Wodociągi Słupsk” zgodnie z technologią opracowaną na potrzeby tego przedsiębiorstwa. Docelowe obciążenie

ładunkowe oczyszczalni ścieków Przedsiębiorstwa „Wodociągi Słupsk” odpowiada 230 000 RLM, natomiast docelowy przepływ średniodobowy wynosi około 28 200 m³ ścieków.

1.1. Technologia procesu kompostowania

Osad ściekowy po procesie fermentacji beztlenowej w zamkniętych komorach fermentacyjnych, a następnie odwodnieniu w wirówkach dekantacyjnych trafia na płytę kompostowni. Po dodaniu do niego słomy z pszenżyta i zrębków (kora, rozdrobnione gałęzie) jest przymowany na płycie żelbetowej, posadowionej na gruncie, wyposażonej w system napowietrzania przyzm, odprowadzania odcieków oraz system dezodoryzacji suchej. Kompostownia Przedsiębiorstwa „Wodociągi Słupsk” jest instalacją zadaszoną, nienarażoną na działanie czynników zewnętrznych. Przyzmy są okresowo przerzucane.

2. Metodyka badań

2.1. Metodyka oznaczania węgla kwasów humusowych i huminowych

Zliofilizowane próbki każdego z badanych materiałów zostały zmielone i przesiane przez sito o średnicy oczek \varnothing 0,3 mm. Kolejnym etapem była ekstrakcja kwasów humusowych z próbek kompostowych według zmodyfikowanej metody IHSS. Jako ekstrahenta użyto roztworu 0,5 M NaOH [2].

2.1.1. Ekstrakcja kwasów humusowych (ekstrakt I)

Naważkę zliofilizowanego kompostu o masie 3 g przeniesiono ilościowo do butelki z polipropylenu i zalano roztworem 0,5 M NaOH w stosunku 1:50 (m/V). Całość wytrząsano w temperaturze pokojowej przez okres 24 h (200 obr/min). Otrzymaną zawiesinę odwirowywano przy 5000 obr/min przez okres 10 minut, uzyskując 130 cm³ roztworu kwasów humusowych (ekstrakt I) [10]. W tak uzyskanym ekstrakcie oznaczano zawartość węgla kwasów humusowych.

2.1.2. Otrzymywanie alkalicznego roztworu kwasów huminowych (ekstrakt II)

100 cm³ wcześniej uzyskanego ekstraktu kwasów humusowych zakwaszono roztworem 2M H₂SO₄ do pH = 1,5. Po upływie 24 h wytrącony z roztworu osad kwasów huminowych został oddzielony przez wirowanie (10 min, 5000 obr/min), a następnie ponownie rozpuszczony w 100 cm³ roztworu 0,5 M NaOH. W tak uzyskanym ekstrakcie oznaczano zawartość węgla kwasów huminowych [10].

2.1.3. Oznaczanie zawartości węgla kwasów humusowych i huminowych

Zawartość węgla w ekstrakcie I i w ekstrakcie II oznaczano metodą Orłowa i Grindel [11]. Jest to metoda polegająca na spalaniu substancji organicznej

„na mokro” w mieszaninie chromowej (roztwór $K_2Cr_2O_7$ i H_2SO_4) w temperaturze $140^\circ C$. Pomiary w uzyskanych roztworach wykonywano przy użyciu spektrofotometru UV mini 1240 firmy Shimadzu wraz z dołączonym oprogramowaniem UV Data Manager (wersja 1.02). Absorbancję roztworów mierzono w kuwetach szklanych (10 x 10 mm) przy długości fali $\lambda = 590$ nm [10].

2.2. Analiza statystyczna

Do opracowania wyników wykorzystany został test NIR. Celem testu NIR jest wyznaczenie najmniejszych istotnych różnic oraz określenie, czy poszczególne grupy wyników różnią się istotnie między sobą. Hipoteza zerowa zakładała, że nie istnieją różnice między średnią zawartością węgla we wszystkich ekstraktach uzyskanych z próbek pobranych w różnych etapach kompostowania. Hipoteza alternatywna zakładała, że istnieją różnice między średnią zawartością węgla w ekstraktach. Graficznym przedstawieniem wyników testu NIR są wykresy ramka-wąsy odpowiednio dla zawartości węgla w ekstrakcie I i zawartości węgla w ekstrakcie II.

3. Dyskusja wyników

Wyniki uzyskane z 10 prób zostały uśrednione. Wyznaczone zostało również odchylenie standardowe dla uzyskanych wyników analiz. Odchylenie standardowe jest podstawową miarą zmienności obserwowanych wyników, mówi o ich rozrzucie wokół średniej. Wykonane badania cechuje niewielki rozrzut, o czym świadczy wartość odchylenia standardowego. W tabeli 1 zestawiono średnie wartości z uzyskanych wyników analiz wraz z odchyleniem standardowym dla badanych próbek.

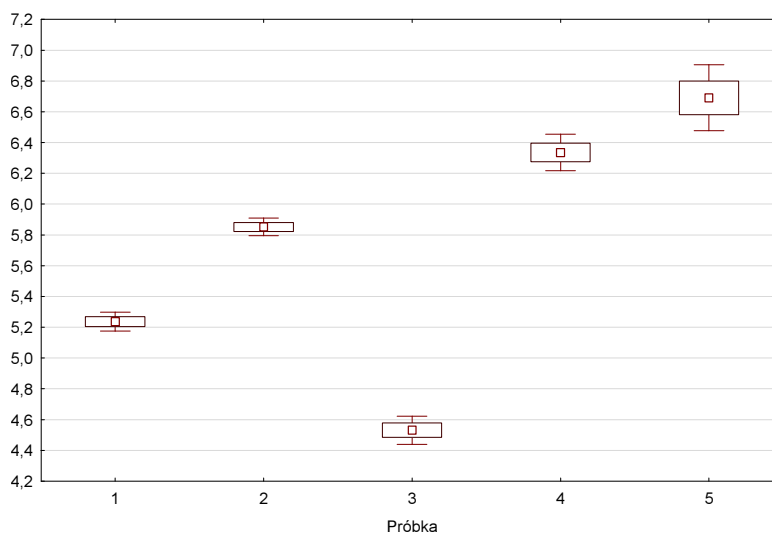
Tabela 1. Uśrednione wyniki badań zawartości węgla (C) w ekstrakcie I i w ekstrakcie II
Table 1. The averaged results of carbon concentration in the extract I and in the extract II

		Wartość średnia C, g/kg s.m.	Odchylenie standardowe
Próbka 1	Ekstrakt I	5,24	0,06
	Ekstrakt II	3,38	0,11
Próbka 2	Ekstrakt I	5,85	0,06
	Ekstrakt II	3,52	0,12
Próbka 3	Ekstrakt I	4,53	0,09
	Ekstrakt II	3,11	0,21
Próbka 4	Ekstrakt I	6,34	0,12
	Ekstrakt II	3,29	0,46
Próbka 5	Ekstrakt I	6,56	0,06
	Ekstrakt II	6,14	0,14

3.1. Zawartość węgla w ekstrakcie i w badanych próbkach

Na podstawie przeprowadzonego testu NIR dla zawartości węgla w ekstrakcie I stwierdzono, że różnice pomiędzy badanymi próbkami kompostów są statystycznie istotne (rys. 1). Zaobserwowany wzrost zawartości węgla w ekstrakcie I w próbce 2 w stosunku do próbki 1 prawdopodobnie świadczy o powstawaniu w procesie kompostowania kwasów humusowych. Natomiast spadek zawartości węgla w ekstrakcie I w próbce 3 w stosunku do próbki 2 może być efektem procesu mineralizacji związków organicznych, takich jak hemicelulozy, celulozy i ligniny, pochodzących ze wsadu do kompostowania (rys. 1). Ponadto niższa zawartość węgla w substancjach humusowych może świadczyć o mineralizacji części związków organicznych do CO₂. W związku z zakończonym w fazie dojrzewania procesem mineralizacji można uznać, iż w próbce 3 dominuje węgiel kwasów humusowych, co wskazuje na poprawny przebieg procesu kompostowania. Analogiczne wyniki badań uzyskali Droussi i inni [12] oraz Sidelko i inni [13].

W ekstrakcie I z próbki 5 (słoma) stwierdzono wysoką zawartość węgla. Ze względu na skład słomy, odpowiednio: 19,8÷31,6% hemiceluloza; 30,3÷38,2% celuloza; 7,2÷12,8% ligniny [14, 15], oznaczona zawartość węgla nie pochodzi od węgla kwasów humusowych. W przeprowadzonej analizie ekstrahowany jest zatem nie tylko węgiel kwasów humusowych, ale również węgiel pochodzący z lignin, celuloz i hemiceluloz. W próbkach 1 i 2 stwierdzono obecność słomy użytej w procesie kompostowania jako materiału strukturotwórczego, stanowiącego dodatkowe źródło węgla. Nie jest w związku z tym możliwe jednoznaczne stwierdzenie, jaka jest zawartość kwasów humusowych, a jaka pozostałych związków, tj. hemiceluloz, celuloz i lignin, we wspomnianych próbkach.



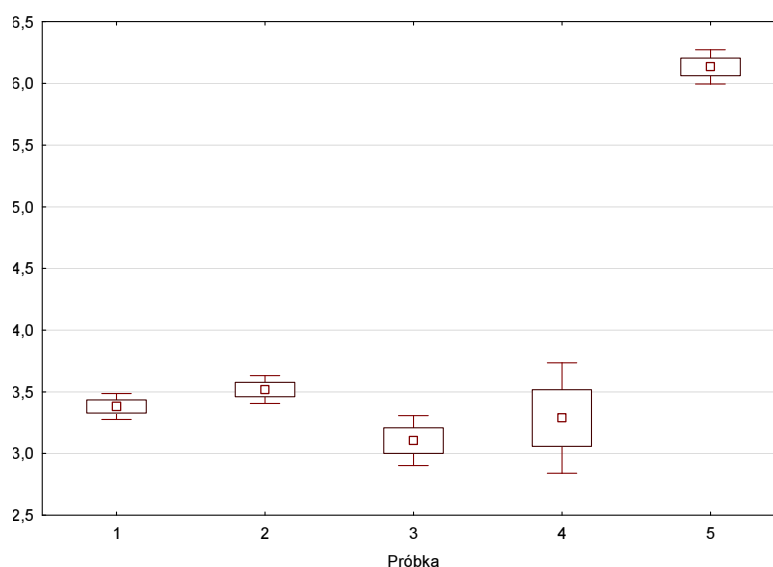
Rys. 1. Zawartość węgla w ekstrakcie I

Fig. 1. Carbon content in the extract I

3.2. Zawartość węgla w ekstrakcie II w badanych próbkach

Na podstawie przeprowadzonego testu NIR dla zawartości węgla w ekstrakcie II stwierdzono, iż statystycznie istotne są różnice pomiędzy próbką 2 i próbką 3 (rys. 2). Natomiast różnice pomiędzy próbką 1 i próbką 2 są statystycznie nieistotne. W przeciwieństwie do zawartości węgla w ekstrakcie I (rys. 1), różnice zawartości węgla w ekstrakcie II między próbką 1, próbką 2 i próbką 3 są niewielkie. Kulikowska i Bilicka [16] wykazały, iż w trakcie procesu kompostowania występują dość istotne różnice między zawartością węgla kwasów huminowych we wsadzie do kompostowania a kompostem z końca fazy gorącej.

Zaobserwowany wzrost zawartości węgla w ekstrakcie II w próbce 2 w stosunku do próbki 1 prawdopodobnie świadczy o powstawaniu w procesie kompostowania kwasów huminowych. Natomiast spadek zawartości węgla w ekstrakcie II w próbce 3 w stosunku do próbki 2 może być wynikiem różnych szybkości mineralizacji i humifikacji związków organicznych, takich jak hemicelulozy, celulozy i ligniny, pochodzących ze wsadu do kompostowania. W związku z zaobserwowanym spadkiem zawartości węgla kwasów huminowych można uznać, iż część tych związków w czasie procesu kompostowania uległa rozkładowi do CO_2 . Wysoka zawartość węgla w ekstrakcie II z próbki 5 (słoma) nie świadczy wcale o obecności kwasów huminowych. Powodem prawdopodobnie jest ekstrakcja celulozy oraz lignin, przebiegająca w podobnych warunkach. Zatem użycie zaadaptowanej metody ekstrakcji węgla kwasów huminowych z kompostów fazy gorącej może skutkować błędnymi wnioskami.



Rys. 2. Zawartość węgla w ekstrakcie II

Fig. 2. Carbon content in the extract II

Wnioski

1. Skład chemiczny materiału strukturotwórczego, w tym przypadku słomy, może negatywnie wpływać na wyniki badań kompostów z fazy gorącej, powodując ich niemiernodajność.
2. Ze względu na duże prawdopodobieństwo uzyskania wyników obarczonych błędem można uznać, iż użyta metodyka ekstrakcji NaOH nie jest wskazana do analiz kompostów z fazy gorącej.
3. Metoda ekstrakcji za pomocą wodorotlenku sodu pozwala na uzyskanie wiarygodnych wyników w przypadku analizy kompostu dojrzałego.
4. Można przypuszczać, iż podczas procesu kompostowania w warunkach przeprowadzania ekstrakcji kwasów humusowych następuje jednocześnie ekstrakcja celuloz oraz lignin.
5. Przeprowadzone badania są badaniami wstępnymi, należy je rozszerzyć, aby potwierdzić przedstawione powyżej wnioski.

Podziękowania

Praca naukowa finansowana ze środków statutowych Katedry Gospodarki Odpadami PK w 2014 r.

Literatura

- [1] Hernandez-Apaolaza L., Gasco J.M., Guerrero F., Initial organic matter transformation of soil amended with composted sewage sludge, *Biology and Fertility of Soils* 2000, 32, 421-426.
- [2] Stevenson F.J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions* (second ed.), John Wiley & Sons, New York 1994.
- [3] Campitelli P., Velasco M., Ceppi S.J., Charge development and acid-base characteristics of soil and compost humic acids, *J. Chil. Chem. Soc.* 2003, 48, 91-96.
- [4] Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itavaara M., Biodegradation of lignin in a compost environment: a review, *Bioresource Technology* 2000, 72, 169-183.
- [5] Hsu J.H., Lo S.L., Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure, *Environmental Pollution* 1999, 104, 189-196.
- [6] Inbar Y., Chen Y., Hadar Y., Humic substances formed during the composting of organic matter, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1990, 54, 1316-1323.
- [7] Inbar Y., Chen Y., Hadar Y., Hoitink H.A.J., New approaches to compost maturity, *Biocycle* 1990, 12, 64-69.
- [8] Jimenez E.I., Chen V.P., Determinations of maturity indices for city refuse compost, *Agric. Ecosyst. Environ.* 1993, 38, 331-343.
- [9] Lopez M.J., Elorrieta M.A., Vargas-Garcia M.C., Suarez-Estrella F., Moreno J. The effect of aeration on the biotransformation of lignocellulosic wastes by white-rot fungi, *Bioresource Technology* 2002, 81, 123-129.
- [10] Walendzik B., Ocena dojrzałości kompostu na podstawie wybranych fizykochemicznych wskaźników, ze szczególnym uwzględnieniem substancji humusowych, *Rozprawa doktorska, Politechnika Koszalińska, Koszalin* 2012.

- [11] Orlow D.S., Grisina L.A., Jerosiceva H.J., *Praktikum po biochemii gumusa*, Izd. Moskovskogo Universiteta, Moskva 1969.
- [12] Droussi Z., D'Orazio V., Hafidi M., Ouattmane A., Elemental and spectroscopic characterization of humic-acid-like compounds during composting of olive mill by-products, *Journal of Hazardous Materials* 2009, 163, 1289-1297.
- [13] Sidelko R., Janowska B., Walendzik I., Siebielska I., Two composting phases running in different process conditions timing relationship, *Bioresource Technology* 2010, 101, 6692-6698.
- [14] Filipek-Mazur B., Tabak M., Zmiany zawartości popiołu, węgla organicznego ogółem oraz węgla związków próchnicznych w osadzie ściekowym kompostowanym z dodatkiem słomy, *Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich* 2010, 14, 57-64.
- [15] Shengying J., Hongzhang C., Near-infrared analysis of the chemical composition of rice straw, *Industrial Crops and Products* 2007, 26, 207-211.
- [16] Kulikowska D., Bilicka K., Analiza przemian materii organicznej i związków azotu podczas kompostowania osadów ściekowych, *Czasopismo Techniczne* 2006, 11, 101-109.

The Assessment of Using NaOH Extraction to Determine the Amount of Humic Substances in Composted Material

The research method which was used in these studies is commonly used to determine concentrations of humic acids and humin acids in the soil. The aim of this study was to evaluate the usefulness of NaOH extraction method of materials taken from the first and last phase of composting. The samples were taken from wastewater treatment plant, which flow target was approximately 28 200 m³ of sewage. The feedstock for composting was dehydrated and fermented sewage sludge mixed with straw, bark and wood chips. Five samples were tested; compost from the second week of composting - hot phase of composting (the sample 1), compost from the fifth week of composting (the sample 2) - end of the hot phase of composting, mature compost (the sample 3) - and of the maturing phase, compost prepared to further use, the dehydrated and fermented sewage sludge and the straw. The sample 1 contained 5.24 g/kg dry matter of the carbon of the humic acids and 3.38 g/kg dry matter of the carbon of the humin acids. The sample 2 contained 5.85 g/kg dry matter of the carbon of the humic acids and 3.52 g/kg dry matter of the carbon of the humin acids. The sample 3 contained 4.53 g/kg dry matter of the carbon of the humic acids and 3.11 g/kg dry matter of the carbon of the humin acids. The sample 4 contained 6.34 g/kg dry matter of the carbon of the humic acids and 3.29 g/kg dry matter of the carbon of the humin acids. The sample 5 contained 6.56 g/kg dry matter of the carbon of the humic acids and 6.14 g/kg dry matter of the carbon of the humin acids. The humic substances, and also the lignin, the cellulose and the hemicellulose were extracted in this method. For this reason, the results of the materials taken from the hot stage may be obviously erroneous. Because of the fact that the mineralisation in the maturing phase of the composting was ended, it can be concluded, that the humic acids have dominated in the final compost. This indicates that the composting was successful. This results suggested, that the NaOH extraction of the humic substances may be recommended only for the mature product of composting - compost.

Keywords: compost, sewage sludge, humic substances, extraction