



Termofilna tlenowa biodegradacja ścieków przemysłu spożywczego

Małgorzata Lasik, Jacek Nowak

Zakład Fermentacji i Biosyntezy, Instytut Technologii Żywności
Pochodzenia Roślinnego,
Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań

Thermophilic aerobic biodegradation of food industry wastewater

Summary

Food industry wastewater is usually characterized by a high biological load as well as elevated temperature. A new and promising technology for rapid and effective biodegradation of such hot and high loaded wastewater is thermophilic aerobic biodegradation process. It is characterized by higher, in comparison with mesophilic processes, substrate degradation, rapid inactivation of pathogenic microorganisms and low production of activated sludge. High biodegradation rate shortens the time of the process and reduces the required volume of bioreactors. Disadvantages of the aerobic thermophilic process are associated with costs of aeration of bioreactors, low capabilities of thermophilic microflora for flocculation, and problems with foaming during fermentation.

Key words:

autothermal thermophilic aerobic biodegradation, food industry wastewater.

Adres do korespondencji

Małgorzata Lasik,
Zakład Fermentacji
i Biosyntezy,
Instytut Technologii
Żywności Pochodzenia
Roślinnego,
Akademia Rolnicza
im. Augusta
Cieszkowskiego,
ul. Wojska Polskiego 31,
60-624 Poznań.

1. Wprowadzenie

Przystąpienie Polski do wspólnoty krajów Unii Europejskiej wiąże się przede wszystkim z dostosowaniem polskiego prawa do norm i standardów obowiązujących wszystkie kraje członkowskie. Ogromną część z nich stanowią regulacje związane z ochroną środowiska, którymi bardzo zainteresowany jest przemysł spożywczy. Decyzją Rady Ministrów, całe terytorium Polski zostało uznane za obszar podatny na eutrofizację. W świetle przepisów unijnych jest to związane z obowiązkiem wdrożenia

na terenie całego kraju, dla aglomeracji powyżej 10 tys. mieszkańców, systemów oczyszczania ścieków z podwyższonym usuwaniem związków biogenych. Polska przygotowała „Program wyposażenia aglomeracji w systemy kanalizacji zbiorczej i oczyszczalnie ścieków” oraz „Program wyposażenia zakładów sektora przemysłu rolno-spożywczego o wielkości ponad 4 tys. równoważnej liczby mieszkańców w oczyszczalniach ścieków”. Realizacja programów, obok organizacji systemów kanalizacji zbiorczej we wszystkich aglomeracjach, obejmuje również budowę, rozbudowę i modernizację oczyszczalni biologicznych o podwyższonym usuwaniu biogenów (1,2). Polska zgłosiła potrzebę rozłożenia realizacji tego Programu w czasie. Wystąpienie do Komisji Unii Europejskiej o przyznanie okresów przejściowych było konieczne ze względu na szczególnie wysoki koszt wdrożenia Dyrektywy. Jest on najwyższy spośród kosztów wdrożenia wszystkich aktów prawnych Unii Europejskiej. Okres przejściowy dla realizacji programu obejmującego oczyszczanie ścieków w zakładach przemysłu rolno-spożywczego określono na 8 lat (do 31.12.2010 r.), dla wszystkich zrzutów ścieków do wód z zakładów reprezentujących równoważną liczbę mieszkańców powyżej 4 tys. (3,4).

Zgodnie z przepisami unijnymi wszystkie zakłady przemysłowe muszą do 2007 r. uzyskać tzw. zintegrowane zezwolenia środowiskowe. W miejsce istniejących obecnie osobnych zezwoleń ekologicznych, np. na wielkość produkowanych ścieków, odpadów czy na emisję pyłów, wprowadzane będą zezwolenia zintegrowane, określające ogólnie dozwoloną emisję zanieczyszczeń na poziomie, który będzie bezpieczny dla środowiska jako całości oraz zapobiegnie przemieszczaniu się zanieczyszczeń pomiędzy ekosystemami. Zezwolenia środowiskowe będą rozpatrywane pod kątem zgodności technologicznej i produkcyjnej danej instalacji z tzw. najlepszymi dostępnymi technologiami (BAT, Best Available Technology). Zaakceptowane i dopuszczone będą tylko te technologie, które najefektywniej zredukują i unieszkodliwią zanieczyszczenia (5). Istnieje zatem potrzeba opracowywania coraz lepszych, efektywniejszych i opłacalnych technologii utylizacji ścieków przemysłowych, tak by spełniały, obowiązujące od 1.01.2003 r., wymagania Ministerstwa Środowiska dotyczące jakości ścieków wprowadzanych do wód lub do ziemi oraz substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (6).

Jedną z bardzo obiecujących technologii oczyszczania ścieków przemysłowych jest termofilna tlenowa biodegradacja. Metoda stosowana jest głównie do oczyszczania mocno obciążonych ścieków, wymagających oprócz dynamicznej biodegradacji również stabilizacji i higienizacji. Technologia ta, jak się wydaje, jest szczególnie odpowiednia dla biodegradacji ścieków przemysłu spożywczego, które charakteryzują się wysokim ładunkiem zanieczyszczeń zarówno biogenych jak i mikrobiologicznych.

2. Charakterystyka termofilnych tlenowych procesów oczyszczania ścieków

2.1. Bilans energetyczny procesu

Głównym celem podjęcia badań nad zastosowaniem termofilnych systemów oczyszczania ścieków było przyspieszenie reakcji degradacji związków organicznych (7-10). Wysokie nakłady energetyczne, potrzebne dla utrzymania podwyższonych temperatur procesu termofilnego oraz konieczność intensywnego napowietrzania podłoża dla zapewnienia warunków tlenowych, były, jak się wydawało, podstawowym ograniczeniem dla zastosowania termofilnego tlenowego procesu oczyszczania ścieków. Zauważono jednak, że energia wydzielana w wyniku tlenowych metabolicznych przemian mikroorganizmów wystarcza do utrzymywania podwyższonych temperatur procesu bez dodatkowego, zewnętrznego ogrzewania układu (11,12). Wolna energia, uwalniana do środowiska w postaci ciepła, wynika z różnicy pomiędzy energią pozyskaną przez drobnoustroje, podczas katabolicznych przemian związków organicznych zawartych w ściekach, a energią wykorzystaną do utrzymania procesów życiowych komórek (8,9,13-17). Stwierdzono, że ilość energii zawartej w wielu powszechnie występujących związkach organicznych wynosi średnio 14,6 kJ/gChZT albo od 33,5 do 50,3 kJ/g węgla (18). Natomiast skuteczność przekształcania różnych związków organicznych w energię, w warunkach tlenowych, waha się w zależności od substratu oraz warunków procesu od 12 do 82% (19). Teoretycznie, ilość ciepła jaka jest wydzielana do układu podczas biologicznego utleniania, powinna wystarczać dla podniesienia i utrzymania temperatury na poziomie temperatur charakterystycznych dla procesów termofilnych. Jednak w konwencjonalnych systemach napowietrzania większość ciepła zostaje wyprowadzona z układu wraz z powietrzem wylotowym, najczęściej w wyniku niewłaściwej konstrukcji oraz braku odpowiedniej izolacji bioreaktorów (8,20-22).

2.2. Transfer tlenu

Czynnikiem wpływającym równie istotnie na bilans cieplny procesu biodegradacji jest skuteczność transferu tlenu. Ilość tlenu, jaka z całkowitej ilości wprowadzonego do układu zostaje zużyta w biologicznych reakcjach utleniania, zależy m.in. od: temperatury, składu podłoża (biomasa, sole, enzymy, surfaktanty), lepkości podłoża oraz czasu i powierzchni kontaktu gazu z cieczą (17,23,24). Wiadomo, że rozpuszczalność tlenu w wodzie zmniejsza się wraz ze wzrostem temperatury. Jest to zależność liniowa w zakresie temperatur od 20 do 80°C, w których rozpuszczalność tlenu obniża się odpowiednio od 9,43 do 2,88 mgO₂/dm³ (25,26). Zjawisko to nie jest korzystne, biorąc pod uwagę wysokie zapotrzebowanie na tlen termofilnych mi-

drogą tlenową. Jednakże wraz ze wzrostem temperatury zmniejsza się lepkość oraz napięcie powierzchniowe podłoża, a to z kolei przyczynia się do wzrostu rozpuszczalności tlenu. Biorąc pod uwagę wszystkie parametry procesu, stopień transferu tlenu w warunkach termofilnych może być porównywalny do jego wartości w warunkach mezofilnych (13,27).

Zwiększenie skuteczności transferu tlenu możliwe jest poprzez zastosowanie odpowiedniej konstrukcji urządzeń. Zastosowanie specjalnych systemów napowietrzania oraz mieszadeł pozwalających na rozbicie pęcherzyków powietrza wprowadzanego do bioreaktora, znacznie zwiększa powierzchnię kontaktu gazu z cieczą (20-23,28). Istotną rolę w transferze tlenu odgrywa również wysokość użytych bioreaktorów. Proporcjonalnie do wysokości słupa cieczy, wydłużony zostaje czas kontaktu cieczy i mikroorganizmów z pęcherzykami powietrza. Pozwala to na lepsze wykorzystanie tlenu podczas procesu, o czym świadczyć może zmniejszanie zawartości tlenu w powietrzu odlotowym, proporcjonalnie do wysokości stosowanych bioreaktorów (21,23). Do badań nad oceną możliwości biodegradacji ścieków podczas termofilnej obróbki tlenowej wykorzystywano głównie bioreaktory z systemem mieszania i napowietrzania typu STR, *stirred tank reactor* (15,20,21,29-37). Zastosowanie znalazły również m.in. bioreaktor z wypełnieniem – *fixed bed type* (38), bioreaktor z napowietrzaniem bez systemu mieszania (39), bioreaktor z aeratorem Venturiego (24,40), bioreaktor z systemem rozpylającym – *cocurrent downflow contractor* CDC (23), bioreaktor sekwencyjny – *sequencing batch reactor* SBR (41) oraz bioreaktor z biofilmem – *bed biofilm reactor* (42). Pomimo zastosowania różnych rozwiązań systemów napowietrzania substratu biodegradowanego w termofilnych procesach tlenowych, obserwuje się okresy kiedy ilość tlenu dostarczanego do układu jest nadal niewystarczająca. Mikroflora procesu w fazie intensywnego wzrostu charakteryzuje się szczególnie wysokim zapotrzebowaniem na tlen. Jest on wtedy wykorzystywany całkowicie co w konsekwencji prowadzi do wytworzenia w bioreaktorach warunków mikrotlenowych (stężenie tlenu rozpuszczonego bliskie zero). Zauważono, że najwyższe tempo redukcji ChZT ścieków występuje właśnie w czasie intensywnego przyswajania przez drobnoustroje tlenu z podłoża. Zapewnienie możliwie kontrolowanej ilości tlenu rozpuszczonego w środowisku jest czynnikiem istotnie wpływającym na efektywność procesu biodegradacji (9,14,24,32-37).

2.3. Zalety i wady procesu wysokotemperaturowej tlenowej biodegradacji

2.3.1. Stabilność i samoregulacja

Gromadzenie ciepła w układzie uzależnione jest od masy zawartych w nim substancji organicznych, ulegających biologicznemu utlenianiu (43). Temperatura układu podwyższa się zatem, wraz ze wzrostem jego biologicznego obciążenia. Zwięk-

szanie obciążenia ścieków nie powoduje jednak proporcjonalnego wzrostu temperatury procesu. Nie dzieje się tak z dwóch powodów. Po pierwsze, staje się układem o ograniczonym transferze tlenu, co powoduje zmniejszenie ilości utlenianych substancji organicznych i w konsekwencji stabilizację temperatury. Po drugie, temperatura ma znaczący wpływ na liczbę i aktywność komórek mikroorganizmów biorących udział w procesie. Autotermiczny (samozagrzewalny) termofilny proces tlenowy (ATAD, ang. *Autothermal Thermophilic Aerobic Digestion*) jest zatem systemem samoregulującym. Stwierdzono, że wzrost temperatury powyżej 60°C, spowodowany rosnącym obciążeniem układu, hamuje procesy życiowe drobnoustrojów, co z kolei zmniejsza masę usuwanych związków organicznych oraz stabilizuje temperaturę procesu (8,9,12,13,20,21,42,44).

Należy podkreślić, że niektóre ścieki przemysłowe charakteryzują się wysoką temperaturą, sięgającą nawet 100°C. Ścieki po procesie wydzielania białka z wód sokowych ziemniaków powstających podczas produkcji skrobi, czy ścieki przemysłu fermentacyjnego – szczególnie pochodzące z browarów oraz gorzelnii, muszą być chłodzone przed poddaniem ich oczyszczaniu w warunkach procesów mezofilnych. Koszty chłodzenia można zatem zredukować lub całkowicie wyeliminować przeprowadzając proces oczyszczania w warunkach termofilnych (34,35,39,41).

2.3.2. Relatywnie mała produkcja biomasy (osadów)

Wysoka stabilność procesu, zdolność do jego samoregulacji oraz krótkie czasy retencji ścieków i związane z tym mniejsze objętości bioreaktorów (nawet sześciokrotnie) to jednak nie wszystkie zalety tlenowej termofilnej biodegradacji ścieków. Podwyższona temperatura powoduje również zmniejszenie biomasy mikroorganizmów syntetyzowanej w podłożu oraz przyczynia się do inaktywacji mikroflory patogenicznej (9,14,17,20-22,24,45).

Drobnoustroje termofilne wymagają, dla utrzymania swoich procesów życiowych, większej ilości energii niż mikroorganizmy mezofilne. Z całkowitej ilości energii, powstającej podczas termofilnego utleniania związków organicznych, większa część zostaje wykorzystana podczas metabolicznych przemian drobnoustrojów, mniejsza natomiast do wytwarzania nowych komórek. Stąd też, procesy zachodzące w podwyższonych temperaturach charakteryzują się relatywnie niską produkcją biomasy, w stosunku do procesów mezofilnych (8,16,24,41,43,46-51).

2.3.3. Biomasa o wysokiej wartości odżywczej, wolna od patogenów

Biomasa mikroorganizmów powstająca w procesie termofilnym może być bogatym źródłem białek i witamin nadających się do wzbogacania pasz. W badaniach dotyczące oceny aminokwasowego składu białek komórkowych wykazano, że biomasa

mikroorganizmów termofilnych stanowi bogatsze źródło pożywienia dla zwierząt w porównaniu z biomasą komórkową mikroorganizmów hodowanych w warunkach mezofilnych (52). Mikroflorę termofilną, wyizolowaną z gleby, ścieków, siana i kiszzonek, wykorzystano np. do produkcji białka bakteryjnego (SCP) na syntetycznym podłożu mikrobiologicznym, podczas procesu fermentacji ciągłej, w temperaturze 58°C (13). Zawartość białek w biomasie bakterii wahała się w granicach od 36 do 45%, w zależności od szybkości rozcieńczenia podłoża. W Stanach Zjednoczonych opatentowano metodę produkcji biomasy bakteryjnej podczas termofilnej fermentacji tlenowej. Biomasa syntetyzowana w zakresie temperatur od 45 do 65°C stanowiła bogate źródło egzogennych aminokwasów takich jak: walina, leucyna, izoleucyna, lizyna i tryptofan. Otrzymane preparaty białkowe przeznaczone były dla suplementacji diety ludzi i zwierząt (53). Natomiast w Kanadzie (15), podczas tlenowego termofilnego procesu oczyszczania ścieków z rzeźni, wyprodukowano biomasę mieszaną populacji bakterii termofilnych, której 70% suchej substancji stanowiło białko. Jego skład aminokwasowy w pełni odpowiadał zapotrzebowaniu żywieniowemu zwierząt. Stwierdzono ponadto korzystny dla ich diety profil kwasów tłuszczowych zawartych w analizowanej biomasie bakteryjnej.

Biomasa powstająca podczas procesów termofilnych jest również bezpieczna pod względem skażenia drobnoustrojami patogennymi. Podwyższone temperatury procesu mają istotny wpływ na stabilizację i higienizację przetwarzanego materiału (9,14,21,24,54,55). W badaniach przeprowadzonych w szwedzkim Instytucie Inżynierii Rolnictwa wykazano, że 24-godzinny proces przeprowadzony w temperaturze 55°C wystarcza dla inaktywacji termotolerancyjnych bakterii *Escherichia coli*, bakterii z rodzaju *Salmonella*, paciorkowców kałowych oraz jaj pasożytów. Natomiast inni autorzy podają, że już 12-godzinne działanie temperatury 55°C powoduje skuteczne zniszczenie bakterii *Escherichia coli* typu kałowego, wirusa wywołującego chorobę Heinego Medina oraz bakterii odpowiedzialnych za takie choroby jak: salmonelloza, brucelloza, cholera, czerwonka czy dur brzuszny (16,56-59). Termofilne temperatury stosowane podczas procesu biodegradacji, istotnie ograniczają również obecność keratynofilnych i keratynolitycznych grzybów. Występują one w dużych ilościach w ściekach i osadach. Wysoka proteolityczna, keratynolityczna i lipolityczna aktywność tych drobnoustrojów ułatwia biodegradację odpadów organicznych bogatych w keratynę, jednak ich obecność w środowisku stanowi duże zagrożenie dla zdrowia człowieka wywołując np. grzybice skóry i paznokci (60,61).

Zastosowanie termofilnego procesu oczyszczania ścieków pozwala na istotne obniżenie liczby obecnych w nich mikroorganizmów patogennych. Może również skutecznie ograniczyć konieczność chlorowania ścieków już oczyszczonych, przeznaczonych np. do dalszego rolniczego wykorzystania. Można dzięki temu istotnie zmniejszyć ilości wprowadzanych do środowiska związków chloru, toksycznie wpływających na faunę i florę zbiorników wodnych (62).

2.3.4. Napowietrzanie i pienienie

Wady termofilnego tlenowego procesu biodegradacji związane są m. in. ze wspomnianymi już znacznymi kosztami napowietrzania podłoża w reaktorach, które jednak przy zastosowaniu odpowiedniej konstrukcji urządzeń można istotnie ograniczyć (20). Problem stanowi natomiast zjawisko pienienia się podłoża. Intensywne mieszanie i napowietrzanie powoduje powstawanie piany (9,22,63). Zmniejsza to objętości robocze bioreaktorów. W takich przypadkach konieczne jest użycie m.in. mechanicznych lub ultradźwiękowych łamaczy piany, albo innych systemów, np. niszczenia nadmiaru piany w oddzielnych cyklonach i zawracania w postaci płynu do bioreaktora. Często stosuje się również dodatek do podłoża hodowlanego syntetycznych lub organicznych odpieniaczy. Skutecznie pozwala to eliminować zjawisko pienienia jednak, szczególnie syntetyczne odpieniacze mogą powodować zahamowanie wzrostu oraz aktywności biochemicznej mikroorganizmów (20,44,64).

2.3.5. Utrudniona sedymentacja osadów

Procesy termofilne charakteryzują się również słabymi zdolnościami do sedymentacji i flokulacji osadów (9,21,41,58,65). Podwyższona temperatura procesu oraz intensywne napowietrzanie i mieszanie ścieków powodują wytworzenie zdyspergowanej zawiesiny. Zawieszone w niej cząstki stałe ścieków oraz biomasa mikroorganizmów bardzo trudno ulegają sedymentacji. Stosowanie flokulantów, dla aglomeracji większych i szybciej opadających cząstek, jest zdecydowanie mniej skuteczne niż podczas flokulacji materiału obrabianego w warunkach mezofilnych. Dowiedziano, że dla odwodnienia osadów ściekowych powstałych podczas biodegradacji w warunkach autotermicznego tlenowego procesu biodegradacji potrzeba od 3 do 10 razy większej ilości flokulantów, w porównaniu z odwodnieniem osadów po procesie oczyszczania w warunkach mezofilnych (66). Podwyższona temperatura procesu powoduje istotne obniżenie lepkości oczyszczanych ścieków, co w rezultacie powinno ułatwiać osiadanie osadów ściekowych i biomasy (42,67). Niestety w procesach tlenowych, związanych z intensywnym mieszaniem i napowietrzaniem podłoża, sedymentacja i odwadnianie osadów są pomimo obniżenia lepkości środowiska bardzo utrudnione (9,41,68,69).

2.4. Wpływ temperatury i rodzaju ścieków na efektywność procesu biodegradacji

Przebieg oraz efektywność procesu biodegradacji ściśle związane są z temperaturą oraz rodzajem oczyszczanych ścieków. Na podstawie rezultatów wstępnych badań laboratoryjnych donosi się, że podwyższanie temperatury powyżej 65°C wpły-

wa niekorzystnie na efektywność procesu biodegradacji. Procesy oczyszczania przeprowadzane w temperaturach do 45 lub 55°C pozwalały na redukcję zanieczyszczeń sięgającą 80%. Natomiast w temperaturach powyżej 65 czy 70°C często obserwowano już bardzo niską aktywność metaboliczną lub wręcz brak wzrostu mikroorganizmów (15,34,36,41,70). Może to świadczyć o samoregulującym charakterze procesu (8,9,12,13,20,21,42). Stwierdzono także istotny wpływ temperatury na rodzaj wykorzystywanych z podłoża składników. W temperaturach powyżej 55°C, większe wykorzystanie przez mikroorganizmy węgla organicznego oraz azotu obserwowano, np. podczas biodegradacji ścieków z przemysłu ziemniaczanego (37), z przemysłu papierniczego (41,71), podczas utylizacji wywaru ziemniaczanego (34) oraz ścieków z przemysłu mięsnego (72,73). Odnotowano również, w temperaturze 60°C, istotnie wyższą w porównaniu z temperaturami mezofilnymi degradację długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (41). Lepsze wykorzystanie węgla organicznego z podłoża autorzy tłumaczyli najczęściej łatwiejszą, w warunkach podwyższonej temperatury, hydrolizą związków lignino-celulozowych obecnych w ściekach (14,41,74).

Ze względu na rodzaj i skład chemiczny ścieków oraz specyfikę mikroflory biorącej udział w ich biodegradacji, wielu badaczy podejmowało próby zastosowania dwuetapowego procesu oczyszczania. Dla podwyższenia efektywności utylizacji ścieków proponowano np. technologię najpierw mezofilnej (45°C), a następnie termofilnej (65°C) tlenowej biodegradacji (32,33,75). Taki układ procesu zastosowano np. podczas oczyszczania ścieków przemysłu mleczarskiego. Wprowadzenie drugiego, termofilnego etapu pozwoliło na prawie dwukrotne zwiększenie szybkości redukcji ChZT z 0,74 g/dm³h w 45°C do 1,57 g/dm³h w 60°C oraz istotne podwyższenie efektywności procesu z 44 do 62% redukcji ChZT. Dwustopniowy system oczyszczania wykorzystywano również stosując najpierw termofilne, a następnie mezofilne, tlenowe lub beztlenowe warunki procesu (58,74). Zastosowanie tlenowej termofilnej biodegradacji ścieków np. z przemysłu mięsnego (58) zwiększyło redukcję ChZT z 44%, podczas jednoetapowego procesu mezofilnego, do 67% podczas dwustopniowego procesu termo (62°C) i mezofilnego (37°C). Zaobserwowano także korzystny wpływ wstępnej obróbki termofilnej na produkcję metanu, podczas drugiego, mezofilnego, beztlenowego etapu oczyszczania oraz prawie dwukrotnie mniejszą produkcję siarkowodoru w porównaniu z jednoetapowym procesem beztlenowej utylizacji w temperaturze 37°C. Poddanie ścieków obróbce w podwyższonych temperaturach pozwoliło również na inaktywację mikroorganizmów patogennych obecnych w ściekach oraz przyczyniło się do łatwiejszego odwadniania powstałych osadów ściekowych.

2.5. Mikroflora tlenowego termofilnego procesu biodegradacji

Skład mikroflory tlenowego procesu termofilnego różni się od konwencjonalnego osadu czynnego przede wszystkim tym, że nie występują w nim bakterie nitryfikujące, organizmy flokulujące, protozoa i inne formy życia. Przyczyna niewytwarzania

nia form flokulujących jest jak dotąd nie wyjaśniona. Do mikroorganizmów, najczęściej wykorzystywanych w tlenowych termofilnych procesach biodegradacji należą głównie bakterie z rodzaju *Bacillus*, *Thermus* lub *Actinomyces* (13,38,41,70,76,77). Drobnoustroje izolowane są najczęściej z gorących źródeł, gleby, kompostów, wód powierzchniowych, ścieków oraz zepsutej żywności (13,78).

Mikroflorę wykorzystywaną w procesach biodegradacji stanowią najczęściej kultury mieszane. Charakteryzują się one istotnie wyższą aktywnością biologiczną oraz niższymi wymaganiami pokarmowymi w porównaniu z aktywnością mikroorganizmów występujących pojedynczo. Jest to najprawdopodobniej wynikiem synergistycznych oddziaływań występujących pomiędzy drobnoustrojami podczas wzrostu w populacjach mieszanych. Ich brak, w przypadku pojedynczo występujących monokultur, istotnie wpływa na obniżenie aktywności, a zarazem zdolności biodegradacyjnych mikroflory procesu (79-83).

W wielu badaniach wskazuje się również na to, że kultury biorące udział w procesie biodegradacji nie są typowymi mikroorganizmami termofilnymi, a raczej kulturami mieszanymi bakterii mezofilnych i termofilnych lub termotolerancyjnych (32-34,70,78). Najczęściej bowiem podwyższanie temperatury procesu powyżej 60-70°C powodowało osłabienie wzrostu drobnoustrojów, a w efekcie istotne obniżanie stopnia oczyszczania ścieków (34,41,70). Zauważono również zróżnicowanie składu mikroflory w zależności od temperatury procesu. W badaniach nad biodegradacją wysoko obciążonych ścieków organicznych, odnotowano, wraz z podwyższaniem temperatury, w zakresie od 20 do 60°C, wyraźne zmniejszanie się różnorodności gatunkowej mikroorganizmów oraz zwiększający się procentowy udział populacji termofilnych bakterii z rodzaju *Bacillus* (50). W zależności od rodzaju ścieków, ich składu oraz warunków procesu oczyszczania obserwowano naturalną selekcję organizmów, ich adaptację do danego środowiska oraz wytworzenie specyficznych współzależności i układu równowagi pomiędzy drobnoustrojami (41,70,75).

3. Przykłady zastosowań wysokotemperaturowych tlenowych procesów oczyszczania ścieków w przemyśle spożywczym

Jedną z modyfikacji konwencjonalnego procesu z użyciem aktywnego osadu czynnego jest system tlenowego termofilnego oczyszczania ścieków, który opracowano dla utylizacji ścieków o wysokiej koncentracji materii organicznej i podwyższonej temperaturze (9,17,24,41,45,84). Pierwsze próby zastosowania termofilnego tlenowego systemu (TAD, ang. *Thermophilic Aerobic Digestion*) przypadają na lata sześćdziesiąte i siedemdziesiąte ubiegłego wieku. Systemy takie tworzone i udoskonalano głównie w Niemczech, a także w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Norwegii, Wielkiej Brytanii, Francji i Włoszech (20,21).

W 1986 r. Komisja Europejska wydała Dyrektywę o ochronie gleb, służących do rolniczej utylizacji ścieków, szczególnie podkreślającą konieczność higienizacji

ścieków oraz obniżenia w nich substancji odorowych (85). Kraje członkowskie zostały zobowiązane do podjęcia zdecydowanych działań dla opracowania odpowiednich technologii utylizacji ścieków i odpadów. Przyczyniło się to do zintensyfikowania badań nad możliwością wykorzystania systemu wysokotemperaturowej tlenowej biodegradacji ścieków przemysłowych ze szczególnym uwzględnieniem wysoko obciążonych, wymagających specyficznej i dynamicznej obróbki ścieków przemysłu spożywczego.

Od 1990 r., Uniwersytet Rolniczy w Norwegii we współpracy z firmą Alfa Laval Agri Ltd. przeprowadza badania nad opracowaniem konstrukcji reaktora dla prowadzenia tlenowej termofilnej biodegradacji ścieków organicznych (20). Celem badań, poza obniżeniem obciążenia ścieków, było zapewnienie stabilizacji i higienizacji oczyszczonego produktu, tak by spełniał obowiązujące wymogi sanitarne. Wymagania dotyczyły w szczególności zapewnienia minimalnych czasów retencji, niezbędnych dla higienizacji ścieków, wynoszących 23 godziny w temperaturze 50°C, 10 godzin w temperaturze 55°C lub 4 godziny w temperaturze 60°C. Rezultatem badań była propozycja konstrukcji czterech bioreaktorów o pojemnościach roboczych 10; 11,5; 17,5 oraz 32 m³, przeznaczonych do prowadzenia oczyszczania ścieków w warunkach termofilnego procesu tlenowego.

W latach od 1995 do 1998, w ramach pięciu niezależnych projektów badawczych, prowadzono badania nad sposobem utylizacji ścieków i odpadów z gospodarstw rolnych w Norwegii i Szwecji (21). Ścieki poddawane były obróbce w warunkach tlenowych w temperaturze od 55 do 60°C. Proces charakteryzował się wysokim zapotrzebowaniem na tlen oraz słabą jego rozpuszczalnością w podłożu. W efekcie egzotermicznych reakcji rozkładu substancji organicznych przez bakterie tlenowe, odnotowano samoczynne podnoszenie się i utrzymywanie temperatury substratu w bioreaktorze na poziomie od 50 do 60°C. Nie stwierdzono natomiast wydzielania się amoniaku ani innych substancji odorowych. Produkt pofermentacyjny spełniał wymogi higieniczne Norweskiego Ministerstwa Środowiska. Stabilność otrzymanego produktu pozwalała na jego przechowywanie przez 10 miesięcy z przeznaczeniem do dalszego wykorzystania rolniczego.

Tabela

Przykłady zastosowań termofilnej tlenowej biodegradacji ścieków przemysłu spożywczego

Rodzaj i obciążenie (gO ₂ /dm ³) ścieków	Typ procesu	Mikroorganizmy	Parametry procesu temp. (°C), napowietrzanie	Zakres redukcji zanieczyszczeń (%)	Literatura
1	2	3	4	5	6
serwatka ChZT= 26-40	proces okresowy (32 h)	mieszana kultura <i>Bacillus</i> sp.	45-65 0,5-3 vvm 500-1500 rpm	red. ChZT= 57-66 red. białka= 46-49	(32)

1	2	3	4	5	6
przemysł ziemniaczany BZT ₅ = 0,6-1,7	proces okresowy (96 h)	mieszana kultura bakterii z rodz. <i>Bacillus</i> i <i>Lactobacillus</i>	55 0,6 vvm	red. BZT ₅ = 98 red. s.s. = 75 red. skrobi = 96	(39)
przemysł ziemniaczany ChZT = 20-35 BZT ₅ = 10-17	procesy okresowe (96 h) i ciągłe	mieszane kultury <i>Bacillus</i> sp.	45-62 1,4-1,6 vvm 550 rpm	red. ChZT = 63-81 red. OWO = 59-89 red. N = 16-24 red. P = 23-28	(35,37)
wywar gorzelniczny ChZT = 49-104	proces okresowy (48 h)	mieszana kultura <i>Bacillus</i> sp.	50-60 1,6 vvm 550 rpm	red. ChZT = = 49,6-76,7 red. OWO = = 49,6-76,5 red. N = 24,2-28,1 red. P = 46,1-57,9	(34)
przemysł mięsny ChZT = 3 BZT ₅ = 1,9	proces ciągły	kultura wyizolowana ze ścieków miejskich	45-58 0,7 vvm 200 rpm	red. ChZT = 86-90	(15)
przemysł tłuszczowy ChZT = 77 zaw. 16 g tłuszczu dm ⁻³	proces ciągły	<i>Bacillus thermoleovorans</i>	65 0,05-3 vvm 2000 rpm	red. tłuszczu = 90	(31)

System termofilnej tlenowej biodegradacji stosowano także do oczyszczania ścieków przemysłowych, w tym głównie ścieków przemysłu spożywczego (tab.). Procesowi tlenowej biodegradacji w temperaturze 65°C poddawano np. wysoko obciążone ścieki przemysłowe, których ChZT wynosiło średnio 77 gO₂/dm³ (31). Substancje tłuszczowe ogółem, sięgające początkowo ok. 16 g/dm³, uległy degradacji w 90%, natomiast lotne kwasy tłuszczowe obecne w ściekach zostały całkowicie wykorzystane. Porównując efektywność procesów prowadzonych w warunkach mezofilnych i z użyciem systemu TAD, zdecydowanie wyższy stopień degradacji związków tłuszczowych odnotowano w warunkach termofilnych.

Proces tlenowej fermentacji termofilnej zastosowano również do oceny możliwości zmniejszenia obciążenia ścieków przemysłu ziemniaczanego (39). Po usunięciu osadu ściekowego, supernatant o relatywnie niskim ładunku obciążenia BZT₅ wahającym się w granicach od 0,6 do 1,7 gO₂/dm³ oraz zawartości suchej substancji od 0,31 do 0,49 g/dm³, poddano tlenowemu procesowi biodegradacji w temperaturze 55°C. Najwyższe tempo biodegradacji ścieków obserwowano przez 48 godzin procesu. Ostatecznie, po 96 godzinach odnotowano 98% redukcji BZT₅ oraz zmniejszenie zawartości suchej substancji i skrobi odpowiednio o 75 i 96%.

System TAD wykorzystywano także w badaniach nad możliwością oczyszczania ścieków z przemysłu mięsnego (15). Ścieki pochodzące z rzeźni przerabiającej średnio 2,5 tys. świń dziennie, były w warunkach laboratoryjnych odtłuszczane i poddawane tlenowej obróbce w zakresie temperatur od 45 do 58°C. Redukcja obciążenia

ścieków, o średniej początkowej wartości ChZT wynoszącej $3 \text{ gO}_2/\text{dm}^3$, sięgała 86 i 90% w temperaturach odpowiednio od 45 do 52°C i 58°C.

Prowadzenie procesu w warunkach podwyższonej temperatury, pozwala na szybką higienizację i stabilizację produktu. Jednakże, szczególnie w przypadku ścieków wysoko obciążonych, nie zawsze możliwe jest uzyskanie zadowalających redukcji zanieczyszczeń. System tlenowej termofilnej biodegradacji może być wtedy stosowany jako etap wstępnego podczyszczania takich ścieków. Termofilna tlenowa obróbka wstępna w temperaturze 60°C, okazała się bardzo przydatna, np. dla biodegradacji związków chemicznych zawartych w ściekach, nie ulegających rozkładowi w temperaturach mezofilnych oraz dla inaktywacji mikroflory patogennej (14). Jednak dla osiągnięcia spełniającego wymogi ekologiczne stopnia mineralizacji i stabilizacji materiału, z przeznaczeniem do dalszego rolniczego wykorzystania, niezbędnym był drugi etap beztlenowego oczyszczania w warunkach mezofilnych (14,54).

Również w Japonii (86), termofilny tlenowy proces wykorzystano do wstępnej obróbki ścieków pochodzących z hodowli koni. Ścieki poddane takiej obróbce były zdecydowanie lepszym materiałem do produkcji biogazu w drugim, beztlenowym, etapie oczyszczania. Stwierdzono 1,5 razy wyższą produkcję biogazu ze ścieków poddanych wstępnej obróbce termofilnej, w porównaniu ze ściekami bezpośrednio poddanych fermentacji beztlenowej. Podobnie, wyższą produkcję biogazu po wstępnej termofilnej tlenowej obróbce ścieków pochodzących z hodowli świń zanotowali Pagilla i in. (58). Dodatkowo zauważyli, że osady po dwustopniowym procesie utylizacji, termofilnym tlenowym i mezofilnym beztlenowym, łatwiej ulegały odwodnieniu.

W Polsce badania nad wysokotemperaturowymi tlenowymi procesami biodegradacji prowadzone są m.in. w Katedrze Technologii Chemicznej Politechniki Gdańskiej. Opracowano tam konstrukcję reaktora rurowego obiegowego, który wykorzystywano do autotermicznej tlenowej higienizacji osadów nadmiernych (87). Ponadto, od 2000 r. trwają również badania w Katedrze Inżynierii Bioprocessowej Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu oraz w Zakładzie Fermentacji i Biosyntezy Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Akademii Rolniczej w Poznaniu. Oba polskie ośrodki wraz z partnerami z Czech, Wielkiej Brytanii, Grecji i Portugalii, w ramach projektu V Programu Ramowego Unii Europejskiej pt. „Enhanced, Intelligent Processing of Food and Related Wastes using Thermophilic Populations”, badali możliwości zastosowania tlenowego termofilnego procesu dla biodegradacji m.in. ścieków mleczarskich (32,33), ziemniaczanych (35,37) oraz wywarów gorzelnicznych (34).

System termofilnej autotermicznej biodegradacji wykorzystywany jest od niedawna w Polsce również w skali przemysłowej. Proces FUCHS ATAD (własność Fuchs Gas i Wassertechnik) stosowany jest w oczyszczalni ścieków w Fabryce Papieru Szczecin-Skolwin S.A., do termofilnej autotermicznej stabilizacji tlenowej osadów. Proces prowadzi się szarżami, w temperaturze 65°C, a całkowity czas zatrzymania

osadów w reaktorach wynosi ok. 10 dni. Ze względu na egzotermiczny charakter procesu niezbędne jest okresowe schładzanie bioreaktora. W efekcie otrzymywany jest stabilny i całkowicie zhygienizowany osad, spełniający warunki dla odpadów biologicznych klasy A, gotowy np. do rolniczego lub przyrodniczego wykorzystania.

4. Podsumowanie

Zastosowanie wysokotemperaturowego tlenowego systemu oczyszczania ścieków może okazać się bardzo efektywną metodą utylizacji szczególnie dla ścieków specyficznych, o podwyższonej temperaturze oraz wysokim ładunku zanieczyszczeń organicznych. Wysokie tempo biodegradacji, krótkie czasy retencji, jak również niska produkcja osadów to niewątpliwe zalety procesu. Dotychczasowe badania oraz pierwsze przemysłowe próby zastosowania tej technologii dowodzą, że może być z powodzeniem stosowana w celu szybkiego wstępnego oczyszczenia ścieków, ze szczególnym uwzględnieniem ich stabilizacji i higienizacji. Jednak jego zastosowanie na szerszą skalę wymaga jeszcze wielu badań, z jednej strony nad sposobami regulacji i kontroli procesu, z drugiej natomiast nad bliższym poznaniem mikroflory biorącej w nim udział, interakcji zachodzących pomiędzy drobnoustrojami oraz ich wymaganiami środowiskowymi.

Literatura

1. Górski M., (1998), *Ekol. i Techn.* 6, 131-136.
2. Nitecka E., (2003), *Mat. konf.*, „Zmiany organizacyjne i prawne związane z akcesją Polski do UE”, Polfood, Poznań.
3. Krukowska M., (2001), *Przem. Ferment. i Owoc. Warz.*, 10, 18.
4. Kindler J., (2000), *Mat. Konf.*, „Wizja gospodarki wodnej w Polsce XXI wieku”, Wrocław.
5. Radziejowski J., (2001), *Przem. Ferment. i Owoc. Warz.*, 10, 14-15.
6. *Rozp. Min. Środow.* z 29.11.2002, *Dz. U.*, nr 212, poz. 1799, 13403-13427.
7. Goughran E. R. L., (1947), *Bacteriol. Rev.*, 11, 189-194.
8. Jewell W. J., Kabrick R. M., (1980), *J. WPCF.*, 52, 512-523.
9. LaPara T. M., Alleman J. E., (1999), *Wat. Res.*, 33, 895-908.
10. Sakai Y., Aoyagi T., Shiota N., Akashi A., Hasegawa S., (2000), *Wat. Sci. Technol.*, 42, 81-88.
11. Kambhu K., Andrews J. F., (1969), *J. Wat. Pollut. Contr. Feder.*, 41, 127-141.
12. Popel F. V., Ohnmacht C., (1972), *Wat. Res.*, 6, 807-815.
13. Surucu G. A., Engelbrecht R. S., Chian E. S. K., (1975), *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 1639-1662.
14. Mason C. A., Haner A., Hamer G., (1992), *Wat. Sci. Technol.*, 25, 113-118.
15. Couillard D., Zhu S., (1993), *Environm. Pollut.*, 79, 121-126.
16. Cheunbarn T., Pagilla K. R., (1999), *J. Environm. Eng.*, 127, 626-629.
17. Gavrilescu M., Macoveanu M., (1999), *Acta Biotechnol.*, 19, 111-145.
18. Serviz J. A., Bogan R. H., (1963), *Progr. Amer. Soc. Civil Eng.*, 89, 17-19.
19. McCarty P. L., (1965), *Adv. Wat. Pollut. Contr. Res.*, 2, 169-171.
20. Skjelhaugen O. J., (1999), *Wat. Res.*, 33, 1593-1602.
21. Skjelhaugen O. J., (1999), *J. Agric. Eng. Res.*, 73, 373-382.
22. Ros M., Zupancic G. D., (2002), *Acta Chim. Slov.*, 49, 931-943.

23. Boyes A. P., Chughtai A., Khan Z., Raymahasay S., Sulidis A. T., Winterbottom J. M., (1995), *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 64, 55-65.
24. Ponti C., Sonnleitner B., Fiechter A., (1995), *J. Biotechnol.*, 38, 183-192.
25. Perry R. H., Green, (1984), *Chemical Engineers Handbook*, Ed. McGraw-Hill, New York, USA.
26. Boogerd F. C., Bos P., Kuenen J. G., Heijnen J. J., van der Lans R. G. J. M., (1990), *Biotechnol. Bioeng.*, 35, 1111-1119.
27. Vogelaar J. C. T., Klapwijk A., van Lier J. B., Rulkens W. H., (2000), *Wat. Res.*, 34, 1037-1041.
28. Alfa Laval Agri, (1991), Patent 9102019-8, Szwecja.
29. Couillard D., Garipey S., Tran F. T., (1989), *Wat. Res.*, 23, 573-579.
30. Zvauya R., Parawira W., Mawadza C., (1994), *Biores. Technol.*, 48, 273-274.
31. Becker P., Kostner D., Popov M. N., Markossian S., Antranikian G., Markl H., (1999), *Wat. Res.*, 33, 653-660.
32. Kosseva M. R., Kent C. A., Lloyd D. R., (2001), *Biotechnol. Lett.*, 23, 1675-1679.
33. Kosseva M. R., Kent C. A., Lloyd D. R., (2003), *Biochem. Eng. J.*, 15, 125-130.
34. Cibis E., Kent C. A., Krzywonos M., Garncarek Z., Garncarek B., Miśkiewicz T., (2002), *Biores. Technol.*, 85, 57-61.
35. Nowak J., Lasik M., Miśkiewicz T., Czarnecki Z., (2002), *Mat. konf. Waste Management, Cadiz, Hiszpania*, 655-663.
36. Krzywonos M., (2004), *Biodegradacja wywaru ziemniaczanego z wykorzystaniem naturalnej szczepionki*, praca doktorska, Akademia Ekonomiczna, Wrocław.
37. Lasik M., (2004), *Możliwości biodegradacji ścieków przemysłu ziemniaczanego przy użyciu mieszanych kultur bakterii termofilnych*, praca doktorska, Akademia Rolnicza, Poznań.
38. Beaudet R., Gagnon C., Bisaillon J. G., Ishaque M., (1990), *Appl. Environm. Microb.*, 56, 971-976.
39. Malladi B., Ingham S. C., (1993), *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 9, 45-49.
40. Burt P., Littlewood M. H., Morgan S. F., Dancer B. N., Fry J. C., (1990), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 33, 721-724.
41. Tripathi C. S., Allen D. G., (1999), *Wat. Res.*, 33, 836-846.
42. Jahren S. J., Rintala J. A., Odegaard H., (2002), *Wat. Res.*, 26, 1067-1075.
43. Matsch L. C., Drnevich R. F., (1977), *J. WPCF.*, 2, 296-310.
44. Chiang C. F., Lu C. J., Sung L. K., Wu Y. S., (2001), *Wat. Sci. Technol.*, 43, 251-258.
45. Rozih A. F., Bordacs K., (2002), *Wat. Sci. Technol.*, 46, 83-89.
46. Sonnleitner B., Cometta S., Fiechter A., (1982), *Europ. J. Appl. Microb. Biotechnol.*, 15, 75-82.
47. Sonnleitner B., Cometta S., Fiechter A., (1982), *Biotechnol. Bioeng.*, 24, 2597-2599.
48. Low E. W., Chase H. A., (1999), *Wat. Res.*, 33, 1119-1121.
49. Sakai Y., Aoyagi T., Shiota N., Akashi A., Hasegawa S., (2000), *Wat. Sci. Technol.*, 42, 81-88.
50. Lim B. R., Huang X., Hu H-Y., Goto N., Fujie K., (2001), *Wat. Sci. Technol.*, 43, 131-137.
51. Shiota N., Akashi A., Hasegawa S., (2002), *Wat. Sci. Technol.*, 45, 127-134.
52. Mateles R. I., (1967), *Science*, 166, 1322-1323.
53. Hitzman D. O., (1981), *United States Patent 4,302,542*.
54. Hamer G., Zwiefelhofer H. P., (1986), *Chem. Eng. Res. Design.*, 64, 417-424.
55. Baier U., Zwiefelhofer H. D., (1991), *Wat. Environm. Technol.*, 3, 56-61.
56. Carrington E. G., Pike E. B., Auty D., Morris R., (1991), *Wat. Sci. Technol.*, 24, 377-380.
57. Pagilla K. R., Craney K. C., Kido W. H., (1996), *Wat. Environm. Res.*, 68, 1093-1098.
58. Pagilla K. R., Kim H., Cheunbarn T., (2000), *Wat. Res.*, 34, 2747-2753.
59. Zaabranskaa J., Dohaanyos M., Jenaicek P., Reuzicikova H., Vraanova A., (2003), *Wat. Sci. Technol.*, 47, 151-156.
60. Ulfig K., (2003), *Polish J. Environ. Stud.*, 12, 461-466.
61. Ulfig K., Terakowski G., Płaza G., Kosarewicz O., (1996), *Mycopathol.*, 136, 41-46.
62. Imhoff K., Imhoff K. R., (1996), *Kanalizacja miast i oczyszczanie ścieków*, Wyd. Oficyna Wydawnicza Projprzem-EKO, Bydgoszcz.
63. Ralet M. C., Gueguen J., (2001), *Lebensmitt. Wissensch. Technol.*, 34, 266-269.
64. Bednarski W., Repsa A., (2001), *Biotechnologia żywności*, WNT, Warszawa.

65. Zhou J., Mavinic D. S., Kelly H. G., Ramey W. D. (2002), *J. Environm. Engin. Sci.*, 1, 409-415.
66. Murthy S. N., Novak J. T., Holbrook R. D., (2000), *Wat. Environm. Res.*, 72, 714-721.
67. Barr T. A., Taylor J. M., Duff S. J. B., (1996), *Wat. Res.*, 30, 799-810.
68. Shindala A., Parker J. E., (1970), *Wat. Wastes Engin.*, 7, 47-49.
69. Abu-Orf M. M., Griffin P., Dentel S. K., (2001), *Wat. Sci. Technol.*, 44, 309-314.
70. LaPara T. M., Nakatsu C. H., Pantea L. M., Alleman J. E., (2001), *Wat. Res.*, 35, 4417-4425.
71. Yu Y., Hwang S., (2003), *Proc. Biochem.*, 38, 1489-1495.
72. Sun G., Gray R., Biddlestone A. J., Allen S. J., Copper D. J. (2003), *Proc. Biochem.*, 39, 351-357.
73. Juteau P., Tremblay D., Ould-Moulaye C-B., Bisailon J-G., Baudet R., (2004), *Wat. Res.*, 38, 539-546.
74. Jähren S. J., Odegaard H., (1999), *Wat. Sci. Technol.*, 40, 81-89.
75. LaPara T. M., Konopka A., Nakatsu C. H., Alleman J. E. (2000), *J. Microb. Biotechn.*, 24, 140-145.
76. Suvilampi J., Lehtomaki A., Rintala J., (2003), *Biores. Technol.*, 88, 207-214.
77. Grueninger H., Sonnleitner B., Fiechter A., (1984), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19, 414-421.
78. Sonnleitner B., Fiechter A., (1983), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 18, 174-180.
79. Bomio M., Sonnleitner B., Fiechter A., (1989), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 356-362.
80. O'Reilly A. M., Scott J. A. (1995), *Enz. Microb. Technol.*, 17, 636-646.
81. Surucu G., (1999), *Wat. Sci. Technol.*, 40, 53-60.
82. Tyszcza M., Kaszycki P., Kołoczek H., (1999), *Ekol. Techn.*, 7, 15-19.
83. LaPara T. M., Nakatsu C. H., Pantea L. M., Alleman J. E., (2002), *Wat. Res.*, 36, 638-646.
84. Loll U., (1976), *Progr. Wat. Technol.*, 48, 373-379.
85. European Commission, (1986), Council Directive no 86/278/EEC. *Offic. J. Europ. Commun. No L 181/6. Bruksela, Belgia.*
86. Hasegawa S., Shiota N., Katsura K., Akashi A., (2000), *Wat. Sci. Technol.*, 41, 163-169.
87. Wersocki S., Hupka J., (2002), *Mat. konf. „Procesy proekologiczne w gospodarce odpadami komunalnymi w służbie ochrony środowiska”*, Toruń.