



Zeszyty Naukowe

Instytutu Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią
Polskiej Akademii Nauk

rok 2018, nr 102, s. 185–202

Dariusz WŁÓKA*, Marzena SMOL**, Agnieszka PLACEK***, Małgorzata KACPRZAK****

Zastosowanie *P. arundinacea* w fitoremediacji gleb skażonych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA) oraz wybranymi herbicydami

Streszczenie: Celem przeprowadzonego eksperymentu było zbadanie możliwości zastosowania upraw roślin energetycznych, w postaci mozgi trzcinowatej (*Phalaris arundinacea*), w procesie fitoremediacji terenów zanieczyszczonych herbicydami z grupy fenoksy kwasów (2,4-D, MCPA) oraz wybranymi WWA (suma 10 WWA zgodnie z Dz.U. 2016, 1395). Dodatkowo, w ramach doświadczenia przeprowadzono ocenę kinetyki wzrostu i rozwoju proponowanego gatunku roślin w odniesieniu do nawożenia gleby kompostem pochodzenia odpadowego, nano ditlenkiem krzemu oraz mieszanką tych materiałów. Zakres wykonanych badań obejmował dwumiesięczny test donicowy w warunkach *ex-situ* z wykorzystaniem dwóch serii badawczych (seria 1 – kontrole bez roślin; seria 2 – próby z roślinami). Wyniki uzyskane w trakcie realizacji prac badawczych, pozwoliły wykazać, iż zastosowanie *P. arundinacea*, w charakterze „czynnika remediacyjnego”, pozwala na znaczące zwiększenie efektywności usunięcia zanieczyszczeń organicznych z gleby. Niemniej jednak zaznaczyć należy, iż najlepsze efekty zarówno w kontekście efektywności procesu, jak i ilości pozyskiwanej biomasy, uzyskane zostały pod wpływem aplikacji nawozu organicznego w postaci kompostu. Dodatkowo zaobserwowano, iż stosowanie materiałów o wysokich właściwościach sorpcyjnych, w charakterze substancji współnawożącej, może znacząco zwiększyć efektywność biotycznych procesów rozkładu zanieczyszczeń organicznych w glebie. Podsumowując można stwierdzić, że proponowana technologia fitoremediacji charakteryzuje się wysoką efektywnością działania, a jej praktyczna implementacja przyczynić się może dodatkowo do zwiększenia udziału produkcji energii z alternatywnych form paliw odnawialnych.

Słowa kluczowe: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), skażenie gleby, fitoremediacja, rośliny energetyczne, herbicydy, 2,4-D, MCPA

* Mgr, *** Dr inż., **** Prof. dr hab. inż., Wydział Infrastruktury i Środowiska, Politechnika Częstochowska, Częstochowa; e-mail: d.wloka@is.pcz.czyst.pl

** Dr, Instytut Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią PAN, Kraków; e-mail: smol@min-pan.krakow.pl

The use of *P. arundinacea* in the phytoremediation of soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons and selected herbicides

Abstract: The aim of the experiment was to investigate the possibility of use of energy crops in the form of reed canary grass (*Phalaris arundinacea*) in the phytoremediation of soil contaminated with phenoxyacid herbicides (2,4-D, MCPA) and selected PAHs (total of 10 PAHs according to Journal of Laws 2016, 1395). In addition, as part of the work, an assessment of the proposed plant species growth and development, in relation to the fertilization of soil with waste origin compost, silicon di-oxide nano powder and mixture of those materials. The scope of the research includes a two-month ex-situ test, with use of two series of experimental pots (series 1 – samples without plants, series 2 – samples with plants). The data obtained during the execution of the experimental works, show that the use of *P. arundinacea* as a remediation agent can significantly improve the organic pollutants removal efficiency from soil. Nevertheless, it should be noted, that the best results, both in terms of process efficiency and biomass yield, were obtained in samples fertilized with compost. Additionally, it has also been observed that the use of materials with high sorption properties as co-fertilizer, can significantly improve the efficiency of the biotic decomposition of organic pollutants in soil. In conclusion, the proposed phytoremediation technology can be characterized as highly effective. The practical implementation of such a method, may also contribute to the future increase of the share of energy production from alternative forms of renewable fuels.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), soil pollution, phytoremediation, energetic plants, herbicides, 2,4-D, MCPA

Wprowadzenie

Degradacja i dewastacja gleby, będąca następstwem nie zrównoważonej gospodarki rolnej, staje się w ostatnich latach dużym problemem. Nadmierne stosowanie środków ochrony roślin, duże dawki nawozów mineralnych czy nieprawidłowa strategia zmianowania – to tylko nieliczne przykłady praktyk prowadzących do pogarszania się stanu gleby (Osman 2014). Duże znaczenie ma również bezpośredni kontakt pól ze źródłami emisji zanieczyszczeń. Do zanieczyszczeń organicznych (ksenobiotyków), stwarzających największe szkody, zalicza się pestycydy, substancje ropopochodne, w tym wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), polichlorowane bifenyle oraz pochodne leków. Substancje tego rodzaju mogą wywoływać bezpośrednią toksyczną odpowiedź w stosunku do lokalnej flory i fauny. Niektóre związki wchodzące w skład wymienionych grup, takie jak benzo(a)piren czy dibenzo(a,h)antracen, wykazują także aktywność mutagenną, teratogenną oraz kancerogenną. Problem nagromadzenia się szkodliwych związków chemicznych w matrycy gleby, w efekcie przekłada się na generowanie zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt, szkodliwie oddziałuje na bioróżnorodność lokalnego ekosystemu oraz prowadzić może do strat ekonomicznych poprzez możliwość utraty właściwości użytkowych danego terenu. Mając na uwadze wskazane problemy, stwierdzić można, iż podejmowanie prac remediacyjnych jest ważne zarówno z punktu widzenia środowiskowego, jak i ekonomicznego (Paul 2014; Lu i in. 2015).

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, w zakresie technik oczyszczania środowiska glebowego, wyróżnić można metody chemiczne, fizyczne i biologiczne. Wysoka skuteczność działania oraz nieinwazyjny charakter, sprawiają, iż procesy biologiczne, najczęściej wskazywane są jako techniki referencyjne (Bauddh i in. 2017). Istnieją dwie podstawowe odmiany tego rodzaju metod. Pierwszą jest bioremediacja – metoda oparta na wykorzystaniu

mikroorganizmów w charakterze czynnika remediacyjnego (Agamuthu i in. 2013). Drugą natomiast jest fitoremediacja – proces wykorzystujący potencjał roślin wyższych do oczyszczania gleby. Mechanizm działania fitoremediacji polega na pośredniej indukcji biodegradacji cząsteczek zanieczyszczeń, w obrębie obszaru oddziaływania strefy korzeniowej, co w dużej mierze, podobnie jak w procesie bioremediacji opiera się na aktywności mikroflory glebowej (Carvalho i in. 2014). Różnicą dzielącą te dwie metody jest podejście procesowe. W bioremediacji podstawowa działalność operacyjna skupia się na aplikacji preparatów biologicznych (bioaugmentacji) lub wprowadzaniu nawozów ukierunkowanych na stymulację wzrostu i rozwoju autochtonicznych bakterii i grzybów. Podczas fitoremediacji realizowane prace skupiają się natomiast na wysiewie roślin oraz ewentualnej aplikacji substancji nawozowych, których aktywność skierowana jest na promowanie wzrostu roślin. Zaletą metody fitoremediacyjnej jest niższy koszt materiałowy oraz prostsza procedura wdrożeniowa. Wadą natomiast długotrwały charakter procesu i w niektórych okolicznościach ograniczenia technologiczne wynikające np. z nieprawidłowego ukształtowania terenu (Liu i in. 2012; Pandey i in. 2016).

Stosunkowo nowym podejściem w realizacji procesu fitoremediacji jest wykorzystanie upraw roślin energetycznych. Podejście to pozwala na jednoczesne czerpanie korzyści z pozyskania surowca energetycznego, w postaci biomasy oraz efektów oczyszczania gleby. Ma to szczególne znaczenie zwłaszcza w kontekście wyczerpujących się zasobów paliw kopalnych, takich jak węgiel kamienny czy ropa naftowa. Istotną zaletą produkcji roślinnej, o takim charakterze, jest zmniejszony rygor prawny, odnoszący się zarówno do sposobu nawożenia, jak i wymagań jakościowych gruntu, na którym prowadzony jest proces (Dz.U. 1995, nr 16, poz. 78; Dz.U. 2007, nr 147, poz. 1033). W praktyce oznacza to, iż możliwe jest zakładanie plantacji roślin energetycznych na terenach zanieczyszczonych i wymagających remediacji. Inną istotną zaletą takiego podejścia jest także możliwość dopuszczenia zwiększonego dawkowania nawozów organicznych pochodzenia odpadowego, takich jak kompost czy osady ściekowe. Stosowanie dużych dawek nawozów organicznych, w przypadku upraw na terenach o niskiej charakterystyce użytkowej, ma podwójne znaczenie. Z jednej strony, zapewnia właściwe dozowanie substancji biogennej roślinom w niekorzystnych warunkach, przyczyniając się do prawidłowego wzrostu oraz rozwoju. Z drugiej strony natomiast, pozwala efektywnie zagospodarować część odpadów organicznych, wpisując się w politykę zamkniętej cyrkulacji materii organicznej w środowisku (Pandey i in. 2016; Baudh i in. 2017).

Celem doświadczenia było zbadanie możliwości zastosowania upraw mozgi trzcinowatej (*Phalaris arundinacea*) w procesie fitoremediacji terenów zanieczyszczonych herbicydami z grupy fenoksykwasów oraz wybranymi WWA. Dodatkowo w ramach eksperymentu przeprowadzono ocenę kinetyki wzrostu i rozwoju proponowanego gatunku roślin w odniesieniu do nawożenia gleby kompostem pochodzenia odpadowego, nano ditlenkiem krzemu oraz mieszanką tych materiałów.

1. Metodyka

1.1. Schemat doświadczenia

Eksperyment wykonany został w warunkach *ex-situ*, przy użyciu dwóch serii prób donicowych. Seria pierwsza składała się z prób kontrolnych, na których nie sadzono roślin. Seria druga zawierała natomiast próby z hodowlą roślin energetycznych. Zastosowanym gatunkiem była mozga trzcinowata (łac. *Phalaris arundinacea*). Obie serie prób składały się z czterech zestawów donic z glebą (3 powtórzenia każdy), do których wprowadzano kolejno kompost, ditlenek krzemu w postaci hydrofilowego nano-proszku oraz mieszaninę kompostu i ditlenku krzemu. Każda seria prób zawierała również próbę, do której nie wprowadzano żadnego dodatku. Schemat doświadczenia przedstawiony został w tabeli 1. Wszystkie mieszanki glebowe wprowadzane zostały do donic o wymiarach 12 x 12 x 30 cm (szer. x dł. x wys.), wyposażonych w system drenażowy. Tak przygotowane donice poddawane były inkubacji w wielkogabarytowej komorze fitotronowej przez okres trzech miesięcy. Warunki panujące w komorze symulowały cykl dnia i nocy z uwzględnieniem zmian temperatury oraz naświetlania. Kontrolowano również poziom wilgotności powietrza tak, aby nie spadał on poniżej wartości 80%. Temperatura w dzień utrzymywana była na poziomie 21°C, w nocy natomiast 18°C. Cykl zmiany dzień/ noc uwzględniał następujące okresy czasowe: 18 h_{dzień}/6 h_{noc}.

TABELA 1. Schemat doświadczenia (opracowanie własne)

TABLE 1. Experience scheme

Lp.	Mozga trzcinowata (łac. <i>P. arundinacea</i>)	Kompost	Nano-SiO ₂
K1	–	–	–
K2	–	+	–
K3	–	–	+
K4	–	+	+
P1	+	–	–
P2	+	+	–
P3	+	–	+
P4	+	+	+

1.2. Materiały

W doświadczeniu wykorzystana została gleba, pobrana z obrzeży upraw mozgi trzcinowatej, zlokalizowanych w województwie śląskim w Polsce. Punkty poboru materiału badawczego znajdowały się w bliskim kontakcie z drogą szybkiego ruchu. Selekcja miejsca pozyskania gleby uzasadniona była podwyższonym prawdopodobieństwem wystąpienia ła-

dunku zanieczyszczeń w glebie. Ryzyko skażenia wynikało z ekstensywnej polityki upraw roślin energetycznych, uwzględniającej chemiczną ochronę roślin. Herbicydy stosowane w uprawach zawierały dwa podstawowe składniki aktywne – kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) oraz kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA). Substancje te zaliczane są do grupy syntetycznych auksyn. Drugim źródłem potencjalnej emisji zanieczyszczeń na wybranym terenie był szlak komunikacyjny. Bliski kontakt z infrastrukturą tego rodzaju może wpływać na zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia skażenia związkami ropopochodnymi, w tym substancjami z grupy WWA. Fizyczne i chemiczne właściwości gleby wykorzystanej w eksperymencie przedstawione zostały w tabeli 2.

TABELA 2. Wyniki analiz fizycznych i chemicznych parametrów gleby i kompostu (opracowanie własne)

TABLE 2. Results of physical and chemical analysis of soil and compost parameters

Parametr	Gleba	Kompost
Sucha masa [%]	91,8 ± 1,2	64,87 ± 4,2
Zawartość materii organicznej [%]	7,4 ± 0,9	91,8 ± 2,1
pH (w H ₂ O)	7,02 ± 0,05	7,21 ± 0,02
pH (w KCl)	6,97 ± 0,04	6,69 ± 0,05
Kwasowość hydrolytyczna [cmol(+) kg ⁻¹]	0,9 ± 0,1	–
Suma kationów zasadowych (S) [cmol(+) kg ⁻¹]	18,1 ± 0,1	–
CEC [cmol(+) kg ⁻¹]	19,0 ± 0,1	–
C [g kg ⁻¹ s.m.]	32,27 ± 2,14	317,27 ± 21,07
N [g kg ⁻¹ s.m.]	4,11 ± 0,21	37,71 ± 1,05
P [g kg ⁻¹ s.m.]	0,54 ± 0,04	4,90 ± 0,02

W doświadczeniu zastosowano dwa rodzaje dodatków doglebowych oraz ich mieszaninę. Wybrana strategia nawożenia oparta została na wcześniej opublikowanym doświadczeniu (Włóka i in. 2017). Pierwszym dodatkiem był kompost pochodzenia odpadowego. Materiał powstały w wyniku przekształcania komunalnych odpadów organicznych (20%), osadów ściekowych (60%) oraz materiałów strukturotwórczych w postaci odpadów z przemysłu drzewnego (20%). Kompostowanie prowadzono w układzie cyklicznym na przyrządach zlokalizowanych w sekcji doświadczalnej Instytutu Inżynierii Środowiska Politechniki Częstochowskiej. Właściwości kompostu przedstawione zostały w tabeli 2. Drugim dodatkiem był ditlenek krzemu w postaci hydrofilowego nano-proszku. Materiał ten charakteryzuje się wysokimi właściwościami sorpcyjnymi oraz z uwagi na swoją formę, łatwo miesza się z nawozami organicznymi. Podstawowe parametry opisujące wyselekcjonowaną frakcję SiO₂ to: uziarnienie 7–14 nm; powierzchnia aktywna powyżej 200 m² g⁻¹; gęstość nasypowa 0,048 g/cm³; czystość powyżej 99,8%. Celem aplikacji tego materiału było bezpośrednie zwiększenie powierzchni sorpcyjnej środowiska glebowego.

Dawkowanie wybranych dodatków oparte zostało na próbach doświadczalnych opisanych we wcześniejszych publikacjach. Wynosiły one 64,2 g suchej masy kompostu na kg gleby oraz 5 g nano-SiO₂ na kg gleby.

1.3. Fizyczne i chemiczne analizy gleby oraz kompostu

Próbki skierowane do analiz fizycznych i chemicznych parametrów poddane zostały suszeniu w warunkach pokojowych oraz homogenizacji w młynku ceramicznym. Zakres wykonanych oznaczeń obejmował: analizę pH w środowisku wodnym oraz w KCl; analizę absolutnie suchej masy oraz materii organicznej metodą wagową z wykorzystaniem pieca muflowego i suszarki laboratoryjnej; oznaczanie kwasowości hydrolitycznej, sumy kationów zasadowych (S) oraz zdolności do wymiany kationów z wykorzystaniem techniki miareczkowej opartej na zmodyfikowanej metodzie Kappena; oznaczanie całkowitej zawartości azotu (N) techniką Kieldahla; oznaczanie całkowitej zawartości węgla na analizatorze.

Wszystkie zastosowane metody oparte zostały na technikach publikowanych w indeksowanej literaturze naukowej oraz w normach ISO (Placek i in. 2015).

1.4. Oznaczanie zawartości WWA oraz wybranych herbicydów

Próbki przeznaczone do analiz zawartości zanieczyszczeń organicznych pobierane były dwukrotnie, przed i po zakończeniu inkubacji. Pozyskany materiał poddany został wstępnej obróbce, obejmującej suszenie w temperaturze pokojowej oraz homogenizację w młynku ceramicznym. Ilość materiału badawczego przeznaczonego do analizy wynosiła 10 g. Ekstrakcja analitu z matrycy gleby przeprowadzona została techniką ciało stałe-ciecz w ekstraktorze ultradźwiękowym. Acetonitryl użyty został jako rozpuszczalnik ekstrakcyjny. W kolejnym etapie, uzyskane ekstrakty odwirowano oraz zagęszczono techniką SPE na kolumnkach wypełnionych złożem C18. Tak przygotowane próbki skierowano do analizy chromatograficznej.

Zastosowana metoda rozdziału zanieczyszczeń, oparta została na technice wyskosprownej chromatografii cieczowej HPLC z wykorzystaniem urządzenia Thermo SpectraSYSTEM. Analizę prowadzono w układzie faz odwróconych na kolumnie RESTEK Ultra Aqueous C18. W charakterze fazy ruchomej zastosowano acetonitryl, metanol oraz wodny roztwór kwasu ortofosforowego (0,05%). Metoda rozdziału uwzględniała gradientowy przepływ rozpuszczalników przez kolumnę z uwzględnieniem zmiany polarności fazy ruchomej. Detekcję danych prowadzono na detektorach UV-Vis (długość fali 254 nm) oraz fluorescencyjnym przy zmiennych parametrach detekcji. Szczegółowy opis zastosowanej metody został wcześniej opublikowany w czasopismach naukowych (Smol i in. 2012; Włóka i in. 2015).

Opisana powyżej procedura badawcza ukierunkowana została na oznaczanie zawartości herbicydów 2,4-D i MCPA oraz sumy 10 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (naftalen, antracen, benzo(a)antracen, chryzen, benzo(a)piren, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, dibenzo(a,h)antracen, benzo(a,h,i)perylene, indeno(1,2,3-c,d)piren). Wybór związków z grupy WWA oparty został na rekomendacji zawartej w aktualnie obowiązujących regulacjach prawnych, dotyczących jakości gleby w Polsce – Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016, w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz.U. 2016, 1395).

1.5. Analiza wzrostu i rozwoju roślin

Rośliny pochodzące z upraw realizowanych w serii 2, po zakończeniu inkubacji, poddane zostały ocenie efektywności wzrostu i rozwoju. W tym celu przeprowadzono wagowy pomiar ilości wyprodukowanej biomasy (części nadziemnej) oraz wagową analizę przyrostu części korzeniowych. Obie analizy polegały na wysadzeniu całych roślin z doniczek oraz oczyszczeniu pozyskanych okazów z gleby. Następnie rośliny podzielone zostały na część nadziemną i korzeniową oraz poddane suszeniu przez okres 30 dni w temperaturze pokojowej. W ostatnim etapie próbki zważono na wadze laboratoryjnej.

1.6. Statystyczne opracowanie danych

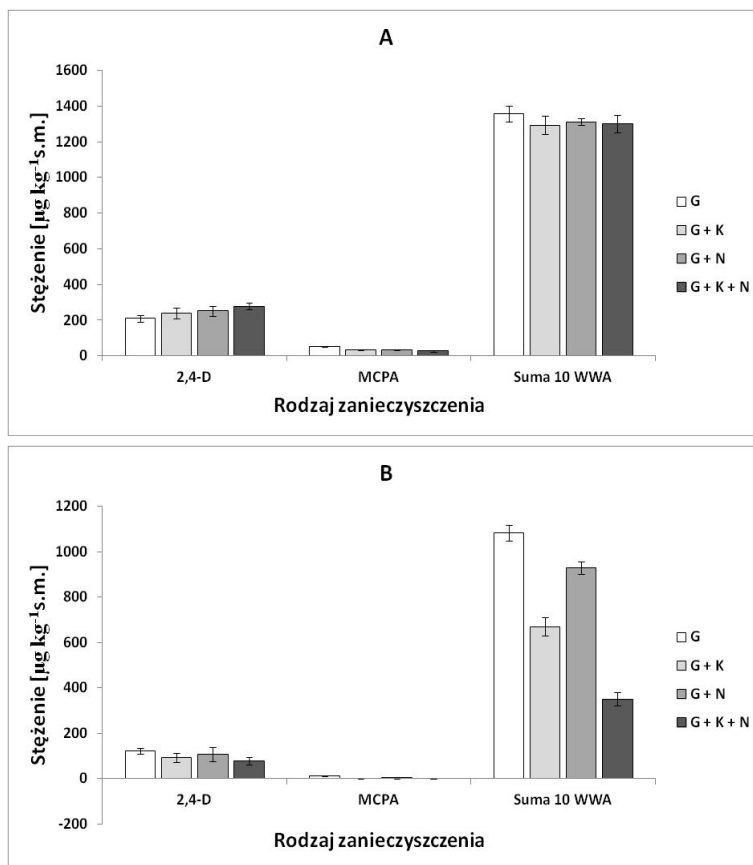
Wyniki uzyskane w trakcie realizacji doświadczenia skierowane zostały do analizy statystycznej. Polegała ona na wyznaczeniu odchyłeń standardowych oraz kalkulacji jednoczynnikowych testów wariancji ANOVA wraz z analizą *posthoc* Tukey'a. Celem tej procedury było oszacowanie statystycznie uzasadnionych różnic między proponowanymi wariantami technologii oraz identyfikacja ewentualnych podobieństw w obrębie danej grupy prób badawczych. W eksperymencie wyznaczono również współczynnik usunięcia zanieczyszczeń z gleby, stanowiący wyznacznik efektywności badanego procesu. Wzór pozwalający na wyznaczenie współczynnika przedstawiony został poniżej.

$$\text{Współczynnik usunięcia zanieczyszczeń} = 100 - \left(\frac{\text{stężenie po procesie}}{\text{stężenie przed procesem}} \cdot 100 \right)$$

2. Wyniki

Pierwszy zestaw wyników zawiera dane dotyczące stężeń analizowanych zanieczyszczeń w glebach pobieranych z pierwszej serii doniczek (próby bez roślin). Na rysunku 1A przedstawiono wartości oznaczone przed rozpoczęciem inkubacji, natomiast wykres 1B zawiera dane pochodzące z prób pozyskanych po zakończeniu inkubacji. Rysunki 2A oraz 2B przedstawiają ten sam zakres informacji pochodzący z serii doniczek, na których wysadzano rośliny energetyczne.

Wyniki przedstawione na wykresach wskazują, iż bazowa zawartość analizowanych zanieczyszczeń we wszystkich próbkach pozostawała na równym poziomie. Najwyższe stężenia obserwowano dla związków z grupy WWA oraz herbicydu 2,4-D. Zanieczyszczenie substancją MCPA było na stosunkowo niskim poziomie. Po zakończeniu inkubacji, wszystkie analizowane próbki wykazały redukcję poziomu zanieczyszczeń w glebie. Najniższe stężenia obserwowane były w glebach, do których wprowadzano mieszaninę nawozu organicznego w postaci kompostu oraz nano-SiO₂. Próby, do których wprowadzono sam kompost, również wykazywały mniejszą zawartość zanieczyszczeń niż próba kontrolna i próba z dodatkiem nano-SiO₂. Należy również wskazać, iż seria, na której wysiano nasiona *P. arundinacea* wykazała wyższy stopień redukcji zanieczyszczeń organicznych w glebie.

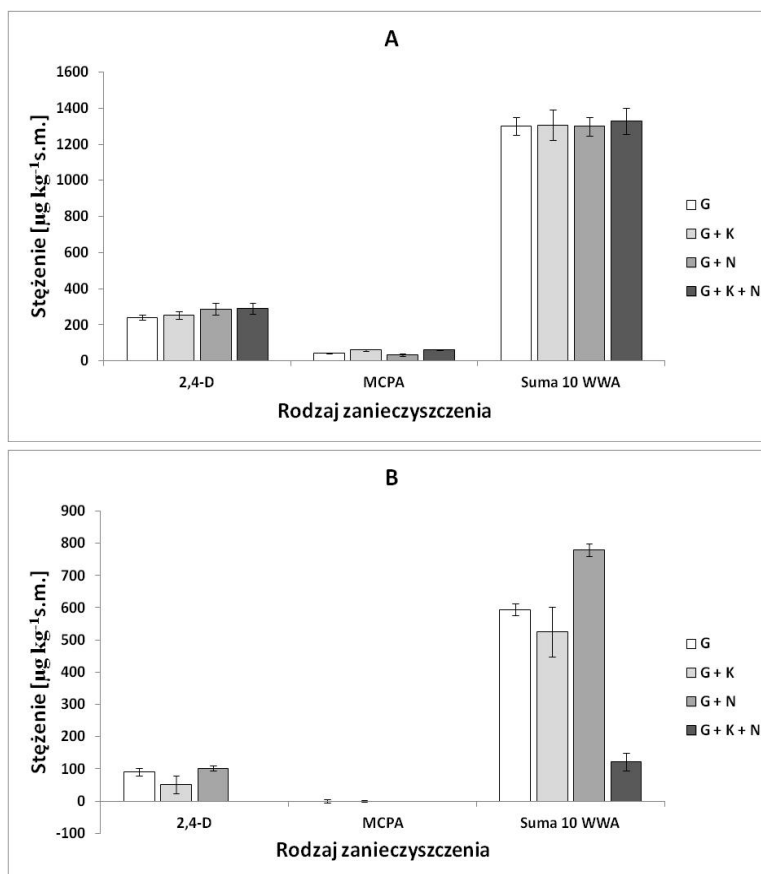


Rys. 1. Stężenia zanieczyszczeń organicznych w glebach pochodzących z serii bez roślin, analizowane przed (A) oraz po (B) inkubacji. Oznaczenia: G – gleba, K – kompost, N – nano-SiO₂ (opracowanie własne)

Fig. 1. Concentrations of organic pollutants in soils from the series without plants, analyzed before (A) and after (B) incubation. Markings: G – soil, K – compost, N – nano SiO₂

Bardziej szczegółowa analiza efektywności usunięcia zanieczyszczeń organicznych z gleby, przeprowadzona została na podstawie wyznaczonych współczynników usunięcia zanieczyszczeń. Dane te przedstawione zostały na rysunku 3A (seria bez roślin) oraz 3B (seria z roślinami).

Współczynniki usunięcia zanieczyszczeń z gleby pozwalają na określenie bezwzględnej efektywności proponowanej metody remediacji. Na ich podstawie potwierdzić można wstępne obserwacje opisane na podstawie stężeń analizowanych związków po zakończeniu procesu inkubacji. Ponadto przedstawione dane wskazują, iż wszystkie próbki wykazały bardzo wysoki stopień usunięcia herbicydu MCPA – redukcja w zakresie 76,4% (próbka kontrolna bez roślin oraz dodatków doglebowych) – 99,7% (próbka z roślinami oraz kompostem). Współczynnik usunięcia herbicydu 2,4-D w próbach bez roślin wahał się w zakresie od 42,8% (próbka bez dodatków doglebowych) do 72,5% (próbka z dodatkiem mieszaniny

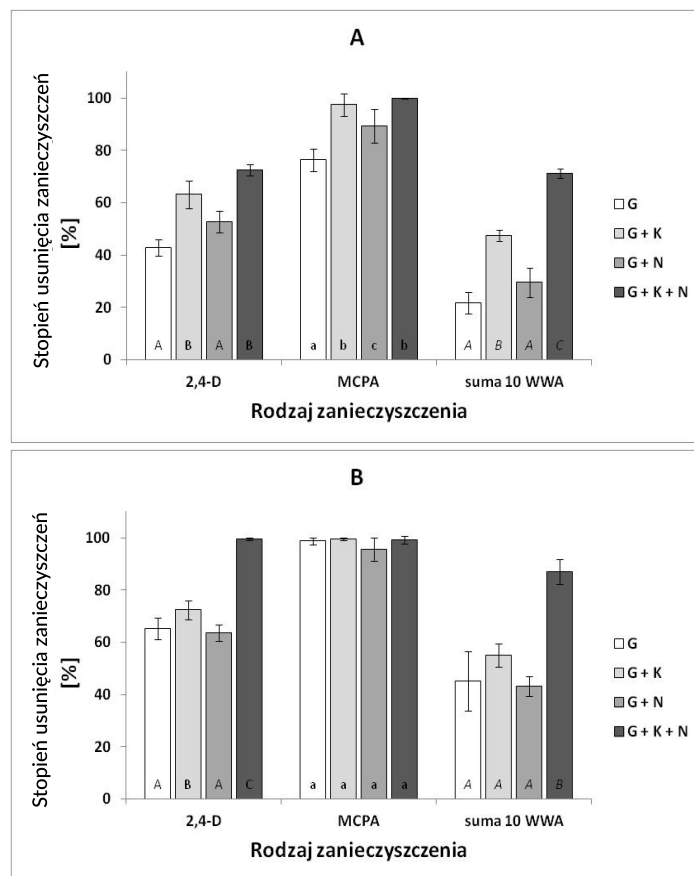


Rys. 2. Stężenia zanieczyszczeń organicznych w glebach pochodzących z serii z roślinami, analizowane przed (A) oraz po (B) inkubacji. Oznaczenia: G – gleba, K – kompost, N – nano-SiO₂ (opracowanie własne)

Fig. 2. Concentrations of organic pollutants in soils from the series with plants, analyzed before (A) and after (B) incubation. Markings: G – soil, K – compost, N – nano SiO₂

kompostu i nano-SiO₂). W doniczkach z roślinami redukcja tego związku była wyższa, a jej ekstrema wynosiły 65,3% dla próby bez dodatków oraz 99,5% dla próby z mieszanką kompostu i nano-SiO₂. W przypadku sumy 10 WWA, zanotowano najwyższy stopień różnorodności w wartościach oznaczanego współczynnika. Najniższy poziom wykazała próbka pochodząca z serii bez roślin, czyli próba kontrolna bez dodatków doglebowych – 21,8%. Najwyższe wartości zanotowano natomiast dla próbki z dodatkiem mieszanki kompostu i nano-SiO₂, pochodzącej z serii z roślinami – 87%.

Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA pozwoliła również wykazać, iż w obrębie wszystkich badanych grup wartości usunięcia zanieczyszczeń występują potwierdzone statystycznie różnice. Przy czym najwyższy stopień różnorodności obserwowany jest dla wyników odnoszących się do sumy 10 WWA w serii bez roślin. Współczynnik *p* dla tej grupy wynosił $8,8 \cdot 10^{-7}$. Współczynnik dla serii z roślinami, w obrębie tej samej grupy



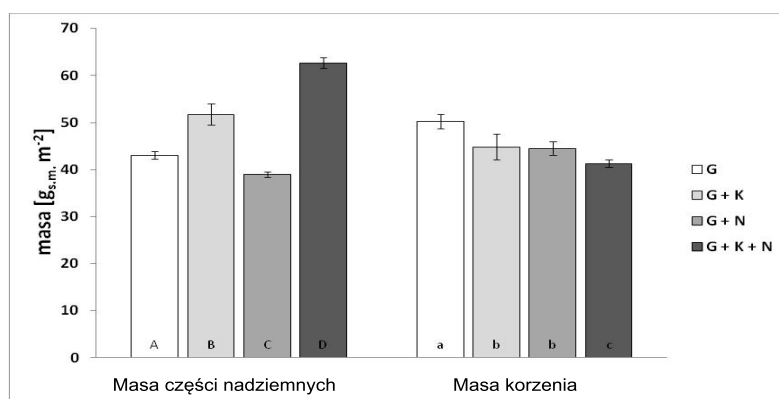
Rys. 3. Współczynniki usunięcia zanieczyszczeń z gleby. Seria bez roślin (A), seria z roślinami (B). Oznaczenia: G – gleba, K – kompost, N – nano-SiO₂ (opracowanie własne)

Fig. 3. Coefficients of the removal of pollutants from the soil. Series without plants (A), series with plants (B). Markings: G – soil, K – compost, N – nano SiO₂

zanieczyszczeń, wyniósł $1,6 \cdot 10^{-4}$. Wyniki dotyczące herbicydu 2,4-D również charakteryzowały się dużą różnorodnością. Świadczy o tym niska wartość współczynnika p wynosząca $7,2 \cdot 10^{-5}$ (seria bez roślin) oraz $2,6 \cdot 10^{-6}$ (seria z roślinami). Najniższą różnorodność wykazały natomiast wartości oznaczone dla herbicydu MCPA. Współczynnik p w obrębie tej grupy wynosił kolejno $8,1 \cdot 10^{-4}$ oraz 0,2 dla serii z roślinami. Dane przedstawione na wykresach poddane zostały również analizie *posthoc*, obejmującej kalkulację testu Tukey'a. Procedura ta pozwoliła na identyfikację zbieżności w efekcie oddziaływania poszczególnych dodatków doglebowych na efektywność usunięcia danego zanieczyszczenia z gleby. Dzięki zastosowaniu takiego podejścia możliwe było zidentyfikowanie występujących zależności. W większości analizowanych przypadków, dodatek jedynie SiO₂ nie miał statystycznie uzasadnionego wpływu na redukcję poziomu zanieczyszczeń. Wyjątkiem od wskazanej reguły była grupa wyników dotycząca herbicydu MCPA pochodząca z serii gleb, na których nie

wysiano roślin. W przypadku prób, do których wprowadzano dodatki organiczne, wszystkie analizowane grupy, z wyjątkiem wyników usunięcia MCPA w serii z roślinami, wykazywały statystycznie ważne różnice w odniesieniu do próby kontrolnej. Wskazane odstępstwo wynika z uzyskania wysokich wartości współczynnika usunięcia MCPA w obrębie wyróżniającej się grupy (wyniki w zakresie 95,5–99,7%). Warto nadmienić również, iż współczynnik usunięcia herbicydów w przypadku prób z serii pierwszej (bez roślin), do których wprowadzono kompost, wykazywał statystyczne podobieństwo z próbami zawierającymi mieszaninę nawozu i SiO₂. Efekt ten w próbach z roślinami nie powtarzał się. Ponadto należy również wskazać, iż wszystkie wyniki współczynnika usunięcia 10 WWA z gleby, zawierające mieszaninę badanych dodatków, były statystycznie różne od pozostałych wyników.

Ostatni zestaw wyników dotyczy analizy wzrostu i rozwoju *P. arundinacea*, po zakończeniu procesu inkubacji. Uzyskane dane z uwzględnieniem podziału na część nadziemną oraz korzeniową, przedstawione zostały na rysunku 4.



Rys. 4. Analiza wzrostu roślin energetycznych. Oznaczenia: G – gleba, K – kompost, N – nano-SiO₂ (opracowanie własne)

Fig. 4. Analysis of energy plant growth. Markings: G – soil, K – compost, N – nano SiO₂

Wyniki dotyczące wzrostu i rozwoju roślin pokazują, że stosowanie kompostu jako nawozu organicznego ma statystycznie uzasadniony wpływ na przyrost części nadziemnych *P. arundinacea*. Dodatkowo zaobserwować można, iż aplikacja samego ditlenku krzemu wywołała lekki spadek przyrostu części nadziemnych w obrębie analizowanego czasu wzrostu. Wyniki odnoszące się do przyrostu korzenia wskazują z kolei, iż stosowanie dodatków doglebowych może wpływać na ograniczenie przyrostu części podziemnych. Z punktu widzenia statystycznego w analizowanym przypadku aplikacja jedynie kompostu oraz jedynie SiO₂ wykazała statystycznie podobne działanie. Najwyższy stopień redukcji przyrostu masy korzeniowej, połączony z najwyższym przyrostem części nadziemnych, zaobserwowany został dla prób, do których wprowadzono mieszaninę kompostu oraz nano-SiO₂. Oba zaobserwowane efekty mogą być potwierdzone za pomocą wyniku *posthoc* Tukey'a, zgodnie z którym wartości dla wymienionych prób są statystycznie różne od pozostałych wyników.

3. Dyskusja

3.1. Klasyfikacja materiału glebowego przed i po inkubacji

Wyniki przedstawione w poprzednich rozdziałach pozwalają na dokonanie wstępnej ewaluacji materiału glebowego. Fizyczna i chemiczna charakterystyka tego medium wskazuje na niewielką zawartość materii organicznej oraz stosunkowo niski poziom makroelementów w postaci azotu i fosforu. Obecność substancji odżywczych na odpowiednim poziomie jest niezbędna do zapewnienia prawidłowych warunków zarówno do wzrostu i rozwoju roślin, jak i endogennej mikroflory odpowiadającej, między innymi, za biotyczny rozkład zanieczyszczeń. Mając na uwadze wskazaną zależność stwierdzić można, iż zastosowanie w opisywanych badaniach organicznego nawozu w postaci kompostu było uzasadnione.

Ocena stopnia skażenia materiału glebowego oparta została na klasyfikacji zawartej w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. (Dz.U. 2016, 1395). Dokument ten zawiera maksymalne dopuszczalne stężenia wybranych grup zanieczyszczeń w glebach o różnej kategoryzacji. Na jego podstawie zauważyć można, iż gleby I i II kategorii, w tym gleby rolnicze, w wierzchniej warstwie nie powinny zawierać więcej niż $1400 \mu\text{g kg}^{-1}$ sumy 10 WWA w suchej masie. Ładunek zanieczyszczeń będących przedmiotem regulacji, we wszystkich analizowanych próbach gleby, przed inkubacją znajdował się na granicy dopuszczalnej normy. Po zakończeniu inkubacji zaobserwowano spadek poziomu skażenia pozwalający na jednoznaczne stwierdzenie, iż zastosowana procedura pozwala na oczyszczenie środowiska glebowego w stopniu regulowanym prawnie. Dane dotyczące skażenia gleby związkami z grupy WWA często oparte są na innej kategoryzacji. Przykładowo Maliszewska-Kordybach oraz Smreczak (1997) zaproponowali podział gleby na cztery klasy skażenia. Zgodnie z ich propozycją do klasy 1 zalicza się gleba zawierająca mniej niż $600 \mu\text{g WWA}$ w kg suchej masy; klasa 2 obejmuje skażenie w zakresie $600\text{--}1000 \mu\text{g WWA}$ w kg suchej masy; klasa 3 dotyczy zakresu $1000\text{--}5000 \mu\text{g WWA}$ w kg suchej masy; klasa cztery natomiast to materiał obciążony więcej niż $5000 \mu\text{g WWA}$ w kg suchej masy (Maliszewska-Kordybach i Smreczak 1997). Stosując wskazane zakresy, materiał użyty w doświadczeniu zaliczyć można do 3 klasy (gleba zanieczyszczona). Po upływie 2 miesięcy inkubacji, redukcja poziomu zawartości WWA pozwala na podwyższenie klas gleb pochodzących z niemal wszystkich analizowanych prób co najmniej do klasy 2 (gleba lekko zanieczyszczona). Wyjątek stanowi próba kontrolna bez dodatków, pochodząca z serii bez roślin. Seria, na której wysiano rośliny, wykazała wyższy stopień redukcji poziomu WWA, dlatego też próby pochodzące z tej serii, oprócz prób jedynie z dodatkiem nano-SiO₂, mogą być zaklasyfikowane do klasy 1 (gleby niezanieczyszczone).

Podczas analizy poziomu skażenia gleby należy uwzględnić również fakt, iż pozostałe monitorowane substancje – herbicydy 2,4-D oraz MCPA, nie są przedmiotem regulacji prawnych, a ich ewentualny wpływ na środowisko oszacowany został na podstawie danych literaturowych. Przegląd prac naukowych opublikowany przez Smith i in. (2017) wskazuje, iż nadmierna ekspozycja na herbicyd 2,4-D może być przyczyną zwiększenia ryzyka zachorowań na chłoniaka niezłazniczego (Smith i in. 2017). Ponadto związki należące do tej

grupy charakteryzują się wysoką selektywną reaktywnością w zwalczaniu roślin dwuliściennych, co w kontekście występowania na terenie niebędącym przedmiotem aktywnej polityki ochrony roślin, może wpływać na zmiany bioróżnorodności lokalnego ekosystemu. Dużym problemem jest również niepożądana indukcja odporności chwastów na herbicydy z analizowanej grupy. Liczne badania wykazały, iż migracja substancji aktywnej herbicydów do środowiska glebowego może przyczyniać się do generowania odpowiedzi odpornościowej niektórych gatunków roślin, co w odniesieniu do walki z zachwaszczeniem pól uprawnych może być dużym problemem (Goggin i in. 2016).

3.2. Analiza wpływu dodatków doglebowych oraz roślin na efektywność usuwania zanieczyszczeń z gleby

Przedstawione wyniki wykazały, iż zarówno w serii z roślinami, jak i bez, dodatek nawozu organicznego w postaci kompostu pozytywnie wpłynął na efektywność usunięcia zanieczyszczeń z gleby. Wykorzystanie tego rodzaju dodatków doglebowych zaliczane jest do jednej z podstawowych technik indukcji biologicznego rozkładu ksenobiotyków w glebie. Bezpośrednie dostarczenie do matrycy nawozu, zarówno dużej dawki substancji odżywczych, jak i różnorodnej mikroflory, prowadzić może do jednoczesnej stymulacji naturalnych biotycznych procesów dekompozycji wszelkich dostępnych źródeł węgla. Efekt ten prowadzić może do znaczącego przyrostu aktywności biologicznej, często wyrażanej we wzmożonej emisji ditlenku węgla do atmosfery. Potwierdzeniem tej tezy są między innymi liczne prace badawcze, do których zaliczyć można badania publikowane przez Chen i in. (2015) oraz Oleszczuk (2006). Wymienione publikacje jednoznacznie wskazują, iż aplikacja organicznych nawozów pochodzenia odpadowego, takich jak kompost czy osady ściekowe, powoduje indukcję rozkładu WWA w glebie.

Z uzyskanych danych odczytać można również wyraźną tendencję do wzrostu efektywności usuwania zanieczyszczeń zachodzącego pod wpływem wprowadzania substancji strukturotwórczych wraz z nawozem organicznym. Podobny efekt zaobserwowany został we wcześniejszych badaniach dotyczących kinetyki procesu biodegradacji WWA w glebach nawożonych osadami ściekowymi, kompostem oraz wybranymi materiałami o wysokim współczynniku sorpcji. Na ich podstawie zidentyfikowano korelację między wydłużeniem czasu wzmożonej aktywności biologicznej gleby a stosowaniem nano-SiO₂ i sorbentu mineralnego w charakterze dodatku do kompostu i osadów ściekowych (Włóka i in. 2017). Podobny efekt obserwowany jest również w układach, do których wraz z nawozami organicznymi wprowadza się dodatki na bazie biowęgla. Przykładowo w pracy publikowanej przez Stefaniuka i in. (2017) zaobserwowano, iż ko-nawożenie gleby osadami ściekowymi i biowęglem może przyczyniać się do wzrostu skuteczności biodegradacji zanieczyszczeń nawet o 27% w stosunku do prób, w których stosowano jedynie osady ściekowe. Inne badania również wskazują podobną tendencję, odnosząc się do procedury nawożenia łączonopartego opartego na użyciu kompostu i biowęgla (Sigmund i in. 2018). Mechanizmem, odpowiadającym za stymulację biodegradacji zanieczyszczeń organicznych w takich układach, może być czasowe ograniczenie toksyczności zanieczyszczeń w skażonej matrycy. W niez-

leżnych badaniach wykazano, iż substancje porowate, o dużej powierzchni aktywnej, mogą efektywnie wiązać cząsteczki zanieczyszczeń, zmniejszając ich lokalną biodostępność. Aktywność ta przyczyniać się może do poprawy warunków środowiskowych, co z kolei w obecności dużej dawki miogenów, pochodzących z organicznego nawozu, sprzyja wzrostowi i rozwojowi mikroflory. Wyższa koncentracja mikroorganizmów przekładać się może z kolei na wzmożenie procesów mineralizacji i biodegradacji materii organicznej, w tym cząsteczek zanieczyszczeń organicznych (Weissenfels i in. 1992; Ren i in. 2018).

3.3. Analiza potencjału roślin energetycznych w fitoremediacji

Jednym z ważniejszych czynników w proponowanej technologii remediacji gleby było wykorzystanie roślin energetycznych w postaci hodowli *P. arundinacea*. Rośliny tego gatunku charakteryzują się wysokim przyrostem biomasy w stosunkowo krótkim czasie. Są odporne na oddziaływanie negatywnych czynników środowiskowych, takich jak niesprzyjające warunki atmosferyczne czy podwyższona zawartość zanieczyszczeń w glebie. Cechy te sprawiają, iż nadają się one idealnie do prowadzenia procesów opartych na fitoremediacji (Lewandowski 2012).

Wyniki uzyskane podczas realizacji opisywanego doświadczenia pozwalają na wskazanie, iż wysiew roślin gatunku *P. arundinacea* przyczynił się do zwiększenia efektywności usunięcia zanieczyszczeń z gleby. Wszystkie wartości uzyskane z serii, na której prowadzono uprawy, były wyższe niż współczynniki redukcji poziomu skażenia w próbkach bez roślin. Prace naukowe ukierunkowane na badanie mechanizmu indukcji rozkładu zanieczyszczeń organicznych, w układach uwzględniających obecność roślin, pozwalają na obserwację zjawisk mogących odgrywać istotną rolę w omawianym procesie. Przede wszystkim występowanie roślin wpływa na generowanie swoistej strefy około korzeniowej (strefa ryzosferowa), której forma i właściwości mogą sprzyjać rozwojowi endogennej mikroflory. Badania prowadzone przez Liu i in. (2012) pozwalają na potwierdzenie zjawiska indukcji wzrostu mikroorganizmów, zdolnych do efektywnego prowadzenia procesu biodegradacji zanieczyszczeń organicznych, zachodzącego pod wpływem interakcji ze strefą ryzosferową (Liu i in. 2012). Na podstawie innych badań zauważyć można także, iż niektóre gatunki roślin za pośrednictwem zmian właściwości podłoża (zmiana pH, wyższa wilgotność), mogą wpływać na aktywację wzrostu specyficznej grupy mikroorganizmów, dywersyfikując lokalny zasób puli genetycznej w środowisku. Efekt ten zaobserwowany został między innymi pod wpływem sadzenia roślin gatunku *B. scoparia* (Moubasher i in. 2015). Obecność roślin, w obrębie danego układu, to również pozytywny wpływ na gospodarkę wodną, wyższy stopień biowentylacji środowiska glebowego oraz występowanie ewentualnych interakcji między wydzielinami zewnątrzkomórkowymi tkanek korzenia a lokalnym środowiskiem. Czynniki tego rodzaju w kontekście procesów opartych na biodegradacji, uważane są za korzystne, co dodatkowo może wyjaśniać mechanizm omawianego zagadnienia (Mitchell i Gu 2010).

Podczas realizacji doświadczenia najwyższy przyrost części nadziemnych *P. arundinacea* zaobserwowany został w próbach, do których wprowadzono oba rodzaje dodatków dogle-

bowych. W próbach tych wystąpiła także najwyższa redukcja poziomu zanieczyszczeń, co mogło ograniczać toksyczny wpływ ksenobiotyków na rozwój roślin. Interesująca obserwacja poczyniona została również na podstawie pomiarów przyrostu korzenia. Próby wykazujące najwyższy przyrost masy części nadziemnej wykazały równocześnie mniejszy przyrost masy korzeniowej. Efekt ten wynikać może z faktu, iż gleby zawierające dodatki nawozowe, charakteryzowały się wyższą zawartością substancji biogennej w obrębie wierzchniej warstwy gleby. Taki rodzaj charakterystyki sprawiał, iż roślina miała bezpośredni dostęp do niezbędnych substancji, już na wczesnym etapie swego rozwoju, co w konsekwencji ukierunkowało dalszy wzrost części nadziemnych. Czasowa immobilizacja substancji chemicznych, zachodząca pod wpływem aplikacji nano-SiO₂ mogła dodatkowo podnosić znaczenie tego efektu (Metz i Monroy 2014).

Podsumowując, zaznaczyć należy, iż wykorzystanie roślin energetycznych w procesie fitoremediacji niesie za sobą dodatkowe korzyści. Aktywna realizacja procesu w proponowanym układzie pozwala na generowanie naturalnego surowca energetycznego w postaci biomasy. Zgodnie z danymi literaturowymi wydajność produkcyjna z 1 ha upraw *P. arundinacea* może wahać się w granicach od 12,0 do 14,7 Mg suchej masy. Wartość energetyczna tego rodzaju surowca może wynosić 4,9–6,9 Mj kg⁻¹ suchej masy. Dane te pozwalają na stwierdzenie, iż uprawa tego rodzaju roślin, w charakterze czynnika fitoremediacyjnego, stanowić może interesujący kierunek rozwoju metod oczyszczania gleby (Grzelak 2009; Pandey i in. 2016).

Wnioski

Dane pozyskane w trakcie realizacji badań, pozwoliły wykazać, iż użycie roślin energetycznych w postaci upraw *P. arundinacea* w charakterze czynnika remediacyjnego, pozwala na znaczące zwiększenie efektywności usuwania zanieczyszczeń organicznych z gleby. Najkorzystniejsze efekty zarówno w kontekście efektywności procesu, jak i ilości pozyskiwanej biomasy uzyskano w próbach, do których aplikowano nawóz organiczny (kompost). Dodatkowo zaobserwowano, iż stosowanie materiałów o wysokich właściwościach sorpcyjnych jako substancji współnawożącej, może znacząco zwiększyć efektywność biotycznych procesów rozkładu zanieczyszczeń organicznych w glebie.

Podsumowując, stwierdzić można, iż proponowana technologia fitoremediacji charakteryzuje się wysoką efektywnością działania, a jej praktyczna implementacja może przyczynić się nie tylko do poprawy stanu środowiska glebowego, ale również może potencjalnie wpłynąć na zwiększenie udziału produkcji energii z alternatywnych źródeł, takich jak paliwa odnawialne. Działania tego rodzaju wpisują się w politykę zrównoważonego rozwoju, co dodatkowo zwiększa atrakcyjność proponowanego rozwiązania i podnosi jego znaczenie aplikacyjne.

Praca zrealizowana została w ramach projektu TechNabio (nr TANGO1/266740/NCBR/2015) współfinansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki (NCN) oraz Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBR).
www.technabio.com

Literatura

- Agamuthu i in. 2013 – Agamuthu, P., Tan, Y.S. i Fauziah, S.H. 2013. Bioremediation of hydrocarbon contaminated soil using selected organic wastes. *Procedia Environmental Sciences* 18, s. 694–702.
- Bauddh i in. 2017 – Bauddh, K., Singh, B. i Korstad, J. 2017. *Phytoremediation Potential of Bioenergy Plants*.
- Carvalho i in. 2014 – Carvalho, P.N., Basto, M.C.P., Almeida, C.M.R. i Brix, H. 2014. A review of plant–pharmaceutical interactions: from uptake and effects in crop plants to phytoremediation in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research* 21(20), s. 11729–11763.
- Chen i in. 2015 – Chen, M., Xu, P., Zeng, G., Yang, C., Huang, D. i Zhang, J. 2015. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances* 33(6), s. 745–755.
- Goggin i in. 2016 – Goggin, D.E., Cawthray, G.R. i Powles, S.B. 2016. 2, 4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation via inhibition of cellular transport. *Journal of Experimental Botany* 67(11), s. 3223–3235.
- Grzelak, M. 2009. Plonowanie szuwaru mozgowego oraz skład chemiczny i wartość energetyczna mozgi trzcinywatej. *Fragm. Agron* 26(4), s. 38–45.
- Lewandowski, W.M. 2012. *Proekologiczne odnawialne źródła energii*. Wyd. Naukowo-Techniczne, s. 322–347.
- Liu i in. 2014 – Liu, R., Xiao, N., Wei, S., Zhao, L. i An, J. 2014. Rhizosphere effects of PAH-contaminated soil phytoremediation using a special plant named Fire Phoenix. *Science of the Total Environment* 473, s. 350–358.
- Lu i in. 2015 – Lu, Y., Song, S., Wang, R., Liu, Z., Meng, J., Sweetman, A.J., ... i Wang, T. 2015. Impacts of soil and water pollution on food safety and health risks in China. *Environment international* 77, s. 5–15.
- Maliszewska-Kordybach, B. i Smreczak, B. 1997. Zawartość wielopierscieniowych węglowodorów aromatycznych w glebach użytkowanych rolniczo na terenie woj. lubelskiego. *Roczniki Gleboznawcze* 48(1–2), s. 95–110.
- Metz, C.B. i Monroy, A. Eds. 2014. *Fertilization: comparative morphology, biochemistry, and immunology*. Academic Press.
- Mitchell, R. i Gu, J.D. Eds. 2010. *Environmental microbiology*. John Wiley & Sons.
- Moubasher i in. 2015 – Moubasher, H.A., Hegazy, A.K., Mohamed, N.H., Moustafa, Y.M., Kabil, H.F. i Hamad, A.A. 2015. Phytoremediation of soils polluted with crude petroleum oil using *Bassia scoparia* and its associated rhizosphere microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation* 98, s. 113–120.
- Oleszczuk, P. 2006. Persistence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sewage sludge-amended soil. *Chemosphere* 65(9), s. 1616–1626.
- Osman, K.T. 2014. *Soil degradation, conservation and remediation*. Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Pandey i in. 2016 – Pandey, V.C., Bajpai, O. i Singh, N. 2016. Energy crops in sustainable phytoremediation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 54, s. 58–73.
- Paul, E.A. 2014. *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic press.
- Placek i in. 2015 – Placek, A., Grobelak, A. i Kacprzak, M. 2015. Improving the phytoremediation of heavy metals contaminated soil by use of sewage sludge. *International Journal of Phytoremediation* 18(6), s. 605–618.
- Ren i in. 2018 – Ren, X., Zeng, G., Tang, L., Wang, J., Wan, J., Liu, Y., ... i Deng, R. 2018. Sorption, transport and biodegradation—An insight into bioavailability of persistent organic pollutants in soil. *Science of the Total Environment* 610, s. 1154–1163.
- Sigmund i in. 2018 – Sigmund, G., Poyntner, C., Piñar, G., Kah, M. i Hofmann, T. 2018. Influence of compost and biochar on microbial communities and the sorption/degradation of PAHs and NSO-substituted PAHs in contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 345, s. 107–113.
- Smith i in. 2017 – Smith, A.M., Smith, M.T., La Merrill, M.A., Liaw, J. i Steinmaus, C. 2017. 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) and risk of non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis accounting for exposure levels. *Annals of Epidemiology*.
- Smol, M. i Włodarczyk-Makula, M. 2012. Effectiveness in the removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from industrial wastewater by ultrafiltration technique. *Archives of Environmental Protection* 38(4), s. 49–58.
- Stefaniuk i in. 2017 – Stefaniuk, M., Oleszczuk, P. i Różyło, K. 2017. Co-application of sewage sludge with biochar increases disappearance of polycyclic aromatic hydrocarbons from fertilized soil in long term field experiment. *Science of The Total Environment* 599, s. 854–862.
- Ustawa z dnia 3 lutego 1995 r. o ochronie gruntów rolnych i leśnych wraz z późniejszymi zmianami (Dz.U. 1995, nr 16, poz. 78).

Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu wraz z późniejszymi zmianami (Dz.U. 2007, nr 147, poz. 1033).

Weissenfels i in. 1992 – Weissenfels, W.D., Klewer, H.J. i Langhoff, J. 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36(5), s. 689–696.

Włóka i in. 2015 – Włóka, D., Kacprzak, M., Grobelak, A., Grosser, A. i Napora, A. 2015. The Impact of PAHs Contamination on the Physicochemical Properties and Microbiological Activity of Industrial Soils. *Polycyclic Aromatic Compounds* 35, s. 372–386.

Włóka i in. 2017 – Włóka, D., Placek, A., Rorat, A., Smol, M. i Kacprzak, M. 2017. The evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) biodegradation kinetics in soil amended with organic fertilizers and bulking agents. *Ecotoxicology and environmental safety* 145, s. 161–168.

