

## Testy biocydów i neutralizatorów H<sub>2</sub>S jako dodatków do płuczek wiertniczych i płynów szczelinujących

### Tests of biocides and H<sub>2</sub>S scavengers as additives to drilling muds and fracturing fluids

Piotr Kapusta, Anna Turkiewicz, Joanna Brzeszcz

*Institut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy*

**STRESZCZENIE:** W artykule przedstawiono wyniki testów substancji o działaniu biobójczym pod kątem możliwego zastosowania jako dodatków do płuczek wiertniczych i płynów szczelinujących. Celem pracy było wytypowanie najbardziej skutecznych substancji biobójczych poprzez zbadanie efektów ich działania na bakterie tlenowe (aerobowe), beztlenowe (anaerobowe), grzyby, bakterie redukujące siarczany (SRB) oraz konsorcjum mikroorganizmów. Uwzględniono rozmaite związki, ponieważ zawsze nadrzędnym celem jest wybór substancji o najwyższej aktywności, przede wszystkim zaś z grupy tych, które nie podlegały jeszcze testom. Szczególną uwagę poświęcono substancjom, które oprócz znanych właściwości biobójczych mają także zdolność neutralizacji siarkowodoru i zredukowanych związków siarki (ang. *H<sub>2</sub>S scavengers*), oraz tzw. zielonym biocydami, czyli takim, które uważane są za bezpieczne dla środowiska. Większość testowanych środków biobójczych okazała się skuteczna w stosunku do bakterii tlenowych i beztlenowych, podczas gdy 10 z 12 badanych cechowało się dobrą bądź bardzo dobrą aktywnością (niskie wartości MIC i MBC) wobec bakterii SRB, w tym także 3 z 4 neutralizatorów H<sub>2</sub>S. Z drugiej strony tylko niektóre środki biobójcze wykazały dobrą bądź bardzo dobrą aktywność w stosunku do grzybów i konsorcjum mikroorganizmów; były to środki oparte na aminach czwartorzędowych (Bardac LF i Barquat CB-80), na pochodnych triazyny (Biostat i Petrosweet HSW 82165) oraz na DBNPA (Biopol C-103L). Po wprowadzeniu do płuczki wiertniczej i płynu szczelinującego związki aminowe (Bardac LF i Barquat CB-80), jak również mieszanina środków biobójczych (Grotan OX i Preventol GDA 50) okazały się skuteczniejsze od tych zawierających pochodne triazyny (Biostat, Petrosweet HSW 82165) lub DBNPA (Biopol C-103L), ponieważ wykazywały pełną aktywność już przy stężeniu 800 ppm. Przyjazny dla środowiska środek biobójczy Aquacar THPS 75 był najmniej skuteczny.

**Słowa kluczowe:** mikroorganizmy, biocydy, neutralizatory H<sub>2</sub>S, płuczka wiertnicza, płyn szczelinujący.

**ABSTRACT:** The article presents the results of studies on substances with a biocidal effect in terms of their possible use as additives to drilling muds and fracturing fluids. The aim of the work was to identify the most effective biocides by examining their action on aerobic and anaerobic bacteria, fungi, sulfate-reducing bacteria (SRB), and a consortium of microorganisms. Various chemicals have been considered, due to a constant and overriding goal to find the one with the highest activity, and above all, the ones that have not yet been tested. Particular attention was paid to substances that, apart from known biocidal properties, have also the ability to neutralize hydrogen sulfide, and to reduced sulfur compounds (H<sub>2</sub>S scavengers), and the so-called “green biocides”, i.e. those that are considered safe for the environment. Most of the tested biocidal agents were effective against aerobic and anaerobic bacteria, while 10 out of 12 showed good or very good activity against SRB (low MIC and MBC values), including 3 out of 4 H<sub>2</sub>S scavengers. On the other hand, only some biocidal agents proved to be effective against fungi and microbial consortium; among them were agents containing quaternary ammonium compounds (Bardac LF and Barquat CB-80), triazine derivatives (Biostat and Petrosweet HSW 82165) and DBNPA (Biopol C-103L). Bardac LF and Barquat CB-80, together with the mixture of Grotan OX and Preventol GDA 50, upon introduction to the drilling mud and fracturing fluid, were superior over other biocidal agents (Biostat, Petrosweet HSW 82165 and Biopol C-103L), showing the full activity at 800 ppm. Environmentally friendly biocide Aquacar THPS 75 appeared to be the least effective.

**Key words:** microorganisms, biocides, H<sub>2</sub>S scavengers, drilling mud, fracturing fluid.

---

Autor do korespondencji: P. Kapusta, e-mail: [piotr.kapusta@inig.pl](mailto:piotr.kapusta@inig.pl)

Artykuł nadesłano do Redakcji: 05.10.2020 r. Zatwierdzono do druku: 04.03.2021 r.

## Wstęp

Światowy przemysł naftowy od szeregu lat zmagają się z problemami spowodowanymi przez szkodliwe działanie mikroorganizmów. Szczególnie niekorzystnie oddziałuje grupa beztlenowych bakterii zdolnych do wykorzystania siarczanów i innych utlenionych związków siarki jako końcowego akceptora elektronów, zwanych bakteriami redukującymi siarczan (SRB). Ze względu na fakt, że produktem ich metabolizmu jest siarkowodor, istnieje ogromna potrzeba stosowania środków biobójczych (czyli biocydów) w celu ograniczenia ich rozwoju (Raczkowski et al., 2004). Biocydy mają eliminować także inne mikroorganizmy szkodliwe z punktu widzenia przemysłu naftowego (Turkiewicz et al., 2013).

Dobór odpowiedniego biocydu jest zagadnieniem podstawowym, ale niejednokrotnie stanowi poważne wyzwanie. Biocyd musi bowiem spełniać kilka podstawowych warunków (McIlwaine, 2005):

- **Profil aktywności.** Powinien być ściśle dopasowany do rodzaju występujących mikroorganizmów. Niektóre substancje wykazują większą aktywność w stosunku do bakterii, inne do grzybów, jeszcze inne do glonów. W bardzo złożonych przypadkach wymagana jest dobra aktywność w stosunku do szerokiego spektrum mikroorganizmów, co ogranicza wybór dostępnych środków. Tak więc w zależności od konkretnej sytuacji może być wymagany środek o szerokim zakresie działania bądź bardzo selektywny.
- **Szybkość działania.** Większość obecnie stosowanych środków charakteryzuje się wysoką szybkością działania.
- **Stabilność.** W zależności od natury chemicznej związku chemicznego (będącego aktywnym komponentem danego środka) różne są optymalne warunki, w których skuteczność działania osiąga najwyższą wartość, a czas działania jest dostatecznie długi. Spośród czynników mających największe znaczenie należy wymienić pH (np. związki o charakterze zasadowym nie są stabilne w niskim pH) i temperaturę, ale również zawartość NaCl czy innych soli (np. tych decydujących o stopniu twardości).
- **Kompatybilność.** Kolejnym istotnym zagadnieniem jest kompatybilność stosowanych środków z innymi wykorzystywanymi w danym procesie technologicznym. W przypadku eksploatacji złóż ropy naftowej standardowymi dodatkami mogą być np. inhibitory korozji czy też inhibitory wytrącania parafin. Niektóre biocydy mogą wchodzić w interakcję z takimi środkami i powodować np. wytrącanie ich z roztworu. Kompatybilność może mieć również związek z czynnikami wpływającymi na stabilność danej substancji, np. wysokie stężenie NaCl może znacząco ograniczać rozpuszczalność biocydu.

- **Niska toksyczność.** Ze względu na regulacje dotyczące ochrony środowiska obecnie istnieje duży nacisk na stosowanie środków o zmniejszonej szkodliwości (Enzien i Yin, 2011). Oznacza to, że środek powinien stosunkowo łatwo ulegać degradacji i wykazywać niską toksyczność dla organizmów innych niż te, które ma eliminować. W praktyce zagadnienie jest jednak dość złożone, ponieważ niższa toksyczność oznacza z reguły także mniejszą skuteczność w stosunku do mikroorganizmów, jak również przekłada się na wyższe stężenia, które należy stosować. Z kolei szybsza degradowalność wiąże się np. z wyższą przeżywalnością zarodników grzybów i przetrwalników bakterii. W konsekwencji pozostaje kwestia utylizacji odpadu, który – jakkolwiek jednostkowo jest mniej toksyczny – jako całość już nie ma tej właściwości. W ostatecznym rozrachunku wszystko przenosi się na wyższy koszt stosowania konkretnego biocydu.

Środki wykorzystywane jako substancje biobójcze muszą spełniać dwie podstawowe funkcje:

- zabezpieczać biodegradowalne komponenty narażone na działanie mikroorganizmów (Turkiewicz, 2011);
- zapobiegać wprowadzeniu do złoża niepożądanych mikroorganizmów, takich jak bakterie SRB (Raczkowski et al., 2004).

Tak więc pomimo dużej dostępności na rynku rozmaitych środków biobójczych dobranie odpowiedniego jest pracochłonne. Skuteczność danego biocydu może być też różna w zależności od tego, czy ma się do czynienia z mikroorganizmami rosnącymi swobodnie, czy też w postaci biofilmu. W tym drugim przypadku z reguły wymagane jest użycie wyższych stężeń (Struchtemeyer et al., 2012). Stąd też istnieje ciągła potrzeba nie tylko testowania znanych substancji w rozmaitych warunkach środowiskowych, ale i poszukiwania nowych, skuteczniejszych środków (Yin et al., 2018). Zastosowanie biocydów w płynach szczelinujących stanowi jeszcze większe wyzwanie – zagadnienie to zostało szczególnie omówione w pracy Kahrilas i współpracowników (2014).

## Materiały i metody

### Podłoża mikrobiologiczne

Wykorzystano bulion odżywczy do hodowli mikroorganizmów tlenowych (wzbogacony 0,2-procentowym octanem sodu, pH = 7,2), Czapek-Dox do hodowli grzybów (oba DIFCO®, BD Polska), podłoże Brewera do hodowli mikroorganizmów beztlenowych (Fluka, Polska). Bakterie SRB oznaczano, stosując podłoże Postgate C, przygotowane w Zakładzie Mikrobiologii INiG – PIB. W celu uzyskania podłoży stałych do każdego podłoża dodawano agar w ilości 15 g/dm<sup>3</sup> (Bacto™ Agar, BD Polska).

### Źródło mikroorganizmów

Część mikroorganizmów wykorzystanych do testowych badań biocydów pochodziła z otrzymanych wcześniej kultur znajdujących się w kolekcji Zakładu Mikrobiologii INIG – PIB. Kultury te zostały wzbogacone o mikroorganizmy wyizolowane z płuczek wiertniczych stosowanych w trakcie wiercenia odwiertu X. Były to płuczki: X1 – bentonitowa, X2 – zasolona oraz X3 – polimerowa. Dodatkowo poddano analizie ciecz pozabiegową po hydraulicznym szczelinowaniu z odwiertu Y.

### Oznaczenie liczebności mikroorganizmów

Liczebność mikroorganizmów oznaczano standardowo na podłożach stałych (metoda lanych płytek Kocha) lub płynnych (metoda najbardziej prawdopodobnej liczby).

### Badane środki

Badano następujące biocydy bądź neutralizatory siarkowodoru o potencjalnej aktywności biobójczej: Bardac LF (biocyd, chlorek N,N-dioctylo-N,N-dimetyloamoniowy 50% oraz etanol 8%, Lonza Group Ltd.), Barquat CB-80 (biocyd, chlorek N-alkilo-N-benzylo-N,N-dimetyloamoniowy 80%, w tym C12 – 40%, C14 – 50% i C16 – 10%, Lonza Group Ltd.), Bodoxin (biocyd, 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3-on 0,80% i 2-metylo-4-izotiazolin-3-on 0,28%, Ashland Chemicals), Bodoxin AE (biocyd, (etylenodiioksy)dimetanol 94,9%, Ashland Chemicals), Biopol C-103L (biocyd, 2,2-dibromo-3-nitrylopropionamid 20%, przyjęty skrót – DBNPA, Chemipol S.A.), Biostat (biocyd,  $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimetylo-1,3,5-triazyno-1,3,5(2H,4H,6H)-trietanol 70–80%, Polski Serwis Płynów Wiertniczych Sp. z o.o.), Petrosweet HSW 82165 (neutralizator siarkowodoru, heksahydro-1,3,5-tris(hydroksyetylo)-s-triazyna i inne hydroksyalkilopochodne s-triazyny, zawartość nieznana, Baker Petrolite), Petrosweet HSW 82523 (neutralizator siarkowodoru, heksahydro-1,3,5-tris(hydroksyetylo)-s-triazyna i inne hydroksyalkilopochodne s-triazyny, zawartość nieznana, Baker Petrolite), Petrosweet HSW 85402 (neutralizator siarkowodoru, heksahydro-1,3,5-tris(hydroksyetylo)-s-triazyna 50%, Baker Petrolite), Petrosweet HSW 85415 (neutralizator siarkowodoru, pochodne s-triazyny, zawartość nieznana, Baker Petrolite), Grotan OX (biocyd, 3,3'-metylenobis(5-metylooksazolidyna) 99–100%, oryginalnie Schülke & Mayr GmbH, obecnie Brenntag Polska Sp. z o.o.), Preventol GDA 50 (biocyd, glutaral 50%, Lanxess AG), Aqucar THPS 75 (biocyd, siarczan tetrakis(hydroksymetylo)fosfoniowy 76,5%, Dow Chemical Company). Jako referencyjnego środka użyto XC 85177 (biocyd, glutaral 49,9% i formaldehyd 20,1%, Baker Petrolite). Grotan OX

i Preventol GDA 50 testowano wyłącznie w stosunku obj. 50 : 50, ponieważ ich skuteczność testowana jako samodzielnie działające biocydy była analizowana na zlecenie w ramach odrębnych badań.

### Testy biocydów

Ze względu na to, że badane środki w wielu przypadkach nie były czystymi substancjami, wszystkie eksperymenty przeprowadzono, stosując stężenia wyrażone w jednostkach „ppm” w odniesieniu do objętości (ang. *parts per million*, v/v). A zatem 1 ppm oznacza 1 mm<sup>3</sup> (1  $\mu$ l) danej substancji rozpuszczonej w 1 dm<sup>3</sup> (1 l) podłoża płynnego lub wody. Inkubację prowadzono do 30 dni w 25°C. Każdą zmianę wskazującą na proliferację mikroorganizmów (wzrost mętności, pojawienie się biofilmu na ściankach i/lub błonki na powierzchni) uznawano za przejaw rozwijającej się biomasy. Pierwsze serie doświadczeń prowadzono w zakresie stężeń 0–1500 ppm. W kolejnych seriach uściślano zakres stężeń w celu wyznaczenia minimalnego stężenia hamującego (MIC – najniższe stężenie, przy którym obserwuje się zahamowanie wzrostu mikroorganizmów) oraz minimalnego stężenia biobójczego (MBC – najniższe stężenie, przy którym ginie 99,9% mikroorganizmów) indywidualnie dla każdego biocydu. W badaniach dotyczących skuteczności biocydów w środowisku płuczki wiertniczej i płynu szczelinującego wykorzystano modelową płuczkę wiertniczą potasowo-polimerową o następującym składzie: KCl – 30 g/dm<sup>3</sup>, Bentonit OCMA – 2 g/dm<sup>3</sup>, PHPA – 2,5 g/dm<sup>3</sup>, Polofix LV (karboksymetyloceluloza) – 25 g/dm<sup>3</sup>, XCD (polimer ksantanowy) – 2 g/dm<sup>3</sup>. Jeśli chodzi o płyn szczelinujący, to pozyskano do celów badawczych próbkę płynu szczelinującego zastosowanego w czasie jednego z zabiegów hydraulicznego szczelinowania. Obie cieczki przed rozpoczęciem badań wysterylizowano (metoda sterylizacji parowej).

### Ocena stopnia degradacji polimerów

Do ilościowego oznaczenia posłużono się zmodyfikowaną metodą wykorzystującą odczynnik dinitrosalicylowy (Miller, 1959) według procedury opisanej w publikacji autorstwa Brzeszcz i współpracowników (2011). Jako standardu użyto roztworu glukozy o stężeniu 10 mM, w zakresie 0,5–5 mM. Przedstawiając wyniki, posłużono się arbitralną jednostką „% degradacji” w celu lepszego odzwierciedlenia faktycznego poziomu rozkładu polimerów.

### Wyniki

#### Identyfikacja stopnia skażenia

Przeprowadzona analiza (tab. 1) wykazała, że próby płuczek wiertniczych charakteryzowały się stosunkowo wysokim

stopniem skażenia bakteriami tlenowymi (aerobowymi) – w zakresie od  $2,4 \cdot 10^6$  do  $7,1 \cdot 10^6$  jtk/cm<sup>3</sup>, natomiast ogólna liczba heterotroficznych bakterii beztlenowych, bakterii SRB oraz grzybów była niższa, odpowiednio: od  $1,5 \cdot 10^4$  do  $5,0 \cdot 10^4$ ;  $1 \cdot 10^3$  i od  $2,4 \cdot 10^3$  do  $6,9 \cdot 10^3$  jtk/cm<sup>3</sup>. Duża liczba bakterii tlenowych sugeruje, że skażenie miało charakter pozazłożowy i mogło dojść do niego po zakończeniu procesu wiercenia, o czym świadczy również obecność grzybów. Jeśli chodzi o płyn zwrotny (ciecz pozabiegową) po procesie hydraulicznego szczelinowania, to charakteryzował się on niskim poziomem skażenia. Podobnie jak w przypadku prób płuczki wiertniczej w największej liczbie stwierdzono obecność bakterii tlenowych – od  $4,1 \cdot 10^4$  do  $5,7 \cdot 10^4$  jtk/cm<sup>3</sup>, a liczba bakterii beztlenowych i bakterii SRB była niższa i wynosiła odpowiednio od  $5,7 \cdot 10^3$  do  $6,2 \cdot 10^3$  jtk/cm<sup>3</sup> i od  $1 \cdot 10^2$  do  $1 \cdot 10^3$  jtk/cm<sup>3</sup>. Nie stwierdzono natomiast obecności grzybów. Badania toksyczności dla innej cieczy zwrotnej po zabiegu hydraulicznego szczelinowania wykonane przez zespół T. Steligi (Steliga i Jakubowicz, 2015) wykazały, że ciecz ta charakteryzowała się niskim poziomem toksyczności, co oznacza, że wyższa



Rys. 1. Różnorodność mikroorganizmów zasiedlających płuczkę wiertniczą

Fig. 1. Diversity of microorganisms colonizing the drilling mud

liczebność mikroorganizmów w płuczkach wiertniczych jest prawdopodobnie wynikiem lepszej dostępności związków stanowiących źródło pierwiastka węgla dla mikroorganizmów. Przykładowe mikroorganizmy zasiedlające płuczkę wiertniczą X3 pokazano na rysunku 1.

**Badania testowe biocydów**

Aktywność substancji badano niezależnie w stosunku do bakterii tlenowych, bakterii beztlenowych, grzybów, bakterii SRB oraz konsorcjum (tworzenie wielogatunkowego biofilmu złożonego z bakterii i grzybów, rys. 2). Jeśli chodzi o bakterie tlenowe i beztlenowe, to zdecydowanie najskuteczniejszym środkiem okazał się Barquat CB-80, dobrą aktywnością cechowały się także Bardac LF, Biopol C-103L, Biostat i Bodoxin. Ponownym zaskoczeniem była również skuteczność środków Petrosweet HSW, ponieważ wszystkie cztery wykazały przyzwoitą aktywność biobójczą względem obu grup bakterii. Tylko Bodoxin AE okazał się środkiem o słabej aktywności biobójczej. Wartości MIC oraz MBC wyznaczono osobno dla bakterii SRB oraz dla konsorcjum mikroorganizmów (tab. 2 i 3). Większość testowanych środków okazała się skuteczna, jeśli chodzi o bakterie SRB. Tylko w przypadku dwóch środków biobójczych zaobserwowano słabszą aktywność: był to biocyd Bodoxin AE oraz środek Petrosweet HSW 82165, o charakterze neutralizatora H<sub>2</sub>S. Pozostałe generalnie wykazywały dobrą albo przynajmniej przeciętną aktywność biobójczą. Najskuteczniejszym związkiem był oparty na pochodnych amin Bardac LF. Również dobrą aktywnością wykazał się środek oparty na izotiazolonach – Bodoxin. Skuteczne były: Barquat CB-80, zawierający w swoim składzie związek aminowy, Biopol C-103L (DBPNA, „zielony biocyd”), Aqucar THPS 75 („zielony biocyd”) oraz Biostat (sym-triazyna). Skuteczne okazały się również, oparte na

Tabela 1. Wyniki analiz mikrobiologicznych płuczek wiertniczych oraz cieczy zwrotnej po zabiegu hydraulicznego szczelinowania

Table 1. The results of microbial analyses of drilling muds and flowback fluids from hydraulic fracturing treatment

Próba badana	Bakterie tlenowe	Bakterie beztlenowe	Bakterie SRB	Grzyby
	[jtk/cm <sup>3</sup> ]		[npl/cm <sup>3</sup> ]	[jtk/cm <sup>3</sup> ]
Płuczka X1 bentonitowa	$3,5 \cdot 10^6$ ( $\pm 1,4 \cdot 10^6$ )	$4,7 \cdot 10^4$ ( $\pm 6,0 \cdot 10^3$ )	$1 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$ ( $\pm 7,1 \cdot 10^2$ )
Płuczka zasolona X2	$2,4 \cdot 10^6$ ( $\pm 8,7 \cdot 10^5$ )	$1,5 \cdot 10^4$ ( $\pm 5,4 \cdot 10^3$ )	<1	<1
Płuczka polimerowa X3	$7,1 \cdot 10^6$ ( $\pm 1,8 \cdot 10^6$ )	$5,0 \cdot 10^4$ ( $\pm 9,3 \cdot 10^3$ )	$1 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^3$ ( $\pm 1,2 \cdot 10^3$ )
Ciecz zwrotna po zabiegu hydraulicznego szczelinowania – próbka 1	$4,1 \cdot 10^4$ ( $\pm 2,6 \cdot 10^4$ )	$6,2 \cdot 10^3$ ( $\pm 1,2 \cdot 10^3$ )	$1 \cdot 10^3$	<1
Ciecz zwrotna po zabiegu hydraulicznego szczelinowania – próbka 2	$5,7 \cdot 10^4$ ( $\pm 1,9 \cdot 10^4$ )	$5,7 \cdot 10^3$ ( $\pm 9,8 \cdot 10^2$ )	$1 \cdot 10^2$	<1

jtk – jednostka tworząca kolonię (*colony-forming unit*)

npl – najbardziej prawdopodobna liczba (*the most probable number*)



**Rys. 2.** Działanie wzrastających stężeń biocydu na konsorcjum mikroorganizmów. W dwóch pierwszych butelkach (od lewej, stężenia biocydu 50 ppm i 100 ppm) można zaobserwować intensywny wzrost mikroorganizmów. W wyższych stężeniach (odpowiednio 150 ppm i 200 ppm) widać brak wzrostu mikroorganizmów (brak zmętnienia oraz osad na dnie butelki, który wskazuje na obumarłe mikroorganizmy)

**Fig. 2.** The effect of increasing biocide concentration on microbial consortium. In first two bottles (from left, biocide concentration 50 ppm and 100 ppm) the intensive growth of microorganisms is seen. At higher biocide concentrations (150 and 200 ppm, respectively) no growth is observed (lack of turbidity and fine sediment at the bottom – an indicator of dead microorganisms)

pochodnych triazyny, trzy neutralizatory H<sub>2</sub>S z serii Petrosweet HSW. Oznacza to, że w szczególnych przypadkach, gdy głównym problemem są bakterie SRB, można używać tych środków w charakterze biocydów. Jeśli chodzi o bakterie tlenowe i bez-tlenowe, to zdecydowanie najskuteczniejszym środkiem był Barquat CB-80, przy czym dobrą aktywnością cechowały się również: Bardac LF, Biopol C-103L, Biostat, Bodoxin i XC 85177. Wszystkie cztery środki Petrosweet HSW wykazały zadowalającą aktywność biobójczą względem obu grup bakterii. Ponownie Bodoxin AE okazał się środkiem o słabej aktywności, ale zasadniczo wszystkie testowane środki można stosować do zwalczania bakterii. Nie można tego samego powiedzieć o aktywności względem grzybów. W przypadku tej grupy mikroorganizmów tylko niektóre biocydy okazały się wystarczająco skuteczne, a mianowicie: Bardac LF, Barquat CB-80, Biopol C-103L, Biostat, XC 85177 i – co zaskakujące – Petrosweet HSW 82165. Aktywność pozostałych była co najwyżej przeciętna, zaś trzy inne środki z serii Petrosweet wykazały się szczególnie słabą aktywnością (MIC > 1000 ppm). Aktywność względem grzybów okazała się również kluczowa w teście działania na konsorcjum mikroorganizmów, ponieważ uzyskane wyniki są bardzo zbliżone do tych otrzymanych dla samych grzybów.

Do dalszych badań wybrano biocydy, które charakteryzowały się wysoką skutecznością zarówno w stosunku do bakterii SRB, jak i konsorcjum mikroorganizmów. Oprócz tego w testach uwzględniono połączenie dwóch

**Tabela 2.** MIC i MBC wszystkich testowanych środków biobójczych dla bakterii SRB  
**Table 2.** MIC and MBC of the all tested biocides for SRB

Testowane środki	MIC	MBC	Uwagi
	[ppm]		
Bardac LF	100	150	b. dobra aktywność biobójcza
Barquat CB-80	100–150	150	b. dobra aktywność biobójcza
Bodoxin	100–150	150	b. dobra aktywność biobójcza
Bodoxin AE	600–700	700	przeciętna aktywność biobójcza
Biopol C-103L	100–150	150	b. dobra aktywność biobójcza
Biostat	100–150	150	dobra aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 82165	600–700	700	przeciętna aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 82523	150–200	200	dobra aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 85402	150–200	200	dobra aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 85415	150–200	200	dobra aktywność biobójcza
XC 85177	300	400	dobra aktywność biobójcza
Aquacar THPS 75	100–150	150	dobra aktywność biobójcza

**Tabela 3.** MIC i MBC wszystkich testowanych środków biobójczych dla konsorcjum mikroorganizmów

**Table 3.** MIC and MBC of the all tested biocides for microbial consortium

Testowane środki	MIC	MBC	Uwagi
	(ppm)		
Bardac LF	300–400	400	dobra aktywność biobójcza
Barquat CB-80	100–150	150	b. dobra aktywność biobójcza
Bodoxin	500–600	600	przeciętna aktywność biobójcza
Bodoxin AE	700–800	800	przeciętna aktywność biobójcza
Biopol C-103L	300	400	dobra aktywność biobójcza
Biostat	300–400	400	dobra aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 82165	300–400	400	dobra aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 82523	1000–1250	1250	słaba aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 85402	1000–1250	1250	słaba aktywność biobójcza
Petrosweet HSW 85415	1000–1250	1250	słaba aktywność biobójcza
XC 85177	300–400	400	dobra aktywność biobójcza
Aquacar THPS 75	500–600	600	przeciętna aktywność biobójcza

biocydów o znanej aktywności: środków Grotan OX i Preventol GDA 50 (1 : 1 v/v). Wybrano: Bardac LF, Barquat CB-80, Biopol C-103L, Biostat (MBC = 150 ppm i 400 ppm). Nie wykorzystano w dalszych badaniach środka XC 85177, ponieważ służył tylko jako środek referencyjny. Zamiast niego zastosowano neutralizator H<sub>2</sub>S – Petrosweet HSW 82165, który charakteryzował się co prawda słabszą skutecznością w stosunku do bakterii SRB, ale był efektywny wobec wszystkich innych grup mikroorganizmów, oraz Aquacar THPS 75, skuteczny wobec SRB, ale słabszy w stosunku do innych grup mikroorganizmów.

**Badania skuteczności działania biocydów na konsorcja bakteryjne wprowadzone do płuczki wiertniczej i płynu szczelinującego**

Dalsze badania miały na celu wykazanie, czy związki wytypowane jako najskuteczniejsze są również zdolne eliminować bakterie w środowisku płuczki wiertniczej lub płynu szczelinującego. Wyniki przedstawiono w tabelach 4 i 5. Ze względu na fakt, że płynu szczelinującego nie przygotowano we własnym laboratorium, zawierał on najprawdopodobniej w swoim składzie jakiś biocyd, gdyż pierwsze próby wprowadzenia mikroorganizmów nie dały spodziewanych wyników. Płyn poddano

sterylizacji w 121°C i po odczekaniu 30 dni ponownie wprowadzono konsorcjum bakteryjne, tym razem z powodzeniem. Uzyskane wyniki wskazują, że aktywność biocydów w tych mediach jest słabsza niż w warunkach eksperymentalnych, gdy dodawane były one bezpośrednio do mediów hodowlanych. Być może wiąże się to z adsorpcją cząsteczek substancji biobójczych na powierzchni minerałów, względnie z lepszą przeżywalnością mikroorganizmów w takim środowisku. Inną możliwością jest tworzenie form przetrwalnikowych przez niektóre mikroorganizmy. Tak czy inaczej nasuwa się wniosek o konieczności stosowania znacznie wyższych stężeń niż MBC, tak aby całkowicie wyeliminować mikroorganizmy, natomiast utrzymanie ich liczebności na niższym od początkowego poziomie jest możliwe przez stosowanie stężeń zbliżonych do wyznaczonej wartości MBC. Jeśli chodzi o typy substancji biobójczych, to związki aminowe (Bardac LF i Barquat CB-80), jak również połączenia dwóch środków biobójczych (Grotan OX i Preventol GDA 50), były nieco skuteczniejsze od tych zawierających pochodne triazyny (Biostat, Petrosweet HSW 82165), ponieważ wykazywały pełną skuteczność już przy stężeniu 800 ppm. Aquacar THPS 75 („zielony biocyd”) okazał się najmniej skutecznym środkiem.

**Tabela 4.** Wpływ wybranych środków biobójczych na liczebność mikroorganizmów w skażonej płuczce wiertniczej  
**Table 4.** The effect of selected biocides on microbial frequencies in contaminated drilling mud

Testowane środki	Stężenie biocydu / liczba mikroorganizmów		
	[ppm]/[jtk/cm <sup>3</sup> ]		
Bardac LF	400 / 2,4 · 10 <sup>5</sup>	600 / 4,3 · 10 <sup>2</sup>	800 / <1
Barquat CB-80	150 / 1,6 · 10 <sup>5</sup>	600 / 2 · 10 <sup>1</sup>	800 / <1
Biopol C-103L	400 / 7,5 · 10 <sup>4</sup>	600 / 6,3 · 10 <sup>3</sup>	800 / 3,2 · 10 <sup>2</sup>
Biostat	400 / 2,7 · 10 <sup>5</sup>	600 / 9,1 · 10 <sup>3</sup>	800 / 4,5 · 10 <sup>2</sup>
Petrosweet HSW 82165	400 / 4,9 · 10 <sup>5</sup>	600 / 1,0 · 10 <sup>4</sup>	800 / 6,7 · 10 <sup>2</sup>
Grotan OX + Preventol GDA 50	200 / 4,1 · 10 <sup>4</sup>	600 / 2,5 · 10 <sup>1</sup>	800 / <1
Aquacar THPS 75	600 / 5,4 · 10 <sup>5</sup>	800 / 1,0 · 10 <sup>4</sup>	1000 / 5,6 · 10 <sup>2</sup>

jtk – jednostka tworząca kolonię (*colony-forming unit*)

**Tabela 5.** Wpływ wybranych środków biobójczych na liczebność mikroorganizmów w skażonym płynie szczelinującym  
**Table 5.** The effect of selected biocides on microbial frequencies in contaminated fracturing fluid

Testowane środki	Stężenie biocydu / liczba mikroorganizmów		
	[ppm]/[jtk/cm <sup>3</sup> ]		
Bardac LF	400 / 7,7 · 10 <sup>4</sup>	600 / 3,5 · 10 <sup>2</sup>	800 / <1
Barquat CB-80	150 / 9,2 · 10 <sup>4</sup>	600 / 4,1 · 10 <sup>1</sup>	800 / <1
Biopol C-103L	400 / 5,3 · 10 <sup>5</sup>	600 / 1,5 · 10 <sup>4</sup>	800 / 4,6 · 10 <sup>2</sup>
Biostat	400 / 2,0 · 10 <sup>5</sup>	600 / 7,9 · 10 <sup>3</sup>	800 / 2,8 · 10 <sup>2</sup>
Petrosweet HSW 82165	400 / 3,5 · 10 <sup>5</sup>	600 / 9,7 · 10 <sup>4</sup>	800 / 3,4 · 10 <sup>2</sup>
Grotan OX + Preventol GDA 50	200 / 2,4 · 10 <sup>4</sup>	600 / 3,2 · 10 <sup>2</sup>	800 / <1
Aquacar THPS 75	600 / 3,9 · 10 <sup>5</sup>	800 / 8,2 · 10 <sup>3</sup>	1000 / 1,9 · 10 <sup>2</sup>

jtk – jednostka tworząca kolonię (*colony-forming unit*)

### Badania skuteczności działania biocydów pod kątem ochrony składników polimerowych płuczki wiertniczej i płynu szczelinującego

Badania te miały na celu ustalenie, jak długo określony biocyd jest w stanie zapewnić skuteczną ochronę polimerowych składników płuczki i w związku z tym – jak długo zachowuje aktywność biobójczą. Użyto takich stężeń biocydów, przy których nie następował już rozwój mikroorganizmów w płynach wiertniczych, a więc odpowiednio: 800 ppm (Bardac LF), 800 ppm (Barquat CB-80), 1000 ppm (Biopol C-103L), 1000 ppm (Biostat), 1000 ppm (Petrosweet HSW 82165), 800 ppm (Grotan OX + Preventol GDA 50) oraz 1200 ppm (Aquacar THPS 75). W określonych odstępach czasu dodawano mikroorganizmów (w liczebności  $1 \cdot 10^2$  jtk/cm<sup>3</sup>),

a następnie sprawdzano stopień degradacji polimerów. Wyniki przedstawiono w tabelach 6 i 7. Wszystkie biocydy z wyjątkiem Aquacar THPS 75 były aktywne przez 15 dni, po czym następowało stopniowe osłabienie ich działania. Związkami o najdłuższym działaniu okazały się środki oparte na pochodnych triazyny (Biostat i Petrosweet HSW 82165) oraz połączenie dwóch substancji biobójczych (Grotan OX + Preventol GDA 50). Tak więc wytypowane wcześniej do badań biocydy okazały się z jednej strony środkami o wystarczająco długim działaniu, aby chronić polimerowe składniki, z drugiej zaś strony podlegały inaktywacji, a więc nie stwarzały zagrożenia dla środowiska naturalnego. Ponadto uzyskane wyniki sugerują, że związki polimerowe będą utylizowane przez mikroorganizmy po zakończonych procesach wiercenia i szczelinowania.

**Tabela 6.** Rozkład polimerowych składników płuczki wiertniczej w obecności wybranych środków biobójczych

**Table 6.** Degradation of polymer components of drilling mud in the presence of selected biocides

Testowane środki	Czas działania biocydu / procent degradacji polimerów			
	[dni/%]			
Bardac LF 800 ppm	15 / 2,3	30 / 2,7	45 / 56,7	60 / 92,3
Barquat CB-80 800 ppm	15 / 0,9	30 / 5,4	45 / 59,1	60 / 90,9
Biopol C-103L 1000 ppm	15 / 1,9	30 / 4,6	45 / 64,5	60 / 96,1
Biostat 1000 ppm	15 / 1,5	30 / 3,4	45 / 18,9	60 / 45,1
Petrosweet HSW 82165 1000 ppm	15 / 4,2	30 / 4,9	45 / 23,2	60 / 49,4
Grotan OX + Preventol GDA 50 800 ppm	15 / 0,8	30 / 1,1	45 / 8,7	60 / 32,6
Aquacar THPS 75 1200 ppm	15 / 73,5	30 / 91,2	45 / 98,9	60 / 99,5

**Tabela 7.** Rozkład polimerowych składników płynu szczelinującego w obecności wybranych środków biobójczych

**Table 7.** Degradation of polymer components of fracturing fluid in the presence of selected biocides

Testowane środki	Czas działania biocydu / procent degradacji polimerów			
	[dni/%]			
Bardac LF 800 ppm	15 / 1,4	30 / 3,5	45 / 42,9	60 / 90,1
Barquat CB-80 800 ppm	15 / 1,1	30 / 5,6	45 / 52,3	60 / 92,4
Biopol C-103L 1000 ppm	15 / 1,8	30 / 4,0	45 / 56,8	60 / 93,2
Biostat 1000 ppm	15 / 1,4	30 / 6,0	45 / 20,3	60 / 57,2
Petrosweet HSW 82165 1000 ppm	15 / 2,0	30 / 3,5	45 / 18,0	60 / 54,6
Grotan OX + Preventol GDA 50 800 ppm	15 / 1,2	30 / 2,4	45 / 6,5	60 / 36,3
Aquacar THPS 75 1200 ppm	15 / 65,1	30 / 88,7	45 / 97,0	60 / 98,9

## Podsumowanie i wnioski

Testowane biocydy cechowały się różną aktywnością w stosunku do różnych grup mikroorganizmów. Największą efektywność wykazywały wobec bakterii SRB, najmniejszą w stosunku do konsorcjum mikroorganizmów. Jeśli chodzi o skuteczność w środowisku płuczki wiertniczej i płynu szczelinującego, to całościowo najlepiej sprawdziły się środki oparte na pochodnych związków aminowych Bardac LF i Barquat CB-80 oraz połączenie różnych związków (Grotan OX + Preventol GDA 50). Nieco gorsze rezultaty otrzymano w przypadku środków opartych na pochodnych triazyny, przy czym klasyczny biocyd (Biostat) spisywał się całościowo o wiele lepiej niż trzy środki o charakterze neutralizatorów H<sub>2</sub>S (Petrosweet HSW 82523, HSW 85402, HSW 84515). Niemniej jednak i one mają ewidentną aktywność biobójczą, co więcej, okazały się dość skuteczne względem bakterii SRB. Tak więc w szczególnych przypadkach, gdy istnieje problem generowania biogenego H<sub>2</sub>S, można zastępczo użyć tych środków, ewentualnie stosować tylko Biostat, który również posiadał aktywność neutralizatora H<sub>2</sub>S. Z kolei Petrosweet HSW 82165 okazał się co prawda słabszy, jeśli chodzi o aktywność względem SRB, jednak był porównywalny z Biostatem, jeśli chodzi o pozostałe grupy mikroorganizmów. Wyniki badań wskazują jednoznacznie, że w środowisku płuczki wiertniczej i płynu szczelinującego aktywność biocydów jest znacznie mniejsza niż wyznaczona dla każdego z nich wartość MBC. Różnice rzędu 100–200% dotyczyły praktycznie wszystkich badanych środków. Odpowiednie połączenie różnych substancji biobójczych daje korzystne efekty (Grotan OX + Preventol GDA 50). Efektem takiego stosowania jest nie tylko skuteczne działanie, ale również przedłużona aktywność takiego środka biobójczego. Środki uznane za bardziej ekologiczne („zielone”) – Biopol C-103L (DBNPA) i Aquacar THPS 75 (THPS) różniły się między sobą skutecznością działania. Biopol C-103L można rekomendować do stosowania jako dodatek zarówno do płuczek wiertniczych, jak i płynów szczelinujących, natomiast Aquacar THPS 75 raczej tylko w razie braku dostępności innych środków. W przypadku tego pierwszego nieco zaskakujący jest stosunkowo długi czas inaktywacji. Wiadomo bowiem, że DBNPA ulega łatwo degradacji, a w obecności niektórych związków chemicznych (np. glutałdehydu) proces ten przebiega nawet szybciej, czego rezultatem jest słabsze działanie biobójcze (Wagner et al., 2020). Z drugiej strony Campa i współpracownicy (2019) wykazali, że w środowisku poddanym działaniu płynu szczelinującego zarówno DBNPA, jak i produkty jego rozkładu utrzymują się dłużej, a więc ich działanie na mikroorganizmy może trwać w większym przedziale czasowym.

Biorąc pod uwagę fakt, że kwestie środowiskowe, jeśli chodzi o technologię płuczek wiertniczych i płynów

szczelinujących, są coraz istotniejsze (Vengosh et al., 2014; Steliga i Jakubowicz, 2015; Steliga i Uliasz, 2018), można oczekiwać, że środki bezpieczniejsze dla środowiska będą stopniowo stosowane coraz częściej. Jest to istotne tym bardziej, że obecnie szereg prac badawczych koncentruje się na tym, czy produkty rozkładu biocydów są bezpieczne dla środowiska (Fallah Tafti, 2014; Kahrilas et al., 2016). Wydaje się, że wszystkie testowane środki (z wyjątkiem Aquacar THPS 75) dobrze chroniły polimerowe składniki płuczki wiertniczej przez przynajmniej 15 dni, a więc stosunkowo długo, po czym najprawdopodobniej ulegały stopniowej dezaktywacji (a więc przestały stwarzać zagrożenie dla środowiska naturalnego), przy czym środki oparte na pochodnych triazyny (Biostat i Petrosweet HSW 82165) oraz połączeniach różnych związków (Grotan OX + Preventol GDA 50) wydawały się trwalsze. Niestety w roku 2016 regulacje unijne zaliczyły formaldehyd jako środek rakotwórczy klasy 1B oraz mutagenny klasy 2. Oznacza to, że przyszłość biocydów uwalniających formaldehyd, czyli zawierających pochodne triazyny i oksazolidyny, może być niepewna. Co prawda istnieją testy (np. test Ames) pozwalające dość jednoznacznie w sposób wystandaryzowany ocenić, czy dany środek w rekomendowanym do użycia stężeniu jest mutagenny, ale mimo tego może okazać się, że w ciągu kilku najbliższych lat środki zawierające tego typu związki będą znikać z rynku. Natomiast należy pamiętać, że środki te uwalniają formaldehyd do wnętrza komórek mikroorganizmów, a on sam w niskich stężeniach może ulegać biodegradacji (Kaszycki i Kołoczek 2002; Vorholt, 2002).

Badania zostały wykonane w ramach projektu Optidrilltec z programu Blue Gas.

Stosowane skróty: SRB (ang. *sulfate-reducing bacteria*) – bakterie redukujące siarczany, MIC (ang. *minimum inhibitory concentration*) – minimalne stężenie hamujące, MBC (ang. *minimum bactericidal concentration*) – minimalne stężenie bakteriobójcze, THPS (ang. *tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium sulfate*) – siarczan tetrakis(hydroksymetylo)fosfoniowy, DBNPA (ang. *2,2-dibromo-3-nitripropionamide*) – 2,2-dibromo-3-nitrylopropionamid, jtk – jednostka tworząca kolonię, npl – najbardziej prawdopodobna liczba

## Literatura

- Brzeszcz J., Falkowicz S., Turkiewicz A., Kapusta P., 2011. Zdolności metaboliczne bakterii degradujących ksantan i ich wpływ na wybrane płuczki wiertnicze. *Nafta-Gaz*, 67: 30–39.
- Campa M.F., Techtmann S.M., Ladd M.P., Yan J., Patterson M., de Matos Amaral A.G., Carter K.E., Ulrich N., Grant C.J., Hettich R.L., Lamendella R., Hazen T.C., 2019. Surface water microbial community response to the biocide 2,2-dibromo-3-nitripropionamide, used in unconventional oil and gas extraction. *Appl. Environ. Microbiol.*, 85: e01336-19. DOI: 10.1128/AEM.01336-19.



- Enzien M., Yin B., 2011. New biocide formulations for oil and gas injection waters with improved environmental footprint. *Offshore Technology Conference, Houston, TX*. OTC Paper No. 21794. DOI: 10.4043/21794-MS.
- Fallahtafti S., 2014. The toxicity characterization and detoxification of two formaldehyde-releasing oilfield microbial control additives. *SPE Western North American and Rocky Mountain Joint Meeting, Denver, Colorado*. DOI: 10.2118/169551-MS.
- Kahrilas G.A., Blotevogel J., Corrin E.R., Borch T., 2016. Downhole transformation of the hydraulic fracturing fluid biocide glutaraldehyde: implications for flowback and produced water quality. *Environ. Sci. Technol.*, 50: 11414–11423. DOI: 10.1021/acs.est.6b02881.
- Kahrilas G.A., Blotevogel J., Stewart P.S., Borch T., 2014. Biocides in hydraulic fracturing fluids: A critical review of their usage, mobility, degradation, and toxicity. *Environ. Sci. Technol.*, 49: 16–32. DOI: 10.1021/es503724k.
- Kaszycki P., Kołoczek H., 2002. Biodegradation of formaldehyde and its derivatives in industrial wastewater with methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* and with the yeast-bioaugmented activated sludge. *Biodegradation*, 13: 91–99. DOI: 10.1023/A:1020423517235.
- McIlwaine D.B., 2005. Oilfield applications for biocides. [W:] Paulus W. (red.). *Directory of microbiocides for the protection of materials. A Handbook. Kluwer Academic Publishers Dordrecht/Boston/London*, 157–175. DOI: 10.1007/1-4020-2818-0\_10.
- Miller G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426–428. DOI: 10.1021/ac60147a030.
- Raczkowski J., Turkiewicz A., Kapusta P., 2004. Elimination of biogenic hydrogen sulfide in underground gas storage. A case study. *SPE Annual Technical Conference and Exhibition, Houston, TX*. DOI: 10.2118/89906-MS.
- Steliga T., Jakubowicz P., 2015. Badanie składu cieczy pozabiegowej po hydraulicznym szczelinowaniu i analiza rozwiązań technologicznych w aspekcie jej powtórnego wykorzystania. *Prace Naukowe Instytutu Nafty i Gazu – Państwowego Instytutu Badawczego*, 205: 1–296.
- Steliga T., Uliasz M., 2018. Innowacyjna technologia zestalania żużli płuczek wiertniczych. *Prace Naukowe Instytutu Nafty i Gazu – Państwowego Instytutu Badawczego*, 221. DOI: 10.18668/PN2018.221.
- Struchtemeyer C.G., Morrison M.D., Elshahed M.S., 2012. A critical assessment of the efficacy of biocides used during the hydraulic fracturing process in shale natural gas wells. *Int. Biodeter. Biodegr.* 71: 15–21. DOI: 10.1016/j.ibiod.2012.01.013.
- Turkiewicz A., 2011. The role of microorganisms in the oil and gas industry. *Rocznik Ochrony Środowiska*, 13: 227–240.
- Turkiewicz A., Brzeszcz J., Kapusta P., 2013. The application of biocides in the oil and gas industry. *Nafta-Gaz*, 2: 103–111.
- Vengosh A., Jackson R.B., Warner N., Darrah T.H., Kondash A., 2014. A critical review of the risks to water resources from unconventional shale gas development and hydraulic fracturing in the United States. *Environ. Sci. Technol.*, 48: 8334–8348. DOI: 10.1021/es405118y.
- Vorholt J.A., 2002. Cofactor-dependent pathways of formaldehyde oxidation in methylotrophic bacteria. *Arch. Microbiol.*, 178: 239–249. DOI: 10.1007/s00203-002-0450-2.
- Wagner T.V., Helmus R., Quito Tapia S., Huub H.M. Rijnaarts H.H.M., de Voogt P., Langenhoff A.A.M., Parsons J.R., 2020. Non-target screening reveals the mechanisms responsible for the antagonistic inhibiting effect of the biocides DBNPA and glutaraldehyde on benzoic acid biodegradation. *J. Hazard. Mater.*, 386: 121661. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.121661.
- Yin B., Williams T., Koehler T., Morris B., Manna K., 2018. Targeted microbial control for hydrocarbon reservoir: Identify new biocide offerings for souring control using thermophile testing capabilities. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 126: 204–207. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.07.019.



Dr Piotr KAPUSTA

Adiunkt; kierownik Zakładu Mikrobiologii  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25 A  
31-503 Kraków  
E-mail: piotr.kapusta@inig.pl



Dr Anna TURKIEWICZ

Adiunkt w Zakładzie Mikrobiologii  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25 A  
31-503 Kraków  
E-mail: anna.turkiewicz@inig.pl



Dr Joanna BRZESZCZ

Adiunkt w Zakładzie Mikrobiologii  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25 A  
31-503 Kraków  
E-mail: joanna.brzeszcz@inig.pl