

Katarzyna BŁASZCZYK, Teresa KRZYŚKO-ŁUPICKA^{1*}

¹ Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny
Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej
ul. kard. B. Kominka 6A, 45-035 Opole
* e-mail: teresak@uni.opole.pl

Przegląd metod badania osadów ściekowych stosowanych w Polsce

Ilość i skład osadów ściekowych powstających w procesie oczyszczania ścieków są zróżnicowane i uzależnione od różnych parametrów, między innymi takich jak jakość ścieków czy sposób ich oczyszczania. Cechują się one niejednorodnym składem chemicznym oraz stopniem zanieczyszczenia mikrobiologicznego, dlatego dobór metod ich przeróbki wymaga każdorazowo oceny istotnych parametrów. Celem artykułu było przedstawienie metod badań osadów ściekowych i stosowanych norm badawczych w Polsce w aspekcie zagrożenia dla środowiska i ludzi. W związku z brakiem norm w zakresie badania osadów ściekowych pod kątem mikroflory stosuje się metody zapożyczone z różnych gałęzi przemysłu; ośrodki laboratoryjne wykrywanie mikroorganizmów chorobotwórczych wykonują na podstawie własnych procedur badawczych, które opierają się na aktach prawnych dotyczących: wody i ścieków, gleby, odpadów komunalnych, pasz i żywności oraz ogólnych zasad dotyczących badań mikrobiologicznych. Wykazano różnice mierzonych parametrów w zależności od pochodzenia ścieków, głównie na podstawie wyników analiz dostępnych w literaturze. Wyróżniono metody badań osadów ściekowych pod kątem: mikrobiologicznym, fizykochemicznym, stężenia substancji refrakcyjnych, parametrów, które decydują o możliwości wykorzystania osadów ściekowych do produkcji energii odnawialnej czy termicznej utylizacji, badania parametrów pośrednich oraz nowoczesne metody molekularne.

Słowa kluczowe: osady ściekowe, metody badawcze, mikrobiologia, analiza fizykochemiczna

Wprowadzenie

Osady ściekowe stanowią odpad z kategorii Q9 (Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. Zał. nr 1), a powstają na skutek szeregu procesów fizycznych, fizykochemicznych i biologicznych, zachodzących w oczyszczalniach ścieków. Szacunkowo stanowią one około 2% ogółu ścieków bytowo-gospodarczych lub/i przemysłowych trafiających do oczyszczalni. Ponieważ ponad połowa zanieczyszczeń dopływających do oczyszczalni jest przetwarzana na biomasę [1], można stwierdzić, że oczyszczanie ścieków to produkcja osadów, a ostateczne unieszkodliwienie zanieczyszczeń dopływających do oczyszczalni zachodzi dopiero w procesie przeróbki osadów. Jej celem jest przygotowanie osadów do wywozu z terenu oczyszczalni w jak najmniejszej ilości, sanitarnie bezpiecznego, o najniższej zagniwalności, a w przypadku termicznej utylizacji optymalne przygotowanie osadu do spalania (wilgotność, zawartość suchej masy organicznej). Przeróbka osadów powinna być prowadzona w sposób chroniący pracowników i środowisko przed zagrożeniem

sanitarnym, szczególnie gdy odwadniany jest osad niehigienizowany. Przy nieodpowiednim składowaniu lub przetwarzaniu osady ściekowe mogą być źródłem zanieczyszczeń środowiska przez mikroorganizmy chorobotwórcze oraz ich formy przetrwalnikowe. Ilość i skład fizykochemiczny oraz biologiczny osadów jest zróżnicowany i uzależniony od jakości ścieków, funkcjonowania oczyszczalni, metod oczyszczania i obróbki osadu, np. wynikiem strącania chemicznego może być wzrost ilości osadu nawet o około 20% [2]. Osady ściekowe cechują się niejednorodnym składem chemicznym, m.in. zróżnicowanym stężeniem metali ciężkich, zawartością: aldehydów, ketonów, kwasów organicznych, węglowodorów oraz stopniem zanieczyszczenia mikrobiologicznego i obecnością jaj pasożytów [3]. Wymaga to każdorazowo oceny parametrów fizykochemicznych i biologicznych warunkujących dobór metod jego przeróbki. Z tych względów powstające osady ściekowe są udręką dla większości eksploatatorów oczyszczalni ścieków na całym świecie. Dodatkowo koszty ich zagospodarowania oraz przeróbki są wysokie i mogą stanowić nawet 30÷50% kosztów eksploatacji oczyszczalni.

Do 2012 roku osady ściekowe mogły być wykorzystane jako nawóz, gdyż korzystnie wpływały na poprawę bilansu substancji organicznej w glebie [4-6]. Obecnie ich wykorzystanie przyrodnicze jest znacznie ograniczone [7]. Od 1 stycznia 2013 r. osady ściekowe, bez odpowiedniego przygotowania, nie mogą być wykorzystywane jako nawóz, co wynika z art. 96 ust. 4. Ustawy z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach [8]. Nie mogą być również składowane, co wynika z Rozporządzenia Ministra Gospodarki z dnia 8 stycznia 2013 r. w sprawie kryteriów oraz procedur dopuszczania odpadów do składowania na składowisku odpadów danego typu [9].

O zagospodarowaniu osadów ściekowych decyduje nie tylko skład fizykochemiczny, ale i higieniczno-sanitarny, określany zazwyczaj na podstawie organizmów wskaźnikowych, takich jak: bakterie z grupy *Coli*, *Clostridium perfringens*, paciorkowce kałowe oraz jaja helmintów [10, 11]. Dodatkowym problemem jest obecność w osadach ściekowych mikroorganizmów chorobotwórczych z rodzajów *Salmonella* i *Shigella*, bakterii wywołujących chorobę promienicę czy niebezpiecznych dla zdrowia grzybów [11]. Rygorystyczne kryteria związane z przyrodniczym użytkowaniem osadów ściekowych wpłynęły na zainteresowanie innowacyjnymi technologiami zagospodarowania tych odpadów, m.in. na drodze fermentacji metabolicznej lub kompostowania, które pozwalają równocześnie na inaktywację mikroorganizmów stwarzających zagrożenie dla środowiska i ludzi [12-14].

Celem artykułu było przedstawienie metod badań osadów ściekowych i stosowanych norm badawczych w Polsce w aspekcie zagrożenia dla środowiska i ludzi.

1. Metody badań osadów ściekowych

Dotychczas jakość osadów ściekowych oceniano pod względem obecności mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych, zawartości metali ciężkich, wartości i stosunku pierwiastków nawozowych C:N:P, zawartości toksycznych związków refrakcyjnych i mineralnych, pH, zawartości suchej masy, właściwości sedymentacyjnych, ciepła spalania, zasadowości czy własności filtracyjnych [11, 15]. Bada-

nia osadów ściekowych obejmują: badania mikrobiologiczne, fizykochemiczne, stężenia substancji refrakcyjnych, badanie parametrów pośrednich oraz rzadziej nowoczesne metody molekularne.

2. Badania mikrobiologiczne

Osady ściekowe są siedliskiem różnych grup mikroorganizmów zarówno autochtonicznych, jak i allochtonicznych oraz organizmów wielokomórkowych [16]. Najliczniejszą i najbardziej różnorodną grupą występującą w osadach ściekowych są bakterie heterotroficzne, chemoautotroficzne, saprofity oraz bakterie chorobotwórcze. Ogólna liczba bakterii (zarówno psychrofilnych, jak i mezofilnych) w osadach wynosi $10^9 \div 10^{12}$ jtk/g s.m. osadu, a liczbę gatunków szacuje się na około 300 [16]. Jak donoszą liczni autorzy, w osadach ściekowych można znaleźć także różne gatunki grzybów [10, 17, 18], głównie pleśniowe oraz dermatofity, które mogą być szczególnie niebezpieczne dla zdrowia ludzi i zwierząt [17] (tab. 1).

Oznaczenia ilościowo-jakościowe mikroorganizmów występujących w osadach ściekowych zarówno psychrofilnych, jak i mezofilnych wykonywane są zazwyczaj metodą hodowlaną (posiewu powierzchniowego) 10-krotnych rozcieńczeń Kocha na podstawowych podłożach: Agar odżywczy - bakterie mezofilne i psychrofilne, YPD - drożdże, Čapek - grzyby strzępkowe, Parker - *Staphylococcus* (gronkowce), Endo - *Escherichia coli* czy SS - *Salmonella*, *Shigella*. Liczebność mikroorganizmów oznacza się w jtk/g: po 24÷48 h inkubacji w temperaturze 37°C bakterie: mezofilne, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*; po 48-72 h w temperaturze 20°C bakterie psychrofilne; w temperaturze 30°C drożdże; a grzyby po 5-7 dniach inkubacji w temperaturze 25°C. Identyfikację mikroorganizmów prowadzi się tradycyjną metodą biochemiczną i/lub serologiczną. Obecnie biochemiczną identyfikację mikroorganizmów można przeprowadzić za pomocą wygodnych zminiaturyzowanych zestawów (API).

Ponieważ metodyka mikrobiologicznych badań osadów ściekowych nie jest ujednolicona, z tego względu w laboratoriach korzysta się z tzw. wewnętrznych procedur, które opierają się na aktach prawnych dotyczących ogólnych zasad prowadzenia badań mikrobiologicznych oraz badań: wody i ścieków, gleby, odpadów komunalnych, pasz i żywności [18, 20] (tab. 2).

Ocenę zagrożenia biologicznego osadów ściekowych prowadzi się zazwyczaj metodami tradycyjnymi, ograniczając się tylko do wykrywania bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz jaj pasożytów jelitowych ATT (*Ascaris lumbricoides*, *Toxocara* sp., *Trichuris* sp.) [3, 17, 20]. W przypadku oznaczania bakterii rodzaju *Salmonella* stosowane są procedury zgodnie z normą PN-Z 19000-1:2001 (wykorzystywaną do wykrywania *Salmonella* spp. w glebie) lub PN-EN ISO 6579:2003/A1:2007 (stosowaną do wykrywania tej grupy bakterii w paszach i żywności) [20, 21]. Z kolei liczbę żywych jaj pasożytów jelitowych ATT oznacza się zgodnie z normą PN-Z 19000-4:2001 (dotyczącą oceny stanu sanitarnego gleby) lub BN-89/9103-09 (dotyczącą zagospodarowania odpadów komunalnych). Chociaż Kalisz i in. podają,

że norma PN-Z 19000-4:2001 dotyczy tylko bakterii *Ascaris lumbricoides* i *Trichuris* sp., w rzeczywistości stosuje się ją do analizy wszystkich jaj helmintów [3]. Rzadziej w osadach ściekowych kontroluje się bakterie z grupy Coli (*Escherichia coli*, *E. coli* typu kałowego), *Clostridium perfringens*, paciorkowce kałowe czy gronkowce [15, 19].

Tabela 1. Skład biologiczny osadów ściekowych [10, 11, 16-19]

Table 1. Biological composition of sewage sludge [10, 11, 16-19]

Bakterie [16]	Promieniowce [16]	Grzyby [11, 17, 18]	Pierwotniaki [16]	Organizmy chorobotwórcze [10, 11, 18, 19]
<i>Pseudomonas</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Lophomonas</i> , <i>Nitrosomonas</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Mycobacterium</i> , bakterie z grupy Coli - <i>aerogenes</i> , <i>Spirillum</i> , <i>Spirochaeta</i> , <i>Zooglea ramingera</i>	<i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus</i>	<i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Penicilium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Phialophora richardsiae</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Epidermophyton</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Trichosporon</i>	Orzęski: – osiadłe: <i>Vorticella</i> , <i>Carchesium</i> , <i>Opercularia</i> , <i>Epistylis</i> , <i>Podophyra</i> , – pelzające: <i>Aspidisca costata</i> , <i>Trachelophyllum pusillum</i> , – swobodnie pływające: <i>Litonotus</i> , <i>Euplotes</i> , <i>Colpidium</i> , <i>Chilodonella</i> , <i>Paramecium</i>	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Clostridium tetani</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Leptospira</i> , <i>Proteus</i> , <i>Vibria cholera</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>
Bakterie nitkowate: <i>Mitrothrix parvicella</i> , <i>Beggiatoa</i> sp., <i>Nostocoida limicola</i> , <i>Haliscomenobacter hydrossis</i>		Dermatofity: <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporium</i> , <i>Candida</i>	Wiciowce: <i>Bado</i> , <i>Monosiga</i> , <i>Hexamitus</i> , <i>Pleuromonas</i> , <i>Trepomonas</i>	Żywe jaja helmintów: <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Toxocara</i> sp., <i>Trichuris</i> sp.
			Korzenionózki Ameby nagie: <i>Amoeba</i> , Ameby skorupkowe: <i>Arcella</i> , <i>Diffflugia</i> , <i>Euglypha</i>	
			Pierwotniaki chorobotwórcze: <i>Giardia Lamblia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Cryptosporidium</i>	

Do oznaczenia bakterii z grupy Coli stosuje się metody zgodne z normą PN-75/C-04615 lub PN-77/C-04615/07 bądź hybrydę obu norm [20]. Podobnie

miano *Clostridium perfringens* oznacza się stosunkowo rzadko, a podstawą badań jest stosowanie normy PN-74/C-04615 zapożyczony z badań dotyczących wody i ścieków [20, 23]. Zestawienie parametrów oceny stanu sanitarnego osadów ściekowych przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 2. Wykaz norm stosowanych do badań poszczególnych grup mikroorganizmów [21, 22]

Table 2. The list of standards used for testing specific groups of microorganisms [21, 22]

Rodzaj analizy	Norma	Rodzaj analizy	Norma
Oznaczanie ilościowe mikroorganizmów metodą bezpośredniego liczenia pod mikroskopem	PN-C-04615-02:1975 ⁴⁾	Bakterie nityfikacyjne	PN-C-04615-20:1977 ⁴⁾
Przygotowanie próbek zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych	PN-EN ISO 6887-4:2005/A1:2011 ²⁾	Bakterie wytrącające żelazo	PN-C-04615-24:1980 ⁴⁾
Ogólne metody przygotowania rozcieńczeń do badań mikrobiologicznych	PN-ISO 6887:1998 ¹⁾	<i>E. coli</i> - metoda najbardziej prawdopodobnej liczby	PN-ISO 7251:2006 ²⁾
Oznaczanie ilościowe mikroorganizmów na agarze odżywczym	PN-EN ISO 6222:2004 ⁴⁾	<i>E. coli</i> - metoda płytkowa	PN-ISO 4832:2007 ²⁾
Liczba drobnoustrojów oraz pobór próbek w temp. 30°C	PN-EN ISO 4833:2004/Ap1:2005 ²⁾	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>	PN-EN ISO 6579:2003/A1:2007 ²⁾ PN-Z-19000-1:2001 ³⁾
Liczba bakterii metodą hodowli	PN-ISO 8199:2001 ⁴⁾	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>	PN-Z-19000-1:2001 ³⁾
Bakterie mezofilne	PN-A-75052-05:1990 ²⁾	Oznaczenie promieniowców metodą kolonii na pożywce stałej	PN-C-04615-27:1981 ⁴⁾
Bakterie psychrofilne	PN-A-75052-05:1990 ²⁾	Oznaczania ilościowe przetrwalników redukujących siarczany (clostridia) metodą namnażania w podłożu płynnym - odporne na chlorowanie	PN-EN 26461-1 ⁴⁾
Bakterie proteolityczne metodą Frazia	PN-C-04615-17:1975 ⁴⁾	<i>Staphylococcus</i> - gronkowce	PN-EN ISO 6888-3:2004/AC:2005 ²⁾
Bakterie amonifikacyjne metodą próbkową	PN-C-04615-18:1975 ⁴⁾	Drożdże	PN-ISO 21527-2:2009 ²⁾

Normy badawcze dotyczące: ¹⁾ mikrobiologii ogólnej, ²⁾ mikrobiologii żywności i pasz, ³⁾ gleby, ⁴⁾ wody i ścieków

Tabela 3. Wykaz norm stosowanych w biologicznej analizie osadów ściekowych

Table 3. The list of standards used for biological analysis of sewage sludge

Rodzaj badań	Jednostka	Metoda badawcza	Aktualne normy	Zakres normy
Wykrywanie bakterii z rodzaju <i>Salmonella</i>	–	Jakościowa	PN-EN ISO-6579:2003/A1:2007 ²⁾ PN-Z-19000-1:2001 ³⁾	–
Wykrywanie jaj pasożytów jelitowych <i>Ascaris</i> sp., <i>Trichuris</i> sp. i <i>Toxocara</i> sp.	–	–	–	–
Ilość żywych jaj <i>Ascaris lumbricoides</i>	szt./kg s.m.	Mikroskopowa	BN-89/9103-09 ⁴⁾ PN-Z-19000-4 :2001 ³⁾	od 1 jaja/100 g
Ilość żywych jaj <i>Toxocara</i> sp.	szt./kg s.m.	Mikroskopowa	PN-Z-19000-4:2001 ³⁾	od 1 jaja/100 g
Ilość żywych jaj <i>Trichuris</i> sp.	szt./kg s.m.	Mikroskopowa	PN-Z-19000-4:2001 ³⁾	od 1 jaja/100 g
Bakterie z grupy Coli typu kałowego	szt./kg s.m.	Fermentacyjna - próbówkowa	PN- 75/C-04615 ¹⁾	0,3/1,0 g
Liczba <i>Escherichia coli</i>	szt./kg s.m.	Fermentacyjna - próbówkowa	PN-77/C-04615/07 ¹⁾ PN-75/C-04615/05 ¹⁾	0,3/1,0 g
Miano <i>Clostridium perfringens</i>	szt./kg s.m.	Mikroskopowa, Metoda próbówkowa, NLP	PN-74/C-04615 ¹⁾ PN-EN 26461-1:2001 ¹⁾	od 1 jaja/100 g

Normy badawcze dotyczące: ¹⁾ wody i ścieków, ²⁾ mikrobiologii żywności i pasz, ³⁾ gleby, ⁴⁾ zagospodarowania odpadów komunalnych

Pomimo istniejącego realnego zagrożenia biologicznego ze strony osadów ściekowych dla środowiska i ludzi zatrudnionych w oczyszczalniach ścieków, wykonywane są zazwyczaj tylko rutynowe badania wynikające z Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych [24]. Badania obejmują oznaczenia bakterii rodzaju *Salmonella* i jaj pasożytów jelitowych ATT [18, 23]. Zwraca się przy tym uwagę na niedoskonałość stosowanych metod, np. oznaczenia ATT po zabiegach wirowania i flotacji prowadzone są metodą mikroskopową, polegającą na wizualnej ocenie, która ze względu na zawartość w osadach ściekowych jaj robaków saprofitycznych wolno żyjących, jaj owadów, roztoczy czy komórek roślin jest obciążona dużym błędem [3]. W oczyszczalniach ścieków kontrolowane są wyłącznie podstawowe parametry wynikające z rozporządzenia. Z przedstawionego zestawienia danych udostępnionych przez oczyszczalnie ścieków, gdzie oczyszcza się ścieki powstające przy produkcji napojów i przetworów warzywnych (dane niepublikowane), oraz wyników literaturowych [11, 23] można wnioskować, że nie ma większego problemu ze stanem sanitarnym osadów ściekowych (tab. 4). Wskazują na to wyniki rutynowych badań prowadzonych bezpośrednio w oczyszczalniach ścieków bez względu na stosowane zabiegi higienizacji. Zarówno w osadach surowych, jak i w osadach poddawanych wapniowaniu nie wyizolowano bakterii rodzaju *Salmonella* i jaj pasożytów jelitowych ATT. Wynikający z ww. rozporządzenia zakres badań osadów ściekowych jest jednak

niewspółmiernie mały do zagrożeń biologicznych, jakie mogą nieść ze sobą osady ściekowe. Także dane literaturowe dotyczące osadów ściekowych są fragmentaryczne; jedynie badania osadów ściekowych z przetwórstwa mięsnego [11] świadczą o przeprowadzeniu szerszego zakresu badań mikrobiologicznych osadów. Wynika z nich także, że dodatek wapna wyraźnie poprawia jakość osadów ściekowych [11]. Reasumując, istnieje luka w polskich normach dotyczących badań biologicznych osadów ściekowych, a akty prawne są niewystarczające.

Tabela 4. Analiza biologiczna różnych typów osadów ściekowych [11, 23]

Table 4. Biological analysis of different types of sewage sludge [11, 23]

	Jednostka miary	Osad ściekowy					
		po produkcji napojów [*]		po produkcji warzyw [*]	z przetwórstwa mięsnego [11]		z komunalnej oczyszczalni ścieków [23]
		bez dodatku wapna	z dodatkiem wapna		bez dodatku wapna	z dodatkiem wapna (1,2÷2,30)	
Bakterie z rodzaju <i>Salmonella</i>	w 100 g	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	b.d.
Liczba żywych jaj pasożytów jelitowych ATT	szt./kg s.m.	n/w	n/w	n/w	350÷3270	n/w	n/w
Ilość żywych jaj <i>Ascaris lumbricoides</i>	szt./kg s.m.	n/w	n/w	n/w	200÷2700	n/w	n/w
Ilość żywych jaj <i>Toxocara</i> sp.	szt./kg s.m.	n/w	n/w	n/w	20÷570	n/w	b.d.
Ilość żywych jaj <i>Trichuris</i> sp.	szt./kg s.m.	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	b.d.
Miano Coli	–	b.d.	b.d.	b.d.	$10^{-9} \div 10^{-6}$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^{-5}$
Miano <i>Clostridium perfringens</i>	szt./kg s.m.	b.d.	b.d.	b.d.	$7 \cdot 10^2 \div 7 \cdot 10^4$	n/w	$1 \cdot 10^{-2}$

[*] - wyniki niepublikowane, n/w - nie wyizolowano, b.d. - brak danych

3. Badania molekularne

Poza metodami tradycyjnymi do monitorowania składu mikrobiologicznego przydatne mogą być nowoczesne metody molekularne, szczególnie w badaniach materiału składającego się z bakterii o zbliżonych cechach fenotypowych. Metody molekularne w kwestii czułości oraz pod względem prędkości górują nad metodami klasycznymi (posiewy na płytkach). Polegają one na analizie wybranych genów. Bada się gen odpowiadający za małą podjednostkę rybosomalną 16S r RNA na łańcuchu rDNA lub geny odpowiadające za produkcję białek związanych z ATP-azą czy dehydrogenazami. Do metod molekularnych należą metody: FISH,

PCR wraz z różnymi odmianami elektroforezy, ARDRA i T-RFLP oraz metoda RISA [25, 26].

Metoda FISH, czyli fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*, polega na hybrydyzacji sondy molekularnej oligonukleotydom (15-30 nukleotydów) o znanej sekwencji genów znakowanych fluorescencyjnie z fragmentem genomu mikroorganizmów. Wadą metody jest trudność w doborze hybrydyzacji dla szczepów, których opis genowy nie znajduje się w bankach danych. Używając metody FISH, można zidentyfikować szczepy patogenne dla zwierząt, roślin i ludzi, z powodzeniem oznaczyć ich skład jakościowy i ilościowy, jak też monitorować technologie uzdatniania wody [26].

Inną metodą molekularną badania genotypów jest namnażanie części łańcucha kwasu nukleinowego za pomocą PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Metoda PCR połączona jest z elektroforezą, podczas której następuje w wyniku gradientu temperatury lub związku chemicznego rozdział równych odcinków kwasu nukleinowego na sekwencje DNA bądź RNA o różnych czasach migracji w żelu poliakrylowym. Powoduje to różnice w odległości migracji cząstek DNA lub RNA podczas elektroforezy. Za pomocą tej metody można określić zarówno zmiany ilościowo-jakościowe populacji mikroorganizmów, jak i liczebność określonych grup fizjologicznych, np. bakterii nityfikacyjnych czy akumulujących polifosforany. Na przykład bakterie akumulujące polifosforany *Accumulibacter phosphatis* zbadano na podstawie filogenetycznej analizy genu kinazy polifosforanowej za pomocą metody PCR. Metoda ta może być wykorzystywana także do śledzenia zmian ilościowych i jakościowych w populacjach mikroorganizmów pod wpływem środowiska. Wadą metody PCR jest brak możliwości określania niewielkiej liczby osobników w badanym materiale [26].

Zagadnienia badań molekularnych opisują w artykułach Raszka i in. oraz Więtkowicz [25, 26]. Metody te jednak nadal pozostają w zasięgu pojedynczych jednostek badawczych. W tym przypadku normy prawne także nie są określone. Jedyne normy dotyczące stosowania metody PCR do badań dotyczą mikrobiologii żywności i pasz. Są to ogólne normy: PN-EN ISO 22174, PN-EN ISO 20837, PN-EN ISO 20838, w których zawarte są jedynie wzmianki na temat pobierania próbek oraz amplifikacji i wykrywania drobnoustrojów metodami jakościowymi za pomocą metody PCR.

4. Badania fizykochemiczne

Analiza fizykochemiczna polega na oznaczeniu zawartości suchej masy, wartości pH, zawartości substancji biogennej: azotu ogólnego i amonowego, fosforu ogólnego, wapnia, magnezu, potasu, które mogą stanowić materiał nawozowy i zwiększają pojemność sorpcyjną gleby. Zgodnie z normami, oznacza się również stężenie metali ciężkich, takich jak: cynk, ołów, kadm, chrom, miedź, nikiel, żelazo oraz rtęć; substancje mineralne oraz substancje ekstrahujące się eterem naftowym. Odczyn bada się metodą potencjometryczną, zawartość azotu ogólnego bada się metodą Kjeldahla, azotu amonowego miareczkową lub kolorymetryczną przy użyciu

odczynnika Nesslera, substancje mineralne oraz substancje ekstrahujące się eterem naftowym metodą wagową, natomiast pierwiastki śladowe, a także Ca, Mg, Fe czy P oznacza się za pomocą adsorpcyjnej spektrometrii atomowej - ASA (tab. 5).

Tabela 5. Wykaz norm stosowanych w analizie fizykochemicznej osadów ściekowych
Table 5. The list of standards used in the physicochemical analysis of sewage sludge

Rodzaj badań	Jednostka	Metoda badawcza	Aktualne normy	Zakres normy
pH	–	Potencjometryczna (Elektrometryczna)	PN-EN 12176:2004	1-13.5
Sucha masa w temp. 105°C	%	Termogravimetryczna (Wagowa)	PN-EN 12880:2004	0.50-99.5
Substancje mineralne i organiczne - straty prażenia 600°C	% s.m.	Wagowa	PN-EN 12879:2004	0.50-99.5
Azot (ogólny) Kjeldahla	% s.m.	Miareczkowa	PN-EN 16169:2012	0.003-8.00
Azot amonowy	% s.m.	Miareczkowa Kolorymetryczna (Nessler)	PN-EN 14671:2007 b.d.	0.003-2.00 b.d.
Potas K ₂ O	% s.m.	ASA	PN-EN 13657:2006	0.01-1.00
Fosfor ogólny	% s.m. g/kg s.m.	ASA	PN-EN 13346:2002 PN-EN 14672:2006	0.0005-10.00 1.00-50.00
Fosfor P ₂ O ₅	% s.m.	Optyczna spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie	PN-EN ISO-11885:2009	0.0005-10.00
Ca	mg/kg s.m.	ASA	PN-EN 13657:2006	1.00-200000
Mg				0.70-25000
As				5.00-1000
Zn				0.50-10000
Pb				1.00-3000
Cd				0.05-200
Cr				0.30-1000
Cu				0.40-5000
Ni				0.40-1000
Se				0.10-10.00
Hg				mg/kg s.m.
Fe	mg/kg s.m.	ASA	PN-EN 13657:2006	0.40-15000
LKT	mg CH ₃ COOH/dm ³	Miareczkowa	PN-75/C-04616/04	od 36.00
Zasadowość	mg CaCO ₃ /dm ³	Miareczkowania potencjometrycznego	b.d.	b.d.
Fosfor P ₂ O ₅	mg P ₂ O ₅ /100 g	Spektrofotometryczna	b.d.	b.d.
ChZT	mg O ₂ /dm ³	Dwuchromianowa, Nadmanganianowa	PN-74/C-04578.03 PN-85/C-04578.02	od 10.00
Właściwości sedymentacyjne	ml/dm ³	Metoda objętościowo-sedymentacyjna	PN-EN 14702-1:2008	100-1000

Parametry fizykochemiczne osadów ściekowych pochodzących z różnych typów oczyszczalni ścieków na podstawie danych literaturowych [11, 15, 23, 28, 29] zestawiono w tabeli 6. Wynika z nich, że wartość pH osadów ściekowych wahała się w przedziale od 6,2 do 8,7. Stężenie poszczególnych biogenów było zróżnicowane i zależało od rodzaju oczyszczanych ścieków. Bardziej różnorodne były osady z oczyszczalni ścieków komunalnych, np. azot ogólny wahał się w przedziale od 2,5 do 8% s.m., a fosfor ogólny w przedziale od 1,5 do 6% s.m. Natomiast znacznie niższy ich poziom wykazano w osadach ściekowych po przeróbce mięsa. Dodatkowo higienizacja tych osadów wapnem, w celu wyeliminowania mikroorganizmów potencjalnie chorobotwórczych, powodowała wyraźne obniżenie większości zestawionych parametrów fizykochemicznych [9]. Natomiast dodatek wapna do osadów pochodzących z produkcji napojów (w porównaniu do niehigienizowanych) powodował wzrost zawartości azotu ogólnego, a zawartość fosforu nie ulegała zmianie. W osadach ściekowych (zarówno komunalnych, jak i przemysłu spożywczego) występowały znaczne wahania stężeń metali oraz pierwiastków śladowych, przy czym wyższe stężenia cechowały osady komunalne. Wartości te zawierały się w przedziałach: wapń 1,01÷73% s.m., magnez 0,29÷5,9% s.m., cynk 83÷4640 mg/kg s.m., ołów 2,25÷372 mg/kg s.m., kadm 0,3÷69,9 mg/kg s.m., chrom 0,001÷1380 mg/kg s.m., miedź 0,3÷134 mg/kg s.m., nikiel 2,2÷358 mg/kg s.m., rtęć 0,2÷7,55 mg/kg s.m. [9, 15, 23, 28, 29]. Z kolei osady ściekowe z przetwórstwa mleka oraz osady komunalne poddane procesowi fermentacji metanowej, w porównaniu do tych osadów ściekowych, które nie były fermentowane, cechował wzrost zasadowości oraz obniżenie poziomu ChZT i LKT. Magrel w swojej publikacji [29] tłumaczy to dobrze przeprowadzoną fermentacją osadów ściekowych.

Badania parametrów fizykochemicznych pozwalają przewidzieć, jakie procesy neutralizacyjne powinny zostać przeprowadzone w celu ostatecznego unieszkodliwienia osadów ściekowych. Oznaczenie stopnia uwodnienia osadów wskazuje na konieczność zastosowania zabiegów zmniejszenia ich objętości i masy, np. w przypadku procesu kompostowania, gdyż zbyt wysokie uwodnienie zmniejsza wydajność procesu. Natomiast oznaczenie zawartości substancji organicznej oraz azotu pozwala na dobór parametrów prowadzących do zwiększenia efektywności kompostowania. Analiza fizykochemiczna daje także możliwość kontrolowania i ograniczenia niepożądanego działania różnych form metali ciężkich, występujących w osadach ściekowych, na środowisko naturalne [30, 31], nie daje jednak ona pełnego obrazu, jakie zagrożenia mogą nieść ze sobą osady ściekowe. Nie pozwala ona również na określenie zagrożenia mikrobiologicznego.

Poza parametrami fizykochemicznymi w osadach ściekowych oznacza się stężenia substancji refrakcyjnych. Uzyskanie miarodajnych i porównywalnych (przez różne ośrodki) wyników badań zapewnia stosowanie oznaczeń zgodnych z polskimi normami (tab. 7), dotyczących zarówno sposobu przygotowania próbki, jak i metody przeprowadzenia oznaczenia.

Tabela 6. Analiza fizykochemiczna osadów ściekowych pochodzących z różnych oczyszczalni ścieków [11, 15, 23, 28, 29]
 Table 6. Physicochemical analysis of sewage sludge from different treatment plants [11, 15, 23, 28, 29]

Analiza chemiczna	Jednostka miary	Osad ściekowy												
		po produkcji napojów		po produkcji przetworczej warzyw		z przetworstwa mięsnego		z komunalnych oczyszczalni ścieków			po produkcji przetworstwa mleka		z komunalnej oczyszczalni ścieków	
		Surowy [*]	Z dodatkami wapna [*]	Surowy [*]	Z dodatkami wapna [11]	Surowy [11]	Z dodatkami wapna (1,2-2,30) [11]	Surowy [15]	Surowy [23]	Surowy [28]	Surowy [29]	Po fermentacji [29]	Surowy [29]	Po fermentacji [29]
pH		6,9	7,1	7,1	b.d.	b.d.	b.d.	6,2-8,4	7,9	6,8-7,2	7,23	b.d.	6,35-7,50	7,00-8,70
Sucha masa 105°C	%	10,9	1,7	13,7	15,82-22,11	30,38-47,99	b.d.	18,4	13-20	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Substancje organiczne - straty prażenia 600°C	% s.m.	83,1	83,2	63,1	61,7-78,41	8,89-16,48	50-60; 70; 85*	72	b.d.	b.d.	66	b.d.	55,52	45,54
Azot ogólny	% s.m.	6,32	6,92	6,24	2,72-3,51	1,1-1,44	2,5-8	7,47	2,53-6,05	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Azot amonowy	% s.m.	<0,010	<0,010	0,09	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Fosfor ogólny	% s.m.	1,2	1,2	<0,2	0,12-0,22	0,04-0,1	1,5-6	3,99	1,19-2,68	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Fosfor P ₂ O ₅	% s.m.	2,74	2,74	b.d.	0,27-0,5	0,1-0,23	2,2-4,7	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Potas K ₂ O	% s.m.	b.d.	b.d.	b.d.	0,06-0,13	0,03-0,04	0,2-0,4	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Ca	% s.m.	1,01	1,18	1,59	n.w.	45,58-50,86	2-5	4,2	1,09-2,40	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Mg	% s.m.	0,29	0,3	0,14	n.w.	n.w.	0,5-1	1,4	0,18-0,28	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Zn	mg/kg s.m.	150	145	141	61,66-728	26,08-339,24	83-4640	1072	112-916,6	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Pb	mg/kg s.m.	2,25	1,61	<10	0-0,14	0-0,06	3-372	15,6	49,9-56,6	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Cd	mg/kg s.m.	4,34	4,45	<2,5	b.d.	b.d.	0,3-69,9	8,88	3,0-5,7	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Cr	mg/kg s.m.	36,2	35,6	10,1	0,01-0,076	b.d.	5-1380	14,2	33,8-65,5	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Cu	mg/kg s.m.	26	27,4	92,6	66,5-67,3	23,47-31,36	0,3-134	128	107,5-112,5	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Ni	mg/kg s.m.	10,7	10,5	16,2	55,8-59	19,7-31,2	2,2-358	14	20,0-22,6	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Hg	mg/kg s.m.	0,36	0,33	0,2	n.w.	n.w.	0,95-7,55	0,72	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
LKT	mg/dm ³	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	3250	2018,71	1929	896
Zasadowość	mg CaCO ₃ /dm ³	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	4080	5150	2663	6374
LKT/zasadowość	brak	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	0,79	0,41	0,86	0,15
ChZT-Cr	mg O ₂ /dm ³	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	18896,43	13716,43	36552,18	23450,36
ChZT-Mn	mg O ₂ /dm ³	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	5730	3684,29	11615,45	6708,18

[*] - wyniki niepublikowane, * - osady surowe 85% s.m.; ustabilizowane 50-60% s.m.; ustabilizowane 70% s.m.; b.d. - brak danych, n.w. - nie wyznaczono

Tabela 7. Wykaz norm analizy związków refrakcyjnych w osadach ściekowych

Table 7. The list of standard analysis of refractive compounds in sewage sludge

Rodzaj badań	Metoda badawcza	Aktualne normy	Zakres normy
WWA	HPLC	PN-ISO13877:2004	Fenantren i antracen zakres: 0,008÷800 mg/kg; fluoranten, piren, benzo-a-antracen, chryzen, benzo-b-fluoranten, benzo-piren, dibenzo-a,h-antracen, indeno-1,2,3,c,d-piren, benzo-g,h,i-perylen zakres: 0,0008÷80 mg/kg
	Chromatografia gazowa z detekcją za pomocą spektrometrii mas	PN-ISO 18287:2008	b.d.
AOX - organicznie związane chlorowce	Absorpcja na węglu aktywnym	PN-EN 16166:2012	b.d.
PCB	Chromatografia kapilarna	PN-EN 15308:2008	b.d.
	Chromatografia gazowa z detekcją wychwytu elektronów (GC-ECD)	PN-EN 16167:2012	b.d.
Lotne węglowodory aromatyczne, Naftalen, Lotne węglowodory halogenowe, Etery	Chromatografia gazowa	PN-ISO15009:2007	Węglowodory i lotne związki chloroorganiczne zakres: benzen, toluen, etylobenzen, m-ksylen, p-ksylen, izopropylobenzen, styren do 0,01 mg/kg; trichlorometan, tetrachlorometan, trichloroetylen, tetrachloroetylen, 1,2,3(lub 1,2,4 lub 1,3,5)- trichlorobenzen do 0,015 mg/kg; dichlorometan do 0,3 mg/kg; dichloroetan do 15 mg/kg
Niepolarne węglowodory alifatyczne	Spektrofotometria IR	PN-V-04007:1997	Zawartość niepolarnych węglowodorów alifatycznych zakres: 40 mg/kg÷10 g/kg
Węglowodory C10-C40	Chromatografia gazowa	PN-EN ISO 16703:2011	Zawartość oleju mineralnego (C12-C35) oraz (C10-C40) zakres 5,0÷5000 mg/kg

Zawartość aldehydów, ketonów, lotnych kwasów tłuszczowych oraz kwasów organicznych oznacza się metodą chromatografii gazowej spektrofotometrem w podczerwieni GC-FTIR, organiczne chlorowcopochodne metodą chromatografii gazowej, PCB - polichlorowane bifenyle, PCDD - polichlorowane dibenzodiosyny oraz PCDF - polichlorowane dibenzofurany metodą chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów (GC-ECD). Stężenia WWA oznacza się metodami HPLC (wysokosprawna chromatografia cieczowa) z użyciem wysokociśnieniowej

pompy z czterokładnikowym systemem gradientowego podawania rozpuszczalników, detektora fotodiodowego UV/VIS, detektora fluorescencyjnego oraz chromatografii gazowej z detekcją za pomocą spektrometrii mas GC-MS [30, 31].

Z danych literaturowych wynika, że stężenie WWA oznaczone metodą HPLC jest znacznie niższe w osadach komunalnych niż przemysłowych i wynosi odpowiednio 54÷85 µg/kg s.m. dla komunalnych osadów ściekowych [32] oraz 1563÷1639 µg/kg s.m. dla osadów pochodzących z oczyszczalni ścieków przemysłowych [33].

Znajomość z kolei parametrów, takich jak temperatura zapłonu i ciepło spalania, wilgotność, zawartość popiołu i procentowa zawartość węgla, azotu i wodoru oraz części lotnych (tab. 8), decyduje o możliwości np. wykorzystania osadów ściekowych do produkcji energii odnawialnej czy termicznej utylizacji. Ze względu na brak odpowiednich norm pomiaru dla biomasy Werle i in. zastosowali normy odnoszące się do badania węgla [34]. Uzyskane przez autorów wyniki wskazują, że wyższa zawartość wilgoci oraz popiołu może powodować podwyższenie temperatury zapłonu i zmniejszenie wartości opałowej osadu. Z kolei zwiększenie zawartości substancji lotnych podnosi temperaturę zapłonu, jednak może obniżyć wartość opałową [34].

Tabela 8. Wykaz norm stosowanych w oznaczaniu wartości opałowej osadów ściekowych [34, 35]

Table 8. The list of standards used in the analysis of sewage sludge in terms of their calorific value [34, 35]

Rodzaj badań	Metoda badawcza zgodnie z normą	Jednostka	Komunalne osady ściekowe				
			Osad I [34]	Osad II [34]	Osad III [34]	Osad IV [35]	Osad V [35]
Oznaczanie wilgoci	PN ISO 598*	%	53,5*	52,5*	44,5*	b.d.	b.d.
Oznaczanie wilgoci	wagosuszarka	%	53,7	53,9	46,3	b.d.	b.d.
Zawartość części lotnych	PN ISO 562*	%	88,9*	92,1*	84,0*	b.d.	b.d.
Oznaczenie popiołu	PN-EN 13039:2011 PN ISO 1171*	%	32,2*	33,7*	21,0*	43,0	42,1
Temperatura zapłonu	metoda Kreulena	°C	195	207	221	b.d.	b.d.
Ciepło spalania	metoda kalorymetryczna	MJ/kg	b.d.	b.d.	b.d.	12,73	10
Oznaczenie % zawartości węgla	metoda Pregla i Dumasa	%	b.d.	b.d.	b.d.	30,33	25,6
Oznaczenie % zawartości wodoru	metoda Pregla i Dumasa	%	b.d.	b.d.	b.d.	4,64	3,3
Oznaczenie % zawartości azotu	metoda Pregla i Dumasa	%	b.d.	b.d.	b.d.	3,89	3,6

* zgodnie z literaturą [35], oznaczenia osadu pochodzącego z komunalnych oczyszczalni ścieków wykonano jak dla węgla z uwagi na fakt braku analogicznych procedur dla biomasy

Kowarska i in. [35] osady ściekowe do wykorzystania w termicznej obróbce badali pod kątem innych parametrów, takich jak procentowa zawartość H, C i N (metodą Pregla i Dumasa), wykorzystując do tego celu analizator Perkin Elmer 2400 Series II CHNS/O. Zawartość części mineralnych oznaczano poprzez spalenie próbki, a następnie prażenie pozostałości w temperaturze 815°C zgodnie z normą PN-EN 13039:2011. Ciepło spalania dla wysuszonego komunalnego osadu ściekowego wyznaczone metodą kalorymetryczną (PN-EN 15170:2009) wynosiło 10÷12,73 MJ/kg s.m. [35]. Wartość ciepła spalania osadów ściekowych najczęściej waha się w przedziale 11÷17 MJ/kg [35]. Z kolei Kowalski i in. [36] zgodnie z normą PN-81/G-04513 oznaczyli wartość opałową dla osadów komunalnych surowych na poziomie 16÷16,8 MJ/kg s.m. oraz dla osadów sfermentowanych na poziomie 12,8 MJ/kg.

5. Metody badania parametrów pośrednich

Osady ściekowe bada się także pod kątem parametrów pośrednich, takich jak wskaźniki humifikacji. Humifikacja jest przemianą materii organicznej podczas dojrzwiania kompostu, w wyniku której powstają wielkocząsteczkowe związki o charakterze organicznym (kwasy humusowe, huminowe i fulwowe) [37]. Badania pośrednich parametrów humifikacji podczas przeprowadzania procesu kompostowania opisują Kulikowska i in. [14]. Do parametrów pośrednich humifikacji zaliczyć można: zawartość kwasów fulwowych i huminowych, pomiar mas cząsteczkowych kwasów humusowych, współczynniki Q (współczynnik w wyciągu alkalicznym, który stanowi iloraz gęstości optycznej przy odpowiednich długościach fali i są one wskaźnikiem przy charakterystyce związków humusowych), pojemność sorpcyjną (miara zdolności gleby do wymiennego wiązania jonów) czy stosunek N_{NH_4}/N_{NO_3} [14].

Podsumowanie

W Polsce badania osadów ściekowych przeprowadza się głównie tradycyjnymi metodami fizykochemicznymi i mikrobiologicznymi, a sporadycznie prowadzi się analizę parametrów pośrednich oraz badania molekularne osadów ściekowych. Do badania osadów ściekowych stosuje się różnorodne metody, jednakże procedury są niepełne lub niewystarczające do przeprowadzenia kompleksowej analizy istotnych parametrów. W związku z brakiem stosownych aktów prawnych i norm występują znaczne trudności w porównaniu wyników z różnych ośrodków badawczych. Stwarza to trudności w ocenie realnego zagrożenia dla środowiska i pracowników oczyszczalni ścieków. W zależności od pochodzenia ścieków badane parametry są zróżnicowane, dlatego dobór metod wykorzystania osadów ściekowych należy rozpatrywać indywidualnie dla każdej oczyszczalni. Problem standaryzacji dotyczy głównie metod mikrobiologicznych, w mniejszym stopniu fizykochemicznych.

Literatura

- [1] Bauman-Kaszubska H., Sikorski M., Możliwość rolniczego i przyrodniczego wykorzystania osadów ściekowych na przykładzie wybranych obiektów, *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 2008, 526, 303-310.
- [2] Małej J., Majewski A., Wybrane problemy oczyszczania wód osadowych, *Rocznik Ochrona Środowiska* 2002, 4, 1-33
- [3] Kalisz L., Nechay A., Kaźmierczuk M., Sałbud J., Szyprowska E., Gierczak A., Kostrzewa-Szulc J., Fizyczno-chemiczne i biologiczne, referencyjne metody badań komunalnych osadów ściekowych, Wyd. Głównego Inspektoratu Ochrony Środowiska, Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa 2003.
- [4] Żukowska G., Flis-Bujak M., Baran S., Wpływ nawożenia osadem ściekowym na substancję organiczną gleby lekkiej pod uprawą wikliny, *Acta Agrophisica* 2002, 73, 37-367.
- [5] Krutysz-Hus E., Chmura K., Próby wykorzystania osadów ściekowych w uprawie wierzby krzewiastej dla potrzeb energetycznych, *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 2008, 528, 397-403.
- [6] Fijałkowski K., Kacprzak M., Wpływ dodatku osadów ściekowych na wybrane fizyczno-chemiczne i mikrobiologiczne parametry gleb zdegradowanych, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2009, 2, 2, 133-141.
- [7] Bień J., Neczaj E., Worwąg M., Grosser A., Nowak D., Milczarek M., Janik M., Kierunki zagospodarowania osadów w Polsce po roku 2013, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2011, 14, 4, 375-384.
- [8] Ustawa z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach.
- [9] Rozporządzenia Ministra Gospodarki z dnia 8 stycznia 2013 r. w sprawie kryteriów oraz procedur dopuszczania odpadów do składowania na składowisku odpadów danego typu.
- [10] Małej J., Właściwości osadów ściekowych oraz wybrane sposoby ich unieszkodliwiania i utylizacji, *Rocznik Ochrona Środowiska* 2000, 2, 69-101.
- [11] Określenie kryteriów stosowania osadów ściekowych poza rolnictwem, Instytut Inżynierii Środowiska, Częstochowa 2004, 9-19.
- [12] Bauza-Kaszewska J., Paluszak Z., Skowron K., Wpływ kompostowania osadów ściekowych na liczebność wybranych grup drobnoustrojów autochtonicznych, *Woda - Środowisko - Obszary Wiejskie* 2010, 10, 2(30), 19-27.
- [13] Breza-Boruta B., Emisja drobnoustrojów przez składowisko odpadów komunalnych jako czynnik zagrożenia zdrowotnego, *Proceedings of ECOpole 2012*, 6(2), 617-623. DOI:10.2429/proc.2012.6(2)083.
- [14] Kulikowska D., Moszczyńska M., Kompostowanie osadów ściekowych - charakterystyka procesu oraz analiza jakości kompostu, *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 2010, 11, 36-39.
- [15] Siuta J., Wasiak G., Zasady wykorzystania osadów ściekowych na cele nieprzemysłowe (przyrodnicze), *Polskie Towarzystwo Inżynierii Ekologicznej, Inżynieria Ekologiczna* 2001, 3, 13-42.
- [16] Kocwa-Haluch R., Woźniakiewicz T., Analiza mikroskopowa osadu czynnego i jej rola w kontroli procesu technologicznego oczyszczania ścieków, *Czasopismo Techniczne, Wyd. Politechniki Krakowskiej*, 2011, 2-Ś, 6, 141-162.
- [17] Stańczyk-Mazanek E., Kacprzak M., Analiza mikologiczna osadów ściekowych z wybranych oczyszczalni ścieków, *Materiały IV Konferencji Naukowo-Technicznej nt.: Przyrodnicze użytkowanie osadów ściekowych*, Wyd. Inżynierii Ekologicznej, Bydgoszcz, 4-6 czerwca 2001, 3, 109-115.
- [18] Radosz M., Badania nad możliwością zastosowania mikrofal do higienizacji osadów ściekowych, *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 2005, 2, 28-31.
- [19] Budzińska K., Jurek A., Michalska M., Berleć K., Szejniuk B., Dynamika zmian mikroflory bakteryjnej w składowanych osadach ściekowych, *Rocznik Ochrona Środowiska* 2009, 11, 1155-1164.

- [20] Zakresy akredytacyjne laboratoriów badawczych w Bydgoszczy, Gdyni, Kaczorach, Katowicach, Łędzinach i Siedlcach.
- [21] eNormy.pl: <http://enormy.pl/?m=src&idx=ICS,0013.0030.0020.X&atr=,,,cu,al,al&ro=0#nl>
- [22] Polski Komitet Normalizacyjny:
<https://sklep.pkn.pl/?m=product&a=find&cmd=&pfsymbol=&pfics=&pfsymbolopt=e&pfname=+osadY+%B6ciekoWE&pfnameopt=e&pfreplace=&pfinsert=&pfreplaceopt=e&pfinsertopt=e&pfisbn=&pfkt=&pfnormyopt=w&pfrows=50&submit=Szukaj>
- [23] Kazanowska J., Szaciło J., Analiza jakości osadów ściekowych oraz możliwości ich przyrodniczego wykorzystania, *Acta Agrophisica* 2012, 19(2), 343-353.
- [24] Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych.
- [25] Raszka A., Ziemińska A., Wiechetek A., Metody i techniki biologii molekularnej w biotechnologii środowiskowej, *Czasopismo Techniczne*, Wyd. Politechniki Krakowskiej 2009, 2-Ś, 2, 101-114.
- [26] Więckowicz M., Molekularne metody identyfikacji mikroorganizmów w złożonych ekosystemach, *Postępy Mikrobiologii* 2009, 48, 1, 67-73.
- [27] Muszyński A., Mielczarek A., Nielsen P., Techniki FISH i PCR w badaniach bakterii akumulujących polifosforany, *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 2011, 5, 189-193.
- [28] Krzywy E., Baran S., Krzywy J., Wartość nawozowa głównych składników pokarmowych w komunalnych osadach ściekowych, *Polskie Towarzystwo Inżynierii Ekologicznej, Inżynieria Ekologiczna*, Warszawa 2002, 7, 66-68.
- [29] Magrel L., Metodyka oceny efektywności procesu fermentacji metanowej wybranych osadów ściekowych, *Wyd. Politechniki Białostockiej, Białystok* 2002, 69, 31-56.
- [30] Siebielska I., Sidelko R., Wpływ czasu trwania fazy gorącej kompostowania na usuwanie WWA, [w:] *Polska inżynieria środowiska pięć lat po wstąpieniu do Unii Europejskiej*, t. 1, red. J. Ozonok, M. Pawłowska, Lublin 2009, 281-287.
- [31] Siebielska I., Analiza porównawcza metod ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z osadów ściekowych, *Ochrona Środowiska* 2008, 1, 51-54.
- [32] Bąkowski W., Bodzek D., Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w naturalnym środowisku człowieka - pochodzenie, występowanie, toksyczność, oszacowanie emisji w Polsce, *Arch. Ochr. Śród.* 1988, (3-4), 197-215.
- [33] Klimczak K., Gworek B., Akumulacja wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w roślinach jedno- i dwuliściennych rosnących na osadach ściekowych pochodzenia petrochemicznego, *Przemysł Chemiczny* 2011, 90/2, 230-235.
- [34] Werle S., Książd A., Szwedo I., Badania eksperymentalne podstawowych właściwości palnych komunalnych osadów ściekowych, *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 2011, 11, 447-450.
- [35] Kowarska B., Baron J., Kandefor S., Żukowski W., Incineration of municipal sewage sludge in a fluidized bed reactor, *Przemysł Chemiczny* 2012, 91/5, 816-822.
- [36] Kowalski Z., Wzorek Z., Jodko M., Gorazda K., Właściwości osadów z oczyszczania ścieków komunalnych i popiołów z ich obróbki termicznej, *Przemysł Chemiczny* 2003, 8-9, 1034-1036.
- [37] Paluszak Z., Bauza-Kaszewska J., Ligocka A., Przeżywalność pałeczek *Salmonella* Senftenberg W775 w osadach pościekowych poddanych procesowi kompostowania, *Med. Wet.* 2003, 59, 239-243.

Overview of the Research Methods for Sewage Sludge Used in Poland

Amount and physicochemical and biological composition of sewage sludge that is produced in the process of sewage cleansing is diverse, and depends on the quality of sewage, the functioning of sewage treatment plant, cleansing and processing of the sludge. They are characterized by heterogeneous composition, and the choice of methods for their processing

requires individual assessment of important parameters. The purpose of the article was to present the research methods of sewage sludge and research standards applied in Poland, in terms of risk to the environment and people.

The paper presents the testing methods of sewage sludge used in Poland: microbiological, physicochemical, concentrations of refractive parameters of intermediate and modern molecular methods. The choice of methods for disposing sewage sludge depends on several different factors. The most important are: the heavy metals content, the value and quotient of fertilising elements, the contents of toxic refractive and mineral compounds or the sedimentary qualities. Natural usage is not only determined by physicochemical contents but also hygienic-sanitary contents of sewage sludge. When sewage sludge is inappropriately kept and processed, it might be a source of pollution to the environment by pathogenic microorganisms and their spore forms. Microorganisms are identified by the traditional biochemical and/or serological method. Sanitary conditions are usually determined on the basis of indicator organisms: *Salmonella* bacteria and helminths' eggs.

Because there are few norms in the field of testing sewage sludge for microflora, methods from different branches of industry are used; laboratories that search for pathogenic microorganisms are using their own research procedures based on legal acts dealing with: water and sewage, ground, municipal waste, feeds and food and general rules for microbiological tests. Despite traditional methods of monitoring microbiological contents, modern molecular methods might be useful e.g. FISH, PCR together with different variants of electrophoresis, ARDRA and T-RFLP and RISA method. Physicochemical analysis of sewage sludge concerns marking: the contents of dry mass, pH value, contents of biogenic substances: nitrogen general and ammonium, phosphorus, calcium, magnesium, potassium that might be a fertilizer substance and that increase the sorptive capacity of soil. Heavy metals are also marked, such as: zinc, lead, cadmium, chromium, nickel, iron and mercury. Besides basic chemical determinations in the case of sewage sludge, the concentration of the refraction substances is marked. Not without significance when trying to recycle or utilize the sewage sludge is also knowledge of other parameters such as ignition temperature and combustion heat, moisture, ash content and percentage parts of carbon, nitrogen and hydrogen and volatile matter content, which determine the possibility of using sewage sludge for renewable energy production or thermal utilization. Sewage sludge was also tested for indirect parameters, such as indicators of humification. These are the parameters which might be useful during the composting process.

Keywords: sewage sludge, research methods, microbiology, physicochemical analysis