

Izabela Siebielska

Analiza porównawcza metod ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z osadów ściekowych

Głównymi źródłami wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w środowisku naturalnym są przemysł petrochemiczny oraz transport. Ze względu na trudności w biodegradacji WWA oraz z uwagi na ich kancerogenne i mutagenne właściwości, zanieczyszczenia te stanowią poważne zagrożenie zdrowia ludzi.

Wiele prac badawczych wskazuje na obecność WWA w osadach ściekowych [1]. Właściwości fizyczno-chemiczne tych węglowodorów sugerują ich dużą zdolność do sorpcji na powierzchni cząstek stałych i słabą rozpuszczalność w wodzie [2]. Rozpuszczalność może jednak wzrosnąć, np. w obecności w wodzie nadosadowej różnych związków organicznych, działających jak rozpuszczalniki. W badaniach [3] wykazano, że stężenia tych węglowodorów w wodach nadosadowych są mniejsze niż wynika to z ich rozpuszczalności, mimo znacznej ich zawartości w samych osadach ściekowych. Głównym źródłem WWA w osadach ściekowych są przede wszystkim ścieki przemysłowe, a w mniejszym stopniu ścieki bytowo-gospodarcze. Duży udział mają także wody opadowe, dopływające kanalizacją ogólnospławną do oczyszczalni ścieków. W wyniku procesów fermentacji surowych osadów ściekowych obserwowany jest wzrost zawartości WWA, co można wytłumaczyć małą podatnością tych związków na biodegradację oraz zmniejszeniem masy osadu.

Najpopularniejszą formą utylizacji osadów ściekowych zarówno w Polsce, jak i w całej Unii Europejskiej jest ich rolnicze wykorzystanie. Taki sposób zagospodarowania osadów zobowiązuje do przestrzegania dopuszczalnych zawartości w nich poszczególnych zanieczyszczeń. Dotychczas nie zostały jeszcze opracowane przepisy określające maksymalną zawartość WWA w osadach ściekowych. Jednakże Komisja Europejska proponuje zmianę dyrektywy 1986/278/EEC, uwzględniającą wartość dopuszczalną sumy 11 WWA (acenaften, fenantren, fluoren, fluoranten, piren, benzo(b)fluoranten, benzo(j)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, benzo(ghi)perylene i indeno(1,2,3-cd)piren) w ilości 6 mg/kg suchej masy osadu [4].

Oznaczanie tak małych zawartości mikrozanieczyszczeń, do których należą także wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, możliwe jest dzięki intensywnemu rozwojowi metod analitycznych i ich coraz większej czułości [5]. Celem pracy było porównanie dwóch metod ekstrakcji WWA z osadów ściekowych, tj. metody wielostopniowej w aparacie Soxhleta oraz metody z użyciem ultradźwięków. Oznaczenie ilościowe i jakościowe WWA w obu przypadkach opierało się na technice chromatografii gazowej.

Metodyka badań

W badaniach został użyty ustabilizowany osad ściekowy z oczyszczalni ścieków w Unieściu. Jest to mała oczyszczalnia przeznaczona do obsługi około 10 tys. mieszkańców poza sezonem letnim. Do oczyszczalni nie są doprowadzane ścieki przemysłowe. Stabilizację osadu przeprowadza się poprzez odwadnianie, a następnie wapnowanie. Do badań pobrano próbki osadów ściekowych, które zostały wysuszone do stałej masy. Naważki osadu o masie około 5 g poddano ekstrakcji dwoma metodami: w aparacie Soxhleta i ultradźwiękami. W obu przypadkach jako rozpuszczalnika użyto eteru naftowego. Ekstrakcję w aparacie Soxhleta prowadzono przez pięć godzin, natomiast działaniu ultradźwięków próbki osadów ściekowych poddawano przez godzinę.

Otrzymane ekstrakty oczyszczono i zagęszczono techniką SPE na kolumnkach PAH Soil, składających się z dwóch faz – cyjanowej i żelu krzemionkowego [6]. Anality wymyto porcjami dwóch rozpuszczalników – heksanem i chloroformem. Uzyskane eluaty zagęszczono w atmosferze azotu do objętości 0,5 cm³. Końcowym etapem było oznaczenie ilościowe WWA na chromatografii gazowej (HP 5890), zaopatrzonej w dawkownik z rozdziałem strumienia (split-splitles) i detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Wyboru techniki chromatografii gazowej do oznaczeń ilościowych dokonano w oparciu o wyniki badań opisanych w pracy [7]. Czułość zastosowanej metody wynosi 0,01 mg/kg (w przeliczeniu na suchą masę osadu). Analizę WWA wykonano w kilkunastu powtórzeniach.

Wyniki badań

Wyniki analiz zebrano w tabeli 1. Zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w suchej masie próbek ustabilizowanych osadów ściekowych nie przekraczała 0,5 mg/kg. Wyjątkiem był indeno(1,2,3-cd)piren, którego zawartość przekroczyła 1 mg/kg. Zaobserwowano także wyższą zawartość węglowodorów mających powyżej czterech pierścieni aromatycznych (ok. 0,2 mg/kg), natomiast węglowodorów o mniejszej liczbie pierścieni aromatycznych było średnio dziesięciokrotnie mniej. W próbkach osadów ściekowych nie można było określić zawartości naftalenu, acenaftenu i fluorenu, ponieważ była ona mniejsza niż czułość metody. Mała ilość WWA w osadach ściekowych może wynikać z faktu, iż do analizowanej oczyszczalni nie są doprowadzane ścieki przemysłowe.

Tabela 1. Wartości średnie lub mediany oraz odchylenia standardowe zawartości WWA w suchej masie osadów ściekowych (mg/kg)

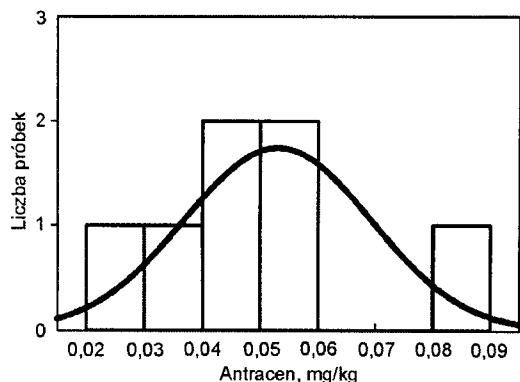
WWA	Ultradźwięki		Soxhlet	
	średnia mediana	odch. stand.	średnia mediana	odch. stand.
Naftalen	<0,01	–	<0,01	–
Acenaften	<0,01	–	<0,01	–
Acenaftylen	0,02	0,016	<0,01	0,004
Fluoren	<0,01	–	0,01	–
Fenantren	0,03	0,013	0,02	0,008
Antracen	0,05	0,016	0,03	0,015
Fluoranten	0,05	0,023	0,11	0,030
Piren	0,04	0,021	0,16	0,078
Benzo(a)antracen	0,12	0,043	0,03	0,024
Chryzen	0,10	0,024	0,03	0,008
Benzo(b)fluoranten	0,21	0,155	0,17	0,059
Benzo(k)fluoranten	0,21	0,058	0,06	0,019
Benzo(a)piren	0,04	0,019	0,21	0,130
Dibenzo(a,h)antracen	0,15	0,028	1,09	0,243
Benzo(ghi)perylene	0,19	0,159	0,18	0,058
Indeno(1,2,3-cd)piren	1,18	0,483	1,63	0,222

W przeprowadzonych badaniach – w oparciu o analizę statystyczną – porównano dwie najbardziej popularne metody ekstrakcji osadów, tj. w aparacie Soxhleta oraz przy użyciu ultradźwięków. Normalność rozkładów zbadano na podstawie testów statystycznych Kołmogorowa-Smirnowa (K-S) i Lillieforsa oraz dodatkowo w oparciu o test Shapiro-Wilka. Wyniki przedstawiono w tabelach 2 i 3.

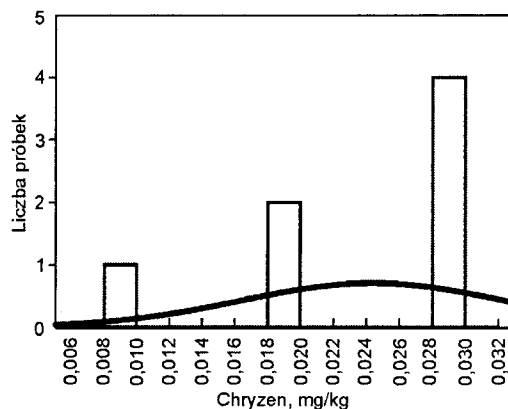
W przypadku ekstrakcji z użyciem ultradźwięków wyniki oznaczeń acenaftyenu i benzo(ghi)perylene nie miały rozkładu normalnego, natomiast w przypadku ekstrakcji w aparacie Soxhleta brak rozkładu normalnego stwierdzono w analizie acenaftyenu, fenantrenu, chryzenu i dibenzo(a,h)antracenu. Przykładowe histogramy przedstawiono na rysunkach 1 i 2.

W celu sprawdzenia jednorodności wariancji wykonano test statystyczny Levene'a. Wyniki tego testu (tab. 4) potwierdzają jednorodność wariancji analizowanych węglowodorów. Wyjątkami były benzo(a)piren i indeno(1,2,3-cd)piren.

W toku analizy postawiono hipotezę zerową zakładającą, iż wyniki oznaczeń wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w osadach ściekowych w obu metodach ekstrakcji są takie same. Hipoteza alternatywna zakłada różnice w wynikach uzyskanych w dwóch różnych metodach ekstrakcji. Weryfikację hipotez przeprowadzono na podstawie testu t-studenta,



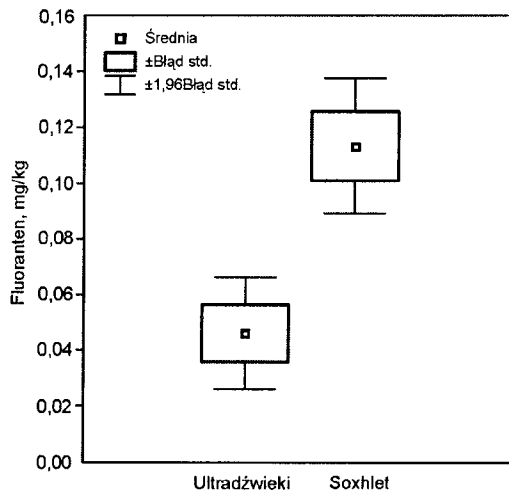
Rys. 1. Histogram antracenu potwierdzający rozkład normalny



Rys. 2. Histogram chryzenu potwierdzający brak rozkładu normalnego

przyjmując poziom istotności $\alpha=0,05$. W przypadku, kiedy wyniki nie spełniały wszystkich założeń wykonano test Manna-Whitney'a. Wyniki testów przedstawiono w tabeli 5.

Z przeprowadzonych testów statystycznych wynika, iż tylko w przypadku acenaftyenu, fenantrenu i benzo(ghi)terylene nie wystąpiła statystycznie istotna różnica wyników, zależnie od zastosowanej metody ekstrakcji. Fluoranten, benzo(a)piren, dibenzo(a,h)antracen i piren były lepiej izolowane w aparacie Soxhleta (rys. 3), natomiast indeno(1,2,3-cd)piren, antracen, chryzen, benzo(a)antracen i benzo(k)fluoranten w większym stopniu ulegały wymyciu z osadów ściekowych w czasie przeprowadzania ekstrakcji ultradźwiękami (rys. 4 i 5). Zjawisko to może być konsekwencją ich budowy strukturalnej, w tym liczby pierścieni aromatycznych w poszczególnych związkach. Duże znaczenie ma także ich przestrzenna konfiguracja. Węglowodory o większej liczbie pierścieni (powyżej czterech) są łatwiej ekstrahowane z osadów ściekowych za pomocą fal ultradźwiękowych. Wyjątkami są benzo(a)piren i dibenzo(a,h)antracen oraz antracen. Pierwsze dwa związki, mimo że zbudowane z pięciu pierścieni aromatycznych, łatwiej uległy ekstrakcji w aparacie Soxhleta, natomiast antracen, składający się z trzech pierścieni, charakteryzował się większą mobilnością po ekstrakcji ultradźwiękami. Można więc sądzić, że struktura substancji w dużym stopniu decydowała o procesie sorpcji tych zanieczyszczeń w osadach ściekowych. Duże znaczenie w ocenie przydatności metody ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z osadów ściekowych ma źródło ich pochodzenia. Obecność w osadach innych związków organicznych, działających jak



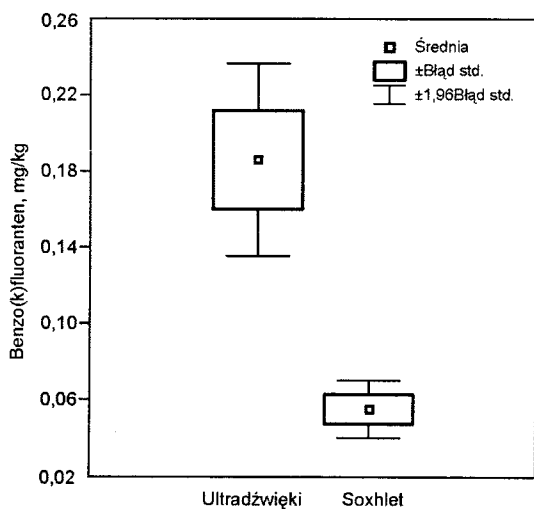
Rys. 3. Średnia zawartość fluorantenu w ekstraktach

Tabela 2. Wartości statystyk oceniających rozkład normalny w przypadku ekstrakcji WWA ultradźwiękami

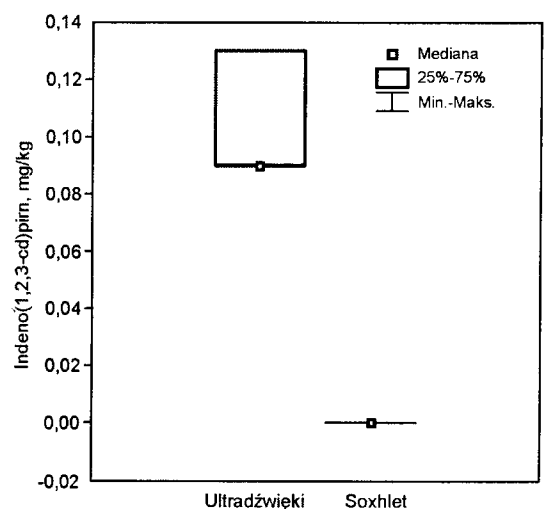
WWA	K-S d	p	Lilliefors p	Shapiro-Wilk W	p
Acenaftylen	0,34844	>0,20	<0,05	0,77866	0,05368
Fenantren	0,17200	>0,20	>0,20	0,96664	0,87327
Antracen	0,18515	>0,20	>0,20	0,96707	0,87655
Fluoranten	0,19719	>0,20	>0,20	0,94273	0,68530
Piren	0,21723	>0,20	>0,20	0,93756	0,61683
Benzo(a)antracen	0,22548	>0,20	>0,20	0,94994	0,73976
Chryzen	0,19837	>0,20	>0,20	0,95699	0,78688
Benzo(b)fluoranten	0,28381	>0,20	>0,20	0,87474	0,28615
Benzo(k)fluoranten	0,26126	>0,20	>0,20	0,87771	0,29907
Benzo(a)piren	0,28329	>0,20	>0,20	0,86337	0,27245
Dibenzo(a,h)antracen	0,23745	>0,20	>0,20	0,93927	0,64988
Benzo(ghi)perylene	0,25726	>0,20	<0,20	0,78642	0,02999
Indeno(1,2,3-cd)piren	0,23606	>0,20	>0,20	0,88055	0,31181

Tabela 3. Wartości statystyk oceniających rozkład normalny w przypadku ekstrakcji WWA w aparacie Soxhleta

WWA	K-S d	p	Lilliefors p	Shapiro-Wilk W	p
Acenaftylen	0,47264	<0,20	<0,01	0,55218	0,00013
Fenantren	0,25622	>0,20	<0,20	0,83338	0,08614
Antracen	0,19474	>0,20	>0,20	0,91336	0,41965
Fluoranten	0,14542	>0,20	>0,20	0,97127	0,90087
Piren	0,27945	>0,20	>0,20	0,88058	0,34111
Benzo(a)antracen	0,19837	>0,20	>0,20	0,95699	0,78688
Chryzen	0,33759	>0,20	<0,05	0,76928	0,02009
Benzo(b)fluoranten	0,24950	>0,20	>0,20	0,89978	0,42998
Benzo(k)fluoranten	0,12199	>0,20	>0,20	0,98189	0,96055
Benzo(a)piren	0,20988	>0,20	>0,20	0,92183	0,54179
Dibenzo(a,h)antracen	0,29201	>0,20	<0,20	0,80356	0,08661
Benzo(ghi)perylene	0,18125	>0,20	>0,20	0,99090	0,96201
Indeno(1,2,3-cd)piren	0,14945	>0,20	>0,20	0,99177	0,98550



Rys. 4. Średnia zawartość benzo(k)fluorantenu w ekstraktach



Rys. 5. Mediana zawartości indeno(1,2,3-cd)pirenu w ekstraktach

Tabela 4. Wyniki testu Levene'a o jednorodności wariancji

WWA	Statystyka Levene'a	p
Antracenen	1,546636	0,253664
Fluoranten	0,170472	0,692046
Piren	3,831418	0,078775
Benzo(a)antracenen	0,022626	0,883750
Benzo(b)fluoranten	0,788506	0,404030
Benzo(k)fluoranten	0,021053	0,888225
Benzo(a)piren	6,023529	0,039671
Indeno(1,2,3-cd)piren	37,33333	0,000486

Tabela 5. Wyniki testu t-studenta i Manna-Whitney'a

WWA	t	p	U	p
Acenaftylen	–	–	15,00	0,865135
Fenantren	–	–	9,00	0,047646
Antracenen	2,523475	0,026738	–	–
Fluoranten	–2,82213	0,025694	–	–
Piren	–4,39411	0,001735	–	–
Benzo(a)antracenen	3,974491	0,003233	–	–
Chryzen	–	–	0,00	0,004484
Benzo(b)fluoranten	–1,22653	0,259650	–	–
Benzo(k)fluoranten	–2,76759	0,024387	–	–
Benzo(a)piren	–	–	0,00	0,014306
Dibenzo(a,h)antracenen	–	–	0,00	0,014306
Benzo(ghi)perylene	–	–	10,00	0,909269
Indeno(1,2,3-cd)piren	–	–	0,00	0,020137

rozpuszczalniki, może ułatwiać proces ekstrakcji WWA. Nie zawsze można porównać ekstrakcję węglowodorów o najniższych temperaturach wrzenia, tj. naftalenu, acenaftenu i fluorenu, zawartych w osadach ściekowych w aparacie Soxhleta z ekstrakcją ultradźwiękami. Potwierdziły to niniejsze badania, z których wynika, że czułość metody oznaczania tych związków w badanych osadach ściekowych uniemożliwiła określenie ich zawartości.

Wnioski

◆ Ekstrakcja z użyciem ultradźwięków okazała się skuteczniejsza przy oznaczaniu WWA o większej liczbie pierścieni,

z wyjątkiem benzo(a)pirenu i dibenzo(a,h)antracenu. Węglowodory aromatyczne o małej liczbie pierścieni, z wyjątkiem antracenu, były lepiej ekstrahowane z osadów ściekowych w aparacie Soxhleta.

◆ Czułość metody (0,01 mg/kg) oznaczania WWA w osadach ściekowych nie pozwoliła na ocenę metody ekstrakcji w przypadku wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych o małej masie cząsteczkowej.

◆ Zaletą metody ekstrakcji ultradźwiękami jest większa skuteczność wymywania węglowodorów o dużej toksyczności z osadów ściekowych, a także mniejsze zużycie rozpuszczalników i krótszy czas ekstrakcji.

◆ Zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w badanych osadach ściekowych nie eliminuje ich z rolniczego wykorzystania.

LITERATURA

1. S. PEREZ, M. GUILLAMÓN, D. BARCELÓ: Quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants. *Journal of Chromatography A*, 2001, No. 938, pp. 57–65.
2. M.I.H. HELALEH, A. AL-OMAIR, A. NISAR, B. GEVAO: Validation of various extraction techniques for the quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2005, Vol. 1083, pp. 153–160.
3. M. WŁODARCZYK-MAKUŁA, M. JANOSZ-RAJCZYK, E. WIŚNIEWSKA, A. ZARĘBSKA, A. ZGRZEBNA: Badania zawartości WWA w osadach ściekowych. *Ochrona Środowiska*, 2000, vol. 22, nr 4, ss. 15–19.
4. R. ZARZYCKI: *Gospodarka komunalna w miastach*. PAN, Komisja Ochrony Środowiska, Łódź 2001.
5. W. BĄKOWSKI, B. JANOSZKA: Isolation of polynuclear aromatic hydrocarbons from sewage sludges using the extraction method. *Polish Journal of Environmental Studies*, 1993, Vol. 2, No. 3, pp. 5–7.
6. P. OLESZCZUK, S. BARAN: Application of solid-phase extraction to determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge extracts. *Journal of Hazardous Materials B*, 2004, No. 113, pp. 237–245.
7. R.M. GADZAŁA, B. BUSZEWSKI: Properties and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using chromatographic methods. *Polish Journal of Environmental Studies*, 1995, Vol. 4, No. 1, pp. 5–15.

Siebielska, I. Comparative Analysis of the Methods Used for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Extraction from Sewage Sludge. *Ochrona Środowiska* 2008, Vol. 30, No. 1, pp. 51–54.

Abstract: The presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in wastewater sludge is attributable primarily to industrial discharge, the contribution of municipal sewage being of minor significance. This paper includes a comparison of two methods for PAHs extraction from wastewater sludge: the multistep method using the Soxhlet apparatus and the method involving ultrasounds. In both the methods, quantitative and qualitative determinations are carried out by gas chromatography. The samples used for the purpose of relevant studies contained stabilized sludge and came from a municipal sewage treatment plant. The findings of the investigations can be itemized as

follows. The ultrasound extraction method was more efficient with PAHs of a higher number of rings (with the exception of benzo(a)pirene and dibenzo(a,h)anthracene). PAHs with a low number of rings (except anthracene) were more efficiently extracted from sewage sludge when use was made of the Soxhlet apparatus. The ultrasound method outclassed the Soxhlet technique in extracting high-toxicity PAHs; it also had the added advantages of being more moderate in solvent demand, and providing shorter times of extraction. The sensitivity of the method (0.01 µg/kg) to the determination of PAHs in wastewater sludge failed to enable reliable assessments of extraction efficiency in the case of low-molecular-weight PAHs.

Keywords: Wastewater sludge, PAHs, extraction, Soxhlet, ultrasounds.