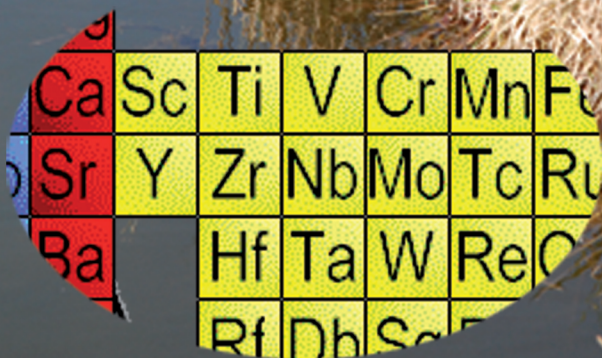


ŚRODOWISKO I PRZEMYSŁ

TOM VII

REDAKCJA
GRZEGORZ SCHROEDER
PIOTR GRZESIAK



Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe
Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru
Ba		Hf	Ta	W	Re	Os
		Rf	Dh	Sg	Bh	Hs

ŚRODOWISKO I PRZEMYSŁ

TOM VII

REDAKCJA
GRZEGORZ SCHROEDER
PIOTR GRZESIAK



CURSIVA
2017

Recenzenci

dr Michał Cegłowski
dr hab. Joanna Kurczewska

Wydanie I
2017

Cursiva

<http://www.cursiva.pl>

Copyright by Cursiva

ISBN 978-83-62108-37-4

Spis treści

Książka adresowa 7

Rozdział 1 15

IMMOBILIZACJA ENZYMÓW W OCHRONIE ŚRODOWISKA

Jakub Zdarta, Katarzyna Antecka, Teofil Jesionowski

Rozdział 2 81

OTRZYMYWANIE I ZASTOSOWANIA DROBNOCZĄSTECZKOWEGO WĘGLANU WAPNIA

Dorota Łuczowska, Wojciech Mikołajczak, Barbara Cichy

Rozdział 3 103

METODY BADAWCZE WYKORZYSTYWANE W OCENIE STANU I POTENCJAŁU EKOLOGICZNEGO WÓD NA PRZYKŁADZIE STAWU MIEJSKIEGO

Ewa Treska, Anna Radziszewska, Beata Messyasz

Rozdział 4 125

WPŁYW PARAMETRÓW BOROWANIA LASEROWEGO NA MIKROSTRUKTURĘ I MIKROTWARDOŚĆ WARSTWY AZOTOWANEJ

Aneta Bartkowska

Rozdział 5 139

WPLYW PARAMETRÓW BOROWANIA LASEROWEGO NA
MIKROSTRUKTURĘ I WŁAŚCIWOŚCI AZOTOWANEJ STALI
42CrMo4

Aneta Bartkowska, Dariusz Bartkowski

Rozdział 6 153

MODYFIKACJA METODY SODA-CHLOR-SALETRA, JAKO
ALTERNATYWA DLA PROCESU SOLVAY'A

*Sebastian Drużyński, Urszula Kielkowska, Mieczysław Trypuć,
Krzysztof Mazurek, Adriana Wróbel*

Rozdział 7 173

POLIMERYZODCISKIEMMOLEKULARNYM.WPLYWREAKCJI
POLIMERYZACJI NA POWINOWACTWO I SELEKTYWNOŚĆ
POLIMERU WZGLĘDEM TEMPLATU/ANALITU

Maria Guć

Rozdział 8 197

BADANIE PROCESU UTLENIANIA MCPA NA KATALIZATORZE
TiO₂

*Piotr Grzesiak, Tadeusz Hłyń, Joanna Łukaszyk, Grzegorz
Schroeder*

Rozdział 9 221

ZASTOSOWANIE TECHNIK MEMBRANOWYCH DO SEPARACJI
JONÓW WANADU Z ROZTWORU PO ŁUGOWANIU ZUŻYTEGO
KATALIZATORA WANADOWEGO

*Krzysztof Mazurek. Sebastian Drużyński, Urszula Kielkowska,
Piotr Grzesiak*

Rozdział 10 239

WYKORZYSTANIE WŁAŚCIWOŚCI JONOWYMIENNYCH
OKSYWODOROTLENKU CYRKONU DO OCZYSZCZANIA
CIEKŁYCH ODPADÓW TECHNOLOGICZNYCH

Mariola Bodzek-Kochel, Barbara Soltysik, Joanna Gluzińska

Rozdział 11 261

ODPADY ELEKTRYCZNE I ELEKTRONICZNE ŹRÓDŁEM
ODZYSKU CENNYCH SUROWCÓW

Marta Stechman, Jolanta Miśkiewicz

Rozdział 12 301

SYNTEZA, WŁAŚCIWOŚCI I PERSPEKTYWY ZASTOSOWAŃ
HYDROKSYLOWYCH POCHODNYCH KUKURBITURILI

Adam Buczkowski, Grzegorz Schroeder

Rozdział 13 327

STRATEGIE ŻYCIOWE GLONÓW PLANKTONOWYCH JAKO
WSKAŹNIK DLA RÓŻNEGO TYPU STAWÓW Z DOMINACJĄ
ELODEIDÓW

Sandra Żurek, Ewa Treska, Beata Messyasz

Książka adresowa

Katarzyna Antecka

Politechnika Poznańska
Wydział Technologii Chemicznej
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
Zakład Technologii Chemicznej
ul. Berdychowo 4
60-965 Poznań

Aneta Bartkowska

Politechnika Poznańska
Instytut Inżynierii Materiałowej
pl. M. Skłodowskiej-Curie 5
60-965 Poznań
aneta.bartkowska@put.poznan.pl

Dariusz Bartkowski

Politechnika Poznańska
Instytut Technologii Materiałów
pl. M. Skłodowskiej-Curie 5
60-965 Poznań
dariusz.bartkowski@put.poznan.pl

Mariola Bodzek-Kochel

Instytut Nowych Syntez Chemicznych
Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach
ul. Sowińskiego 11
44-101 Gliwice
mariola.bodzek-kochel@ichn.gliwice.pl

Adam Buczkowski

Uniwersytet Łódzki
Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej
Zakład Chemii Biofizycznej
ul. Pomorska 165
90-236 Łódź
adam.buczkowski@chemia.uni.lodz.pl

Barbara Cichy

Instytut Nowych Syntez Chemicznych
Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach
ul. Sowińskiego 11
44-101 Gliwice
barbara.cichy@ichn.gliwice.pl

Sebastian Drużyński

Uniwersytet Mikołaja Kopernika
Wydział Chemii
ul. Jurija Gagarina 7
87-100 Toruń
sebdru@uni.torun.pl

Joanna Gluzińska

Instytut Nowych Syntez Chemicznych
Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach
ul. Sowińskiego 11
44-101 Gliwice
joanna.gluzinska@ichn.gliwice.pl

Piotr Grzesiak

Instytut Ochrony Roślin – PIB
Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska
ul. Wł. Węgorka 20
60-318 Poznań
grzesiak@iorpib.poznan.pl

Maria Guć

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Wydział Chemii
ul. Umultowska 89b
61-614 Poznań
maria.guc@amu.edu.pl

Tadeusz Hłyn

Instytut Ochrony Roślin – PIB
Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska
ul. Wł. Węgorka 20
60-318 Poznań
t.hlyn@iorpib.poznan.pl

Teofil Jesionowski

Politechnika Poznańska
Wydział Technologii Chemicznej
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
Zakład Technologii Chemicznej
ul. Berdychowo 4
60-965 Poznań
teofil.jesionowski@put.poznan.pl

Urszula Kielkowska

Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Wydział Chemii

ul. Jurija Gagarina 7

87-100 Toruń

urszula.kielkowska@chem.umk.pl

Dorota Łuczowska

Instytut Nowych Syntez Chemicznych

Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach

ul. Sowińskiego 11

44-101 Gliwice

dorota.luczowska@ichn.gliwice.pl

Joanna Łukaszuk

Instytut Ochrony Roślin – PIB

Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska

ul. Wł. Węgorka 20

60-318 Poznań

j.lukaszuk@iorpib.poznan.pl

Krzysztof Mazurek

Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Wydział Chemii

ul. Jurija Gagarina 7

87-100 Toruń

mazur@chem.uni.torun.pl

Wojciech Mikołajczak

Instytut Nowych Syntez Chemicznych

Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach

ul. Sowińskiego 11

44-101 Gliwice

Beata Messyasz

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Wydział Biologii
Instytut Biologii Środowiska
Zakład Hydrobiologii
ul. Umultowska 89
61-614 Poznań
messyasz@amu.edu.pl

Jolanta Miśkiewicz

Instytut Nowych Syntez Chemicznych
Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach
ul. Sowińskiego 11
44-101 Gliwice
jolanta.miskiewicz@ichn.gliwice.pl

Anna Radziszewska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Wydział Biologii
Instytut Biologii Środowiska
Zakład Hydrobiologii
ul. Umultowska 89
61-614 Poznań
anna.m.radziszewska@gmail.com

Grzegorz Schroeder

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Wydział Chemii
ul. Umultowska 89b
61-614 Poznań
schroede@amu.edu.pl

Barbara Soltysik

Instytut Nowych Syntez Chemicznych
Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach
ul. Sowińskiego 11
44-101 Gliwice
barbara.soltysik@ichn.gliwice.pl

Marta Stechman

Instytut Nowych Syntez Chemicznych
Oddział Chemii Nieorganicznej „IChN” w Gliwicach
ul. Sowińskiego 11
44-101 Gliwice
marta.stechman@ichn.gliwice.pl

Ewa Treska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Wydział Biologii
Instytut Biologii Środowiska
Zakład Hydrobiologii
ul. Umultowska 89
61-614 Poznań
ewatres@gmail.com

Mieczysław Trypuć

Uniwersytet Mikołaja Kopernika
Wydział Chemii
ul. Jurija Gagarina 7
87-100 Toruń

Adriana Wróbel

Uniwersytet Mikołaja Kopernika
Wydział Chemii
ul. Jurija Gagarina 7
87-100 Toruń
adriana.wrobel@umk.pl

Jakub Zdarta

Politechnika Poznańska
Wydział Technologii Chemicznej
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
Zakład Technologii Chemicznej
ul. Berdychowo 4
60-965 Poznań

Sandra Żurek

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Wydział Biologii
Instytut Biologii Środowiska
Zakład Hydrobiologii
ul. Umultowska 89
61-614 Poznań

Rozdział 1

IMMOBILIZACJA ENZYMÓW W OCHRONIE ŚRODOWISKA

Jakub Zdarta, Katarzyna Anteck, Teofil Jesionowski

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Zakład Technologii Chemicznej, ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań

1. ENZYMY JAKO NATURALNE BIODOKATALIZATORY

Realizacja procesów technologicznych w sposób bardziej przyjazny dla środowiska, przy jednoczesnym podniesieniu ich efektywności powoduje, że prowadzone są zakrojone na szeroką skalę poszukiwania wydajnych oraz stabilnych katalizatorów umożliwiających przyspieszenie przemian chemicznych, a także obniżenie kosztów ich realizacji. Pod tym kątem szczególną uwagę zwracają enzymy, a więc białkowe katalizatory pochodzenia naturalnego, które umożliwiają znaczne przyspieszenie reakcji chemicznych, przy ich jednoczesnym prowadzeniu w łagodnych warunkach, bez stosowania toksycznych rozpuszczalników. Biokatalizatory charakteryzują się wysoką selektywnością oraz specyficznością, przez co są coraz szerzej wykorzystywane w wielu dziedzinach przemysłu, życia codziennego, a także nauki.

1.1. BUDOWA, PODZIAŁ I WŁAŚCIWOŚCI ENZYMÓW

Pierwsze prace nad białkami katalitycznymi miały miejsce w XIX wieku i zostały przeprowadzone przez Louisa Pasteura, który wykazał, że fermentacja cukrów do alkoholi jest powiązana z przemianami zachodzącymi w komórkach drożdży [1]. Natomiast termin *enzym*, z greckiego „w zaczynie”, po raz pierwszy

został użyty przez Wilhelma Kühne w 1878 roku. Od tego czasu zanotowano szybki rozwój enzymologii, a więc dziedziny nauki, która zajmuje się badaniem biokatalizatorów. Warto również dodać, że jej przedstawiciele, np. E. Büchner, J. Cornforth czy A. Harden, za swoje prace, zostali nagrodzeni Nagrodą Nobla w dziedzinie chemii i medycyny.

Enzymy to w zdecydowanej przewadze wielkocząsteczkowe struktury białkowe, które zbudowane są zazwyczaj z łańcuchów zawierających od kilkudziesięciu do nawet kilku tysięcy aminokwasów [2,3]. Łańcuchy te, poprzez możliwość przybierania różnych kształtów przestrzennych i tworzenia oddziaływań międzycząsteczkowych, formują zazwyczaj skomplikowaną strukturę przestrzenną, charakterystyczną dla każdego białka. W cząsteczce biokatalizatora, w zależności od jego typu oraz pochodzenia, znajdują się również miejsca umożliwiające wiązanie kofaktorów, a więc dodatkowych, zazwyczaj niebiałkowych substancji, które umożliwiają enzymowi osiągnięcie maksymalnych właściwości katalitycznych. Wśród kofaktorów wyróżnić można zarówno grupy prostetyczne, które trwale związane są z cząsteczką biokatalizatora (np. jony metali lub proste związki nieorganiczne), jak i koenzymy, które do cząsteczki enzymu przyłączane są tylko na czas katalizowanej przemiany (zwykle niebiałkowe substancje pochodzenia organicznego) [4]. Enzymy wykorzystują swoje właściwości do efektywnego i selektywnego przyłączenia cząsteczek substratów, przy ich jednoczesnym ułożeniu w konformacji przestrzennej, która umożliwia rozrywanie starych i tworzenie nowych wiązań chemicznych, a więc w praktyce skuteczne zajście reakcji. Mechanizm działania białek katalitycznych polega na stabilizacji wysokoenergetycznych stanów przejściowych przemian chemicznych oraz obniżeniu ich energii aktywacji, co pozwala na znaczne zwiększenie szybkości prowadzonych reakcji [5].

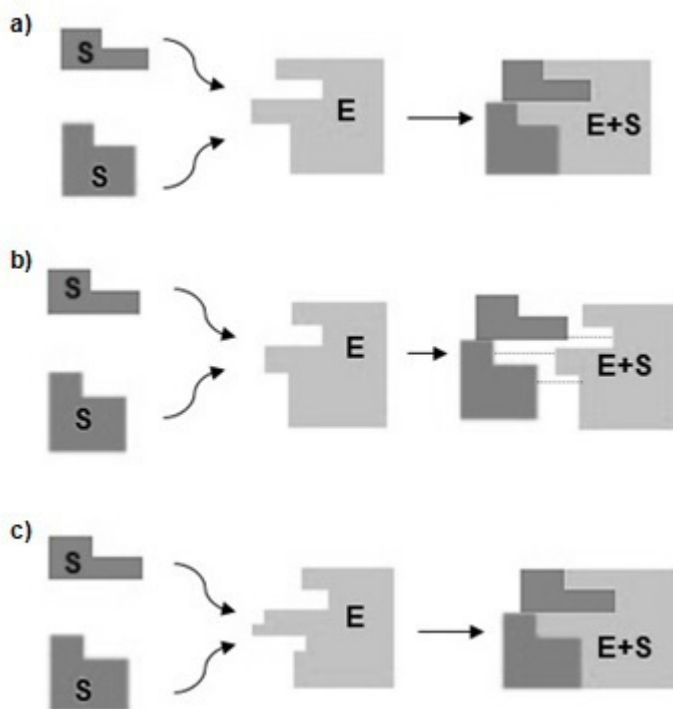
Białka enzymatyczne są niezbędne do właściwego funkcjonowania organizmów żywych, jednak ich unikalne właściwości spowodowały, że biokatalizatory są coraz szerzej wykorzystywane także jako katalizatory wielu przemian prowadzonych w skali technologicznej. Jest to spowodowane głównie obniżeniem poziomu swobodnej energii aktywacji Gibbsa, której zredukowanie odbywa się między innymi w wyniku powstania deformacji, którym ulegają cząsteczki substratów po przyłączeniu do centrum aktywnego [6]. Dodatkowo na wzrost szybkości przemiany chemicznej wpływ ma także ograniczenie niekorzystnych energetycznie oddziaływań elektrostatycznych, które zachodzą pomiędzy substratami i innymi składnikami mieszaniny reakcyjnej. Obniżenie poziomu energetycznego przemiany katalizowanej przez enzymy, możliwe jest także poprzez prowadzenie reakcji, w trakcie której powstaje kompleks pośredni enzym – substrat, charakteryzujący się nie tylko wysoką stabilnością, ale przede

wszystkim niższym poziomem energetycznym, niż podobny produkt pośredni wytwarzany w przemianach niekatalitycznych [7]. Podsumowując, odpowiednie zbliżenie substratów do centrum aktywnego enzymu powoduje wytworzenie odpowiedniego środowiska, które w efekcie wywołuje osłabienie i rozluźnienie wiązań w cząsteczkach reagentów, co obniża poziom energetyczny przemiany, i w konsekwencji przyspiesza jej zajście.

Enzymy to białka zbudowane głównie z aminokwasów, których przestrzenne ułożenie w centrum aktywnym, a więc miejscu w strukturze białka, w którym zachodzi przemiana chemiczna, ma decydujący wpływ na aktywność biokatalizatorów. Kształt centrum aktywnego, a więc ekspozycja poszczególnych grup aminokwasów, determinuje wysoką specyficzność, a także chemo- i regioselektywność białek enzymatycznych. Należy jednak podkreślić, że centrum aktywne enzymu tworzy zaledwie kilka ściśle zdefiniowanych reszt aminokwasowych spośród wszystkich wchodzących w skład struktury białka. Charakterystyka ta sprawia, że cząsteczka enzymu zdolna jest do związania tylko określonej grupy substratów, których cząsteczki mają kształt i strukturę chemiczną komplementarną z aminokwasami tworzącymi centrum aktywne. Stąd też, istotne jest odpowiednie przyłączenie cząsteczki substratu do miejsca aktywnego, aby możliwe było zainicjowanie przemiany chemicznej. Na podstawie wyników dotąd przeprowadzonych badań wyróżniono trzy podstawowe typy związania substratu w centrum aktywnym biokatalizatora, które graficznie zaprezentowano na rys. 1.

Historycznie najstarszym modelem opisującym wiązanie substratu w miejscu aktywnym enzymu jest model „zamka i klucza” (ang. „*lock and key*” model), zaproponowany pod koniec XIX wieku przez Hermanna Fischera (rys. 1a). Bazuje on na założeniu, że przestrzenny kształt miejsca aktywnego enzymu, jak i cząsteczki substratu są do siebie dopasowane, co sprawia, że tylko jeden, ściśle określony typ reagentów może zostać przyłączony. Zebrane dane doświadczalne nie potwierdzają jednak w pełni założeń tej teorii, a dodatkowo model „zamka i klucza” nie wyjaśnia w pełni stabilizacji stanu przejściowego reakcji, dlatego obecnie ma on znaczenie głównie historyczne [9]. Dalszy rozwój badań w tej materii spowodował zaproponowanie, w połowie XX wieku, przez Alexandra G. Ogstona, alternatywnego spojrzenia na wiązanie substratu z enzymem. Oparte jest ono na założeniu, że do efektywnego przyłączenia cząsteczek substratów do miejsca aktywnego wystarczą trzy miejsca, a oddziaływania powstają wyłącznie pomiędzy grupami funkcyjnymi enzymu oraz substratu, które są względem siebie komplementarne (rys. 1b). Jednak zasadniczą wadą modelu trzypunktowego przyłączenia (ang. *three-point interaction model*) jest fakt, że nie charakteryzuje on zachodzących przemian energetycznych oraz w sposób niewystarczający

tłumaczy mechanizmy reakcji stereospecyficznych [10]. W 1958 roku Daniel Koshland zaproponował model indukowanego dopasowania (ang. *induced fit model*), który swoje podstawy ma w modelu „zamka i klucza” i jest jego ewolucją (rys. 1c). Według założeń Koshlanda, w trakcie przemiany chemicznej, miejsce aktywne enzymu wykazuje sporą elastyczność strukturalną, a tworzące je aminokwasy ulegają przekształceniom konformacyjnym, co umożliwia dokładne dopasowanie cząsteczek reagentów do kształtu centrum aktywnego białka i w efekcie powstanie stabilnych interakcji enzym – substrat [11]. Należy jednak jednoznacznie podkreślić, że ostateczne mechanizmy, którym podlegają przemiany enzymatyczne ciągle nie zostały do końca zdefiniowane, a intensywne prace mające na celu ich opisanie i scharakteryzowanie ciągle są prowadzone.



Rysunek 1. Modele obrazujące mechanizm przyłączenia substratów do miejsca aktywnego enzymu: a) model zamka i klucza, b) model trzypunktowego przyłączenia, c) model indukowanego dopasowania, gdzie: S – substrat, E – enzym, E+S – kompleks enzym – substrat, na podstawie [8]

Stały postęp w dziedzinie enzymologii, jak i odkrywanie nowych typów enzymów spowodowały, że konieczne było właściwe uporządkowanie i sklasyfikowanie dotąd opisanych białek katalitycznych. Podział ten został zaproponowany przez Międzynarodową Unię Biochemii i Biologii Molekularnej (IUBMB) w drugiej połowie XX wieku i dzieli enzymy na sześć głównych grup katalitycznych, w zależności od charakteru reakcji, w jakiej dane białko bierze udział. Każdemu enzymowi sklasyfikowanemu w ten sposób przypisano charakterystyczny dla niego, czteroczęściowy numer EC, w którym pierwsza cyfra oznacza klasę enzymu, druga i trzecia symbolizują podklasę i podpodklasę, a ostatnia reprezentuje miejsce, jakie białko zajmuje w swojej podpodklasie [12]. Na przykład lakazie pozyskanej z grzyba z gatunku *Trametes versicolor* przypisano nr EC 1.10.3.2 co oznacza, że należy ona do oksydoreduktaz, pierwszej grupy enzymów, i zajmuje dziesiąte miejsce w swojej podklasie oraz trzecie w podpodklasie. Szczegółowy podział enzymów na poszczególne grupy katalityczne został zaprezentowany w tabeli 1. Nazwy zdecydowanej większości enzymów pochodzą od nazw substratów, bądź związane są z typem przemiany katalizowanej przez dane białko. Do tych nazw dodaje się przyrostek – *aza* tworząc nazwę biokatalizatora. Warto jednak podkreślić, że większości enzymów przypisano dwuczłonowe nazwy, jak np. oksydaza alkoholowa, w których pierwszy człon odnosi się do rodzaju katalizowanego procesu, a drugi związany jest z rodzajem konwertowanego substratu.

W oparciu o podział i nomenklaturę zaproponowaną przez IUBMB, wyróżniono sześć podstawowych grup enzymatycznych, do której zaklasyfikowano wszystkie poznane i scharakteryzowane dotąd biokatalizatory (tabela 1).

Pierwszą grupę enzymów, EC 1, stanowią oksydoreduktazy. Są to enzymy biorące udział w reakcjach utleniania i redukcji oraz wspomagające transport elektronów i protonów pomiędzy cząsteczkami utleniacza i reduktora. Enzymy te katalizują przemiany bardzo szerokiej grupy związków chemicznych, a do najczęściej wykorzystywanych zaliczyć można dehydrogenazy, hydroksylazy oraz peroksydazy. Pierwsze z wymienionych odpowiedzialne są odszczepienie atomu wodoru od cząsteczki związku organicznego. Są to enzymy kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych (biorą udział np. w cyklu Krebsa), jednak ich właściwości powodują, że wykorzystywane są również w procesach technologicznych, np. w regeneracji kofaktorów enzymatycznych (NAD⁺ do NADH) [13]. Hydroksylazy natomiast, to białka katalizujące proces przyłączenia grup hydroksylowych do cząsteczek substratów. Enzymy te, podobnie do dehydrogenaz, są odpowiedzialne za kontrolę i prawidłowe funkcjonowanie wielu procesów zachodzących w komórkach organizmów

żywych [14]. Z kolei peroksydazy to enzymy katalizujące utlenianie różnych substratów przy pomocy nadtlenu wodoru. Bardziej szczegółowa charakterystyka enzymów z tej grupy, ze względu na ich wykorzystanie w ochronie środowiska, została zaprezentowana w rozdziale 3.1.

Tabela 1. Podział enzymów na grupy katalityczne wraz z funkcją pełnioną przez każdą z nich oraz wybranymi przykładami enzymów

Numer grupy	Nazwa grupy	Rodzaj katalizowanej reakcji	Przykładowe enzymy
I	oksydoreduktazy	kataliza reakcji utleniania i redukcji oraz transport protonów i elektronów pomiędzy cząsteczkami reduktora i utleniacza	dehydrogenazy, oksydazy, hydroksylazy
II	transferazy	przenoszenie wybranej grupy funkcyjnej z cząsteczki donora na cząsteczkę akceptora	kinazy, aminotransferazy
III	hydrolazy	kataliza procesów hydrolizy – rozpadu wiązań chemicznych z udziałem cząsteczki wody	lipazy, peptydazy
IV	liazy	odszczępienie grup funkcyjnych od cząsteczki substratu i rozkład wiązania chemicznego na drodze innej niż hydroliza czy utlenianie	aldolazy, dekarboksylazy, hydroliazy
V	izomerazy	konwersja jednej formy izomerycznej danego związku w drugą	izomerazy <i>cis-trans</i> , epimerazy
VI	ligazy	generowanie nowych związków poprzez wytworzenie wiązania chemicznego pomiędzy dwiema niezależnymi cząsteczkami	syntetazy, karboksylazy

Transferazy, EC 2, to druga klasa enzymów, której zadaniem jest katalizowanie procesu przenoszenia wybranej grupy funkcyjnej pomiędzy cząsteczkami donora i akceptora. W zależności od rodzaju przenoszonego ugrupowania chemicznego, dzielą się one na podklasy. Jednymi z najważniejszych białek w tej grupie są kinazy, a więc enzymy odpowiedzialne za przenoszenie grup fosforanowych

z cząsteczki ATP na akceptor i odpowiednią kontrolę procesu fosforylacji [15]. Do tej grupy białek katalitycznych zalicza się również aminotransferazy, zwane także transaminazami, które przyspieszają proces transportu grupy aminowej z cząsteczki aminokwasu na cząsteczkę α -ketokwasu. Transferazy odgrywają niezwykle istotną rolę w procesach metabolicznych, a dodatkowo coraz szerzej są wykorzystywane w medycynie oraz diagnostyce klinicznej chorób wielu narządów wewnętrznych, np. wątroby [16].

Niezwykle liczną grupą enzymów, powszechnie wykorzystywaną w różnych gałęziach życia codziennego i przemysłu są hydrolazy, EC 3. Są to białka, które odpowiedzialne są głównie za procesy hydrolizy (rozkładu) bardzo różnorodnej grupy wiązań chemicznych, z udziałem cząsteczki wody. Enzymy zaliczane do tej grupy przyspieszają rozpad wiązań peptydowych w białkach, β -glikozydowych w cukrach, fosfodiestrowych w kwasach nukleinowych, a przede wszystkim estrowych w tłuszczach. Godnym podkreślenia jest fakt, że enzymy te nie potrzebują kofaktorów do właściwego działania oraz uzyskania wysokiej aktywności katalitycznej. Co więcej przy projektowaniu procesów katalizowanych przez hydrolazy należy zachować szczególną ostrożność przy doborze rozpuszczalników, bowiem w zależności od charakteru środowiska reakcyjnego, hydrolazy mogą katalizować odmienne procesy. Spośród tej grupy biokatalizatorów, najpowszechniej wykorzystywane są proteazy, lipazy czy inwertazy, które znajdują zastosowanie w wielu różnych gałęziach przemysłu, od przemysłu spożywczego, przez środki czyszczące, na wysublimowanych aplikacjach medycznych skończywszy [17].

EC 4 to numer klasyfikacyjny, który został przydzielony liazom, a więc biokatalizatorom, które wspomagają procesy odłączenia wybranych grup funkcyjnych od cząsteczki substratu, a także rozkład wiązań chemicznych na drodze innej niż utlenianie i/lub hydroliza. Należy podkreślić, że efektem działania liaz zazwyczaj jest powstanie nowego wiązania, w miejscu starego, które zostało zerwane. Ze względu na fakt, że jako kryterium podziału enzymów z tej grupy na podklasy przyjęto rodzaj wiązania, którego rozpad jest katalizowany, wyróżnić można kilka podklas tych białek, które biorą udział w procesach rozpadu odpowiednio wiązań: węgiel – węgiel, węgiel – azot, węgiel – tlen czy węgiel – siarka [18]. Największą uwagę spośród tej grupy wzbudzają aldolazy, a więc enzymy charakteryzujące się wysoką stereoselektywnością, katalizujące reakcje rozszczepienia aldolowego, które wykorzystywane są jako wydajne narzędzia do formowania nowych wiązań węgiel – węgiel [19].

Kolejną grupę białek katalitycznych, którą według nomenklatury IUBMB oznaczono, jako EC 5, stanowią izomerazy. Są to enzymy odpowiedzialne za

przekształcenie jednej formy izomerycznej danego związku w drugą, jednak znane są też przykłady tych enzymów, które katalizują procesy zrywania starych i jednoczesnego tworzenia nowych wiązań chemicznych. Białka te wykorzystywane są w wielu przemianach biologicznych, np. w procesach glikolizy, metabolizmu węglowodorów, a w skali technicznej, w izomeryzacji cukrów [20]. Na szczególną uwagę zasługuje izomeraza glukozy/ksylozy, oznaczona numerem EC 5.3.1.5, która katalizuje odwracalną izomeryzację D-glukozy lub D-ksylozy, odpowiednio do D-fruktozy lub D-ksylulozy. Jest to enzym, który uważany jest za jeden z kluczowych biokatalizatorów wykorzystywanych w skali przemysłowej [21].

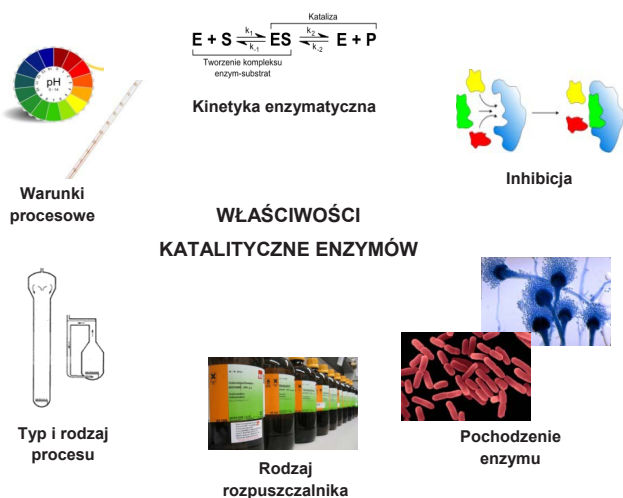
Ostatnią grupę białek katalitycznych, oznaczoną jako EC 6, stanowią ligazy, nazywane często syntetazami, od nazw przemian które katalizują. Biokatalizatory z tej grupy biorą udział w tworzeniu nowych związków chemicznych poprzez generowanie wiązań chemicznych pomiędzy dwoma niezależnymi cząsteczkami substratów. Warty podkreślenia jest fakt, że proces ten odbywa przy jednoczesnym rozpadzie cząsteczki ATP i wykorzystaniu energii w niej zgromadzonej. W obrębie tej grupy enzymów wyróżniono sześć podklas, w skład, których wchodzi ligazy odpowiedzialne za powstawanie takich wiązań jak np. węgiel – węgiel, węgiel – tlen czy węgiel – azot [22]. Najważniejszym enzymem z tej grupy, który zasługuje na szczególną uwagę jest ligaza DNA, która jest kluczowym enzymem dla prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych, ponieważ odpowiada za łączenie wolnych końców nici DNA na drodze wytworzenia wiązania fosfodiesterowego pomiędzy końcem 3' i końcem 5' [23].

W rozdziale zaprezentowano najważniejsze informacje związane z budową oraz mechanizmem funkcjonowania enzymów, jako białek katalitycznych. Należy jednak dodać, że zagadnienia te ciągle nie są do końca poznane, pomimo prowadzenia szeroko zakrojonych prac w tej tematyce. Według konwencji IUBMB enzymy podzielono na sześć głównych grup katalitycznych, według rodzaju katalizowanej przemiany chemicznej, a typ reakcji, w której zastosowany może być dany biokatalizator ma bezpośredni wpływ na skalę jego wykorzystania. Należy bowiem podkreślić, że szeroka gama białek katalitycznych jest wykorzystywana jako wydajne narzędzia, wielokrotnie zwiększające szybkość przemian prowadzonych w skali przemysłowej. Niezależnie od skali oraz środowiska prowadzonego procesu, zazwyczaj do całkowitej realizacji skomplikowanej przemiany katalitycznej niezbędne jest zastosowanie kilku białek, z różnych grup katalitycznych.

1.2. CZYNNIKI KSZTAŁTUJĄCE AKTYWNOŚĆ KATALITYCZNĄ ENZYMÓW

Odnotowany w ostatnich trzech dekadach wyraźny wzrost wykorzystania enzymów w wielu dziedzinach nauki i przemysłu powoduje ciągły wzrost wartości rynku biokatalizatorów, który według prognoz powinien w 2020 roku osiągnąć wartość ponad 6 mld USD [24]. Białka katalityczne są stosowane w wielu różnorodnych procesach technologicznych, począwszy od przemysłu spożywczego, przez przemysł farmaceutyczny, po procesy związane z szeroko rozumianą ochroną środowiska. Warty podkreślenia jest również fakt, że ciągle prowadzone są badania, których celem jest implementacja białek katalitycznych w nowych dziedzinach nauki i techniki.

Powszechnie wykorzystanie enzymów wiąże się z pewnymi ograniczeniami, bowiem istnieje szereg zmiennych, których działanie ma znaczący wpływ na aktywność, a w konsekwencji także na efektywność pracy biokatalizatorów. Są to zatem czynniki, które mogą mieć wpływ na ograniczenia w jeszcze szerszym wykorzystaniu enzymów, a jednymi z najważniejszych, na które zwrócić należy szczególną uwagę są: ilość i rodzaj inhibitorów, typ i charakter prowadzonego procesu technologicznego, a także fizykochemiczne parametry środowiska reakcji katalizowanej przez enzymy. Pozostałe z najważniejszych czynników, które determinują właściwości biokatalizatorów przedstawiono na rys. 2.



Rysunek 2. Czynniki kształtujące właściwości katalityczne enzymów

Spośród najistotniejszych zmiennych, które trzeba wziąć pod uwagę podczas stosowania enzymów, szczególną uwagę zwracają parametry środowiska reakcji enzymatycznej, w głównej mierze jego pH oraz temperatura, a tylko w nieco mniejszym stopniu aktywność wody oraz siła jonowa mieszaniny reakcyjnej. Ze względu na fakt, że większość biokatalizatorów wykazuje swoje optymalne właściwości tylko w warunkach zbliżonych do ich środowiska fizjologicznego, a więc w wąskim zakresie temperatury oraz pH, parametry te muszą zostać dobrane oraz kontrolowane ze szczególną ostrożnością.

W zdecydowanej większości przemian chemicznych, wzrost szybkości reakcji odnotowywany jest wraz ze wzrostem temperatury. Analogiczna sytuacja ma miejsce w przypadku przemian enzymatycznych, które również zachodzą szybciej w podwyższonej temperaturze. Należy jednak znaleźć odpowiedni balans, ponieważ zbyt duży wzrost temperatury procesu może spowodować niepożądane zmiany w strukturze białkowej, w konsekwencji prowadząc do denaturacji białka i znacznego obniżenia aktywności katalitycznej. Doskonałymi przykładami obrazującymi w jak dużym stopniu właściwości enzymów zależą od wartości temperatury są: lipaza pozyskana z *Bacillus* sp. oraz izomeraza ksylozowa otrzymana z *Thermotoga neapolitana*. Lipaza wykazuje swoje maksimum katalityczne w temperaturze około 50°C, natomiast izomeraza w niemal dwukrotnie wyższej temperaturze, bo ponad 90°C [25]. Jednak oba biokatalizatory łączy fakt, że nawet nieznaczna zmiana temperatury procesu, choćby o 10°C, wywołuje gwałtowny spadek właściwości katalitycznych tych białek.

Podobna sytuacja ma miejsce, kiedy analizie poddany zostanie wpływ pH środowiska reakcyjnego na aktywność enzymatyczną. Zdecydowana większość biokatalizatorów wykazuje bowiem wysoką aktywność w bardzo wąskim i mocno sprecyzowanym zakresie pH, a niewielkie zmiany wartości tego parametru mają istotny wpływ na właściwości katalityczne białek. Optymalne pH, w którym enzym wykazuje najwyższą aktywność, zależy jednak od rodzaju biokatalizatora oraz jego pochodzenia, a także od typu przemiany, w której bierze on udział. Warto wymienić na przykład aldolazę ze *Staphylococcus aureus*, która wykazuje optimum katalityczne w pH 6,5, podczas gdy proteaza uzyskana z *Bacillus licheniformis* swoją maksymalną aktywność hydrolytyczną osiąga w pH w zakresie od 9 do 10. Natomiast pepsyna, odpowiadająca za procesy trawienne w żołądku, najwyższą aktywnością charakteryzuje się w pH silnie kwaśnym, o wartości pomiędzy 2 i 3 [26,27].

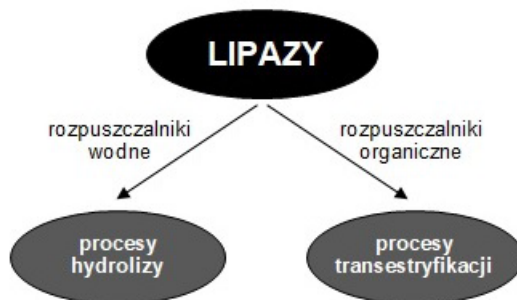
Siła jonowa mieszaniny reakcyjnej, jak i aktywność wody oraz obecność różnych jonów w roztworze, to istotne parametry, które determinują

aktywność białek katalitycznych. Wartość siły jonowej jest kluczowa, gdy mechanizm katalizy oparty jest na wzajemnych oddziaływaniach pomiędzy naładowanymi cząsteczkami. W takim przypadku, gdy ładunek cząsteczek substratów oraz centrum aktywnego enzymu jest taki sam, wzrost siły jonowej spowoduje przyspieszenie reakcji. Natomiast, gdy ładunki mają przeciwny znak, zwiększenie siły jonowej spowoduje obniżenie szybkości przemiany. Należy również dodać, że wartość siły jonowej wpływa na charakter i siłę wytworzonych oddziaływań enzym – substrat oraz konformację przestrzenną miejsca aktywnego biokatalizatora [28]. Ciekawym przypadkiem enzymu, którego zdolności katalityczne są silnie związane z parametrem siły jonowej jest chymotrypsyna, która do efektywnego katalizowania reakcji potrzebuje dodatnio naładowanych reszt histydyny oraz argininy w swoim centrum aktywnym.

Rodzaj mikroorganizmu z którego pozyskano enzym, jak i metoda jego ekstrakcji nie pozostają bez wpływu na właściwości biokatalizatora. Zazwyczaj z tego samego źródła pozyskać można kilka form (izoenzymów) tego samego białka katalitycznego, które różnią się swoimi właściwościami. Dla przykładu, z grzyba *Candida antarctica* pozyskane mogą zostać dwa rodzaje lipaz: typu A oraz B. Lipaza typu B charakteryzuje się wysoką stereoselektywnością, natomiast w skutek zupełnie odmiennej budowy centrum aktywnego, lipaza typu A wykazuje selektywność względem innych substratów [29]. Wyniki zrealizowanych dotąd prac wskazują także, że dodatek surfaktantu (np. Tween 20 lub Tween 80) w pożywce stosowanej podczas hodowli mikroorganizmów może znacząco wpłynąć na ilość danej formy enzymu, którą można uzyskać [30].

Zdecydowana większość procesów metabolicznych, katalizowanych przez enzymy w organizmach żywych, zachodzi w środowisku wodnym o określonym pH. Zmiana rozpuszczalnika na medium organiczne, które stosowane są w większości syntez organicznych, ma również wpływ na właściwości biokatalizatorów. W środowisku niewodnym białka katalityczne zazwyczaj charakteryzują się wyższą stabilnością niż w roztworach wodnych, jednak w takich warunkach pozostają nierozpuszczone przez co wykazują tendencję do agregacji, co prowadzi do spadku aktywności [31]. Godnym odnotowania jest jednak fakt, że prowadzenie reakcji w medium organicznym pozwala na transformację substratów o silnie hydrofobowym charakterze, co w środowisku wodnym jest trudne do osiągnięcia. Należy także dodać, że w rozpuszczalnikach organicznych, w porównaniu z warunkami wodnymi, zmianie mogą ulegać wybrane właściwości biokatalizatorów. Doskonały przykład stanowią lipazy, które w medium wodnym wspomagają rozkład (hydrolizę) estrów do alkoholi

oraz kwasów tłuszczowych, natomiast w medium organicznym katalizują procesy transestryfikacji tych samych reagentów, co schematycznie zobrazowano na rys. 3 [32].

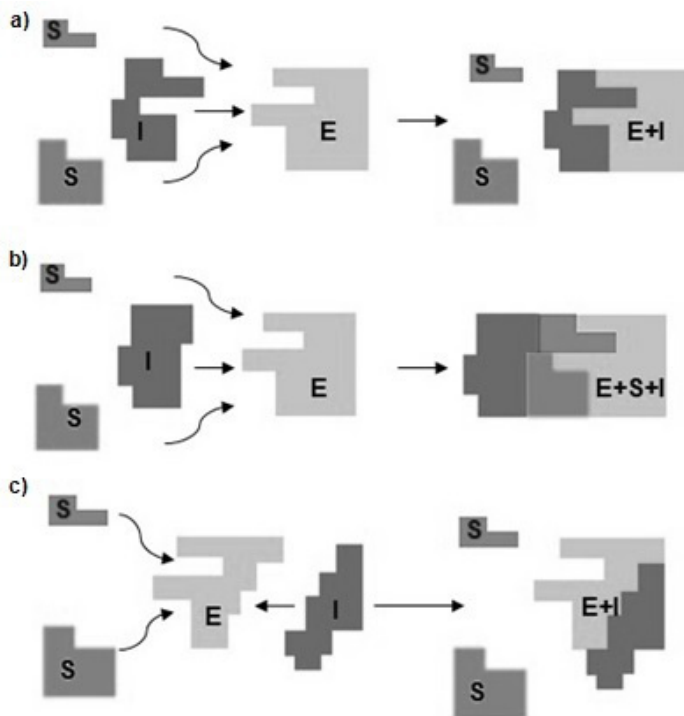


Rysunek 3. Przemiany katalizowane przez lipazy, w zależności od medium środowiska reakcyjnego

Sposób prowadzenia procesu, jak i metody wykorzystywane do separacji produktów reakcji z mieszaniny mają wpływ na efektywność katalizatora enzymatycznego, bowiem w przypadku niewłaściwego oddzielenia produktów reakcji może dochodzić do blokowania miejsc aktywnych enzymu. Jest to szczególnie istotne kiedy dana przemiana jest katalizowana przez więcej niż jedno białko, a produkty jednej reakcji blokują działanie biokatalizatorów pracujących w dalszych etapach procesu [33]. Także odpowiedni sposób prowadzenia przemiany katalitycznej, a więc zapewnienie odpowiednich dla danego białka warunków pracy, ma bezpośredni wpływ na zachowanie przez enzymy wysokiej sprawności, co bezpośrednio przekłada się na wysokie wydajności prowadzonych reakcji.

Występowanie w mieszaninie reakcyjnej jonów lub cząsteczek, które nie są bezpośrednimi substratami katalizowanej przemiany również ma wpływ na przebieg procesu. Enzymy są bowiem czułe na obecność różnych substancji, które w znaczący sposób mogą obniżać ich aktywność. Substancje te w katalizie enzymatycznej nazywane są inhibitorami i są odpowiedzialne za ograniczanie wysokiej efektywności białek katalitycznych [31]. Ze względu na fakt, że inhibitory mogą łączyć się z cząsteczkami biokatalizatorów w sposób trwały, jak i na drodze relatywnie słabych oddziaływań, wyróżniono inhibicję nieodwracalną oraz odwracalną. Inhibicję odwracalną, którą graficznie zobrazowano na rys. 4, można dalej podzielić na kompetycyjną, akompetycyjną oraz niekompetycyjną,

co jest konsekwencją zarówno miejsca przyłączenia związku blokującego do struktury enzymu, jak i konkurowania o dostęp do miejsca aktywnego pomiędzy cząsteczkami substratów i inhibitorami [34]. Poza wspomnianymi przykładami, w zależności od właściwości enzymu, spotykane są także inne typy inhibicji, np.: inhibicja allosteryczna, częściowa, postępująca z czasem prowadzenia procesu, oraz typu „tight-binding” [35].



Rysunek 4. Schematyczne zaprezentowanie różnych rodzajów inhibicji: a) kompetycyjna, b) akompetycyjna, c) niekompetycyjna, gdzie: S – substrat, E – enzym, I – inhibitor; E+I – kompleks enzym – inhibitor; E+S+I – kompleks enzym – substrat – inhibitor; na podstawie [34,35]

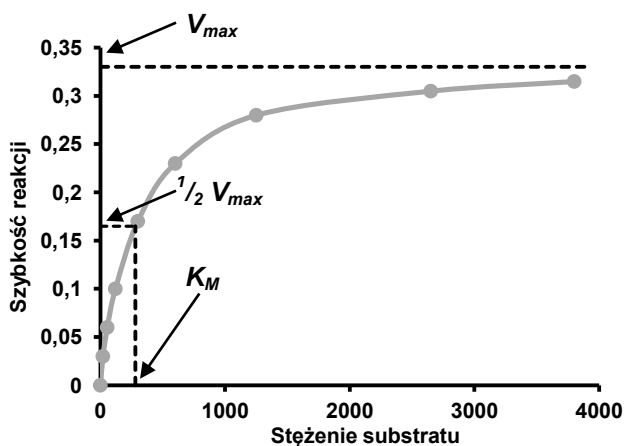
Najpowszechniej występującym typem inhibicji jest inhibicja kompetycyjna (rys. 4a), w której związek blokujący oraz substrat konkurują o miejsce w centrum aktywnym biokatalizatora. W zdecydowanej większości przypadków, zarówno

cząsteczki substratu jak i inhibitora, są do siebie zbliżone budową strukturalną, co powoduje, że przyłączenie substratu w miejscu aktywnym właściwie wyklucza możliwość przyłączenia inhibitora i odwrotnie. Jednak istnieje pewna możliwość kontroli inhibicji kompetycyjnej, bowiem odpowiednie zwiększenie stężenia substratów w mieszaninie reakcyjnej właściwie całkowicie ogranicza występowanie inhibicji kompetycyjnej. W przypadku, gdy inhibitor nie przyłącza się bezpośrednio do wolnej formy enzymu, a dopiero do wytworzonego kompleksu aktywnego enzym – substrat, występuje inhibicja akompetycyjna (rys. 4b). Sytuacja ta powoduje, że centrum aktywne biokatalizatora zostaje zablokowane i brak jest możliwości realizacji kolejnych cykli katalitycznych. Jednak ten rodzaj inhibicji występuje relatywnie rzadko i dotyczy przede wszystkim multimerycznych białek katalitycznych, o dużych cząsteczkach i złożonej strukturze [36]. Natomiast inhibicja niekompetycyjna (rys. 4c) zachodzi, kiedy dochodzi do związania inhibitora z enzymem poza miejscem aktywnym białka. Przyłączenie dużych cząsteczek związków inhibitujących może blokować dostęp do centrum aktywnego lub wywoływać zmiany konformacyjne, które zniekształcają strukturę biokatalizatora, co prowadzi do spowolnienia, a nawet całkowitego zahamowania przemiany chemicznej.

Oprócz inhibicji odwracalnej, w katalizie enzymatycznej występuje również zjawisko inhibicji nieodwracalnej, w przypadku, której dochodzi do trwałego, kowalencyjnego związania cząsteczki inhibitora z resztami aminokwasów budujących strukturę białkową. Efektem tego działania jest trwale zablokowanie miejsca aktywnego, co prowadzi do dezaktywacji enzymu. Warto jednak wspomnieć, że mechanizm inhibicji nieodwracalnej jest często wykorzystywany w terapii wielu chorób, bowiem inhibitory, takie jak eflornityna, czy penicylina, po wprowadzeniu do organizmu, łączą się z cząsteczkami białka blokując jego działanie i ograniczając rozwój choroby. Poza wspomnianym przykładem, znane są także przypadki, gdzie inhibitory regulują aktywność enzymatyczną na zasadzie sprzężenia zwrotnego. Mechanizm ten polega na blokowaniu aktywności enzymu przez inhibicję białka produktami reakcji, którą katalizuje. Należy podkreślić, że zjawisko sprzężenia zwrotnego występuje powszechnie np. w ludzkim organizmie [37].

Zmienność parametrów środowiska reakcyjnego, w którym pracują enzymy znajduje swoje odzwierciedlenie w wartościach parametrów kinetycznych biokatalizatorów. Procesy katalizowane przez białka są zazwyczaj opisywane z wykorzystaniem dwóch podstawowych parametrów: maksymalnej szybkości reakcji enzymatycznej – V_{max} oraz stałej Michaelisa-Menten – K_M . V_{max} definiuje maksymalną szybkość z jaką może zachodzić przemiana katalityczna, natomiast stała K_M definiuje stężenie substratu, przy którym szybkość reakcji enzymatycznej

osiąga połowę szybkości maksymalnej (V_{max}). Co więcej, stała K_M , to również takie stężenie substratu, przy którym połowa miejsc aktywnych enzymu jest przez niego obsadzona. Wartość stałej Michaelisa-Menten kształtują wszystkie opisane powyżej warunki procesowe, wśród nich: temperatura, pH, siła jonowa roztworu oraz rodzaj i stężenie substratów i/lub inhibitorów, jednak na jej wartość nie ma wpływu stężenie enzymu. W oparciu o model zaproponowany przez Michaelisa i Menten możliwe jest zdefiniowanie w jaki sposób szybkość reakcji katalitycznej związana jest ze stężeniem substratu. Przykład takiej zależności zobrazowano na rys. 5.



Rysunek 5. Krzywa obrazująca zależność szybkości reakcji katalitycznej od stężenia substratu

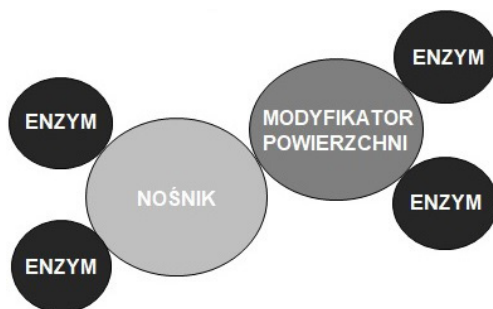
Gdy stężenie substratu jest niewielkie, wówczas pomiędzy szybkością reakcji a stężeniem istnieje liniowa zależność, natomiast, kiedy stężenie substratu jest wysokie i dostępna jest duża ilość cząsteczek reagenta, wówczas szybkość przemiany katalitycznej jest niemal całkowicie niezależna od stężenia substratu.

Enzymy to niezwykle istotne katalizatory, które znacznie przyspieszają przebieg wielu procesów zachodzących zarówno w organizmach żywych, jak i w skali przemysłowej. Jednak niska stabilność biokatalizatorów oraz szybka utrata właściwości katalitycznych powodują, że warunki prowadzenia procesu oraz środowisko reakcyjne, w którym pracuje białko mają kluczowy wpływ na wydajność katalizowanych przemian oraz żywotność biokatalizatorów. Aby

utrzymać właściwości enzymów na dostatecznie wysokim poziomie, warunki prowadzonej przemiany powinny zostać starannie dobrane, a ich ciągła kontrola jest niezbędna.

2. IMMOBILIZACJA ENZYMÓW

Największym ograniczeniem w stosowaniu białek katalitycznych jest bardzo szybka utrata aktywności oraz ich niska stabilność w warunkach innych, niż optymalne. Stąd też prace mające na celu opracowanie metod polepszających właściwości enzymów są prowadzone na szeroką skalę. Jedną z takich technik, która obecnie stosowana jest najszerszej, jest immobilizacja, której głównym celem jest zwiększenie stabilności oraz wydłużenie aktywności katalitycznej unieruchomionego białka. Idea procesu immobilizacji enzymów została graficznie zobrazowana na rys. 6.



Rysunek 6. Idea procesu immobilizacji enzymów, na podstawie [38]

W wyniku przyłączenia enzymu, lub kilku enzymów, do nierozpuszczalnego w środowisku reakcji nośnika, powstaje układ katalityczny charakteryzujący się zmienionymi właściwościami, w porównaniu z wolnym biokatalizatorem. Po przeprowadzeniu immobilizacji ulega zmianie forma katalizatora, który po procesie przyjmuje postać heterogeniczną [38]. Dodatkowo związanie białka z matrycą powoduje wzrost jego odporności na denaturujące działanie warunków środowiska reakcji. Co więcej zdecydowanej poprawie ulega również możliwość separacji immobilizowanych enzymów ze środowiska reakcyjnego, co jest związane z formą katalizatora, a także istnieje możliwość ponownego wykorzystania układów unieruchomionych białek. Wzrost odporności oraz stabilności związanych z nośnikiem białek katalitycznych

sprawia, że immobilizacja ma bezpośrednie przełożenie na poprawę kontroli technologicznej prowadzonych procesów, a także wpływa na wzrost przemysłowego wykorzystania enzymów.

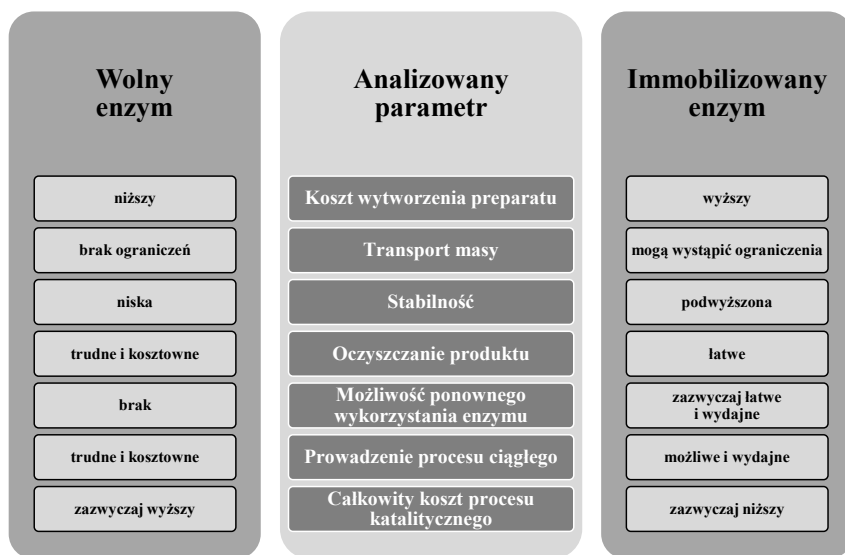
Immobilizacji poddaje się bardzo szeroką grupę białek katalitycznych, a głównym czynnikiem, który determinuje właściwości wytworzonych systemów jest dobór odpowiedniej substancji, jako nośnika. Wykorzystanie stabilnych i odpornych materiałów nośnych skutkuje wytworzeniem układów po immobilizacji mogących znaleźć zastosowanie w zróżnicowanej gamie przemian chemicznych.

2.1. PODSTAWOWE INFORMACJE I ZALETY WYKORZYSTYWANIA IMMOBILIZOWANYCH ENZYMÓW

Termin „immobilizowany enzym” po raz pierwszy w literaturze pojawił się w połowie lat pięćdziesiątych XX wieku, natomiast pierwsze praktyczne wykorzystanie immobilizowanych enzymów zostało przedstawione przez Chibata i jego współpracowników w 1966 roku, którzy opisali zastosowanie unieruchomionej aminoacylazy z *Aspergillus oryzae* w procesie rozdzielania racemicznego mieszaniny syntetycznych D-L-aminokwasów [39]. W początkowym stadium prac nad unieruchamianiem enzymów, jako immobilizowany enzym rozumiano białko, które jest bezpośrednio związane z substancją nośną, natomiast rozwój nowych metod i technik sprawił, że obecnie, jako immobilizowany enzym rozumie się biokatalizator, który z nośnikiem związany jest w sposób bezpośredni, lub pośredni, przy wykorzystaniu związków pośrednich, tzw. „linkerów”. Co więcej, w oparciu o zrealizowane już prace, wyróżniono także techniki, w których enzym zostaje uwięziony we wnętrzu matrycy, a nawet takie, w których zastosowania nie znajduje nośnik, w klasycznym rozumieniu tego słowa [40,41]. Istotny jest również fakt, że obecnie immobilizacji nie są poddawane tylko pojedyncze typy enzymów, ale unieruchamiane są także kompleksy multienzymatyczne, złożone z wielu różnych enzymów, a nawet żywe komórki czy rozbudowane struktury subkomórkowe, które po przeprowadzonym procesie zachowują swoje pierwotne funkcje [42].

Immobilizacja białek katalitycznych w znacznym stopniu pozwala na poprawę ich właściwości. Zmiana formy biokatalizatora na heterogeniczną, co jest wynikiem wykonania procesu unieruchomienia, pozwala nie tylko na łatwiejsze wydzielenie enzymu po przeprowadzonej reakcji, lecz również podnosi czystość produktów reakcji, które nie są zanieczyszczone przereagowanym enzymem [43]. Związanie biokatalizatora z nierozpuszczalną matrycą skutkuje

znaczącym wydłużeniem jego właściwości katalitycznych, co umożliwia nie tylko zastosowanie systemu biokatalitycznego w nawet kilkudziesięciu następujących po sobie cyklach katalitycznych, ale również pozwala na jego wcześniejsze przygotowanie i magazynowanie, co nie jest możliwe w przypadku białek enzymatycznych w formie rozpuszczalnej [44]. Proces immobilizacji, poprzez wytworzenie oddziaływań enzym – nośnik wpływa także pozytywnie na stabilizację struktury białkowej enzymu poprzez jej usztywnienie i wzmocnienie, co pozwala na wzrost odporności białka katalitycznego na niekorzystne działanie temperatury, pH czy innych czynników denaturujących obecnych w mieszaninie reakcyjnej [45]. Immobilizowane enzymy zachowują wysoką aktywność i odmiennie od wolnej formy białka, nie zmieniają swoich pierwotnych właściwości katalitycznych w medium organicznym. Porównanie najważniejszych właściwości oraz zalet wolnych i immobilizowanych enzymów zaprezentowano na rys. 7.



Rysunek 7. Porównanie właściwości preparatów wolnych oraz immobilizowanych enzymów

Utrzymanie stężenia substratów na odpowiednio wysokim poziomie oraz odpowiednia separacja produktów reakcji z mieszaniny ułatwiają utrzymanie

wysokiej aktywności katalitycznej. Białka związane z podłożem mogą być zatem wykorzystane do prowadzenia procesów w reaktorach, zarówno okresowych, jak i ciągłych, co nie tylko pozwala na stałe dostarczanie substratów oraz odbieranie produktów, ale również podnosi wydajność i sprawność realizowanego procesu [46].

Pomimo niekwestionowanych zalet, jakie związane są z immobilizacją enzymów, także i ta metoda poprawy właściwości biokatalizatorów nie jest pozbawiona wad. Częściowe pogorszenie właściwości katalitycznych białka może nastąpić w skutek samego przeprowadzenia procesu, ponieważ wiąże się on z ingerencją w strukturę białkową, co może prowadzić do jej usztywnienia i zmniejszenia możliwości wiązania substratów. Co więcej, przyłączenie enzymu do nośnika, jak i wytworzenie oddziaływań enzym – nośnik w bezpośrednim sąsiedztwie miejsca aktywnego może skutkować powstaniem zawady przestrzennej, której następstwem są opory dyfuzyjne w swobodnym transporcie substratów i produktów, do i z miejsca aktywnego enzymu, które również obniżają sprawność unieruchomionego białka [47]. Przedstawione powyżej czynniki mogą powodować pogorszenie aktywności enzymu kosztem poprawy innych cech użytkowych. Jednak sytuacja ta nie zawsze ma miejsce, czego doskonałym przykładem jest reakcja syntezy estrów katalizowana przez immobilizowaną lipazę podczas prowadzenia której odnotowano ponad 40-krotny wzrost aktywności unieruchomionej formy białka w porównaniu z jej rozpuszczalnym odpowiednikiem. Sytuacja ta jest efektem znacznej poprawy ochrony białka związanego z nośnikiem, przed termiczną i chemiczną denaturacją [48]. Warty odnotowania jest także fakt, że trwałe i silne związanie biokatalizatora z materiałem nośnym może skutkować brakiem możliwości powtórnego wykorzystania zastosowanej matrycy, ze względu na skomplikowany i kosztochłonny proces usunięcia przereagowanego białka z jej powierzchni [49]. Należy jednak zdecydowanie podkreślić, że korzyści oraz znaczna poprawa właściwości unieruchomionych enzymów, jakie są wynikiem prawidłowo przeprowadzonej immobilizacji w zdecydowanym stopniu przeważają nad jej negatywnymi aspektami, stąd proces ten jest wykorzystywany do poprawy właściwości coraz to nowych typów białek katalitycznych.

Efektywność pracy wytworzonych po immobilizacji systemów biokatalitycznych w przemianach realizowanych w większej skali zależy od kilku czynników, spośród których szczególną uwagę należy zwrócić na: rodzaj wykorzystywanego enzymu, typ zastosowanej matrycy oraz technikę immobilizacji, co graficznie zilustrowano na rys. 8 [50].



Rysunek 8. Parametry determinujące efektywność pracy preparatów po immobilizacji w procesach przemysłowych

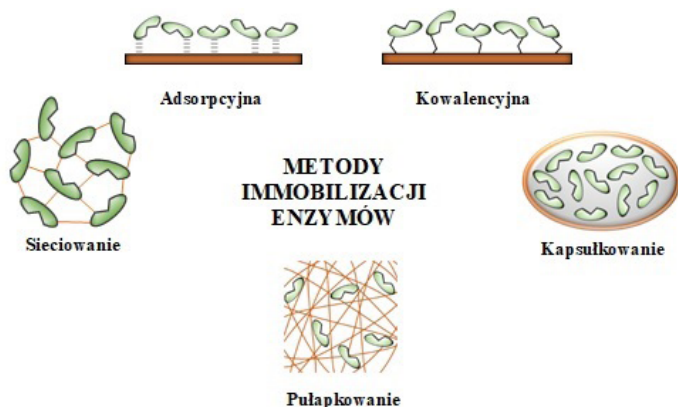
Dobór enzymu, który ma zostać unieruchomiony, jest podyktowany typem i rodzajem katalizowanej reakcji chemicznej. W fazie projektowania procesu immobilizacji szczególna uwaga zostaje zwrócona na takie właściwości biochemiczne białka jak jego konformacja przestrzenna, a także ilość oraz rodzaj grup funkcyjnych, które są obecne w strukturze enzymu. Grupy te, oddziałują z grupami funkcyjnymi nośnika, co umożliwi skuteczną immobilizację biokatalizatora. Matryca, poza obecnością reaktywnych ugrupowań chemicznych, powinna charakteryzować się także stabilnością operacyjną oraz dużą odpornością mechaniczną. Jednym z kryteriów selekcji nośnika jest także jego inertność chemiczna w środowisku danej przemiany. Również dobór odpowiedniej metody immobilizacji wpływa zarówno na stabilność, jak i aktywność wytworzonych układów, w zmiennych warunkach pracy. W zależności od wybranej techniki unieruchamiania, różna może być także siła i natężenie oporów dyfuzyjnych występujących w swobodnym transporcie składników mieszaniny reakcyjnej. Poza wspomnianymi, najważniejszymi parametrami, które mają bezpośredni wpływ na wydajność pracy immobilizowanego enzymu, również warunki technologiczne, a także charakter procesu (ciągły lub okresowy) determinują efektywność realizowanej przemiany katalitycznej z wykorzystaniem unieruchomionych enzymów.

W oparciu o zaprezentowane informacje należy podkreślić, że dobór konkretnego biokatalizatora związany jest z typem katalizowanej przemiany. Parametry te determinują z kolei odpowiednią selekcję nośnika. Każdorazowo istnieje możliwość wyboru z pośród kilku matryc, które spełniają podstawowe wymogi, a kluczowa jest komplementarność grup funkcyjnych nośnika i enzymu,

co umożliwia wytworzenia stabilnych i trwałych oddziaływań. Dla utrzymania wysokiej aktywności unieruchomionego białka kluczowe jest zachowanie odpowiedniego balansu pomiędzy wszystkimi zmiennymi, które wpływają na właściwości katalityczne immobilizowanych enzymów.

2.2. METODY IMMOBILIZACJI BIAŁEK KATALITYCZNYCH

Proces immobilizacji może być realizowany na kilka sposobów, a czynnikiem, który determinuje podział technik unieruchamiania jest charakter oddziaływań wytworzonych pomiędzy białkiem katalitycznym i nośnikiem [51]. Immobilizowanymi enzymami nazywane są układy, które powstały poprzez wytworzenie oddziaływań pomiędzy materiałem nośnym oraz białkiem. Jednak immobilizowane enzymy to również biokatalizatory, które spotykane są jako nierozpuszczalne agregaty enzymatyczne otrzymane poprzez sieciowanie cząsteczek i/lub kryształów białka. Immobilizowanymi enzymami nazywa się także biokatalizatory, które otoczone są półprzepuszczalnymi membranami, oddzielającymi enzym od środowiska reakcyjnego [38,52]. W oparciu o przedstawione kryteria wyróżniono pięć głównych technik immobilizacji enzymów: adsorpcyjna, kowalencyjna, pułapkowanie, kapsułkowanie oraz sieciowanie, co schematycznie zaprezentowano na rys. 9.



Rysunek 9. Metody immobilizacji enzymów

Zaprezentowane techniki immobilizacji odróżnia charakter, jak i siła oraz trwałość wytworzonych oddziaływań. Zarówno rodzaj nośnika, typ enzymu,

a także charakter katalizowanej przemiany oraz stabilność i wysoka aktywność katalityczna to tylko niektóre z najważniejszych kryteriów, które decydują o doborze optymalnej metody immobilizacji. Jednak należy jednoznacznie podkreślić, że różnorodność dostępnych technik powoduje, że białko może zostać unieruchomione w sposób efektywny, a selekcja właściwej metody immobilizacji wspomaga utrzymanie wysokich właściwości katalitycznych oraz zachowanie dobrej sprawności operacyjnej przez związany z podłożem enzym.

Najpopularniejszą, najszerzej stosowaną, a zarazem najstarszą z opracowanych metod immobilizacji enzymów jest unieruchomienie enzymów poprzez adsorpcję. Z wykorzystaniem tej techniki unieruchomione mogą zostać zarówno wyizolowane, pojedyncze enzymy, jak i całe mikroorganizmy. Metoda ta jest powszechnie stosowana ze względu na swoją szybkość, prostotę wykonania, a także relatywnie niskie koszty jej realizacji. W immobilizacji adsorpcyjnej, interakcje powstałe pomiędzy biokatalizatorem oraz nośnikiem mają słaby charakter i oparte są głównie na niespecyficznych oddziaływaniach wodorowych, jonowych, elektrostatycznych, hydrofobowych, a także na siłach van der Waalsa, lub kombinacjach tych sił [53,54]. Wytworzone oddziaływania, ze względu na relatywnie słaby charakter, mają bardzo ograniczony wpływ na strukturę białkową enzymu, co ułatwia zachowanie aktywności przez otrzymany preparat. Wadą niewielkiej siły powstałych oddziaływań jest jednak fakt, że enzym może zostać szybko wymyty z powierzchni matrycy, co skutkuje obniżeniem właściwości katalitycznych wytworzonego systemu [55].

Immobilizację adsorpcyjną można wykonać kilkoma sposobami, między innymi na drodze klasycznej adsorpcji, agregacji czy depozycji. Pierwsza z metod polega na umieszczeniu nierozpuszczalnego nośnika w roztworze enzymu, z którego po zakończonym procesie separuje się nośnik z unieruchomionym białkiem. Agregacja oparta jest na wytworzeniu agregatów białkowych pod wpływem działania odczynników organicznych i ich późniejszym osadzeniu na powierzchni materiału nośnego. W przypadku depozycji, enzym oraz nośnik zostają zmieszane w jednym roztworze, który następnie poddaje się suszeniu w łagodnych warunkach [56].

Relatywnie nieduża siła oddziaływań adsorpcyjnych skutkuje szybką elucją biokatalizatorów z matrycy, dlatego przeprowadzono liczne badania, w wyniku których opracowano immobilizację, która polega na wytworzeniu wiązań kowalencyjnych pomiędzy enzymem i nośnikiem (immobilizacja kowalencyjna). Technika ta w zdecydowany sposób ogranicza desorpcję białka z powierzchni matrycy, co pozwala na zachowanie wysokiej aktywności katalitycznej przez dłuższy czas. W immobilizacji kowalencyjnej, enzym zostaje

silnie związany z matrycą, jednak warunki jej prowadzenia często wywołują wyraźny spadek aktywności unieruchomionego biokatalizatora [57]. Fakt ten spowodowany jest nie tylko częściową denaturacją białka, ale również zmianami konformacyjnymi w strukturze enzymu, dlatego niezwykle ważny jest taki dobór warunków prowadzenia immobilizacji kowalencyjnej, aby degradację białka ograniczyć do minimum. Jednak ingerencja w strukturę enzymu, poza możliwym obniżeniem jego właściwości katalitycznych, skutkuje również zwiększeniem odporności biokatalizatora na negatywne działanie warunków środowiska, w których prowadzona jest dana przemiana. Usztywnienie trzecio- oraz czwartorzędowej struktury białka powoduje, że zmiany parametrów reakcyjnych takich jak temperatura czy pH, nie mają przełożenia na spadek aktywności unieruchomionych białek [58].

Do wytworzenia stabilnych wiązań kowalencyjnych pomiędzy enzymem i nośnikiem wymagane są zarówno odpowiednie warunki reakcyjne, jak i obecność w strukturach obu indywidualów grup funkcyjnych będących względem siebie komplementarnymi. Rozważając białka katalityczne, w tworzeniu wiązań zazwyczaj udział biorą grupy imidazolowe, tiolowe, fenyłowe oraz aminowe, które obecne są w takich aminokwasach jak lizyna (Lys), cysteina (Cys), tyrozyna (Tyr), arginina (Arg) czy histydyna (His). Warto dodać, że grupy te zazwyczaj znajdują się w pozycji N- lub C-terminalnej łańcucha aminokwasowego [59]. Natomiast w zależności od struktury chemicznej powierzchni nośnika oraz dostępności grup funkcyjnych, tworzenie wiązań kowalencyjnych enzym – nośnik zachodzi w oparciu o reakcje arylowania, amidowania, alkilowania, diazowania, a także tworzenia zasad Schiffa lub wiązań amidowych [60]. Godnym odnotowania jest natomiast fakt, że ograniczona liczba miejsc, które umożliwiają przyłączenie białka powoduje, że w wyniku przeprowadzenia immobilizacji kowalencyjnej zazwyczaj nie więcej niż 50 mg enzymu zostaje unieruchomione na 1 g nośnika.

Kolejna technika immobilizacji, polegająca na związaniu biokatalizatora w selektywnie przepuszczalnej matrycy, która zbudowana jest z włókien lub żelu o dużej gęstości, nazywana jest pułapkowaniem (ang. *entrapment*). Unieruchomienie przeprowadzone tą techniką polega na zamknięciu cząsteczki, bądź cząsteczek enzymów, w kulach żelu o średnicy od 0,3 do 3 mm. Spotykane są też systemy biokatalityczne, które kształtem przypominają dyski, a także inne kształty sferyczne [61]. Ze względu na utrudnienia występujące w transporcie związków wielkocząsteczkowych przez otoczkę enzymu, ten rodzaj immobilizacji wykorzystywany jest głównie w przemianach, w których zarówno substraty, jak i finalne produkty charakteryzują się niewielką masą cząsteczkową [62].

Unieruchomienie enzymów tą techniką zazwyczaj polega na wytworzeniu fizycznych oddziaływań, które stosunkowo słabo wiążą enzym, co zapobiega ingerencji w strukturę białka, jednak umożliwia jego szybkie wymycie z matrycy w trakcie prowadzenia reakcji. Problemem, który dotyczy immobilizacji poprzez pułapkowanie, jest też dość wyraźny spadek aktywności enzymatycznej, który następuje po przeprowadzeniu procesu. Jest on związany głównie z powstaniem dużych oporów dyfuzyjnych w transporcie substratów i produktów przez selektywnie przepuszczalną błonę otaczającą białko [63].

Techniką unieruchamiania, podobną do pułapkowania jest kapsułkowanie, które nazywane jest także enkapsulacją (ang. *encapsulation*). W metodzie tej wytwarzana jest kapsułka, w której wnętrzu znajduje się enzym otoczony ściankami z materiału, umożliwiającego selektywny transport reagentów [64]. Dochodzi zatem do sytuacji, w której wytworzona zostaje naturalna warstwa, z jednej strony chroniąca enzym przed negatywnym wpływem środowiska reakcji, a z drugiej, gwarantująca możliwość prawidłowego przeprowadzenia przemiany katalitycznej. Dodatkowo zapewniona zostaje wysoka czystość produktów reakcji, ponieważ enzym nie ma bezpośredniego kontaktu ze składnikami mieszaniny reakcyjnej [65]. Warto również dodać, że jedną z największych zalet tej metody jest możliwość nagromadzenia dużej ilości biomasy w relatywnie małej przestrzeni, jednak złożona i kosztochłonna procedura wykonania enkapsulacji powodują, że technika ta nie znajduje szerokiego przemysłowego wykorzystania [66].

W enkapsulacji najczęściej spotykane są kapsuły o kształcie kulistym lub sferycznym i bardzo zróżnicowanych rozmiarach, od kilku milimetrów do nawet kilkunastu centymetrów, w zależności od ilości zgromadzonego wewnątrz materiału katalitycznego. Powszechnie stosuje się też kilka metod formowania kapsuł z unieruchomionym enzymem, wśród których warto wymienić np.: koacerację, ekstruzję, powlekanie czy suszenie rozpyłowe oraz sublimacyjne, jednak najszerszej stosowanym rozwiązaniem jest metoda polegająca na odparowaniu rozpuszczalnika, a także żelowaniu matrycy z wykorzystaniem kationów odpowiednich pierwiastków, np.: Ca^{2+} , Na^+ czy K^+ [67]. We wnętrzu wytworzonych kapsuł enzym zostaje unieruchomiony głównie z wykorzystaniem oddziaływań fizycznych, jednak powstanie wiązań chemicznych również nie może zostać wykluczone w tej technice.

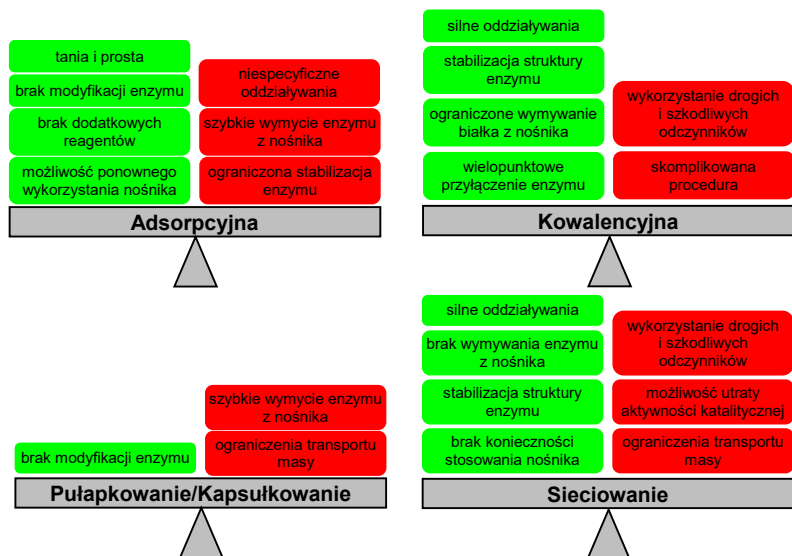
Jeszcze innym sposobem immobilizacji białek katalitycznych jest otrzymywanie nierozpuszczalnych systemów biokatalitycznych na drodze międzycząsteczkowego sieciowania agregatów lub kryształów białka poprzez wytworzenie oddziaływań i wiązań chemicznych z wykorzystaniem

dwufunkcyjnych związków organicznych, takich jak: aldehyd glutarowy, heksametylenodiizocyjanian lub heksametylenodiizotiocyanian. Jako ciekawostkę należy wspomnieć, że metoda immobilizacji poprzez sieciowanie różni się od poprzednio opisanych technik, ponieważ nie występuje w niej nośnik, a matrycą są dla siebie poszczególne cząsteczki białka. Stabilizacja struktury białkowej ma miejsce w wyniku wytworzenia międzycząsteczkowych wiązań kowalencyjnych pomiędzy enzymami [68].

Sieciowaniu mogą zostać poddane zarówno odpowiednio przygotowane agregaty białkowe, jak i kryształy enzymów o wysokiej czystości, a w zależności od wykorzystanej formy białka oraz zastosowanych warunków procesowych otrzymane mogą zostać dwa rodzaje preparatów: CLEA (ang. *cross-linked enzyme aggregates*) oraz CLEC (ang. *cross-linked enzyme crystals*) [69,70]. Preparaty CLEC, oparte na kryształach białkowych, składają się niemal całkowicie z homogenicznej postaci enzymu i odznaczają się wysoką odpornością na działanie czynników denaturujących i inhibitorów, jednak wymagają uprzedniej krystalizacji białka, co jest procesem kosztownym i czasochłonnym. Dlatego, aby pominąć etap krystalizacji, wytrąca się agregaty białkowe, zanim zostaną poddane sieciowaniu. Proces ten prowadzi się zazwyczaj wykorzystując roztwory soli nieorganicznych, niejonowe polimery oraz rozpuszczalniki organiczne, a dopiero późniejsze usieciowanie z zastosowaniem odpowiednich linkerów prowadzi do powstania CLEA [71,72].

Największą zaletą immobilizacji poprzez sieciowanie, dzięki doborowi odpowiednich parametrów procesowych, jest możliwość szczegółowej kontroli właściwości katalitycznych wytwarzanych układów. W zależności od rodzaju odczynnika strącającego, właściwej krystalizacji białka, a także doboru odpowiedniego związku sieciującego, powstałe systemy biokatalityczne mogą się od siebie różnić aktywnością, selektywnością, stabilnością, wytrzymałością mechaniczną, a także odpornością na działanie inhibitorów, rozpuszczalników organicznych, jak i skrajnych warunków pH czy temperatury [73].

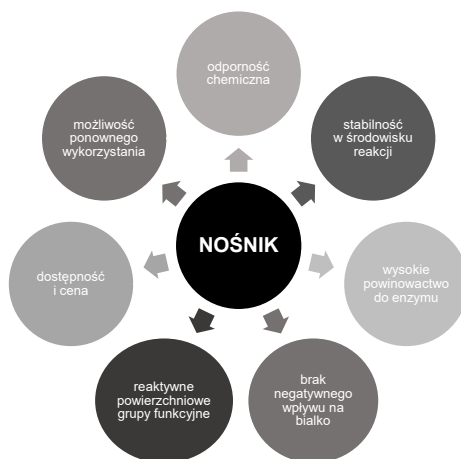
W celu podsumowania i zobrazowania wad, jak i zalet każdej z opisanych powyżej technik immobilizacji przygotowano rys. 10, który w sumaryczny sposób pozwala na ich porównanie. Wartym odnotowania jest, że każdej z przedstawionych metod unieruchamiania można przypisać zarówno szereg wad, jak i zalet, które muszą zostać rozważone przy podejmowaniu decyzji o wykorzystaniu danej techniki. Wybór techniki immobilizacji jest związany zarówno z właściwościami nośnika, typem enzymu oraz rodzajem procesu technologicznego, co powoduje, że ten sam typ enzymów może zostać unieruchomiony z wykorzystaniem odmiennych materiałów jako nośników oraz stosując różne techniki immobilizacji.



Rysunek 10. Zalety (kolor zielony) i wady (kolor czerwony) poszczególnych technik immobilizacji

2.3. NOŚNIKI STOSOWANE W PROCESIE IMMOBILIZACJI

Proces immobilizacji powoduje znaczną poprawę właściwości białek katalitycznych, między innymi poprzez zwiększenie ich stabilności, a także rozszerza potencjalną gamę praktycznych zastosowań biokatalizatorów. Zaprezentowane zostały również informacje, które wskazują, że decydujący wpływ na poszczególne parametry unieruchomionych enzymów ma typ zastosowanego białka. Jednak nie bez znaczenia jest również rodzaj wykorzystanego nośnika, ponieważ to właściwości matrycy w znacznym stopniu determinują koszt wytworzenia systemu biokatalitycznego oraz jego stabilność operacyjną. Istnieje bardzo szeroka i niezwykle zróżnicowana gama materiałów, które mogą zostać wykorzystane, jako nośniki w procesie immobilizacji. Substancje te muszą się jednak odznaczać szeregiem różnych właściwości, a najważniejsze z nich to: wysokie powinowactwo do białek, zdolność do trwałego związania enzymu, a także brak negatywnego wpływu na strukturę białkową, co w praktyce ogranicza utratę aktywności katalitycznej przez biokatalizator [74,75]. Najważniejsze parametry determinujące wybór nośnika zostały zaprezentowane na rys. 11.



Rysunek 11. Najważniejsze właściwości materiałów stosowanych jako nośniki w immobilizacji enzymów

Istotną właściwością, jaką musi charakteryzować się nośnik w procesie immobilizacji, jest nierozpuszczalność w środowisku katalizowanej przemiany. Jest to ważne, ponieważ nie tylko zapewnia heterogeniczną postać systemu biokatalitycznego, ale również chroni białko przed szybkim wymyciem z powierzchni nośnika. Nierozpuszczalność matrycy ogranicza zanieczyszczenie produktów reakcji substancją nośną oraz uwolnionym z jej powierzchni enzymem [76].

Możliwość wytworzenia odpowiednio silnych, a zarazem stabilnych oddziaływań pomiędzy unieruchomionym biokatalizatorem a nośnikiem to także jeden z najważniejszych parametrów, który ma wpływ na selekcję matrycy. Dlatego właśnie rozpatrywany materiał powinien charakteryzować się zawartością wielu reaktywnych grup funkcyjnych, takich jak hydroksylowe, epoksydowe czy aminowe, które poprzez wykazywanie wysokiego powinowactwa do grup chemicznych zawartych w strukturze biokatalizatora, zapewniają efektywne przyłączenie enzymu [77]. Równie ważne jest także, aby rodzaj grup funkcyjnych nośnika umożliwiał wytworzenie pożądaných interakcji w możliwie łagodnych warunkach, a powstałe oddziaływania gwarantowały trwale związanie enzymu z powierzchnią matrycy, bez znacznej ingerencji w strukturę białkową, co ma przełożenie na zachowanie wyższej aktywności przez biokatalizator. W przypadku braku możliwości bezpośredniego związania enzymu, chemizm nośnika powinien umożliwiać jego łatwą modyfikację, która

pozwole na wprowadzenie grup chemicznych niezbędnych do związania białka katalitycznego [78].

Równie znaczący wpływ na powstanie silnych interakcji enzym – nośnik ma hydrofilowo-hydrofobowy charakter powierzchni nośnika, który szczególnego znaczenia nabiera w przypadku takich typów immobilizacji jak immobilizacja adsorpcyjna czy enkapsulacja, w których nie obserwuje się wytworzenia wiązań kowalencyjnych. W tych sytuacjach to charakter nośnika determinuje się powstających oddziaływań. Dlatego też ważne jest, aby enzym odznaczający się hydrofobowym charakterem, jak np. lipaza, immobilizowany był na powierzchni nośnika, którego powierzchnia ma taki sam charakter, co zagwarantuje silniejsze związanie biokatalizatora [79].

W trakcie selekcji materiału, który może zostać wykorzystany, jako nośnik, pod uwagę brane są również budowa morfologiczna oraz struktura porowata materiału, a więc rozmiar i kształt cząstek, a także kształt i objętość jego porów oraz wielkość powierzchni właściwej. Zdecydowanie większym zainteresowaniem cieszą materiały, których powierzchnia właściwa przekracza $100 \text{ m}^2/\text{g}$, a także te charakteryzujące się dużą porowatością [80]. Jako matryce, najlepiej sprawdzają się materiały, odznaczające się kulistym, lub zbliżonym do kulistego, kształtem cząstek o wielkości od 100 do 300 nm [81]. Takie parametry ograniczają występowanie oporów dyfuzyjnych i zapewniają swobodny transport komponentów mieszaniny reakcyjnej do i z centrum aktywnego enzymów. Warto także dodać, że odpowiednio dobrane właściwości nośnika umożliwiają utrzymanie wysokiej aktywności katalitycznej przez unieruchomione białko.

Ponieważ układ po immobilizacji powinien odznaczać się wysoką stabilnością operacyjną, a więc odpornością na zmienność warunków procesowych, stosowany nośnik również musi charakteryzować się dużą trwałością oraz wytrzymałością mechaniczną, co ogranicza jego degradację. Dodatkowo matryca o takiej specyfice zapewnia ochronę dla enzymu, co przekłada się na zachowanie przez białko wysokiej aktywności. Nośnik powinien być także odporny na ataki mikrobiologiczne, które stanowią istotny problem, zwłaszcza kiedy reakcja prowadzona jest w środowisku wodnym lub w zamkniętych instalacjach [82].

Dla procesów realizowanych w skali przemysłowej, kluczowe znaczenie mają kwestie ekonomiczne. Dlatego też w trakcie selekcji nośnika, który ma zostać wykorzystany w skali technicznej, ważne miejsce zajmuje jego dostępność oraz niski koszt pozyskania i/lub wytworzenia [83]. W przypadku braku możliwości bezpośredniego zakupu wymaganego materiału, proces jego syntezy powinien być możliwie tani oraz jak najmniej skomplikowany. Jednak w przypadku gdy nośnik, który spełnia wszystkie wymagania jest drogi, powinna

istnieć możliwość jego regeneracji, a więc usunięcia zdezaktywowanego białka i unieruchomienia nowej porcji biokatalizatora.

Wszystkie z zależności oraz zmienne powinny zostać wzięte pod uwagę w trakcie selekcji materiału, który ma zostać wykorzystany jako nośnik. Należy jednak stanowczo podkreślić, że ostateczny wybór matrycy jest kwestią wysoce indywidualną, zależną głównie od właściwości unieruchamianego enzymu oraz charakteru procesu technologicznego, w którym układ po immobilizacji ma zostać wykorzystany. Nośnik powinien charakteryzować się przede wszystkim niewysoką ceną, obojętnością w środowisku reakcji oraz odpornością, jak i wysoką stabilnością w warunkach reakcyjnych katalizowanej przemiany.

W procesie immobilizacji, jako nośniki wykorzystana może zostać bardzo szeroka i zróżnicowana grupa materiałów, które w sposób bardzo ogólny podzielone mogą zostać na matryce organiczne, nieorganiczne oraz materiały hybrydowe [84,85]. Dalszy podział dotyczy z kolei źródła pochodzenia tych materiałów i może on obejmować związki zarówno pochodzenia naturalnego, w tym bardzo szeroka grupa biopolimerów, oraz nośniki, które zostały otrzymane na drodze syntezy chemicznej w warunkach laboratoryjnych. Bardziej szczegółowy podział materiałów wykorzystywanych, jako matryce w procesie immobilizacji enzymów, wraz z wybranymi przykładami, został zaprezentowany na rys. 12.

Nośniki w immobilizacji enzymów			
Rozpuszczalne	Nierozpuszczalne		
glikol poli- oksyetylenowy poli(alkohole winylowe) rozpuszczalne dekstrany	Organiczne		Nieorganiczne
	Syntetyczne	Naturalne	szkło porowate krzemionka tlenki metali hydroksyapatyt kordieryt ziemia okrzemkowa
	żywice jonowymienne żywice epoksydowe poli(chlorek winylu) polistyren poliuretany	chitozan chityna alginiany kolagen celuloza	
	Materiały kompozytowe/hybrydowe		

Rysunek 12. Podział materiałów wykorzystywanych jako nośniki w procesie immobilizacji enzymów, na podstawie [38]

Materiały pochodzenia nieorganicznego, takie jak: naturalne krzemiany, zeolity, węgle aktywne, szkło porowate, nieorganiczne tlenki (dITLENEK tytanu, tlenek cynku, magnetyt) czy bardzo szeroka gama krzemionek, wykorzystywane są jako nośniki dla enzymów stosowanych w procesach technologicznych, które wymagają materiałów o wysokiej odporności mechanicznej [86,87]. Matryce tego typu znajdują zastosowanie głównie w immobilizacji kowalencyjnej oraz adsorpcyjnej, a ich największymi zaletami, poza dużą stabilnością i odpornością, jest także duża dostępność oraz relatywnie niewysoka cena. Omawiane materiały charakteryzują się ponadto dużymi pojemnościami sorpcyjnymi oraz zdefiniowaną strukturą porowatą [88]. Dodatkowo materiały pochodzenia nieorganicznego, w środowisku reakcyjnym wielu katalizowanych przez enzymy przemian, zachowują obojętność chemiczną, co dodatkowo podnosi ich wartość użytkową. Godnym podkreślenia jest również fakt, że powierzchnia matryc nieorganicznych może zostać w łatwy sposób poddana modyfikacji, w celu wprowadzenia dodatkowych, reaktywnych ugrupowań chemicznych, co jest istotne zwłaszcza w przypadku immobilizacji kowalencyjnej [89]. Wykorzystanie nośników pochodzenia nieorganicznego zapewnia utrzymanie wysokiej aktywności przez unieruchomiony enzym, ogranicza występowanie oporów dyfuzyjnych, a dzięki wysokiej odporności zastosowanych matryc, możliwe jest wykorzystanie systemu biokatalitycznego w wielu następujących po sobie cyklach reakcyjnych.

Dużą grupę materiałów, które równie powszechnie wykorzystywane są, jako nośniki, stanowią materiały organiczne pochodzenia zarówno naturalnego, jak i syntetycznego. Substancje te mogą zostać pozyskane ze źródeł naturalnych, jak np. chityna czy chitozan, otrzymywane z organizmów żywych, jak i z dużą precyzją zostać zsyntezowane w warunkach laboratoryjnych. Matryce pochodzenia organicznego są wykorzystywane właściwie we wszystkich technikach immobilizacji, jednak źródło ich pochodzenia w dużym stopniu determinuje mechanizm immobilizacji. Popularną grupę materiałów, którą zaliczyć należy do omawianych związków stanowią różnego rodzaju żywice jonowymiennne, wśród nich: żywice poliuretanowe czy poliakrylowe [90,91] a także syntetyczne polimery takie jak: poliamidy, poliakryloamidy, poli(alkohol winylowy), poli(chlorek winylu), glikol polietylenowy oraz pochodne polistyrenu [86,87,92]. Zaletą omawianych materiałów jest fakt, że poprzez odpowiednio zaprojektowaną syntezę zarówno ich właściwości, jak i pojemność enzymatyczna może zostać dostosowana do potrzeb wybranego białka. Najszersze zastosowanie materiały polimerowe znajdują w immobilizacji kowalencyjnej, ponieważ w strukturze polimeru znajdują się ugrupowania chemiczne zdolne do wytworzenia wiązań chemicznych z grupami funkcyjnymi

obecnymi w strukturze biokatalizatora [93]. Syntetyczne polimery odznaczają się też dużą stabilnością chemiczną oraz mechaniczną, co powoduje, że z ich wykorzystaniem unieruchamiane są enzymy właściwie ze wszystkich grup katalitycznych.

Nie mniejszym zainteresowaniem od syntetycznych polimerów cieszą się ich naturalne odpowiedniki – biopolimery. To głównie nierozpuszczalne w wodzie polisacharydy, takie jak: chityna, chitozan, celuloza, alginiany, agar czy skrobia [94-96]. Charakteryzują się one wysokim powinowactwem do białek, a ze względu na swoje pochodzenie także biokompatybilnością, co w znacznym stopniu ogranicza ich negatywny wpływ na białko. Co więcej materiały te w zdecydowanej większości są obojętne chemicznie i stabilne w warunkach prowadzonego procesu. Biopolimery, które wykorzystywane są, jako nośniki w immobilizacji zazwyczaj pozyskiwane są jako produkty odpadowe różnych gałęzi przemysłu, co powoduje, że są one relatywnie tanie. Jednak największą zaletą omawianych materiałów jest obecność w ich strukturze wielu reaktywnych grup funkcyjnych, które ułatwiają efektywne związanie enzymu lub ewentualną funkcjonalizację powierzchni matrycy. Bezpośrednio z ilością i rodzajem grup chemicznych związane jest wykorzystanie danego materiału w wybranej technice immobilizacji. Warto wyjaśnić, że chityna i chitozan, które w swojej strukturze zawierają grupy hydroksylowe ($-OH$) oraz aminowe ($-NH_2$) oraz występują jako ciała stałe, znajdują zastosowanie głównie w immobilizacji kowalencyjnej. Z kolei alginiany, agar, a także karaginaniny, które wykazują silną tendencję do żelowania pod wpływem różnych dodatków, wykorzystywane są głównie, kiedy enzym unieruchamiany jest przez pułapkowanie lub enkapsulację. Należy również dodać, że nie tylko polisacharydy znajdują zastosowanie w immobilizacji. Również inne biopolimery, jak np. lignina czy gąbki pochodzenia zarówno zwierzęcego jak i roślinnego stosuje się jako matryce do osadzania enzymów [97].

Charakteryzując nośniki stosowane w immobilizacji, należy wspomnieć o jeszcze jednej grupie materiałów pochodzenia zarówno organicznego, jak i nieorganicznego, a mianowicie produktach komercyjnych, wśród których warto wymienić: Eupergit®, Florisil®, Celite® Promaxon® czy Purolite®. Największą zaletą tych materiałów jest ich duża dostępność, a więc relatywnie niska cena zakupu oraz wysoka stabilność w różnych warunkach reakcyjnych, co powoduje, że są powszechnie stosowane jako nośniki [98,99].

W ostatnich latach obserwuje się także dynamiczny rozwój różnych metod syntezy materiałów hybrydowych oraz kompozytowych, co przekłada się na szybki wzrost wykorzystania tych układów w różnych metodach immobilizacji

enzymów. Ciekawymi przykładami matryc kompozytowych pochodzenia nieorganiczno-nieorganicznego jest np. układ krzemionka – magnetyt [100] czy magnetyt – nanocząstki złota [101]; nieorganiczno-organicznego – materiał krzemionka – chitozan [102], a także krzemionka w połączeniach z różnymi polimerami oraz układy organiczno-organiczne, wśród nich np. hybryda chitozan – alginian [103]. Niekwestionowaną zaletą tych układów jest możliwość dokładnego zaprojektowania ich właściwości w taki sposób, aby spełniały wymogi stawiane zarówno przez enzym, jak i proces technologiczny, w którym immobilizowane białko ma zostać wykorzystane. Co więcej, materiały kompozytowe i hybrydowe łączą w sobie właściwości obu prekursorów, co dodatkowo zwiększa ich funkcjonalność i rozszerza gamę potencjalnych aplikacji.

Dobór nośnika to jedna z najważniejszych kwestii w procesie immobilizacji, która ma bezpośrednie przełożenie na właściwości wytworzonego systemu katalitycznego. Zastosowanie znajduje wiele materiałów pochodzenia zarówno nieorganicznego, organicznego jak i układów hybrydowych. Materiały te muszą spełniać jednak szereg wymogów, które stawiane są przed matrycami wykorzystywanymi w immobilizacji. Należy także pamiętać, że pomimo dostępności wielu substancji, które mogą stanowić bazę do unieruchomienia enzymu, ostateczna selekcja jest kwestią niezwykle indywidualną, związaną zarówno z właściwościami biokatalizatora jak i warunkami technologicznymi katalizowanego procesu.

3. ENZYMY W OCHRONIE ŚRODOWISKA

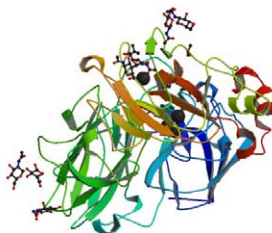
Rosnące w szybkim tempie ilości niebezpiecznych dla środowiska naturalnego substancji chemicznych powodują, że obecnie stawiane są coraz to nowe wyzwania w zakresie ochrony środowiska. Najlepszym sposobem jest znaczne ograniczenie ilości szkodliwych oraz toksycznych materiałów i chemikaliów, bądź ich całkowite usunięcie z gleb i ścieków. W drugim przypadku z pomocą przychodzi wiele grup białek katalitycznych. Bioremediacja za pomocą enzymów pozwala na kontrolowanie poziomu niebezpiecznych związków w środowisku, poprzez ich efektywne usuwanie z zanieczyszczonych mediów. Wśród wspomnianych enzymów należy wyróżnić przede wszystkim oksydoreduktazy, które dzięki swoim szczególnym właściwościom, są szeroko wykorzystywane zarówno w wielu gałęziach przemysłu, jak i ochrony środowiska. Nie tylko katalizują one reakcje utleniania toksycznych substancji w łagodnych warunkach, ale również ograniczają wykorzystanie toksycznych rozpuszczalników. Oksydoreduktazy, które zasługują na szczególną uwagę

to: lakaza, tyrozynaza, peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganowa oraz peroksydaza chrzanowa [104,105]. Są to enzymy, które usuwają głównie związki fenolowe oraz ich pochodne ze ścieków, jednak znajdują zastosowanie również w remediacji barwników naturalnych i syntetycznych, jak i związków farmaceutycznych. Warto również dodać, że te lignolityczne biokatalizatory są stosowane przy rozkładzie ligniny, co znajduje zastosowanie w przemyśle papierniczym. Podkreślenia wymaga jednak fakt, że białka te są czułe na zmiany warunków środowiska reakcji, i jak już wspomniano, nawet nieznaczna zmiana temperatury lub pH może spowodować znaczne zmniejszenie właściwości katalitycznych tych biomolekuł [106,107].

3.1. ENZYMY WYKORZYSTYWANE W OCHRONIE ŚRODOWISKA

Oksydoreduktazy, jako enzymy szeroko rozpowszechnione w naturze, znajdują zastosowanie jako efektywne biokatalizatory degradacji niebezpiecznych związków. Jednakże ich struktura, kofaktory oraz mechanizmy reakcji są różne dla każdego z przedstawionych enzymów. Fakt ten sprawia, że w zależności od rodzaju degradowanego związku oraz warunków prowadzenia reakcji, mogą usuwać je z różnymi wydajnościami.

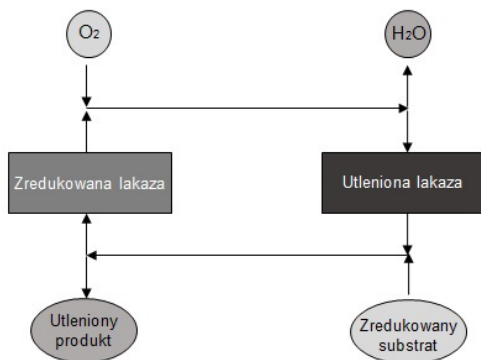
Pierwszą z oksydoreduktaz, na którą należy zwrócić szczególną uwagę, jest lakaza. Wielu naukowców skupiających swoją uwagę na grupie oksydoreduktaz, najwięcej uwagi poświęca temu enzymowi ze względu na jego dużą dostępność oraz specyficzne właściwości. Lakaza [EC 1.10.3.2] jest benzenodiolem, enzymem oksydoredukującym, który katalizuje reakcje w obecności tlenu cząsteczkowego [108,109]. Jako glikoproteina o masie cząsteczkowej pomiędzy 60 a 100 kDa, jest klasyfikowana w grupie „niebieskich” oksydoreduktaz [110]. Struktura lakazy z grzyba *Trametes versicolor* została przedstawiona na rys. 13.



Rysunek 13. Struktura lakazy z *Trametes versicolor*; na podstawie [111]

Pierwszy raz enzym ten został otrzymany i opisany przez Yoshidę w 1883 roku. Naukowiec zauważył, że sok roślinny pozyskany z drzewa z gatunku *Rhus vernicifera* jest katalizatorem w reakcji utleniania katecholu [112]. W późniejszych latach zaobserwowano, że nie tylko rośliny są posiadaczami tego niezwykłego enzymu. Wiele rodzajów bakterii, grzybów czy owadów jest wykorzystywanych w przemyśle ze względu na obecność lakazy w ich strukturach komórkowych, chociaż najczęściej wykorzystuje się lakazy grzybowe. Jest to spowodowane najpowszechniejszym występowaniem tych organizmów, spośród innych wspomnianych, oraz relatywnie łatwym sposobem izolacji białka (na przykład przez ultrafiltrację) [113,114]. Główną różnicą, jaka występuje pomiędzy lakazami różnego pochodzenia, jest wykazywanie maksymalnych właściwości katalitycznych w innych warunkach środowiska. Na przykład lakazy pochodzenia roślinnego posiadają swoje optimum w pH równym 7, natomiast optymalne pH dla lakaz pozyskanych z grzybów znajduje się w przedziale pH pomiędzy 3,5 a 5. Warto również dodać, że lakazy różnego pochodzenia działają w innej temperaturze. Lakaza z *Ganiderma iucidum* wykazuje największą aktywność w temperaturze od 20 do 25 °C, a dla porównania, lakaza z *Marasimius quercophilus* działa najefektywniej w temperaturze 60 °C [115].

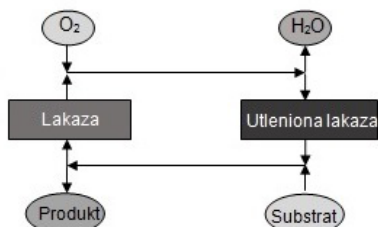
Lakazy, to glikoproteiny, które nazwę „niebieskie” oksydoreduktazy zawdzięczają atomom miedzi, które są obecne w strukturze enzymu. Atomy te posiadają różne funkcje podczas cyklu katalitycznego enzymu. Pierwszy z nich (jeden atom typu 1) odpowiada za przyłączenie elektronu w pierwszym etapie reakcji, natomiast dwa pozostałe (jeden atom typu 2 i dwa atomy typu 3) są odpowiedzialne za redukcję tlenu cząsteczkowego [116]. Na rys. 14 schematycznie przedstawiono cykl katalityczny lakazy.



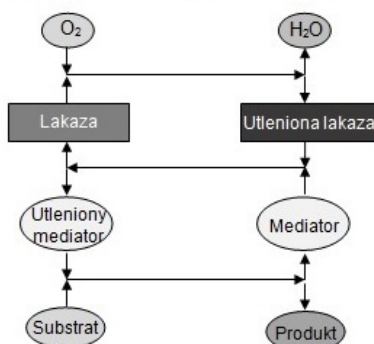
Rysunek 14. Schemat cyklu katalitycznego lakazy, na podstawie [117]

Reakcje, które są katalizowane przez lakazę, można podzielić na trzy grupy. W pierwszej z tych grup następuje utlenianie takich związków organicznych jak mono-, di- i polifenole, bez obecności mediatora. Na drodze tego samego mechanizmu, lakazy utleniają także pochodne związków fenolowych, które zawierają grupy aminowe czy też metoksyłowe. W trakcie przebiegu reakcji katalizowanych przez lakazy, które zaliczane są do drugiej grupy przemian, niezbędna jest obecność związku pośredniego – mediatora. Utleniane są bowiem duże cząsteczki, które zawierają takie grupy funkcyjne jak: nitrozowa czy hydroksyiminowa. Jednak zgodnie z omawianym mechanizmem następuje również konwersja związków niefenolowych, które z powodu swoich dużych rozmiarów nie są w stanie przyłączyć się do miejsca aktywnego enzymu. W trzeciej grupie reakcji występują reakcje sprzęgania, w których poprzez bezpośrednie utlenianie związków fenolowych i powstawanie niestabilnych rodników, tworzą się związki wielkocząsteczkowe (od dimerów aż do polimerów) [117]. Rysunek 15 przedstawia podział grup reakcyjnych lakazy i schematy reakcji.

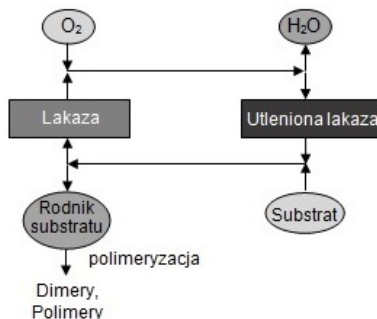
Reakcja utleniania bez obecności mediatora



Reakcja utleniania przy obecności mediatora



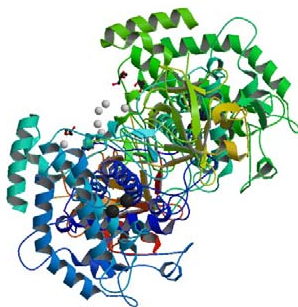
Reakcja sprzęgania



Rysunek 15. Schematy reakcji katalizowanych przez lakazę, na podstawie [117]

Lakaza jest obecna w szerokiej gamie procesów, od lat 90 XX wieku jako przyjazny dla środowiska katalizator. Ze względu na swoje właściwości enzym ten jest często używany w wielu gałęziach przemysłu, takich jak przemysł spożywczy oraz tekstylny [110,118]. Jest to efektywny utleniacz prostych związków organicznych, aczkolwiek może katalizować też reakcje oksydacji bardziej rozbudowanych cząstek, np. ligniny (delignifikacja zanieczyszczeń lignoceluluzowych przy wykorzystaniu lakazy z *Aquisalibacillus elongatus* [113]). W biotechnologii enzym ten pełni funkcję ekologicznej alternatywy dla rozkładu niebezpiecznych dla zdrowia ludzkiego i środowiska związków chemicznych, takich jak pestycydy i hormony, często obecne w niebezpiecznie wysokich stężeniach w ściekach rolniczych czy farmaceutycznych [110].

Kolejnym enzymem, na który należy zwrócić szczególną uwagę jest tyrozynaza, której przypisano numer EC 1.14.18.1. Ta biomolekuła, pochodząca z grupy oksydoreduktaz, jako metaloenzym glikoproteinowy, zawiera w swojej strukturze dwa typy jonów miedź (CuA i CuB) skoordynowane przez reszty histydynowe [120]. Na rys. 16 przedstawiono trójwymiarową strukturę tyrozynazy z *Agaricus bisporus*.



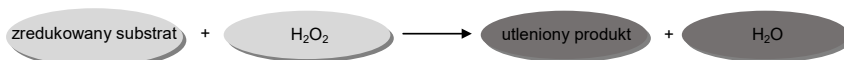
Rysunek 16. Struktura tyrozynazy z *Agaricus bisporus*, na podstawie [111]

Tyrozynazę podobnie jak lakazę, można pozyskać zarówno z komórek bakterii, grzybów, roślin, jak i owadów. Ważną rolę pełni również u ssaków, gdzie reguluje proces syntezy melaniny, przez co jest odpowiedzialna za proces pigmentacji skóry. W przypadku zaburzenia wydzielania tego enzymu, może nastąpić zahamowanie lub spowolnienie syntezy melaniny, co może prowadzić do chorób skóry, a w cięższych przypadkach nawet chorób autoimmunologicznych.

Mechanizm katalitycznego działania tyrozynazy został zdefiniowany jako dwustopniowe reakcje hydroksylacji monofenoli do odpowiadających im *orto*-difenoli oraz ich dalszego utleniania do *orto*-chinonów, w obecności tlenu cząsteczkowego w obydwu etapach [119]. Uwolnienie cząsteczek wody kończy utlenianie katalityczne i prowadzi do reakcji polimeryzacji *o*-chinonów do związków makrocząsteczkowych [120]. Analogicznie jak lakaza, tyrozynaza na skutek swojej niskiej specyficzności substratowej, może katalizować reakcje utleniania wielu związków fenolowych [121]. pH, w którym tyrozynaza wykazuje swoje optimum aktywności mieści się w przedziale od 5,5 do 8 [122], natomiast największą aktywność enzym ten wykazuje w zakresie temperatur do 30 do 40 °C. Większość tyrozynaz charakteryzuje się relatywnie dobrą stabilnością, a więc zachowuje wysoką aktywność (ponad 90%) w zmiennych warunkach pH oraz temperatury [123].

Tyrozynaza znajduje zastosowanie w wielu dziedzinach nauki oraz przemyśle. Melanina, która jest produktem syntezy katalizowanej przez omawiane białko, jest często wykorzystywana w przemyśle farmaceutycznym, między innymi przy produkcji nośników leków, przeciwutleniaczy czy też środków przeciwwirusowych. W ostatnich latach ten pigment jest wykorzystywany na szeroką skalę również jako biosensor związków fenolowych, pestycydów oraz jonów metali szkodliwych dla środowiska [124].

Inną grupę enzymów o znaczeniu środowiskowym stanowią peroksydazy, które podobnie jak lakaza i tyrozynaza, są enzymami oksydoredukującymi a ich zadaniem jest katalizowanie reakcji przy udziale nadtlenu wodoru. Obecność w strukturach peroksydaz atomów żelaza na trzecim stopniu utlenienia powoduje, że podczas reakcji z H_2O_2 w hemowym miejscu aktywnym enzymu powstaje utleniony związek pośredni [125]. Na rys. 17 przedstawiono mechanizm działania peroksydaz.



Rysunek 17. Mechanizm działania peroksydaz

Peroksydazy, ze względu na ich pochodzenie bądź też położenie aminokwasów w łańcuchu białkowym, można podzielić na trzy klasy, które przedstawiono na rys. 18.



Rysunek 18. Podział peroksydaz, na podstawie [126]

W ostatnich latach peroksydazy nabierają coraz większego znaczenia w kontekście ochrony środowiska. Dzięki właściwościom oksydującym, utleniają związki fenolowe, co pozwala na zastosowanie tych enzymów w procesach degradacji szkodliwych substancji obecnych w ściekach, zanieczyszczonych wodach czy też glebach [126].

Peroksydaza ligninowa [EC 1.11.1.14], oznaczana również jako LiP (rys. 19), to białko o masie pomiędzy 38 a 46 kDa, które katalizuje oksydacyjną reakcję depolimeryzacji ligniny [104]. Enzym ten zawiera 1 mol hemu (żelazoporfiryny), który przypada na 1 mola białka [127]. LiP oraz wiele jej izoform, po raz pierwszy odkryto w grzybach z gatunku *Phanerochaete chrysosporium*, lecz obecne są one również w wielu innych gatunków grzybów.

Peroksydaza ligninowa posiada niską specyficzność substratową, co oznacza, że katalizuje reakcje, w których substratami są aromatyczne związki fenolowe czy niefenolowe związki organiczne, z potencjałem redox wyższym niż 1,4 V [128]. LiP może być wykorzystywana w reakcjach zachodzących nawet w silnie kwaśnym środowisku, co jest związane z niską wartością pH, około 3, w której enzym wykazuje optimum katalityczne. Jednak temperatura, w której peroksydaza ligninowa osiąga maksimum swoich właściwości jest podobna jak w przypadku innych peroksydaz i znajduje się w zakresie od 40 do 50 °C [129].



Rysunek 19. Struktura peroksydazy ligninowej z *Phanerochaete chrysosporium*, na podstawie [111]

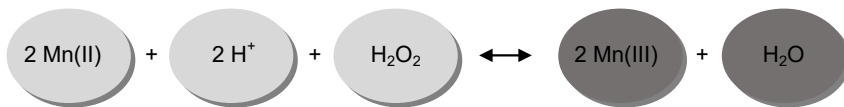
Kolejnym enzym z grupy peroksydaz, o wysokim potencjale biotechnologicznym, jest peroksydaza manganowa o numerze EC 1.11.1.13 (MnP). Ta oksydoreduktaza odpowiedzialna jest za utlenianie jonów manganu na drugim stopniu utlenienia do Mn(III), a następnie bierze udział w reakcjach degradacji związków fenolowych o rozbudowanej i skomplikowanej strukturze [130]. Tak jak peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganowa również posiada hem w roli kofaktora. Na rys. 20 przedstawiono strukturę trójwymiarową peroksydazy manganowej z *Phanerochaete chrysosporium*.



Rysunek 20. Struktura peroksydazy manganowej z *Phanerochaete chrysosporium*, na podstawie [111]

Mechanizm reakcji katalizowanej przez peroksydazę manganową jest skomplikowany i składa się z wielu następujących po sobie reakcji utleniania

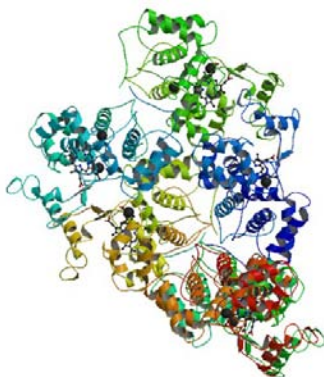
i redukcji, jednak w dużym uproszczeniu może zostać zaprezentowany w poniższy sposób (rys. 21).



Rysunek 21. Reakcja redox zachodząca w obecności peroksydazy manganowej

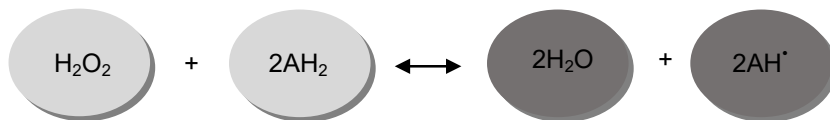
Peroksydaza manganowa (MnP) po raz pierwszy została odkryta w grzybie z gatunku *Phanerochaete chrysosporium*, a dalsze badania spowodowały, że została zidentyfikowana także w różnych rodzajach bakterii [131]. Temperatura, w której MnP wykazuje największą aktywność katalityczną zależy od rodzaju organizmu, z którego jest otrzymywana. Większość z nich najefektywniej działa w zakresie od 30 do 40 °C oraz w pH 4.

Wśród peroksydaz stosowanych w ochronie środowiska wymienić należy także enzymy pozyskiwane z korzeni chrzanu, jak np. peroksydaza chrzanowa (HRP) o numerze EC 1.11.1.7 (rys. 22). Białko to w swojej strukturze zawiera żelazoporfirynę, oraz dwa atomy wapnia. Obecność atomów wapnia podnosi stabilność enzymu, a ich brak mógłby spowodować gwałtowny spadek właściwości katalitycznych białka [132].



Rysunek 22. Struktura trójwymiarowa peroksydazy chrzanowej z *Armoracia rusticana*, na podstawie [111]

Peroksydaza chrzanowa katalizuje reakcję utleniania dużej grupy związków fenolowych, między innymi kwasów czy związków aromatycznych oraz ich pochodnych, w obecności nadtlenu wodoru. Schemat przemiany katalizowanej przez peroksydazy chrzanowe został przedstawiony na rys. 23.



Rysunek 23. Schemat reakcji katalizacyjnej z udziałem peroksydazy chrzanowej

Głównymi produktami reakcji katalizacyjnej prowadzonej w obecności HRP są woda oraz wolne rodniki, co przekłada się na powstanie wielkocząsteczkowych związków polimerowych, jako końcowych produktów przemiany [133]. Peroksydazę chrzanową charakteryzuje dobra stabilność oraz wysoka aktywność zarówno w wodnych, jak i niewodnych roztworach, co dodatkowo rozszerza gamę zastosowań tego enzymu. Biokatalizator ten wykazuje największą aktywność katalityczną w przedziale temperaturowym pomiędzy 25 a 40 °C, w pH w okolicach 7 [134].

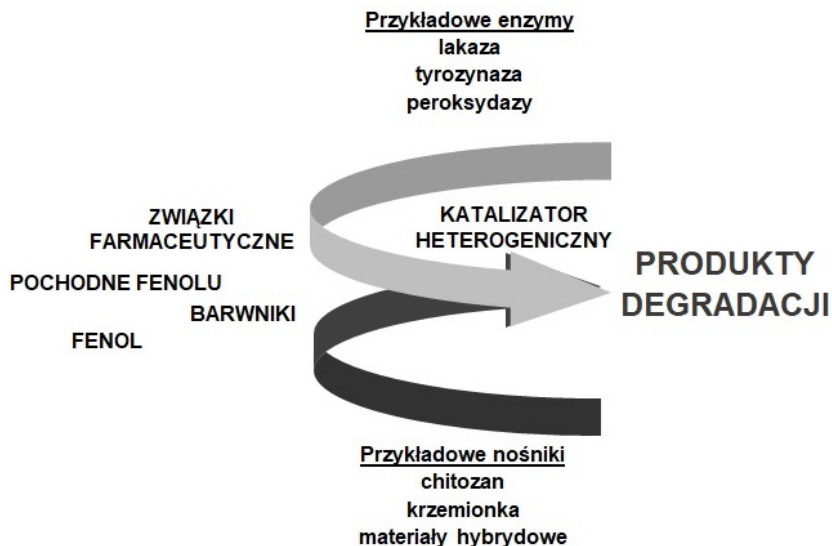
Oksydoreduktazy, w tym lakaza, tyrozynaza oraz inne peroksydazy, zasługują na szczególną uwagę w zakresie ochrony środowiska naturalnego i ludzkiego zdrowia. Posiadają one szereg właściwości, które są pożądane w różnych gałęziach przemysłu, a ich zastosowanie w warunkach zapewniających wysoką aktywność katalityczną skutkuje znacznym przyspieszeniem i usprawnieniem wielu procesów technologicznych.

3.2. IMMOBILIZOWANE ENZYMY W OCHRONIE ŚRODOWISKA

Działanie enzymów jest utrudnione ze względu na ich wysoką czułość względem zmieniających się warunków środowiska reakcji katalizacyjnej. Jednym z potencjalnych rozwiązań tego problemu jest unieruchomienie (immobilizacja) enzymów.

Wolne biokatalizatory takie jak lakaza, tyrozynaza czy peroksydazy, z powodu swoich zdolności do utleniania związków fenolowych, barwników organicznych czy związków farmaceutycznych, znajdują coraz szersze wykorzystanie w ochronie środowiska. Jednak zastosowanie procesu immobilizacji pozwala znacznie zwiększyć efektywność remediacji zanieczyszczeń ze względu na

znaczłą poprawę stabilności chemicznej oraz termicznej unieruchomionego enzymu, a także możliwość relatywnie łatwego wydzielenia heterogenicznego katalizatora ze środowiska reakcji, jak i możliwość jego ponownego wykorzystania [135]. Ideę procesu degradacji zanieczyszczeń środowiskowych z wykorzystaniem immobilizowanych enzymów schematycznie przedstawiono na rys. 24.

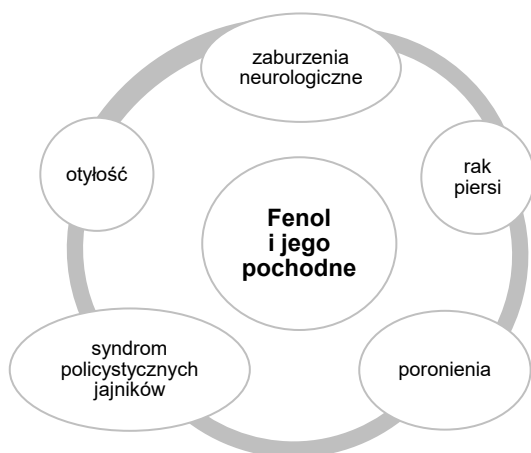


Rysunek 24. Idea procesu degradacji wybranych zanieczyszczeń środowiskowych z wykorzystaniem immobilizowanych enzymów

Do tej pory powstało wiele prac na temat immobilizacji oksydoreduktaz oraz wykorzystania wytworzonych systemów biokatalitycznych w procesach degradacji związków niebezpiecznych dla środowiska i zdrowia ludzkiego. W dalszej części rozdziału przedstawione zostały przykłady oksydoreduktaz immobilizowanych na nośnikach różnego pochodzenia, które zostały zastosowane w procesach remediacji takich zanieczyszczeń jak związki fenolowe oraz ich pochodne, barwniki naturalne i syntetyczne czy związki farmaceutyczne.

3.2.1. DEGRADACJA FENOLU ORAZ JEGO POCHODNYCH

Pochodne fenolu wpływają zarówno pozytywnie, jak i negatywnie na środowisko naturalne oraz prawidłowe funkcjonowanie organizmu ludzkiego. Na przykład ludzkie hormony, takie jak adrenalina, serotonina czy estradiol, które są rozbudowanymi strukturalnie pochodnymi fenolu, są niezbędne do zapewnienia właściwej pracy organizmów żywych [136]. Jednak w zdecydowanej większości związki fenolowe negatywnie oddziałują na ludzi i środowisko naturalne. Wpływ fenolu oraz jego pochodnych na ludzkie zdrowie, oraz choroby jakie związki te mogą wywoływać, został zobrazowany na rys. 25.



Rysunek 25. Wpływ fenolu i jego pochodnych na ludzkie zdrowie

Zagrożenia, jakie niesie ze sobą obecność związków fenolowych w ściekach spowodował opracowanie szerokiej grupy metod, które pozwalają na ich efektywne usuwanie. Spośród nich szczególną uwagę zajmuje biodegradacja z wykorzystaniem enzymów, ze względu fakt, że proces prowadzony jest w łagodnych warunkach, bez użycia rozpuszczalników organicznych, a stosowane enzymy odznaczają się wysoką efektywnością. Poniżej przedstawiono reprezentatywne przykłady stosowania enzymów z grupy oksydoreduktaz, immobilizowanych na różnych nośnikach, w procesach degradacji fenolu i jego pochodnych.

Interesujący przykład stanowi membrana polipropylenowa, która jest relatywnie często wykorzystywana, jako matryca do immobilizacji enzymów z różnych grup. Dzięki właściwościom polipropylenu, który jest odporny na działanie wielu substancji chemicznych, w tym kwasów i zasad, może być wykorzystywany w środowiskach narażonych na działanie rozpuszczalników organicznych i nieorganicznych. Dzięki wspomnianym cechom, polipropylen w znaczącym stopniu podnosi także odporność unieruchomionego białka na działanie pH, temperatury oraz rozpuszczalników. W swoich badaniach, Georgieva i inni zimmobilizowali lakazę z *Trametes versicolor* na membranie polipropylenowej. Taki układ został wykorzystany do degradacji fenolu oraz zbadania wpływu warunków prowadzenia reakcji na aktywność unieruchomionego białka. pH 5,5 oraz temperatura 55°C okazały się być optymalne dla tego heterogenicznego katalizatora. Uzyskane informacje wskazują zatem, że z wykorzystywaniem opisanego układu biokatalitycznego możliwe jest prowadzenie remediacji ścieków o lekko kwasowym odczynie [137].

Nie tylko syntetyczne polimery znajdują zastosowanie jako matryce do unieruchamiania enzymów. Również biopolimery mogą posłużyć jako nośniki w procesie immobilizacji. Yamada wraz ze współpracownikami zimmobilizowali tyrozynazę na filmie chitozanowym za pomocą wiązań kowalencyjnych. Przy użyciu tak powstałego biokatalizatora, w warunkach pH 7, temperaturze 45°C oraz w czasie 1 godziny, całkowicie usunięto *p*-krezol, *m*-krezol, jak i *p*-chlorofenol z roztworu wodnego. Nieco niższy wynik degradacji odnotowano dla *m*-chlorofenolu (72%). Tak wysokie efektywności degradacji sprawiają, że zastosowanie chitozanu jako nośnika stanowi niezwykle interesującą alternatywę przy wyborze matrycy do unieruchomienia tyrozynazy [138].

Wysokie efektywności usuwania fenolu można również otrzymać wykorzystując inne syntetyczne polimery, jako nośniki enzymów. Shesterenko wraz ze współpracownikami unieruchomili tyrozynazę z *Agaricus bisporus* na poli-*N*-winylopirolidonie. Taki układ umożliwił całkowitą degradację fenolu w czasie 1 godziny, w temperaturze 25°C. Nośnik ten może być wykorzystywany w środowiskach wodnych, ponieważ w formie usieciowanej jest nierozpuszczalny w tych warunkach. Jako materiał polarny, wykazuje wysokie powinowactwo do innych substancji polarnych, przy jednoczesnym zachowaniu stabilności w takim środowisku, co może ułatwić wykorzystanie wytworzonego systemu biokatalitycznego także w rozpuszczalnikach polarnych, innych niż woda [139].

Następnym syntetycznym polimerem, wykorzystanym jako matryca w procesie immobilizacji jest poliakrylonitryl. Ze względu na obecność grup funkcyjnych występujących na jego powierzchni, jest dobrym materiałem do unieruchamiania enzymów, szczególnie za pomocą immobilizacji z wiązaniem kowalencyjnym. Wang zastosował wspomniany materiał do immobilizacji peroksydazy chrzanowej, a wytworzony system katalityczny usunął ok. 95% fenolu w temperaturze 25°C oraz w pH 6 [140].

W immobilizacji enzymów o znaczeniu środowiskowym wykorzystywane są również nośniki nieorganiczne. Wśród nich najpopularniejsza jest krzemionka, która dzięki swojej chemicznej inertyności stanowi doskonały materiał nośny do zastosowania w różnych procesach. Sferyczne cząstki mezoporowatej krzemionki zostały wykorzystane do immobilizacji peroksydazy ligninowej przez Xu i współpracowników. Porównali oni właściwości unieruchomionego biokatalizatora z enzymem natywnym. Optymalne pH i temperatura dla immobilizowanej i wolnej peroksydazy ligninowej okazały się być podobne, aczkolwiek stabilność temperaturowa i pH uległy zdecydowanej poprawie po unieruchomieniu enzymu. W optymalnych warunkach, z wykorzystaniem wytworzonego systemu biokatalitycznego usunięto ponad 60% fenolu w pH 5 i temperaturze 25°C [141].

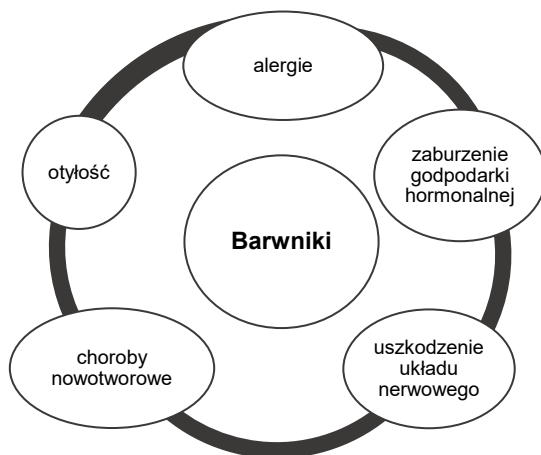
Materiały hybrydowe, dzięki połączeniu właściwości dwóch prekursorów, mają duży potencjał, jako materiały nośne w procesie unieruchamiania enzymów i ich stosowania w przemyśle. Matrycę tego typu wykorzystał Luan wraz ze współpracownikami. Zsyntezowali oni hybrydę, którą tworzył chitozan oraz biomimetyczne cząstki krzemionki, którą zastosowali do immobilizacji peroksydazy manganowej. Dzięki biokompatybilności biopolimeru i chemicznej inertyności krzemionki uzyskano materiał, na którym możliwa jest immobilizacja glikoprotein oraz zastosowania heterogenicznego biokatalizatora w różnych środowiskach reakcji. Podczas wykonanych badań, otrzymany układ biokatalityczny został wykorzystany do degradacji 2,6-dimetoksyfenolu, często stosowanego w produkcji żywności. Usunięto ponad 95% związku fenolowego w pH 4,5 i temperaturze 30°C w czasie zaledwie 1 godziny. Badania te są niezwykle obiecujące, ponieważ dostarczają informacji, które mogą być wykorzystane w usuwaniu związków fenolowych powstałych przy produkcji żywności [102].

Reasumując, szerokie grono materiałów nośnych, począwszy od nośników nieorganicznych, przez polimery, a skończywszy na materiałach hybrydowych, jest wykorzystywane do immobilizacji oksydoreduktaz, a następnie degradacji związków fenolowych. Przykłady remediacji związków niebezpiecznych dla

zdrowia ludzkiego i środowiska naturalnego wskazują, że degradacja fenolu i jego pochodnych, z udziałem immobilizowanych oksydoreduktaz, zachodzi z najlepszą efektywnością w pH od 4,5 do 7 oraz w temperaturze w przedziale od 25 do 55 °C, w zależności od zastosowanego nośnika.

3.2.2. DEGRADACJA BARWNIKÓW ORGANICZNYCH

W dzisiejszych czasach barwniki syntetyczne są szeroko używane w różnych gałęziach przemysłu, spośród których przemysł papierniczy, poligraficzny oraz tekstylny odznaczają się zużyciem największej ilości barwników azo- i antrachinonowych [142]. Z tego też powodu, w tych branżach generowane są duże ilości odpadowych substancji barwiących, które przedostają się do ścieków oraz wód gruntowych zanieczyszczając je. Wiele z tych związków może wywierać negatywny wpływ na zdrowie ludzkie, a środowisko naturalne nie zostaje obojętne na ich obecność [143]. Ich wpływ na ludzkie zdrowie został pokazany schematycznie na rys. 26.



Rysunek 26. Wpływ wybranych barwników naturalnych oraz syntetycznych na ludzkie zdrowie

Wyzwaniem jest zatem degradacja barwników. Związki te mogą być usuwane za pomocą wielu metod, takich jak adsorpcja czy wymiana jonowa. Jednak ich skomplikowana i rozbudowana struktura chemiczna w praktyce często

uniemożliwia całkowite usunięcie barwników ze ścieków. Niezwykle pomocne w rozwiązaniu tego problemu okazało się zastosowanie immobilizowanych oksydoreduktaz, jako biokatalizatorów w reakcji utleniania barwników [144].

Pożądanymi właściwościami, pod kątem wykorzystania, jako nośnik w immobilizacji oksydoreduktaz, charakteryzuje się chitozan. Ten relatywnie łatwodostępny, biokompatybilny i hydrofilowy biopolimer odznacza się dużą stabilnością mechaniczną oraz termiczną, co pozwala na immobilizację enzymów na jego powierzchni i zastosowanie wytworzonego systemu biokatalitycznego w degradacji niebezpiecznych związków. Obecność wielu grup hydroksylowych i aminowych na jego powierzchni pozwala na efektywne związanie lakaz oraz peroksydaz, bez stosowania czynników modyfikujących i sieciujących [145]. Właściwości tego nośnika wykorzystywała Sofia ze współpracownikami, którzy na powierzchni chitozanu oraz chitozanowych sfer, kowalencyjnie oraz adsorpcyjnie unieruchomili lakazę, peroksydazę manganową oraz peroksydazę chrzanową. Wytworzone materiały, z powodu swojej niskiej specyficzności, zostały użyte do degradacji syntetycznych i naturalnych barwników azowych wykorzystywanych w przemyśle tekstylnym. W optymalnych warunkach pracy immobilizowanego enzymu (temperatura 30–50 °C i pH 5–8) wydajność enzymatycznej degradacji barwników wynosiła od ok. 65 do ponad 95% w przypadku naturalnego barwnika Sandal Fix Turq Blue GWWF [146]. Należy również zwrócić uwagę na możliwość wielokrotnego wykorzystania układów po immobilizacji, bowiem nawet po piątym cyklu degradacji, usunięte zostało ponad 60% każdego z testowanych barwników.

Często poszukiwane są nośniki, które nie tylko spełniałyby kryteria dyktowane właściwościami enzymu, ale również relatywnie tanie. Jednym z nich jest włókno kokosowe, które jako odpad, jest wykorzystywane m.in. jako ściółka dla zwierząt. Taki nośnik wykorzystał Cristovao do immobilizacji dostępnej komercyjnie lakazy z *Aspergillus meleus*. Wytworzony system został następnie zaimplementowany do usuwania barwników (np. Reactive Black 5, Reactive Blue 114, Reactive Yellow 15, Reactive Yellow 176, Reactive Red 239 i Reactive Red 180). Wyniki przeprowadzonych testów wskazują, że tylko 5-proc. degradację uzyskano dla barwnika Reactive Yellow 176, natomiast dla barwników Reactive Black 5 oraz Reactive Blue 114, wydajność usuwania przekroczyła 90% [147]. Wysoka efektywność degradacji dwóch ostatnich związków pozwala stwierdzić, że wykorzystanie układu lakaza – włókno kokosowe daje perspektywy na zastosowanie tego heterogenicznego biokatalizatora na większą skalę, w przemyśle tekstylnym.

W innych badaniach, Qiu wykorzystał nanoporowate złoto i na jego powierzchni zaadsorbował peroksydazę ligninową z *Phanerochaete chrysosporium*. Degradacji zostały poddane takie barwniki jak Fuksyna czy Rodamina B, a w pracy określono możliwość enzymatycznego utlenienia tych związków, a także efektywność tego procesu. Fuksyna, która powszechnie jest stosowana jako barwnik w atramentach i farbach, została zdegradowała w 85%, natomiast wydajność usuwania Rodaminy B, służącej do barwienia preparatów biologicznych, wyniosła ok. 75% [148]. Mimo, że nośnik ze złota jest drogi, to jego właściwości, jak duża porowatość, wysoka stabilność, a także możliwość transportu elektronów mogą być wykorzystane w procesach prowadzonych w skrajnych warunkach pH lub temperatury, gdzie inne materiały nośne mogą ulec degradacji.

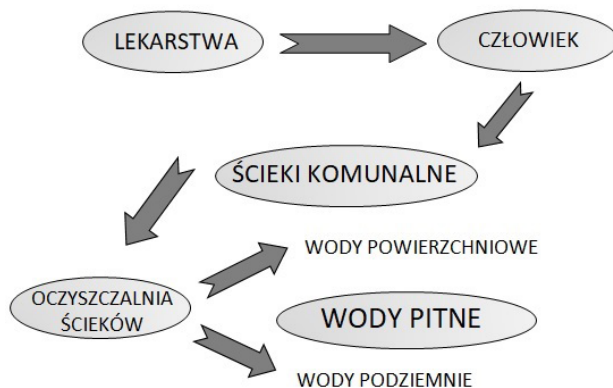
Z kolei Hu wraz z zespołem zsyntezowali mezoporowatą krzemionkę, której powierzchnię dodatkowo zmodyfikowano za pomocą 3-aminopropylotrietoksylsilanu, w celu zwiększenia ilości grup aminowych na powierzchni nośnika. Na tak przygotowanej matrycy kowalencyjnie unieruchomiono peroksydazę ligninową (LiP) z *Phanerochaete chrysosporium*. Powstały system biokatalityczny wykazał znaczną poprawę stabilności na zmiany pH i temperatury, w porównaniu do natywnego biokatalizatora. Dodatkowo immobilizowana biomolekuła została wykorzystana do degradacji barwnika Acid Orange II w pH 4 i temperaturze 35 °C. W takich warunkach degradacji uległo prawie 80% barwnika, a po 5 cyklach katalitycznych, wydajność remediacji utrzymywała się na poziomie ponad 50%, co wskazuje na możliwość wielokrotnego wykorzystania unieruchomionej LiP do usuwania barwników z roztworów wodnych [149].

Szeroka gama barwników organicznych może być usuwana ze ścieków za pomocą immobilizowanych oksydoreduktaz, z wysokimi wydajnościami, często przekraczającymi 80%. Co więcej, wytworzony system biokatalityczny może być wykorzystywany do remediacji barwników kilkukrotnie, co pozwala ograniczyć koszty biodegradacji substancji szkodliwych.

3.2.3. DEGRADACJA ZWIĄZKÓW FARMACEUTYCZNYCH

W Unii Europejskiej rosnącym problemem jest obecność substancji farmaceutycznych, a także substancji czynnych antybiotyków oraz hormonów w ściekach. Są to takie związki jak: estradiol, 17- β -estradiol czy diklofenak. Farmaceutyki te trafiają do zbiorników wodnych, z których czerpana jest woda zasilająca miejskie instalacje wodociągowe. Rysunek 27 opisuje drogę przedostawania się związków farmaceutycznych do wody pitnej. W efekcie,

substancje te mogą powtórnie, w niekontrolowanych ilościach, trafić do ludzkiego organizmu wywołując wielu chorób i problemów zdrowotnych, a na szczególne niebezpieczeństwo narażony jest układ rozrodczy. Do usuwania tych związków ze ścieków oraz wód gruntowych, wykorzystane mogą zostać immobilizowane oksydoreduktazy.



Rysunek 27. Droga przedostawania się związków farmaceutycznych do wody pitnej

Paracetamol, jako związek farmaceutyczny, jest szeroko stosowany w terapii przeciwbólowej i przeciwgorączkowej. Jednak może on łatwo gromadzić się w środowisku wodnym. W przeciągu ostatnich kilkunastu lat, znaczne zwiększenie jego podaży spowodowało, że staje się on realnym zagrożeniem dla zdrowia ludzkiego i środowiska naturalnego. W wątrobie jego część jest konwertowana w toksyczną *N*-acetylo-*p*-benzochinoiminę, co wywołuje niepożądane dla człowieka efekty [150]. Xu przeprowadził badania, których celem było usunięcie paracetamolu z wodnego roztworu, poprzez zastosowanie peroksydazy chrzanowej zimmobilizowanej na materiale hybrydowym, składającym się z poli(alkoholu winylowego), poli(kwasu akrylowego) oraz krzemionki. Wytworzony materiał został uformowany w membranę o średnicy włókien od 200 do 300 nm. Materiał ten jest nierozpuszczalny w wodzie, co pozwoliło na jego zastosowanie w roztworach wodnych. Unieruchomiony biokatalizator zachował około 80% aktywności enzymatycznej wolnego białka, a mimo to efektywność usuwania paracetamolu okazała się być podobna (ok. 85%), zarówno dla enzymu unieruchomionego, jak i wolnego. Immobilizowana peroksydaza charakteryzowała się wyższą tolerancją na zmiany pH i temperatury

niż wolny enzym, a dodatkowo, ze względu na zachowanie wysokich właściwości katalitycznych, możliwe było jej wielokrotne wykorzystanie [151].

Inny materiał hybrydowy, złożony z poliamidu 6 oraz nanowłókien chitozanu, został zmodyfikowany przez surowiczą albuminę wołową oraz heksametylenodiaminę. Na tak przygotowanej matrycy została unieruchomiona lakaza z *Trametes versicolor*, a następnie wykorzystana, jako biokatalizator, w procesie degradacji związku zaburzającego działanie układu hormonalnego człowieka jakim jest etynyloestradiol. Substancja ta znajduje się w większości współczesnych tabletek antykoncepcyjnych i nie jest przyswajana przez układ pokarmowy po doustnym zażyciu, a nawet niewielkie ilości tego związku mogą powodować u mężczyzn raka prostaty. Wyprodukowany system biokatalityczny nie tylko umożliwił całkowity rozkład etynyloestradiolu, ale również charakteryzował się możliwością ponownego wykorzystania. Wpływ na to ma wysoka stabilność unieruchomionego białka, która pozwoliła na zachowanie całkowitej aktywności początkowej enzymu po trzech przeprowadzonych cyklach degradacji [152,153].

Nieorganiczne materiały węglowe również cieszą się dużym powodzeniem jako nośniki w immobilizacji enzymów, ze względu na dużą porowatość i wysoką wytrzymałość. Naghdi w artykule *Immobilized laccase on oxygen functionalized nanobiochars through mineral acids treatment for removal of carbamazepine* zastosował materiał węglowy do immobilizacji lakazy. Następnie nośnik z enzymem wykorzystano do utlenienia karbamazepiny, związku psychotropowego wykorzystywanego w leczeniu padaczki. Unieruchomiona biomolekuła wykazywała najwyższą aktywność w temperaturze 30°C i pH 4. W tych warunkach, efektywność usuwania karbamazepiny wyniosła 80% i malała sukcesywnie aż do 6 cyklu katalitycznego, w którym wynosiła mniej niż 20%. Wysoka efektywność procesu wskazuje, że wykorzystany materiał, wraz z unieruchomionym enzymem są wydajnym narzędziem do usuwania karbamazepiny ze ścieków, co może hamować jej negatywny wpływ na układ nerwowy człowieka [144].

Przedstawione przykłady udowadniają możliwość usuwania związków farmaceutycznych ze ścieków przy pomocy immobilizowanych oksydoreduktaz. W obecnych czasach stężenia farmaceutyków w wodach i ściekach komunalnych mają tendencję wzrostową, co odbija się na zdrowiu ludzkim. Wysokie wydajności procesów enzymatycznej degradacji dają perspektywę na zminimalizowanie obecności związków farmaceutycznych w ściekach oraz wodach pitnych, co w konsekwencji, może spowodować obniżenie zachorowalności na choroby układu hormonalnego.

4. PODSUMOWANIE

Przedstawione informacje dowodzą jak ogromny potencjał drzemie w enzymach, jako naturalnych katalizatorach bardzo szerokiej gamy przemian chemicznych. Wysoka specyficzność oraz selektywność tych białek, w połączeniu z możliwością znacznego przyspieszenia szybkości reakcji przez biokatalizatory powodują, że w ciągu ostatnich dekad znaczenie białek enzymatycznych w wielu dziedzinach nauki, przemysłu, życia codziennego, a także ochrony środowiska, stale rośnie.

Jednakże ich niska stabilność oraz ściśle sprecyzowane parametry pracy powodują, że konieczne było opracowanie metod, których celem jest zarówno poprawa stabilności biokatalizatorów, jak i podniesienie ich aktywności katalitycznej. Jedną z takich technik jest immobilizacja, polegająca na związaniu enzymu z nierozpuszczalnym nośnikiem, której wynikiem jest zmiana postaci białka z katalizatora homogenicznego (rozpuszczalna (wolna) forma białka) do postaci heterogenicznej. W wyniku przeprowadzenia procesu immobilizacji, znacznie wzrasta odporność enzymów na zmienne warunki procesowe, a także poprawiona zostaje kontrola technologiczna realizowanej przemiany.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się na opracowanie efektywnych oraz relatywnie tanich technik ochrony środowiska. Jedną z możliwości stanowią enzymy z grupy oksydoreduktaz (EC 1), których właściwości utleniająco-redukujące mogą zostać wykorzystane do usuwania związków fenolowych oraz ich pochodnych z zanieczyszczonych roztworów wodnych czy gleb. W celu podniesienia efektywności realizowanych procesów bioremediacji, enzymy w wolnej formie często są zastępowane przez systemy biokatalityczne wytworzone w procesie immobilizacji. Zaprezentowane informacje wskazują, że jako nośniki dla enzymów o dużym znaczeniu środowiskowym, jak lakazy, tyrozynazy czy peroksydazy, wykorzystane mogą zostać zarówno materiały pochodzenia organicznego, nieorganicznego, jak i układy hybrydowe/kompozytowe. Dobór nośnika związany jest zarówno z rodzajem unieruchamianego białka, jak i parametrami środowiska reakcji, w których pracować ma system enzymatyczny. Przy odpowiedniej selekcji matrycy, pod kątem usuwanego związku, a także rodzaju enzymu, możliwe jest osiągnięcie całkowitej degradacji substancji szkodliwych.

LITERATURA

1. K.L. Manchester, *Louis Pasteur (1822–1895) – Chance and the prepared mind*, Trends in Biotechnology, 1995, 13, 511–515.

2. L.H. Chen, G.L. Kenyon, F. Curtin, S. Harayama, M.E. Bembenek, G. Hajjipour, C.P. Whitman, *4-Oxalocrotonate tautomerase, an enzyme composed of 62 amino acid residues per monomer*, *The Journal of Biological Chemistry*, 1992, 25, 17716–17721.
3. S. Smith, *The animal fatty acid synthase: One gene, one polypeptide, seven enzymes*, *The FASEB Journal*, 1995, 8, 1248–1259.
4. R.K. Murray, F. Kokot, A. Koj, Z. Aleksandrowicz, *Biochemia Harpera*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006.
5. J.W. Pelley, *Elsevier's integrated review biochemistry, Second edition*, Elsevier Saunders, Filadelfia 2012.
6. A. Fersht, *Enzyme structure and mechanism*, W.H. Freeman Publishers, Nowy Jork 1985.
7. W.P. Jencks, *Catalysis in chemistry and enzymology*, Dover Publications, Nowy Jork 1987.
8. A. Fersht, *Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding*, W.H. Freeman Publishers, Nowy Jork 1999.
9. E. Fischer, *Einfluss der configuration auf die wirkung der enzyme*, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1894, 27, 2985–2993.
10. A.G. Ogston, *Interpretation of experiments on metabolic processes, using isotopic tracker elements*, *Nature*, 1948, 162, 963–966.
11. D.E. Koshland, *Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1985, 44, 98–104.
12. E.C. Webb, *Enzyme nomenclature 1992: Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes*, San Diego Academic Press, San Diego 1992.
13. J. Luo, A.S. Meyer, R.V. Mateiu, M. Pinelo, *Cascade catalysis in membranes with enzyme immobilization for multienzymatic conversion of CO₂ to methanol*, *New Biotechnology*, 2015, 32, 319–327.
14. P.M. van Sctne, L.Y. Young, *Biodegradation of phenol: Mechanisms and applications*, *Bioremediation Journal*, 2000, 4, 1–18.
15. F.E. Bleeker, S. Lamba, C. Zanon, R.J. Molenaar, T.J. Hulsebos, D. Troost, A.A. van Tilborg, W.P. Vandertop, S. Leenstra, C.J. van

- Noorden, A. Bardelli, *Mutational profiling of kinases in glioblastoma*, BMC Cancer, 2014, 14, 718–730.
16. E.G. Giannini, R. Testa, V. Savarino, *Liver enzyme alteration: A guide for clinicians*, Canadian Medical Association Journal, 2005, 172, 367–379.
 17. J. Zdarta, K. Budzińska, A. Kołodziejczak-Radzimska, Ł. Klapiszewski, K. Siwińska-Stefańska, P. Bartzak, A. Piasecki, H. Maciejewski, T. Jesionowski, *Hydroxyapatite as a support in protease immobilization process*, Physicochemical Problems of Mineral Processing, 2015, 51, 633–646.
 18. K.E. Jaeger, T.M. Reetz, *Microbial lipases from versatile tools for biotechnology*, Trends in Biotechnology, 1998, 16, 396–403.
 19. S.M. Dean, W.A. Greenberg, C.H. Wong, *Recent advances in aldolase-catalyzed asymmetric synthesis*, Advanced Synthesis & Catalysis, 2007, 349, 1308–1320.
 20. P. Clapes, W.D. Fessner, G.A. Sprenger, A.K. Samland, *Recent progress in stereoselective synthesis with aldolases*, Current Opinion in Chemical Biology, 2010, 14, 154–167.
 21. K. Beerens, T. Desmet, W. Soetaert, *Enzymes for the biocatalytic production of rare sugars*, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2012, 39, 823–834.
 22. S.H. Bhosale, M.B. Rao, V.V. Deshpande, *Molecular and industrial aspects of glucose isomerase*, Microbiological Reviews, 1996, 60, 280–300.
 23. J.M. Pascal, O.V. Tsodikov, G.L. Hura, W. Song, E.A. Cotner, S. Classen, A.E. Tomkinson, J.A. Tainer, T. Ellenberger, *A flexible interface between DNA ligase and PCNA supports conformational switching and efficient ligation of DNA*, Molecular Cell, 2006, 24, 279–291.
 24. Market and Market, *Industrial enzymes market by type, application, brands & by region – global trends and forecasts to 2020*, MandM Publishers, Magarpatta City 2015.
 25. P. Sidhu, R. Sharma, S.K. Soni, J.K. Gupta, *Production of extracellular alkaline lipase by a new thermophilic Bacillus sp.*, Folia Microbiologica, 1998, 43, 51–54.

26. D. Sriprapundh, C. Vieille, J.G. Zeikus, *Molecular determinants of xylose isomerase thermal stability and activity: Analysis of thermozymes by site-directed mutagenesis*, Protein Engineering, 2000, 13, 259–265.
27. F. Gotz, S. Fischer, K.H. Schleifer, *Purification and characterisation of an unusually heat-stable and acid/base-stable class I fructose-1, 6-bisphosphate aldolase from Staphylococcus aureus*, European Journal of Biochemistry, 1980, 108, 295–301.
28. B. Bhunia, B. Basak, T. Mandal, P. Bhattacharya, A. Dey, *Effect of pH and temperature on stability and kinetics of novel extracellular serine alkaline protease (70 kDa)*, International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 54, 1–8.
29. R.C. Chang, S.J. Chou, J.F. Shaw, *Multiple forms and functions of Candida rugosa lipase*, Biotechnology and Applied Biochemistry, 1994, 19, 93–97.
30. M. Arroyo, J.M. Sanchez-Montero, J.V. Sinisterra, *Thermal stabilization of immobilized lipase B from Candida antarctica on different supports: Effect of water activity on enzymatic activity in organic media*, Enzyme and Microbial Technology, 1999, 24, 3–12.
31. P. Adlercreutz, *Immobilisation and application of lipases in organic media*, Chemical Society Reviews, 2013, 42, 6406–6436.
32. A.M. Klibanov, *Improving enzymes by using them in organic solvents*, Nature, 2001, 409, 241–246.
33. W. Soetaert, E.J. Vandamme, *The scope and impact of industrial biotechnology*, Wiley-VCH Verlag GmbH and Co., Weinheim 2010.
34. M.J. Niphakis, B.F. Cravat, *Enzyme inhibitor discovery by activity-based protein profiling*, Annual Review of Biochemistry, 2014, 83, 341–377.
35. R. Walsh, E. Martin, S. Darvesh, *Limitations of conventional inhibitor classifications*, Integrative Biology, 2011, 3, 1197–1201.
36. W.W. Cleland, *The Kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products 2. Inhibition: Nomenclature and theory*, Biochimica and Biophysica Acta, 1963, 67, 173–187.
37. K. Sanderson, *Irreversible kinase inhibitors gain traction*, Nature Reviews Drug Discovery, 2013, 12, 649–651.
38. T. Jesionowski, J. Zdarta, B. Krajewska, *Enzyme immobilization by adsorption: A review*, Adsorption, 2014, 20, 801–821.

39. T. Tosa, T. Mori, N. Fuse, I. Chibata, *Studies on continuous enzyme reactions. I. Screening of carriers for preparation of water-insoluble aminoacylase*, *Enzymologia*, 1966, 31, 214–224.
40. W. Liu, L. Wang, R. Jiang, *Specific enzyme immobilization approaches and their application with nanomaterials*, *Topics in Catalysis*, 2012, 55, 1146–1156.
41. S. Datta, L.R. Christena, Y.R.S. Rajaram, *Enzyme immobilization: An overview on techniques and support materials*, 3 *Biotech*, 2013, 3, 1–9.
42. M. Turkiewicz, K. Makowski, *Nowe metody immobilizacji enzymów*, *Biotechnologia*, 2004, 3, 113–128.
43. N.R. Mohamad, N.H.C. Marzuki, N.A. Buang, F. Huyop, R.A. Wahab, *An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes*, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2015, 29, 205–220.
44. F. Jia, B. Narasimhan, S. Mallapragada, *Materials-based strategies for multi-enzyme immobilization and co-localization: A review*, *Biotechnology & Bioengineering*, 2014, 111, 1–14.
45. D.N. Tran, K.J. Balkus, *Perspective of recent progress in immobilization of enzymes*, *ACS Catalysis*, 2011, 1, 956–968.
46. A.A. Khan, M.A. Alzohairy, *Recent advances and applications of immobilized enzyme technologies: A review*, *Research Journal of Biological Sciences*, 2010, 5, 565–575.
47. L. Cao, *Carrier-bound immobilized enzymes: Principles, applications and design*, Wiley-VCH Verlag GmbH and Co., Weinheim 2005.
48. G. Ottolina, G. Carrea, S. Riva, L. Sartore, F.M. Veronese, *Effect of the enzyme form on the activity, stability and enantioselectivity of lipoprotein lipase in toluene*, *Biotechnology Letters*, 1992, 14, 947–952.
49. F.A. Erhardt, H.J. Jordening, *Immobilization of dextranase from *Chaetomium erraticum**, *Journal of Biotechnology*, 2007, 131, 440–447.
50. P.B. Poulsen, *Current applications of immobilized enzymes for manufacturing purposes*, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1984, 1, 121–140.
51. A. Sassolas, L.J. Blum, B.D. Leca-Bouvier, *Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors*, *Biotechnology Advances*, 2012, 30, 489–511.

52. V. Krasnan, R. Stloukal, M. Rosenberg, M. Rebros, *Immobilization of cells and enzymes to LentiKats (R)*, Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100, 2535–2553.
53. A.I.S. Brígida, V.M.A. Calado, L.R.B. Goncalves, M.A.Z. Coelho, *Effect of chemical treatments on properties of green coconut fiber*, Carbohydrate Polymers, 2010, 79, 832–838.
54. S. Mitchell, J.P. Ramírez, *Mesoporous zeolites as enzyme carriers: Synthesis, characterization, and application in biocatalysis*, Catalysis Today, 2011, 168, 28–37.
55. C. Mateo, O. Abian, R. Fernandez-Lafuente, J.M. Guisan, *Reversible enzyme immobilization via a very strong and nondistorting ionic adsorption on support-polyethylenimine composites*, Biotechnology and Bioengineering, 2000, 68, 98–105.
56. A.A. Ruediger, W. Bremser, O.I. Strube, *The enzyme-mediated autodeposition of casein: Effect of enzyme immobilization on deposition of protein structures*, Journal of Coatings Technology and Research, 2016, 13, 597–611.
57. M.D. Trevan, *Enzyme immobilization by covalent bonding*, Methods in Molecular Biology, 1988, 3, 495–510.
58. F. Lopez-Gallego, T. Montes, M. Fuentes, N. Alonso, V. Grazu, L. Betancor, J.M. Guisan, R. Fernández-Lafuente, *Improved stabilization of chemically aminated enzymes via multipoint covalent attachment on glyoxyl supports*, Journal of Biotechnology, 2005, 116, 1–10.
59. R.C. Rodrigues, C.A. Godoy, G. Volpato, M.A.Z. Ayub, R. Fernandez-Lafuente, J.M. Guisan, *Immobilization-stabilization of the lipase from Thermomyces lanuginosus: Critical role of chemical amination*, Process Biochemistry, 2009, 44, 963–968.
60. H.H. Weetal, A.M. Filbert, *Porous glass for affinity chromatography applications*, Methods in Enzymology, 1974, 34, 59–78.
61. X.Y. Yang, G. Tian, N. Jang, *Immobilization technology: A sustainable solution for biofuel cell design*, Energy & Environmental Science, 2012, 5, 5540–5563.
62. P. Nikolova, O.P. Ward, *Whole cell biocatalysis in nonconventional media*, Journal of Industrial Microbiology, 1993, 12, 76–86.
63. M. Asgher, M. Shahid, M. Kamal, H.M.N. Iqbal, *Recent trends and valorization of immobilization strategies and lignolytic enzymes by*

- industrial biotechnology*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2014, 101, 55–66.
64. R. Dembczyński, T. Jankowski, *Unieruchamianie komórek drobnoustrojów metodą kapsułkowania – stan obecny i możliwości rozwoju tej metody*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, 41, 5–17.
 65. Z. Zhang, E.A. Decker, D.J. McClements, *Encapsulation, protection, and release of polyunsaturated lipids using biopolymer-based hydrogel particles*, Food Research International, 2014, 64, 520–526.
 66. L. Betancor, H.R. Luckarift, *Bioinspired enzyme encapsulation for biocatalysis*, Trends in Biotechnology, 2008, 26, 566–572.
 67. R.A. Sheldon, *Enzyme immobilization: The quest for optimum performance*, Advanced Synthesis & Catalysis, 2007, 349, 1289–1307.
 68. R.A. Sheldon, R. Schoevaart, L.M. van Langen, *Cross-linked enzyme aggregates (CLEAs): A novel and versatile method for enzyme immobilization*, Biocatalysis and Biotransformation, 2005, 23, 141–147.
 69. R.A. Sheldon, *Cross-linked enzyme aggregates as industrial biocatalysts*, Organic Process Research & Development, 2011, 15, 213–223.
 70. S. Talekar, A. Joshi, G. Joshi, P. Kamat, R. Haripurkar, S. Kambale, *Parameters in preparation and characterization of cross linked enzyme aggregates (CLEAs)*, RSC Advances, 2013, 3, 12485–12511.
 71. H. Zhao, *Methods for stabilizing and activating enzymes in ionic liquids – A review*, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2010, 85, 891–907.
 72. J.D. Cui, S.R. Jia, *Optimization protocols and improved strategies of cross-linked enzyme aggregates technology: Current development and future challenges*, Critical Reviews in Biotechnology, 2015, 35, 15–28.
 73. R.A. Sheldon, *Green solvents for sustainable organic synthesis: State of the art*, Green Chemistry, 2005, 7, 267–278.
 74. K. Hernandez, R. Fernandez-Lafuente, *Control of protein immobilization: Coupling immobilization and site-directed mutagenesis to improve biocatalyst or biosensor performance*, Enzyme and Microbial Technology, 2011, 48, 107–122.

75. M. Wang, W. Qi, R. Su, Z. He, *Advances in carrier-bound and carrier-free immobilized nanobiocatalysts*, Chemical Engineering Science, 2015, 135, 21–32.
76. L. Cao, L. van Langen, R.A. Sheldon, *Immobilised enzymes: Carrier-bound or carrier-free?* Current Opinion in Biotechnology, 2003, 14, 387–394.
77. Y.F. Zhang, J. Ge, Z. Liu, *Enhanced activity of immobilized or chemically modified enzymes*, ACS Catalysis, 2015, 5, 4503–4513.
78. A. Salis, L. Medda, F. Cugia, M. Monduzzi, *Effect of electrolytes on proteins physisorption on ordered mesoporous silica materials*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2016, 137, 77–90.
79. C. Altunbas, F.Z. Ural, M. Uygun, N. Avcibasi, U. Avcibasi, D.A. Uygun, S. Akgol, *Hydrophobic nano-carrier for lysozyme adsorption*, Bulletin of Materials Science, 2016, 39, 353–359.
80. R.M. Grudzień, B.E. Grabicka, R. Felix, M. Jaroniec, *Polymertemplated organosilicas with hexagonally ordered mesopores: The effect of organosilane addition at different synthesis stages*, Adsorption, 2007, 13, 323–329.
81. M. Hartmann, X. Kostrov, *Immobilization of enzymes on porous silicas-benefits and challenges*, Chemical Society Reviews, 2013, 42, 6277–6289.
82. S. Dutta, K.C.W. Wu, *Enzymatic breakdown of biomass: Enzyme active sites, immobilization, and biofuel production*, Green Chemistry, 2014, 16, 4615–4626.
83. C. Ispas, I. Sokolov, S. Andreescu, *Enzyme-functionalized mesoporous silica for bioanalytical applications*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 393, 543–554.
84. X.S. Zhao, X.Y. Bao, W. Guo, F.Y. Lee, *Immobilizing catalysts on porous materials*, Materials Today, 2006, 9, 32–39.
85. M.H. Sorensen, J.B.S. Ng, L. Bergstrom, P.C.A. Alberius, *Improved enzymatic activity of thermomyces lanuginosus lipase immobilized in a hydrophobic particulate mesoporous carrier*, Journal of Colloid and Interface Science, 2010, 343, 359–365.
86. M.L. Verma, R. Chaudhary, T. Tsuzuki, C.J. Barrow, M. Puri, *Immobilization of beta-glucosidase on a magnetic nanoparticle improves thermostability: Application in cellobiose hydrolysis*, Bioresource Technology, 2013, 135, 2–6.

87. E. Magner, *Immobilisation of enzymes on mesoporous silicate materials*, Chemical Society Reviews, 2013, 42, 6213–6222.
88. F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Froba, *Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials*, Angewandte Chemie International Edition, 2006, 45, 3216–3251.
89. A.E. David, N.S. Wang, V.C. Yang, A.J. Yang, *Chemically surface modified gel (CSMG): An excellent enzyme-immobilization matrix for industrial processes*, Journal of Biotechnology, 2006, 125, 395–407.
90. L.F. Bautista, G. Morales, R. Sanz, *Immobilization strategies for laccase Trametes versicolor on mesostructured silica materials and the application to the degradation of naphthalene*, Bioresource Technology, 2010, 101, 8541–8548.
91. X. Chen, S.S. Mao, *Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications and applications*, Chemical Reviews, 2007, 107, 2891–2959.
92. E. Selvarajan, V. Mohanasrinivasan, C.S. Devi, C.G.P. Doss, *Immobilization of beta-galactosidase from Lactobacillus plantarum HF571129 on ZnO nanoparticles: Characterization and lactose hydrolysis*, Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38, 1655–1669.
93. J.C. Santos, G.F.M. Nunes, A.B.R. Moreira, V.H. Perez, H.F. de Castro, *Characterization of Candida rugosa lipase immobilized on poly(N-methyloacrylamide) and its application in butyl butyrate synthesis*, Chemical Engineering & Technology, 2007, 30, 1255–1261.
94. F. van de Velde, N.D. Lourenco, H.M. Pinheiro, M. Bakker, *Carrageenan: A food-grade and biocompatible support for immobilisation techniques*, Advanced Synthesis & Catalysis, 2002, 344, 815–835.
95. B. Krajewska, Z. Piwowarska, *Free vs. chitosan-immobilized urease: Microenvironmental effects on enzyme inhibitions*, Biocatalysis and Biotransformation, 2005, 23, 225–232.
96. C.J. Gray, J.S. Narang, S.A. Barker, *Immobilization of lipase from Candida cylindracea and its use in the synthesis of menthol esters by transesterification*, Enzyme and Microbial Technology, 1990, 12, 800–807.
97. J. Zdarta, T. Jesionowski, *Luffa cylindrica sponges as a thermally and chemically stable support for Aspergillus niger lipase*, Biotechnology Progress, 2016, 32, 657–665.

98. K. Wrzosek, M.A.G. Rivera, K. Bettenbrock, A. Seidel-Morgenstern, *Racemization of undesired enantiomers: Immobilization of mandelate racemase and application in a fixed bed reactor*, *Biotechnology Journal*, 2016, 11, 453–463.
99. G. Torrelo, N. van Midden, R. Stloukal, U. Hanefeld, *Immobilized hydroxynitrile lyase: A comparative study of recyclability*, *ChemCatChem*, 2014, 6, 1096–1102.
100. M. Sonmez, M. Georgescu, L. Alexandrescu, D. Gurau, A. Ficai, D. Ficai, E. Andronescu, *Synthesis and applications of Fe₃O₄/SiO₂ core-shell materials*, *Current Pharmaceutical Design*, 2015, 21, 5324–5335.
101. B. Sahoo, S.K. Sahu, D. Bhattacharya, D. Dhara, P. Pramanik, *A novel approach for efficient immobilization and stabilization of papain on magnetic gold nanocomposites*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 101, 280–289.
102. P.P. Luan, Y.J. Jiang, S.P. Zhang, J. Gao, Z.G. Su, G.H. Ma, Y.F. Zhang, *Chitosan-mediated formation of biomimetic silica nanoparticles: An effective method for manganese peroxidase immobilization and stabilization*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, 118, 575–582.
103. M.J. Abdekhodaie, J. Cheng, X.Y. Wu, *Effect of formulation factors on the bioactivity of glucose oxidase encapsulated chitosan-alginate microspheres: In vitro investigation and mathematical model prediction*, *Chemical Engineering Science*, 2015, 125, 4–12.
104. D.W.S. Wong, *Structure and action mechanism of lignolytic enzymes*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2009, 157, 174–209.
105. S. Grönqvist, L. Viikari, M.-L. Niku-Paavola, M. Orlandi, C. Canevali, J. Buchert, *Oxidation of milled wood lignin with laccase, tyrosinase and horseradish peroxidase*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2005, 67, 489–494.
106. A. Liese, L. Hilterhaus, *Evaluation of immobilized enzymes for industrial applications*, *Chemical Society Reviews*, 2013, 42, 6236–6249.
107. S. Ba, A. Arsenault, T. Hassani, J.P. Jones, H. Cabana, *Laccase immobilization and insolubilization: From fundamentals to applications for the elimination of emerging contaminants in wastewater treatment*, *Critical Reviews in Biotechnology*, 2013, 33, 404–418.

108. T. Aniszewski, R. Lieberei, K. Gulewicz, *Research on catecholases, laccases and cresolases in plants*, Acta Biologica Cracovensia, Series Botanica, 2008, 50, 7–18.
109. S. Ba, V.V. Kumar, *Recent developments in the use of tyrosinase and laccase in environmental applications*, Critical Reviews in Biotechnology, 2017, 12, 1–14.
110. P. Giardina, G. Sannia, *Laccases: Old enzymes with a promising future*, Cellular and Molecular Life Sciences, 2015, 72, 855–856.
111. <https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, dostęp: 01.09.2017 r.
112. S. Roth, A.C. Spiess, *Laccases for biorefinery applications: a critical review on challenges and perspectives*, Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38, 2285–2313.
113. S. Rezaei, A.R. Shahverdi, M.A. Faramarzi, *Isolation, one-step affinity purification, and characterization of a polyextremotolerant laccase from the halophilic bacterium Aquisolibacillus elongatus and its application in the delignification of sugar beet pulp*, Bioresource Technology, 2017, 230, 67–75.
114. R. Burbonnais, M.G. Paice, I.D. Reid, P. Lanthier, M. Yaguchi, *Lignin oxidation by laccase isozymes from Trametes versicolor and role of the mediator 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) in Kraft lignin depolymerisation*, Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61, 1876–1880.
115. S. Tagger, C. Perissol, G. Gil, G. Vogt, J. Le Petit, *Phenoloxidases of the white-rot fungus Marasmius quercophilus isolated from an evergreen oak litter (Quercus ilex L.)*, Enzyme and Microbial Technology, 1998, 23, 372–379.
116. A.M. Abdel-Hamid, J.O. Solbiati, I.K.O. Cann, *Insights into lignin degradation and its potential industrial applications*, Advances in Applied Microbiology, 2013, 82, 1–28.
117. J. Polak, A. Jarosz-Wilkolażka, *Reakcje katalizowane przez lakazę – Mechanizm i zastosowanie w biotechnologii*, Biotechnologia, 2007, 4, 82–94.
118. D. Chmelová, M. Ondrojevič, *Purification and characterization of extracellular laccase produced by Ceriporiopsis subvermispora and decolorization of triphenylmethane dyes*, Journal of Basic Microbiology, 2016, 56, 1173–1182.

- 119.C. Olivares, F. Solano, *New insights into the active site structure and catalytic mechanism of tyrosinase and its related proteins*, Pigment Cell Melanoma Research, 2009, 22, 750–760.
- 120.V. Shuster, A. Fishman, *Isolation, cloning and characterization of a tyrosinase with improved activity in organic solvents from bacillus megaterium*, Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2009, 17, 188–200.
- 121.G. Faccio, K. Kruus, M. Saloheimo, L. Thöny-Meyer, *Bacterial tyrosinases and their applications*, Process Biochemistry, 2012, 47, 1749–1760.
- 122.K. Ihekata, J.A. Nicell, *Characterization of tyrosinase for the treatment of aqueous phenols*, Bioresource Technology, 2000, 74, 191–199.
- 123.N. Munjal, S.K. Sawhney, *Stability and properties of mushroom tyrosinase entrapped in alginate, polyacrylamide and gelatin gels*, Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30, 613–619.
- 124.K.U. Zaidi, A.S. Ali, S.A. Ali, I. Naaz, *Microbial tyrosinases: promising enzymes for pharmaceutical, food bioprocessing and environment al industry*, Biochemistry Research International, 2014, 1–16.
- 125.L. Banci, I. Betini, T. Bini, M. Tien, P. Turano, *Binding of horseradish, lignin, and manganese peroxidases to their respective substrates*, Biochemistry, 1993, 32, 5825–5831.
- 126.A. Pawłowska, K. Treder, *Peroksydazy – male enzymy o wielkim znaczeniu*, Ziemniak Polski, 2014, 1, 23–25.
- 127.W. Blodig, A.T. Smith, W.A. Doyle, K. Piontek, *Crystal structures of pristine and oxidatively processed lignin peroxidase expressed in Escherichia coli and of the W171F variant that eliminates the redox active tryptophan 171. Implications for the reaction mechanism*, Journal of Molecular Biology, 2001, 305, 851–861.
- 128.K. Valli, H. Wariishi, M.H. Gold, *Oxidation of monomethoxylated aromatic compounds by lignin peroxidase: Role of veratryl alcohol in lignin biodegradation*, Biochemistry, 1990, 29, 8535–8539.
- 129.R. Shaheen, M. Asgher, F. Hussain, H.N. Bhatti, *Immobilized lignin peroxidase from Ganoderma lucidum IBL-05 with improved dye decolorization and cytotoxicity reduction properties*, International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 103, 57–64.

130. J.K. Glenn, L. Akileswaran, M.H. Gold, *Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from Phanerochaete chrysosporium*, Archives of Biochemistry and Biophysics, 1986, 251, 688–696.
131. P. Bonnarne, T.W. Jeffries, *Mn(II) regulation of lignin peroxidases and manganesedependent peroxidases from lignin-degrading white rot fungi*, Applied Environmental Microbiology, 1990, 56, 210–217.
132. R.H. Haschke, J.M. Friedhoff, *Calcium-related properties of horseradish peroxidase*, Biochemical and Biophysical Research Communication, 1978, 80, 1039–1042.
133. S. Shigeoka, T. Ishikawa, M. Tamoi, Y. Miyagawa, T. Takeda, Y. Yabuta, K. Yoshimura, *Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes*, Journal of Experimental Biology, 2002, 53, 1305–1319.
134. K. Chattopadhyay, S. Mazumdar, *Structural and conformational stability of horseradish peroxidase: Effect of temperature and pH*, Biochemistry, 2000, 39, 263–270.
135. S. Mukherjee, B. Basak, B. Bhunia, A. Dey, B. Mondal, *Potential use of polyphenol oxidases (PPO) in the bioremediation of phenolic contaminants containing industrial wastewater*, Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2013, 12, 61–73.
136. J.A. Mir-Tutusaus, M. Sarrá, G. Caminal, *Continuous treatment of non-sterile hospital wastewater by Trametes versicolor: How to increase fungal viability by means of operational strategies and pretreatments*, Journal of Hazardous Materials, 2016, 318, 561–570.
137. S. Georgieva, T. Godjevargova, D.G. Mita, N. Diano, C. Menale, C. Nicolucci, C. Romano Caratello, L. Mita, E. Golovinsky, *Non-isothermal bioremediation of waters polluted by phenol and some of its derivatives by laccase covalently immobilized on polypropylene membranes*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2010, 66, 210–218.
138. K. Yamada, Y. Akiba, T. Shibuya, A. Kashiwada, K. Matsuda, M. Hirata, *Water purification through bioconversion of phenol compounds by tyrosinase and chemical adsorption by chitosan beads*, Biotechnology Progress, 2005, 21, 823–829.

139. Y.A. Shesterenko, O.V. Sevastyanov, I.I. Romanovskaya, *Removal of phenols from aqueous solutions using tyrosinase immobilized on polymer carriers and inorganic coagulants*, Journal of Water Chemistry and Technology, 2012, 34, 107–111.
140. S. Wang, W. Liu, J. Zheng, X. Xu, *Immobilization of horseradish peroxidase on modified PAN-based membranes for the removal of phenol from buffer solutions*, The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2016, 94, 865–871.
141. L.Q. Xu, X.H. Wen, H.J. Ding, *Immobilization of lignin peroxidase on spherical mesoporous material*, Environmental Science, 2010, 31, 2493–2499.
142. C. Hautphenne, M. Penninckx, F. Debaste, *Product formation from phenolic compounds removal by laccases: A review*, Environmental Technology & Innovation, 2016, 5, 250–266.
143. T.R. Mota, C.G. Kato, R.A. Peralta, A. Bracht, G.R. de Moraes., M.L. Baesso, C.G.M. de Souza, R.M. Peralta, *Decolourization of congo red by Ganoderma lucidum laccase: Evaluation of degradation products and toxicity*, Water, Air & Soil Pollution, 2015, 226, 1–11.
144. M. Naghdi, M. Taheran, S.K. Brar, A. Kermanshahi-pour, M. Verma, R.Y. Surumpalli, *Immobilized laccase on oxygen functionalized nanobiochairs through mineral acids treatment for removal of carbamazepine*, Science of the Total Environment, 2017, 584-585, 393-401.
145. Z. Li, W. Shang, W. Liu, H. Li, *Application of immobilized laccase in the removal of oil from wastewater*, Desalination and Water Treatment, 2014, 52, 2594–2600.
146. P. Sofia, M. Asgher, M. Shahid, M.A. Randhawa, *Chitosan beads immobilized Schizophyllum commune IBL-06 lignin peroxidase with novel thermo stability, catalytic and dye removal properties*, Journal of Animal and Plant Sciences, 2016, 26, 1451–1463.
147. R.O. Cristovao, S.C. Silverio, A.P.M. Tavares, A.I.S. Brigida, J.M. Loureiro, R.A.R. Boaventura, E.A. Macedo, M.A.Z. Coelho, *Coconut fiber: A novel carrier for the immobilization of commercial laccase by covalent attachment for textile dyes decolourization*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28, 2827–2838.

148. H. Qiu, Y. Li, G. Ji, G. Zhou, X. Huang, Y. Qu, P. Gao, *Immobilization of lignin peroxidase on nanoporous gold: Enzymatic properties and in situ release of H₂O₂ by co-immobilized glucose oxidase*, *Bioresource Technology*, 2009, 100, 3837–3842.
149. Z. Hu, L. Xu, X. Wen, *Mesoporous silicas synthesis and application for lignin peroxidase immobilization by covalent binding method*, *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 25, 181–187.
150. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/39763#section=Top>, dostęp: 03.09.2017.
151. R. Xu, Y. Si, F. Li, B. Zhang, *Enzymatic removal of paracetamol from aqueous phase: Horseradish peroxidase immobilized on nanofibrous membranes*, *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22, 3838–3846.
152. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5991#section=Top>, dostęp: 03.09.2017.
153. M. Maryskova, I. Ardao, C.A. García-Gonzalez, L. Martinova, J. Rotkova, A. Sevcu, *Polyamide 6/chitosan nanofibers as support for the immobilization of Trametes versicolor laccase for the elimination of endocrine disrupting chemicals*, *Enzyme and Microbial Technology*, 2016, 89, 31–38.

Rozdział 2

OTRZYMYWANIE I ZASTOSOWANIA DROBNOCZĄSTECZKOWEGO WĘGLANU WAPNIA

Dorota Łuczowska, Wojciech Mikołajczak, Barbara Cichy

Instytut Nowych Syntezy Chemicznych Oddział Chemii Nieorganicznej
„IChN” w Gliwicach, ul. Sowińskiego 11, 44-101 Gliwice

WSTĘP

Węglan wapnia jest najczęściej spotykanym minerałem w przyrodzie. Jest częścią składową naturalnego Cyklu Węgla. Wchodzi w skład ciała ludzkiego (kości, zęby), spotykany jest w wapieniu, marmurze czy muszlach skorupiaków. Otrzymywany na drodze reakcji chemicznej, dzięki możliwości kontroli parametrów procesu, ma wyższą czystość niż naturalny. Nanowęglan wapnia jest biokompatybilny, ma wysoką polarność i energię powierzchniową, wysoką hydrofilowość.

Węgłany wapnia występują w sześciu różnych formach: trzech bezwodnych krystalicznych odmianach polimorficznych – kalcyt, aragonit i metastabilny wateryt; dwóch formach uwodnionych – ikait ($\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) i monohydrokalcyt ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) oraz w formie amorficznej CaCO_3 . Kalcyt zazwyczaj występuje w układzie romboedrycznym, aragonit można spotkać jako kryształy w formie graniastosłupów lub igieł, natomiast wateryt ma tendencje do tworzenia polikrystalicznych sferolitów (kuliste agregaty utworzone przez igielkowate kryształy, które wzrastały promieniście od wspólnego punktu początkowego) [1-3]. Faza amorficzna CaCO_3 zazwyczaj ma wygląd małych cząstek o średnicy $< 1 \mu\text{m}$. Stabilność termodynamiczna form krystalicznych CaCO_3 w temperaturze standardowej rośnie od waterytu, poprzez aragonit do kalcytu

[4]. Aragonit i wateryt jako fazy metastabilne, uznaje się za prekursory kalcytu. Aragonit wykazuje stałość termodynamiczną w podwyższonej temperaturze lub pod zwiększonym ciśnieniem. W normalnych warunkach przekształca się powoli w kalcyt. Wateryt bardzo łatwo ulega inwersji do formy kalcytu lub aragonitu.

Węglan wapnia uważany jest za nietoksyczny. W myśl rozporządzenia CLP nie stwarza on zagrożenia dla zdrowia ludzkiego i dla środowiska. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków zatwierdziła węglan wapnia jako GRAS, czyli ogólnie uznany za bezpieczny. Jeśli spełnia wymagania dotyczące czystości, może być stosowany zarówno jako dodatek farmaceutyczny, bezpośredni dodatek do żywności lub jako pośredni dodatek do produktów papierowych, które mają kontakt z żywnością.

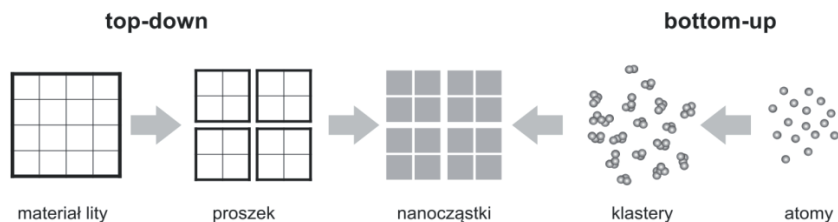
Węglan wapnia ma szeroki wachlarz zastosowań. W ostatnich latach stopniowo wzrasta zainteresowanie węglanem wapnia o wymiarach nano [4-8]. Nanowęglan wapnia o wymiarach cząstek nie większych niż 90 nm stosuje się m.in. jako napełniacz do farb opartych na rozpuszczalnikach. Substancja ta znacznie poprawia tiksotropię układu, może znacząco poprawić przyczepność powłoki czy odporność na szorowanie i odporność farby na plamy. Nanowęglan wapnia jest również szeroko stosowany w farbach wodorozcieńczalnych ze względu na doskonałe właściwości, takie jak hydrofilowość czy dyspergowalność. Jest dobrym dodatkiem do klejów i uszczelniaczy, wysokiej jakości tworzyw sztucznych oraz wyrobów gumowych, kauczuku naturalnego i syntetycznego (poprawia wytrzymałość na rozciąganie) czy farb drukarskich (lepsza jakość i wydajność). Zastosowanie nanowęglanu wapnia jest szczególnie atrakcyjne w przypadku produkcji papieru z surowców wtórnych, wymagającego znacznych ilości napełniaczy w celu uzyskania pożądanej bieli i faktury końcowego produktu, przy jednoczesnym zachowaniu jego właściwości mechanicznych [6-8].

SPOSOBY WYTWARZANIA NANOMATERIAŁÓW

Nanotechnologia obejmuje projektowanie, tworzenie i użytkowanie materiałów, których przynajmniej jeden wymiar wyrażony jest w nanometrach. W przypadku, gdy jeden z wymiarów struktury mieści się w zakresie 1-100 nm – materiał może wykazywać właściwości fizykochemiczne odbiegające od właściwości produktu makro. Zmianie mogą ulec na przykład właściwości spektroskopowe, temperatury topnienia, gęstości, rozpuszczalności, właściwości mechaniczne (tarcie, ciągliwość, sprężystość), przewodnictwo elektryczne, napięcie powierzchniowe, mogą nastąpić zmiany w strukturze krystalicznej (pewne struktury są stabilne jedynie w skali nanometrycznej).

Nanostruktury dzieli się ze względu na liczbę wymiarów mierzonych w nanometrach; mogą być ograniczone w jednym, dwóch lub trzech wymiarach. Struktury ograniczone w jednym wymiarze to dyski, płytki, materiały wielowarstwowe oraz ultracienkie warstwy powierzchniowe (te ostatnie mogą mieć strukturę krystaliczną, być amorficzne lub składać się z nanocząstek). Na struktury ograniczone w dwóch wymiarach składają się nanodruły, nanopręty, nanowłókna i nanorurki. Przykładem struktury ograniczonej w trzech wymiarach może być nanokrystaliczne ciało stałe składające się z różnie zorientowanych ziaren.

Nanotechnologia zajmuje się wytwarzaniem nanomateriałów metodami mechanicznymi, syntezy chemicznej lub biologicznej. Rozróżnia się dwa podejścia do wytwarzania nanocząstek: *top-down*, co oznacza miniaturyzację większych struktur, czyli rozdrabnianie litych materiałów do nanocząstek, oraz *bottom-up* czyli tworzenie materiałów i urządzeń w skali molekularnej za pomocą samoorganizacji atomów i cząsteczek. Ta metoda na ogół daje lepsze rezultaty – mniej defektów oraz węższą dystrybucję wielkości i morfologii ziaren. Efektywność obu sposobów uzależniona jest od możliwości pomiaru oraz manipulacji parametrami nanostruktur [9,10].



Rysunek 1. Schemat otrzymania nanomateriałów [10] metodami typu *top-down* oraz *bottom-up*

W metodach *bottom-up* budulcem nanostruktur mogą być atomy, molekuly czy nawet nanocząstki, w zależności od wymaganych właściwości produktu końcowego. Materiały o zadanych właściwościach można uzyskać poprzez zmianę wielkości budulca, kontrolę cech jego powierzchni i wnętrza, narzucenie konkretnych warunków łączenia się w nanomateriał. Proces wytwarzania tą metodą to skomplikowana synteza chemiczna. Metoda *top-down* jest prostsza i opiera się na podziale materiału makroskopowego na mniejsze części lub też na miniaturyzacji procesu tworzenia ciała stałego (metoda fizyczna). Procesy

biologiczne pod względem skali przestrzennej są zjawiskami pośrednimi między tymi metodami, choć w rzeczywistości składają się w większości ze skomplikowanych procesów *bottom-up* [9,10].

W przemysłowym wytwarzaniu nanomateriałów na dużą skalę wykorzystuje się przede wszystkim wysokoenergetyczne mielenie (*top-down*). Rozdrobnienie pomiędzy dwoma obracającymi się żarnami odbywa się zazwyczaj bez dostępu powietrza, aby przeciwdziałać utlenieniu substratów. Mielenie można wykorzystać także do wytworzenia nanostrukturalnego stopu poprzez wymieszanie dwóch materiałów na zimno lub uzyskać rozproszenie nanocząstek jednej fazy w drugiej. Fazy i struktury otrzymane przez mielenie są często metastabilne termodynamicznie.

Procesy *bottom-up* można podzielić na dwie grupy: syntezy chemiczne oraz ściśle kontrolowane procesy wytrącania i wzrostu materiałów. Reakcje chemiczne można przeprowadzić w fazie stałej, ciekłej lub gazowej. Otrzymywanie nanostruktur w stanie stałym jest trudne, gdyż aby ułatwić dyfuzję atomów pomiędzy stałymi reagentami konieczne jest stosowanie wysokich temperatur, co z kolei często prowadzi do powstania produktu grubokrystalicznego. Aby tego uniknąć, konieczne jest stosowanie odpowiednich inhibitorów. Dyfuzja w fazie ciekłej i gazowej jest wiele rzędów wielkości szybsza niż w cieple stałym i synteza może zachodzić w niższych temperaturach, co spowalnia szybkość wzrostu ziaren i umożliwia tworzenie nanostruktur.

Metody wytrącania z fazy gazowej stosowane do tworzenia cienkich filmów, układów wielowarstwowych, nanorurek, nanoprętów lub cząstek o wielkości nanometrycznej, dzieli się na dwie grupy – wytrącanie fizyczne (PVD) i wytrącanie chemiczne (CVD) [8]. W metodach fizycznych PVD materiał stały w wyniku zastosowanych procesów fizycznych zostaje przekształcony w gaz, który następnie chłodzi się i wytrąca na podłożu. Jednym z przykładów jest rozprężanie fazy gazowej – gaz pod wysokim ciśnieniem przepuszcza się przez dyszę do obojętnego środowiska o niskim ciśnieniu. Rozprężanie prowadzi do uzyskania przesylenia, co skutkuje powstawaniem małych klasterów (etap pomiędzy atomami a nanocząstkami – rys.1). Innym procesem PVD jest bezpośrednia kondensacja fazy gazowej. Odparowane cząstki materiału zderzając się z cząstkami gazu ochładzają się, co prowadzi do przesylenia i jednorodnego zarodkowania materiału. Otrzymane cząstki mają wielkość 1-100 nm. Zbierają się one na elemencie chłodzonym ciekłym azotem, z którego są zeszkrobywane. Chemiczne wytrącanie z fazy gazowej polega na osadzeniu na

podłożu produktów reakcji w wysokich temperaturach (500-1000°C) substancji znajdujących się w fazie gazowej.

Metody fizyczne PVD wykorzystujące fazę ciekłą mogą na przykład opierać się na technice termicznego natrysku, w której otrzymuje się strugę rozpylonej cieczy składającą się ze stopionych cząstek nakładanego materiału. Po osadzeniu rozpylonej cieczy na podłożu dochodzi do jej szybkiej krystalizacji. Metody syntezy chemicznej (CVD) w fazie ciekłej polegają głównie na reakcji związków rozpuszczonych w roztworze (wodzie lub innej substancji). Roztwór przesyca się otrzymywaną substancją i pojawiają się zarodki kryształów, które wzrastają do wielkości nanometrycznych w zależności od kinetyki i termodynamiki układu. Konieczna jest również kontrola warunków współwytrącania innych substancji obecnych w roztworze.

Metody koloidalne bottom-up polegają na tworzeniu zoli w wyniku wytrącania z roztworu cząstek o wielkości nanometrycznej. Na ogół układy koloidalne podlegają procesom agregacji, chyba, że pojawia się bariera energetyczna, która im to uniemożliwia. Jej wytworzenie zapewnia oddziaływanie elektrostatyczne między jednoimiennie naładowanymi cząstkami lub zawady sferyczne. Dzięki kontroli pH roztworu na cząstce koloidalnej można wytworzyć ładunek powierzchniowy, gdyż zmieniając pH środowiska wpływamy na liczbę znajdujących się na powierzchni cząstki zdysocjowanych grup kwasowych lub zasadowych. Natomiast efekt sferyczny związany jest często z pokrywaniem nanocząstki dodatkowym związkiem zapobiegającym agregacji, który łącząc się ze skupiskiem atomów blokuje niewysyczone centra koordynacyjne uniemożliwiając dalszy wzrost aglomeratu. Może nim być polimerowy surfaktant wiążący się z powierzchnią dzięki oddziaływaniu elektrostatycznemu lub aniony tworzące wiązania chemiczne. Innym sposobem zatrzymania agregacji jest wytrącanie nanocząstek ograniczonych np. przez membranę lub micelę. Jednym z problemów pojawiających się w metodach koloidalnych jest starzenie się układu, objawiające się wzrostem cząstek z czasem.

Metoda bottom-up w technikach zol-żel obejmuje ciąg reakcji chemicznych, które w sposób nieodwracalny zmieniają zol – homogeniczny roztwór substratów w nieskończony trójwymiarowy polimer – żel, zajmujący tę samą objętość co zol, z którego powstał. Zazwyczaj proces ten obejmuje reakcję hydrolizy i następnie polimeryzację.

Osadzanie elektrolityczne bottom-up polega na wywoływaniu reakcji chemicznych między elektrolitami poprzez przyłożenie zewnętrznego napięcia. Procesy dzielimy na anodowe i katodowe. Metoda jest stosunkowo tania i można

ją przeprowadzić w niskich temperaturach. Warstwy mogą być tworzone na dużych powierzchniach o skomplikowanym kształcie, co jest przydatne w przemyśle.

Otrzymywanie nanomateriałów musi odbywać się w warunkach wysokiej czystości, gdyż ze względu na wielkość cząstek każde zanieczyszczenie staje się dużym problemem. Reagenty i rozpuszczalniki muszą mieć najwyższą czystość, należy kontrolować temperaturę i wilgotność, często wymagana jest izolacja od drgań. Niektóre syntezy odbywają się w atmosferze gazu obojętnego. Szczególnej uwagi wymaga bezpieczeństwo i zdrowie pracowników, gdyż nanomateriały mogą wykazywać dużą aktywność biologiczną – łatwiej penetrują błony biologiczne i wykazują się wysoką reaktywnością ze względu na dużą powierzchnię właściwą. Skutkiem tego cząsteczki w wymiarze nano mogą wykazywać właściwości toksyczne dla organizmów żywych.

Nanocząsteczki otrzymywane w formie proszków są szczególnie niebezpieczne ze względu na wysoką reaktywność chemiczną. Często istnieje konieczność przechowywania produktów nano w atmosferze gazu obojętnego, gdyż w powietrzu zapalają się lub wybuchają. W celu uniknięcia rozkładu danego produktu lub utraty jego specyficznych właściwości fizykochemicznych pojawia się konieczność pokrycia go zewnętrzną powłoką ochronną, co skutkuje utworzeniem się nanostruktur typu core/shell. Ze względu na koszty syntezy, długi czas produkcji oraz częste problemy z powtarzalnością i odtwarzalnością danej metody wytwarzania, nanomateriały otrzymuje się głównie w skali laboratoryjnej.

METODY WYTWARZANIA HANDLOWEGO DROBNOCZĄSTECZKOWEGO WĘGLANU WAPNIA

Dzięki swoim właściwościom związki nano mają ogromne możliwości aplikacyjne i mogą być wykorzystane w wielu dziedzinach nauki i przemysłu. W poniższej tabeli przedstawiono charakterystykę dostępnych na rynku produktów – strącanego węglanu wapnia w wersji nano – jednego z chińskich producentów.

Tabela 1. Charakterystyka dostępnych komercyjnie proszków NPCC; oferta handlowa firmy Fujian Sanmu Nano Calcium Carbonate Co., Ltd, Chiny [11]

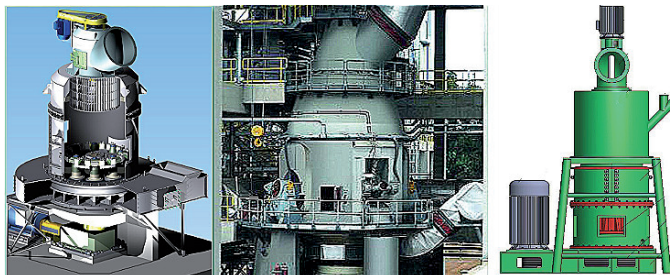
Właściwości fizyczne	SCC-2	CC-5	CC-7	CC-OT	CC-R	CCR-100	CCR-300
Postać	Biały proszek						
Powierzchnia właściwa (BET), m ² /g, min.	30-35	28-32	20-24	25	22	24	18
Średnia średnica ziarna, nm	30-50	30-60	60-80	20-50	40-80	20-60	60-90
Gęstość właściwa, g/cm ³	2,0-2,2	2,0-2,2	1,0-1,4	2,50	2,50	2,50	2,50
Pozorna objętość właściwa, ml/g	1,5-1,7	1,5-1,7	1,0-1,4	bd.	bd.	bd.	bd.
Jasność, %, min.	95	95	93	80	93	93	93
Wilgotność, %, max.	0,6	0,6	0,4	0,9	0,9	0,9	0,9
Liczba olejowa dla DOP*, ml/100g (*ftalan dwu-2-etyloheksylu)	35,0-45,0	35,0-45,0	23,0-27,0	30,0-50,0	20,0-50,0	25,0-60,0	10,0-40,0
Pozostałość na sicie 120 mesh, %, max.	0	0	0	0,02	0,015	0,015	0,02
pH 10% zawiesiny	8,5-10,5	8,5-10,5	8,5-10,5	8,5-9,5	8,5-10,5	8,5-10,5	8,5-10,5
zaw. CaCO ₃ , %, min.	96						
zaw. MgO, %, max.	0,8						
SiO ₂ , %, max.	0,3						
Fe ₂ O ₃ +Al ₂ O ₃ , %, max.	0,3						

Właściwości fizyczne	SCC-2	CC-5	CC-7	CC-OT	CC-R	CCR-100	CCR-300
Zastosowania	Napełniacze i domieszki do silikonów i mas uszczelniających, poprawiające tiksotropię mas, ich właściwości mechaniczne, reologiczne oraz szczelność, odporność materiału w testach starzeniowych; łatwo dyspergują; można stosować jako zamiennik pigmentu.			Tusze drukarskie; łatwo dyspergujące domieszka poprawiająca lepkość.	Napełniacze oraz domieszki (sugerowane 10-30%) do PVC, PE, PP, ABS, elastomerów (NR, BR, SBR) oraz żywic, poprawiające uduerność, sztywność, wytrzymałość cieplną, wygładzenie faktury powierzchni końcowego wyrobu; łatwo dyspergują; można stosować jako zamiennik pigmentu.		
Modyfikator powierzchni	Kwasy tłuszczowe		Kwasy żywiczne		Kwasy tłuszczowe		

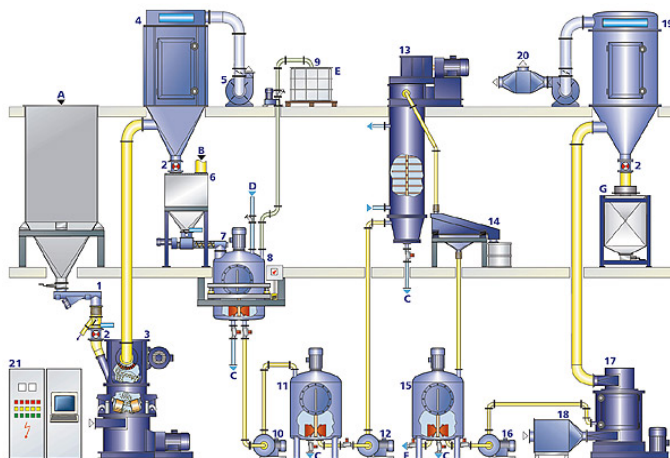
Najprostszą metodą otrzymywania nanowęglanu wapnia wydaje się być mielenie czyli tzw. metoda top-down miniaturyzacji litych materiałów, naturalnych i syntetycznych. Jednakże przegląd dostępnych informacji na temat młynów do zastosowań na skalę przemysłową pozwolił stwierdzić, że pomimo iż producenci reklamują urządzenia m.in. jako *nano grinding mill for calcite* w specyfikacji technicznej nie podają zakresu rozmiaru produktu możliwego do uzyskania lub podają jako górną granicę np. wartość 1 μm . Jako najszerzej przyjętą definicję nanomateriałów uznaje się zalecenie Komisji Europejskiej, w której nazwą tą określa się materiały, które przynajmniej w jednym wymiarze mają rozmiar 1-100 nm lub też w rozkładzie wielkości cząstek przynajmniej 50% cząstek jest w skali nanometrycznej. Definicja ta jest stosowana ze względów praktycznych, pomimo iż nie jest całkowicie poprawna (prawdziwą granicę rozmiaru nanomateriału stanowi przejście w stan, w którym efekty kwantowe wpływają istotnie na właściwości oraz zachowanie danej cząstki). A zatem nawet jeśli młyn jest reklamowany przez producenta jako urządzenie do otrzymywania produktów nano, zazwyczaj oznacza to tylko możliwość uzyskania pewnej ilości cząstek o rozmiarze z obszaru nanometrycznego. W tej sytuacji konieczne jest każdorazowe przeprowadzenie testów na danym urządzeniu w celu uzyskania informacji czy możliwe jest uzyskanie na nim konkretnego rozkładu ziarnowego danego surowca.

Znany i cieszący się zaufaniem klientów producent – firma SOLVAY ma w swej ofercie tzw. GCC, czyli Ground Calcium Carbonate otrzymywany metodą top-down w wyniku mielenia. Średni wymiar cząstek uzyskanych w ten sposób mieści się w zakresie 0,8-15 μm , a zatem zgodnie z definicją nie należy

go uznawać za nanoproduct. Na rynku dostępne są planetarne młyny kulowe do zastosowania w skali laboratoryjnej. Ich wydajność jest niewielka, ale producent gwarantuje uzyskanie produktu o wymiarze poniżej 100 nm i powtarzalność wyników przy stałych parametrach pracy.



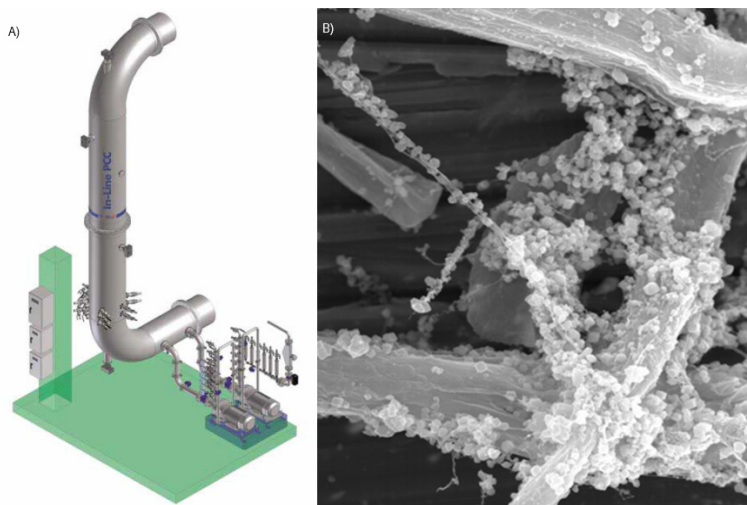
Rysunek 2. Młyny do otrzymywania nanoproszków oferowane przez Guilin Hongcheng Mining Equipment Manufacture Co., Ltd., Chiny [12]



Rysunek 3. Schemat instalacji do otrzymywania NPCC metodą mielenia na mokro, znajdującej się w zakładach Aranthaangi Chemical Products Ltd., Indie [13]

Do otrzymywania PCC (Precipitated Calcium Carbonate) metodami bottom-up stosowane są przeważnie reaktory zbiornikowe pracujące w reżimie okresowym wyposażone w mieszadła. Do reaktorów doprowadzana jest

zawiesina, natomiast gazowy dwutlenek węgla podawany jest pod łopatkę mieszadła. W literaturze pojawiają się również doniesienia o badaniach prowadzonych w półciągłych reaktorach barbotażowych, w których mieszanie zawartości reaktora prowadzone jest tylko strumieniem gazu. Pomimo licznych patentów, reaktory ciągłe do produkcji kredy strącanej stosowane na skalę przemysłową to wciąż rzadkość. Wyjątek stanowi reaktor rurowy firmy Wetend Technologies Ltd. [14,15], stosowany w przemyśle papierniczym (rys.4).

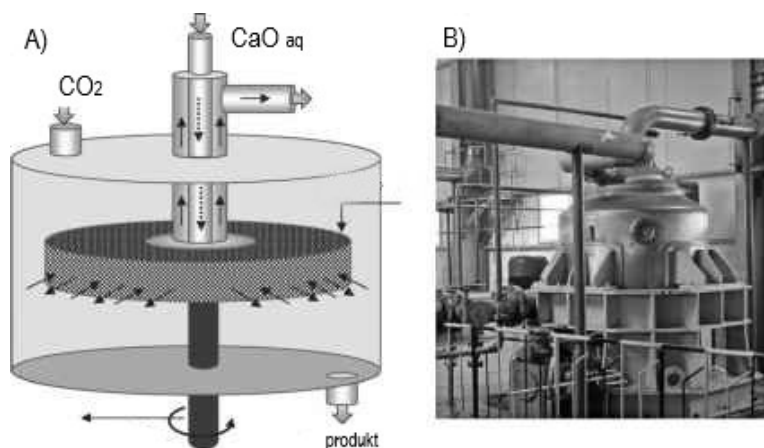


Rysunek 4. A) Reaktor przepływowy firmy Wetend Technologies Ltd. [16]; B) Mikrografia SEM otrzymanego produktu; widoczne ziarna PCC osadzone na strukturze włókien celulozowych

Nanowęglan wapnia w przypadku produkcji papieru z surowców pochodzących z recyklingu pomaga w uzyskaniu pożądanej bieli i faktury końcowego produktu, przy jednoczesnym zachowaniu odpowiednich właściwości mechanicznych [6]. Najlepsze rozproszenie światła dla PCC uzyskuje się przy równomiernej dyspersji cząstek o rozmiarach 250-500 nm. W proponowanym rozwiązaniu (rys.4) na skutek jednoczesnego dozowania mleka wapiennego i CO_2 do strumienia zawierającego włókna celulozowe, możliwe jest uzyskanie PCC o średniej średnicy kryształów 800 nm. Wielkość ziarna strącanej kredy zależy od czasu przebywania w reaktorze. Wraz z jego wydłużeniem możliwe jest również uzyskanie większych cząstek – skalenohebralnych struktur

o wymiarze ok. $3,0 \mu\text{m}$, bryłek nawet do $90 \mu\text{m}$. Dodatkowo wytrącanie PCC bezpośrednio w strumieniu surowca pozwala uzyskać nieporównywalnie lepszą dyspersję oraz jednorodność materiału.

Na rynku azjatyckim działa firma NanoMaterials Technology Co., Ltd., zajmująca się badaniami, produkcją i sprzedażą produktów mineralnych, m.in. węglanu wapnia czy strącanego węglanu wapnia w wersji nano (NPCC). Firma opracowała własną metodę otrzymywania nanoproductów – High Gravity Controlled Precipitation HGCP [17]. Technologia produkcyjna HGCP udostępniana jest na zasadzie licencji. NPCC otrzymany bez żadnego inhibitora wzrostu kryształów ma średnią wielkość cząstek 40 nm , wąski rozkład wielkości cząstek $\pm 15 \text{ nm}$ oraz powierzchnię właściwą $\text{BET} > 40 \text{ m}^2/\text{g}$.



Rysunek 5. A) Zasada działania metody HGCP opracowanej przez firmę NanoMaterials Technology Co, Ltd [17]; B) reaktor o zdolności produkcyjnej ok. 10 000 ton rocznie [18]

Metoda HGCP opiera się na zasadzie transferu masy, mikromieszania faz reakcyjnych w mikrosekundach, przy czym fazy reakcji znajdują się w środowisku o wysokiej grawitacji (rys.5). W procesie wytrącania niezbędnymi warunkami syntezy nanocząstek o wąskim rozkładzie wielkości są: wysoki stopień nasycenia roztworu, jednolite rozkłady przestrzenne stężeń i identyczny czas wzrostu dla wszystkich kryształów. Ze względu na silne pole grawitacji warunki transferu masy i mikro-mieszania zachodzące w reaktorze HGCP są o wiele lepsze niż w konwencjonalnych reaktorach, co ułatwia wytwarzanie wyższych przesyceń w procesie wytrącania nanocząstek.

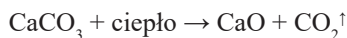
OTRZYMYWANIE STRĄCANEGO WĘGLANU WAPNIA

Znane są dwie główne metody otrzymywania strącanego węglanu wapnia:

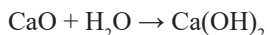
- absorpcja dwutlenku węgla w zawiesinie wodorotlenku wapnia;
- wytrącanie z roztworu, w wyniku reakcji wodnych roztworów zawierających jony Ca^{2+} z jonami węglanowymi.

W większości metod przemysłowych PCC wytwarza się poprzez bezpośrednią karbonizację mleka wapiennego. Metoda ta obejmuje etapy [19]:

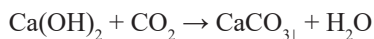
- Wydobywanie węglanu wapnia o wysokiej czystości.
- Kruszenie skały do odpowiedniej wielkości cząstek – małych drobin lub proszku.
- Oddzielanie zanieczyszczeń z rozdrobnionej skały.
- Wygrzewanie w piecu do ok. 1000°C w celu otrzymania wapna palonego i dwutlenku węgla.



- Otrzymywanie wodorotlenku wapnia (wapno gaszone).



- Oddzielanie zanieczyszczeń z wapna gaszonego.
- Karbonizacja wapna i wytrącenie węglanu wapnia.

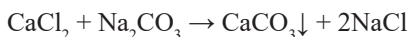


- Wydzielanie zanieczyszczeń z zawiesiny PCC.
 - Jeśli PCC ma być stosowany w przemyśle papierniczym lub do otrzymywania farb – przed transportem możliwe jest zagęszczenie zawiesiny.
 - Jeśli PCC ma być stosowany jako suchy produkt – szlam jest odwadniany, suszony, mielony i przygotowywany do transportu.
- Etap końcowy – przygotowanie do transportu:
 - Jeśli PCC ma być stosowany w przemyśle papierniczym lub do otrzymywania farb – przed transportem możliwe jest zagęszczenie zawiesiny.
 - Jeśli PCC ma być stosowany jako suchy produkt – szlam jest odwadniany, suszony, mielony i przygotowywany do transportu.

Pomimo iż w skali laboratoryjnej powyższy proces nie sprawia problemów, to strącanie węglanów wapnia na skalę przemysłową wymaga szczegółowej kontroli technologii w celu zapewnienia odpowiedniego rozmiaru, jednorodności, kształtu czy powierzchni cząstek produktu.

Powyższa metoda wydaje się już dokładnie przebadana, jednakże poszczególne elementy nadal wzbudzają zainteresowanie naukowców, np. wpływ zastosowania ultradźwięków na przebieg procesu. Przeprowadzono badania syntezy PCC [20] na drodze karbonizacji wodorotlenku wapnia przy zastosowaniu i braku ultradźwięków, przy konwencjonalnym mieszaniu, pod ciśnieniem zarówno atmosferycznym jak i podwyższonym oraz dla różnych stężeń początkowych $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Sferyczne ziarna kalcytu tworzyły się przy wysokim stężeniu $\text{Ca}(\text{OH})_2$ oraz niskim ciśnieniu CO_2 . Zastosowanie ultradźwięków nie wpłynęło na szybkość reakcji w przypadku wydajnego mieszania. Niewielki wzrost szybkości reakcji zaobserwowano dla niskiego ciśnienia CO_2 . Podwyższone ciśnienie w kombinacji z ultradźwiękami nie prowadziło do znacznego zwiększenia szybkości reakcji czy zmiany w morfologii cząstek produktu. Przy prowadzeniu procesu karbonizacji pod zwiększonym ciśnieniem CO_2 (4-6 bar), całkowite przereagowanie CaO następowało w okresie 15 minut, o czym świadczył gwałtowny spadek przewodności mieszaniny reakcyjnej. Przeprowadzając doświadczenie przy niższym (1-3 bar) ciśnieniu podawanego gazu w tym samym czasie, odnotowano niższy stopień przereagowania. Również temperatura początkowa substratów nie wpływa na morfologię otrzymanego PCC.

W jednym z opracowań na ten temat sposobu otrzymywania nanowęglanu wapnia z wykorzystaniem roztworu chlorku wapnia pochodzącego głównie z przemysłu sodowego [21] w charakterze surowca stosuje się odpad z produkcji sody kalcynowanej i roztwory z produkcji sody oczyszczonej. W skład pierwszego roztworu wchodzi CaCl_2 , NaCl , CaSO_4 i MgCl_2 . Drugi surowiec składa się z NaHCO_3 , Na_2CO_3 i NaCl . Osad węglanu wapnia uzyskuje się po zmieszaniu obydwu surowców w wyniku reakcji:



Proces składa się z kilku etapów: oczyszczenia odpadu z produkcji sody kalcynowanej z cząstek stałych, mieszania strumieni roztworów w zadanym

reżimie, filtracji i przemycia otrzymanego osadu CaCO_3 do całkowitego usunięcia jonów chlorkowych, suszenia otrzymanego węglanu wapnia, rozdrobnienia, rozsiania i zmagazynowania gotowego produktu. Filtrat uzyskany po oddzieleniu gotowego produktu to roztwór o zawartości do 150 g/dm^3 NaCl . Może on być zawracany do procesu wytwarzania sody kalcynowanej. Zastosowanie tej metody pozwala na otrzymanie PCC o zawartości głównego składnika 99,1% mas., białości nie niższej niż 97%, gęstości nasypowej $0,24 \text{ g/cm}^3$ i cząstkach o rozmiarze 20-50 nm. Poza cennym produktem metoda ta pozwala na zmniejszenie zrzutu ścieków w produkcji sody oczyszczonej i sody kalcynowanej.

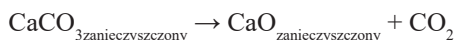
W patencie ukraińskim [22] opisana metoda otrzymywania PCC z odpadów przemysłu sodowego obejmuje oddzielenie fazy stałej z zawiesiny pochodzącej z produkcji sody kalcynowanej metodą amoniakalną, przeprowadzenie procesu wytrącania węglanu wapnia na drodze mieszania otrzymanego filtratu z roztworem sodowym (z produkcji bikarbonatu sodu), kolejno rozdziału zawiesiny na fazy oraz przemycia i wysuszenia osadu. Surowiec 1 (odpad z produkcji sody kalcynowanej) zawiera $120\text{-}180 \text{ g/dm}^3$ chlorków wapnia i sodu, surowiec 2 (z produkcji bikarbonatu sodu) zawiera do 150 g/dm^3 Na_2CO_3 i NaHCO_3 . Wytrącenie produktu przeprowadza się w trakcie jednoczesnego dozowania do reaktora obydwu strumieni cieczy w ciągu 3-5 minut w temperaturze $70\text{-}90^\circ\text{C}$ przy intensywnym mieszaniu, przy czym oba strumienie podaje się w stosunku molowym 1:1. Osad zostaje szybko rozdzielony na filtrze próżniowym, odmyty od chlorków i wysuszony w temperaturze $105\text{-}110^\circ\text{C}$. Otrzymany PCC jest mocno zdyspergowany, składa się z ok. 55-60% mas. kryształów kalcytu i ok. 40-45% mas. kryształów aragonitu. Gęstość nasypowa kryształów wynosi ok. $0,25 \text{ g/cm}^3$, powierzchnia właściwa ok. $11,3 \text{ m}^2/\text{g}$. Filtrat zawierający chlorek sodu może być zawracany do produkcji sody kalcynowanej.

W patencie rosyjskim [23] do reaktora z płaszczem grzejnym i mieszadłem podawany jest 1 m^3 roztworu oczyszczonego z fazy stałej pochodzącego z instalacji sodowej (zaw. 9,21% mas. CaCl_2 , 5,42% mas. NaCl , 0,16% mas. Ca(OH)_2 , 0,07% mas. CaSO_4 , 0,18% mas. NH_3). Temperaturę w reaktorze podwyższa się do $60\text{-}80^\circ\text{C}$. Następnie stale mieszając wprowadza się 0,02-0,07% mas. dodatku organicznego o wzorze $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{C}_6\text{H}_4\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{H}$ (oksyetylowane monoalkilofenole na podstawie trimerów propylenu), gdzie C_9H_{19} to rodnik izononylowy, a n to liczba moli etylenu związanych z jednym molem alkilofenolu, przy czym $n=9\text{-}12$. Kolejno do reaktora dodaje się $0,268\text{-}0,810 \text{ m}^3$ odfiltrowanego roztworu węglanu i wodorowęglanu sodu (odpad z produkcji bikarbonatu sodu) o zaw. 49,8-60,1 g/dm^3 Na_2CO_3 , 133,9-151,2 g/dm^3 NaHCO_3 i 2,7-6,0 g/dm^3 NaCl , zasadowości ogólnej 130-400 g/l , w nadmiarze 0,3-0,5% mas. w stosunku do chlorku

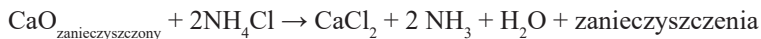
wapnia. Jeżeli zasadowość nie mieści się w podanych granicach, reguluje się ją dodatkiem Na_2CO_3 . Temperatura w reaktorze wynosi $20\text{-}80^\circ\text{C}$, czas przebywania $20\text{-}30$ minut, pH końcowe $7,2\text{-}7,4$. Otrzymany osad węglanu wapnia oddziela się na filtrze, przemywa i suszy. Produkt zawiera $0,002\text{-}0,006\%$ mas. chlorków, charakteryzuje się białością $95\text{-}98\%$ oraz gęstością nasypową $0,12\text{-}0,60\text{ g/cm}^3$.

Zastosowanie dodatku organicznego w powyższym procesie prowadzi do związania obecnych w surowcach jonów Fe^{3+} i Mn^{+3-7} w związki kompleksowe dobrze rozpuszczalne w wodzie, które wyprowadza się z układu w trakcie filtracji i przemywania osadu. Pozwala to na polepszenie bieli produktu i obniżenie jego gęstości nasypowej. Jakość otrzymanego opisaną metodą produktu pozwala na jego zastosowanie w przemyśle perfumeryjnym. Mimo dość szczegółowego opisu procesu nie sprecyzowano, jaki rozmiar mają otrzymane tym sposobem cząstki CaCO_3 .

W patentach europejskim i amerykańskim [24,25] opisano sposób otrzymywania – poprzez reakcję chlorku wapnia z gazowym CO_2 – strącanego węglanu wapnia o wysokiej czystości i średnim rozmiarze cząstek do $1\text{ }\mu\text{m}$. Drobn zmielony surowy (zanieczyszczony) węglan wapnia wypala się w piecu w temperaturze 1000°C do tlenku wapnia:



a następnie poddaje się go reakcji z wodnym roztworem chlorku amonu; roztwór reakcyjny zawiera $200\text{ g NH}_4\text{Cl}$ w litrze wody; proporcje molowe NH_4Cl do CaO wynoszą od $2:1$ do $3:1$. Temperatura w reaktorze zaopatrzonym w mieszałdo wynosi ok. 40°C ; czas reakcji ok. 30 min. W wyniku reakcji powstaje rozpuszczalny w wodzie chlorek wapnia a nierozpuszczalne zanieczyszczenia tworzą zawiesinę:



Przed oddzieleniem bardzo drobnych cząstek zanieczyszczeń do reaktora dodaje się flokulant, np. anionowy typu Superfloc w ilości $5\text{-}15$ ppm przeliczając na suchy CaO . Po koagulacji przeprowadza się sedymentację i dekantację, wreszcie mikro – (zatrzymanie cząstek o wielkości powyżej $0,6\text{ }\mu\text{m}$); lub nawet nano – (zatrzymanie cząstek o rozmiarze powyżej $0,01\text{ }\mu\text{m}$) – filtrację.

Oczyszczony z zanieczyszczeń stałych amoniakalny roztwór chlorku wapnia jest następnie poddawany procesowi karbonizacji gazem zawierającym co najmniej 10% CO₂:



Autorzy proponują, aby przed rozpoczęciem procesu karbonizacji do reaktora wprowadzać zarodniki krystalizacji w postaci kryształów aragonitu (w ilości do 2% mas.), a proces karbonizacji (rozpoczynający się przy pH > 10,0) zakończyć, gdy pH osiągnie wartość równą 7,0. Wytrącony osad węglanu wapnia oddziela się klasycznymi metodami za pomocą filtracji bębnowej lub za pomocą prasy filtracyjnej. Ponieważ osad może zawierać rozpuszczalne CaCl₂ i/lub NH₄Cl, proponuje się jego przemywanie gorącą wodą (ogrzaną niemal do wrzenia). Przemyty osad węglanu wapnia może być (w zależności od zastosowania) np. wysuszony w temperaturze 100°C i następnie zmielony. Taki tok postępowania powinien zapewnić uzyskanie węglanu wapnia o średnim rozmiarze cząstek nie większym niż 1 μm i o czystości 99,95%; produkt zawiera 99,4-99,5% aragonitu.

Patent europejski [26] przedstawia metodę otrzymywania węglanu wapnia obejmującą mieszanie wodnego roztworu NaHCO₃ i wodnego roztworu CaCl₂, a następnie rozpylenie ich w gorącym powietrzu w celu uzyskania mieszaniny CaCO₃ (w formie proszku) oraz NaCl. Otrzymany produkt przemywa się czystą wodą w celu usunięcia chlorków, a następnie przemywa THF (*tetrahydrofuranem*) lub eterem etylowym. Węglan wapnia ma postać nanocząsteczek o wymiarze do 200 nm.

Założenia:

- stężenia wodnych roztworów NaHCO₃ i CaCl₂ są takie, że przy równych objętościach obu roztworów stosunek stechiometryczny NaHCO₃ do CaCl₂ wynosi 2:1;
- temperatura gorącego powietrza mieści się w zakresie 100-180°C;
- otrzymane cząsteczki mają wymiar poniżej 200 nm a nanopręty długość ok. 100 nm i szerokość ok. 50 nm;
- otrzymany produkt przemywa się dodatkowo roztworem (NH₄)₂CO₃ o odczynie 6<pH<8 w celu uzyskania potencjału zeta nanocząsteczek CaCO₃ poniżej 20 mV.

Obydwa roztwory zasysane są z dwóch odrębnych zbiorników, dzięki czemu nie dochodzi do wytrącania produktu przed rozpyleniem w suszarce. Wysoka

temperatura gazu powoduje gwałtowne odparowanie wody z mieszaniny reakcyjnej i otrzymanie mieszaniny węglanu wapnia i chlorku sodu. NaCl łatwo można następnie odmyć wodą. Po każdym myciu produkt poddany jest odwirowaniu (preferowane 3500 rpm przez 2 min) i działaniu ultradźwięków w celu uniknięcia zbijania się nanocząstek w aglomeraty.

Przykładowe parametry procesu i otrzymanego produktu: temperatura powietrza 160°C, przepływ masowy powietrza 667 L/h, przepływ cieczy 12,5 ml/min, rozmiar produktu poniżej 200 nm, w tym nanoprętów 100 nm długości i 50 nm szerokości. Gdy temperatura powietrza wynosi mniej niż 160°C, stosunek długości do szerokości nanoprętów jest redukowany i otrzymuje się sześcią 80 nm x 80 nm.

Opisana metoda [26] pozwala na otrzymywanie nanocząstek bez stosowania środków powierzchniowo-czynnych i innych chemicznych dodatków stabilizujących mieszaninę i produkt reakcji (równocześnie zanieczyszczających końcowy produkt). Zastosowanie suszarki rozpyłowej pozwala na pełną kontrolę temperatury, wilgotności powietrza i przepływu reagentów. Opisany sposób możliwy jest do zastosowania na skalę przemysłową. Metoda jest bezpieczna i powtarzalna. Nie prowadzi do stosowania wysokich temperatur czy niebezpiecznych chemikaliów. Daje czysty nanoproduct, który ma wiele zastosowań.

Zgodnie z przeglądem dokonany w [27] cząsteczki otrzymywane metodą reakcji chemicznej roztworów CaCl_2 i Na_2CO_3 są na ogół większe niż 3 μm . Ponieważ obydwie sole są całkowicie rozpuszczalne w wodzie, węglan wapnia krystalizuje na wskutek reakcji jonowej w środowisku wodnym. Aby zaistniała możliwość otrzymania nanocząstek należy szczegółowo przeanalizować efekt przesylenia roztworu, szybkości podawania i mieszania, temperatury, pH oraz dodatków wpływające na etap formowania kryształów celem opanowania metody kontroli ich wzrostu. Badania reakcji chlorku wapnia z węglanem sodu przeprowadzano w reaktorze z płaszczem grzejnym. Zainstalowano elektrody do pomiaru pH i konduktywności oraz pompę podającą roztwór za pomocą strzykawki. Dane rejestrowano za pomocą komputera. 250 ml wsadowego roztworu CaCl_2 lub Na_2CO_3 było mieszane w reaktorze za pomocą mieszadła magnetycznego szybkością 600 rpm. 20 ml drugiego roztworu wstrzykiwano w różnych stężeniach i z różną szybkością (0,077 i 0,67 ml/min). Zatem w różnych interwałach czasowych w reaktorze panował różny stosunek stężeń jonów wapnia do węglanu. W sytuacji, gdy w reaktorze znajdował się roztwór Na_2CO_3 przygotowywano 0,25 M roztwór NaOH i podawano w celu zmiany pH roztworu. Temperaturę utrzymywano na poziomie 23°C. Wytrącony produkt

odwirowywano (9000 rpm przez 20 min), przemywano acetonem i następnie wodą. Suszono w 103°C w piecu przez całą noc. Rozmiar otrzymanych tą metodą cząstek wynosił ponad 1 µm.

Najkorzystniejsze warunki do krystalizacji CaCO₃ zachodzą dla stosunku stężeń [Ca²⁺]/[CO₃²⁻] = 1,0. Sytuacja zmienia się, gdy stosunek ten odbiega od 1,0. Autor [27] zasugerował, że nanocząstki mogą tworzyć się, gdy do granicy wynoszącej 1,0 dochodzi się bardzo wolno od niskiego stężenia [Ca²⁺] lub wysokiego stężenia [CO₃²⁻] i przeprowadził dwie serie eksperymentów badających rozmiar uzyskanych cząstek węglanu wapnia:

1. 20 ml roztworu Na₂CO₃ o stężeniu 94 mM dodano do 250 ml CaCl₂ o stężeniu 7,4 mM z dwoma szybkościami – 0,67 ml/min (30 min) i 0,077 ml/min (260 min). W obydwu przypadkach utworzone cząstki miały inny kształt, lecz ich wymiar w większości przekraczał 5 µm. Zwiększenie stężenia chlorku i obniżenie stężenia węglanu sodu powodowało zwiększenie ich wymiaru do 6 µm.
2. Roztwór CaCl₂ o stężeniu 15 mM lub 760 mM wstrzyknięto do roztworu Na₂CO₃ (75 mM) z szybkością 0,077 ml/min. pH ustabilizowano do 11,5 za pomocą dodatku NaOH. Niskie stężenie chlorku spowodowało utworzenie zlepieńców nanocząstek waterytu. Wysokie stężenie chlorku spowodowało utworzenie zarówno agregatów nanocząstek, jak i kryształów kalcytu o wymiarze 8 µm. Prawdopodobnie owe zlepienie nanocząstek nie zdążyły przekształcić się w sześciiany kalcytu.

W kolejnej pracy [3] badano wpływ obecności jonów magnezu w roztworze oraz warunków procesu, w trakcie reakcji chlorku wapnia z roztworem węglanu sodu, na postać krystaliczną wytrąconego węglanu wapnia. Przy początkowym stosunku molowym Mg/Ca=2 i pH=7 otrzymano osad stanowiący mieszaninę kalcytu i aragonitu z niewielką ilością waterytu. Składał się z dobrze wykształconych cząstek z przyłączonymi do ich powierzchni wiązkami igieł. Dowiedziono, że na strukturę produktu ma wpływ zarówno stosunek molowy Mg/Ca jak i odczyn pH roztworu.

W dwóch innych opracowaniach [28,29] opisano otrzymywanie amorficznej postaci węglanu wapnia (ACC). ACC jest niestabilną, krótko istniejącą (do 2 min) w roztworze odmianą polimorficzną węglanu wapnia. Chociaż ACC jest niestabilne, zainteresowanie nim jest duże z powodu wyższej reaktywności niż krystalicznego węglanu wapnia. Uważa się, że charakteryzuje się wielkością cząstek w granicach 40-120 nm. W patencie amerykańskim [28] przedstawiono metodę wytwarzania stabilnego amorficznego węglanu wapnia ACC, który może być otrzymywany jako zawiesina lub jako proszek. W metodzie tej stosuje

się kombinacje rozpuszczalnej soli wapniowej (np. CaCl_2), rozpuszczalnego węglanu, dwóch stabilizatorów oraz organicznego rozpuszczalnika mieszającego się z wodą. Otrzymywanie ACC na skalę przemysłową jest niepraktykowane, gdyż odfiltrowanie/odwirowanie setek czy tysięcy litrów zawiesiny w dwie minuty jest niemożliwe. Wcześniej należałoby ustabilizować zawiesinę na kilka godzin. Wg autorów patentu nie ma publikacji opisujących otrzymywanie ACC, które pozostanie stabilne w wodnym roztworze lub zawiesinie przez dłuższy okres czasu bez zastosowania więcej niż 10% mas. stabilizatora. Dodatkowo podkreśla się, że w każdym omawianym przypadku ostatnim krokiem syntezy jest karbonizacja.

Amorficzny węglan wapnia (ACC) otrzymywano także w reakcji roztworu Na_2CO_3 -NaOH z roztworem CaCl_2 w temperaturze otoczenia 5°C i przy zachowaniu ekwimolarnego stosunku Ca/CO_3 ($0,1 \text{ mol}/\text{dm}^3$). Autorzy publikacji [29] badali wpływ pH macierzystego wodnego układu na termodynamiczną i kinetyczną charakterystykę procesu. Próbkę produktu poddano badaniom TG-DTA, FT-IR, Rtg. Utrata zaabsorbowanej wody miała miejsce w ok. 257°C i kolejno następowała krystalizacja kalcytu. Temperatura krystalizacji ACC była uzależniona od wartości pH. Proces krystalizacji badano za pomocą DSC. Wartości entalpii i energii aktywacji były wprost proporcjonalne do wartości pH próbki. Analiza SEM odwodnionej w 152°C próbki otrzymanej dla $\text{pH}=12,7$ ukazuje skupiska drobnych sferycznych cząstek o rozmiarze $<0,05 \mu\text{m}$. Potwierdzono również możliwość otrzymania drobno zdyspergowanych cząstek ACC poprzez jego krystalizację po podgrzaniu do 357°C . Obrazy próbek uzyskanych przy $\text{pH} 12,2$ i $13,0$ wyraźnie pokazują, że ze wzrostem pH następuje systematyczne zmniejszanie się wymiaru cząstek produktu. Krystalizacja ACC otrzymanego dla obszaru $\text{pH} 12,7$ - $13,0$ charakteryzująca się ostrą egzotermą DSC w wyższych temperaturach, wydaje się zachodzić w wyniku kolejnego i/ lub konkurencyjnego procesu nukleacji (zarodkowania) i wzrostu cząsteczek. Z drugiej strony ACC otrzymane w obszarze $\text{pH} 12,2$ - $12,5$ krystalizuje poprzez umiarkowaną egzotermę w niższym obszarze temperatur, która prawdopodobnie związana jest ze wzrostem istniejących zarodków. Takie różnice w kinetyce krystalizacji mogą być jednym z powodów zmian w rozmiarach cząstek produktu krystalizacji.

Autorzy opracowania [30] prowadzili badania w skali laboratoryjnej nad otrzymywaniem CaCO_3 z chlorku wapnia i węglanu sodu w wykorzystaniu nowoczesnej syntezy sonochemicznej z użyciem ultradźwięków. Otrzymane wyniki porównano z wynikami konwencjonalnej syntezy. Zbadano wpływ na wielkość i morfologię otrzymanych cząstek; zastosowano pomiary XRD, SEM, TEM, FTIR. Okazało się, że rozmiar otrzymanych metodą akustycznej kawitacji

cząstek węgla wapnia wynosił ok. 20 nm, cząstki były morfologicznie jednorodnie a konwersja nastąpiła w 98%. Cząstki otrzymane w konwencjonalnej syntezie miały szeroki rozkład ziarnowy (10–150 nm) a wydajność procesu była niższa. W stosunku do syntezy konwencjonalnej metoda syntezy sonochemicznej zaoszczędza ponad 80% energii. Otrzymane wyniki sugerują, że technika ultrasonikacji może być wydajnym i szybkim narzędziem do kontroli rozmiaru ziarnowego i morfologii produktu, oszczędzającym zarówno czas jak i energię potrzebną do przeprowadzenia procesu wytwarzania węgla wapnia.

PODSUMOWANIE

Nanowęglan wapnia, jako jeden z nielicznych nanomateriałów, uznawany jest powszechnie za niestwarzający zagrożenia dla zdrowia ludzkiego i środowiska. Cecha ta, wraz z szerokim zakresem zastosowań, czyni go szczególnie pożądanym produktem. Wiodący producenci otrzymują go najczęściej poprzez bezpośrednią karbonizację mleka wapiennego. W niektórych technologiach konieczne jest zastosowanie dodatków organicznych – np. związków kompleksujących, flokulantów, stabilizatorów zawiesiny (ok. 12% mas. zawiesiny) lub rozpuszczalnika organicznego (przynajmniej 5% mas. zawiesiny), które znacznie zanieczyszczają finalny produkt [28,31]. Znane jest także zastosowanie technologii HGCP dające możliwość wytwarzania nanowęglanu wapnia bez udziału dodatku inhibitorów wzrostu kryształów.

W niniejszej pracy dokonano przeglądu możliwości otrzymywania strącanego węgla wapnia w rozmiarze nano przede wszystkim z wykorzystaniem roztworów zawierających chlorek wapnia oraz węglany i wodorowęglany sodu, próbując połączyć pozyskanie pożądanego produktu z częściową utylizacją odpadów z przemysłu sodowego. Bieżąca literatura nie podaje jasnych warunków, jakie muszą być spełnione, aby wyprodukować nanowęglan wapnia. Aby była możliwość otrzymania nanocząstek konieczne jest szczegółowe przebadanie etapu formowania kryształów w celu opanowania metody kontroli ich wzrostu. Badania laboratoryjne nad otrzymywaniem formy amorficznej [29] wskazują na silną zależność od temperatury i pH roztworu. Możliwe jest uzyskanie z układu $\text{CaCl}_2\text{-Na}_2\text{CO}_3\text{-NaOH}$, przy pH 12,7 cząstek o wymiarach poniżej 50nm. Jednakże przeniesienie tych wyników badań na większą skalę wydaje się w chwili obecnej trudne do wykonania.

LITERATURA

1. D. Konopacka-Łyskawa, *Precypitacja kulistych cząstek węgla wapnia w układzie gaz-ciecz*, Inż. Ap. Chem., **2013**, 52, 6, 539-540
2. U. Kiełkowska, P. Kuchnicki, K. Mazurek, S. Drużyński, A. Szalla, *Strącanie węgla wapnia z rozcieńczonych płynów odpadowych metody Solvay'a w temperaturze 323K*, Środowisko i przemysł, tom VI, red. G. Schroeder, P. Grzesiak, *Cursiva*, **2016**, 357-378
3. H. G. Britain, *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, Vol. 41, *Calcium Carbonate*, p.31-132, Elsevier, **2016**
4. M. H. Nielsen, S. Aloni, J. J. De Yoreo, *In situ TEM imaging of CaCO₃ nucleation reveals coexistence of direct and indirect pathways*, *Science*, **2014**, 345, 1158–1162.
5. L. Zhao, Y. Zhang, Y. Miao, L. Nie, *Controlled synthesis, characterization and application of hydrophobic calcium carbonate nanoparticles in PVC*, *Powder Technology*, **2016**, 288, 184-190
6. M. Ioelovicha, O. Figovsky, *Structure and properties of nanoparticles used in paper compositions*, *Mechanics of Composite Materials*, **2010**, Vol. 46, No. 4
7. S. El-Sherbiny, S. M. El-Sheikh, A. Barhoum, *Preparation and modification of nano calcium carbonate filler from waste marble dust and commercial limestone for papermaking wet end application*, *Powder Technol.*, **2015**, 279, 290–300
8. A. Barhoum, L. Van Lokeren, H. Rahier, A. Dufresne, G. Van Assche, *Roles of in situ surface modification in controlling the growth and crystallization of CaCO₃ nanoparticles, and their dispersion in polymeric materials*, *J. Mater. Sci.*, **2015**, 50, 7908–7918
9. R. W. Kelsall, I. W. Hamley, M. Geoghegan, *Nanotechnologie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, **2008**
10. M. Runowski, *Nanotechnologia-materiały, nanocząstki i wielofunkcyjne nanostruktury typu rdzeń/powłoka*, *Chemik*, **2014**, 68, 9, 766-775
11. <http://nanocaco3.com/products/nano-calcium-carbonate.html>; [dostęp: wrzesień 2017]
12. Guilin HongCheng Mining Equipment Manufacture Co., Ltd., <http://www.hcraymondmill.com/>; [dostęp: wrzesień 2017]
13. Aranthaangi Chemical Products Limited Company, <http://www.acpl.co/blog/>; [dostęp: wrzesień 2017]

14. Praca zbiorowa red. Q.A. Acton, *Calcium Compounds – Advances in Research and Application*, Scholarly Editions, **2013**
15. Patent US 2013/0062030 A1, **2013**
16. Wetend Technologies Ltd, www.wetend.com; [dostęp: sierpień **2017**]
17. <https://nanomt.com/technology/>; [dostęp: sierpień **2017**]
18. <https://www.drdarrinlew.us/>; [dostęp: lipiec **2017**]
19. [http://www.mineralstech.com/Pages/SMI/Precipitated-Calcium-Carbonate-\(PCC\).aspx](http://www.mineralstech.com/Pages/SMI/Precipitated-Calcium-Carbonate-(PCC).aspx); [dostęp: lipiec **2017**]
20. S. Aldea, M. Snare, K. Eranen, H. Grenman, A. R. Rautio, K. Kordas, J. P. Mikkola, T. Salmi, D. Y. Murzin, *Crystallization of Nano-Calcium Carbonate: The Influence of Process Parameters*, Chemie Ingenieur Technik, **2016**, Vol.88, 11
21. E. A. Mihailova, A. J. Lobjko, I. W. Bagrova, W. A. Panasenko, *Proizwistwiennyje othody sodowych predpriyatij i wozmożnyje puti ich utilizaczi*, Wypusk NTU, **2014**, 13, 51, 78-83, ISSN 2079-0821
22. Patent UA 78408 C2, **2007**
23. Patent RU 2229442 C2, **2004**
24. Patent EP 2447213 B1, **2015**
25. Patent US 8992875 B2, **2015**
26. Patent EP 2796412 A1, **2014**
27. M. Molva, Praca doktorska, *Production of CaCO₃ by carbonization route*, Izmir, **2011**
28. Patent US 2017/0081520 A1, **2017**
29. N. Koga, Y. Nakagoe, H. Tanaka, *Crystallization of amorphous calcium carbonate*, Thermochemica Acta, **1998**, 318, 239-244
30. U. Badnore. A. B. Pandit, *Synthesis of nanosized calcium carbonate using reverse miniemulsion technique: Comparison between sonochemical and conventional method*, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, **2015**, Vol.98, 13-21.
31. A. Barhoum, H. Rahier, R. E. Abou-Zaied, M. Rehan, T. Dufour, G. Hill, A. Dufresne, *Effect of cationic and anionic surfactants on the application of calcium carbonate nanoparticles in paper coating*, ACS Appl. Mater. Interfaces., **2014**, 6(4).

Rozdział 3

METODY BADAWCZE WYKORZYSTYWANE W OCENIE STANU I POTENCJAŁU EKOLOGICZNEGO WÓD NA PRZYKŁADZIE STAWU MIEJSKIEGO

Ewa Treska, Anna Radziszewska, Beata Messyasz

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Hydrobiologii, ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

WSTĘP

Określanie stanu ekologicznego wód ważne jest nie tylko ze względów stricte ekologicznych czy środowiskowych, ale również dla określenia możliwego potencjalnego wykorzystania zbiornika do celów rekreacyjnych. Potencjał ekologiczny z kolei jest istotny zwłaszcza wtedy, kiedy planujemy działania rekultywacji – lub w drugą stronę, nową działalność rekreacyjną/sportową z wykorzystaniem zbiornika.

Do oceny stanu i potencjału ekologicznego służą różnorakie wskaźniki i indeksy (Chudyba i in. 1976, Burchardt 1994, Burchardt i in. 1994, Burchardt i Pawlik-Skowrońska 2005, Ciecierska i Dynowska 2013). Rozróżnia się je zgodnie ze środowiskami, które badamy – na dotyczące wód płynących i stagnujących (Allan 1998, Dondajewska i in. 2015). Indeksy i wskaźniki jakości wód określa się najczęściej na podstawie występujących w nich organizmów – w zależności od wskaźnika bierze się pod uwagę dokładny skład gatunkowy, występowanie poszczególnych grup, występowanie gatunków wskaźnikowych, gatunki dominujące etc. Organizmy często używane dla określenia stanu ekologicznego wód płynących to makrofity, okrzemki czy

ichtiofauna (Ruszczyńska i Picińska-Fałtynowicz 2013), natomiast w przypadku jezior dodatkowo również bierze się pod uwagę fito – i zooplankton (Ciecierska i Dynowska 2013). Występowanie poszczególnych gatunków jest ściśle związane z parametrami fizyko-chemicznymi zbiornika wodnego i pozwala je wykorzystać przy określaniu wartości danego wskaźnika. W przypadku wód płynących badania stanu ekologicznego prowadzi się w równej mierze na wszystkich rodzajach wód. W przypadku wód stojących natomiast bada się głównie jeziora, zaś w przypadku stawów najczęściej stosuje się wskaźniki używane przy ocenie stanu płytkich jezior, co niekiedy jest wiarygodne, jako że w stawach zachodzić mogą inne zmiany środowiskowe niż w jeziorach i używanie takich wskaźników nie pokazuje całościowo stanu stawu. Ponadto, bardzo słabo poznany jest skład zbiorowiska glonów bentosowych w stawach.

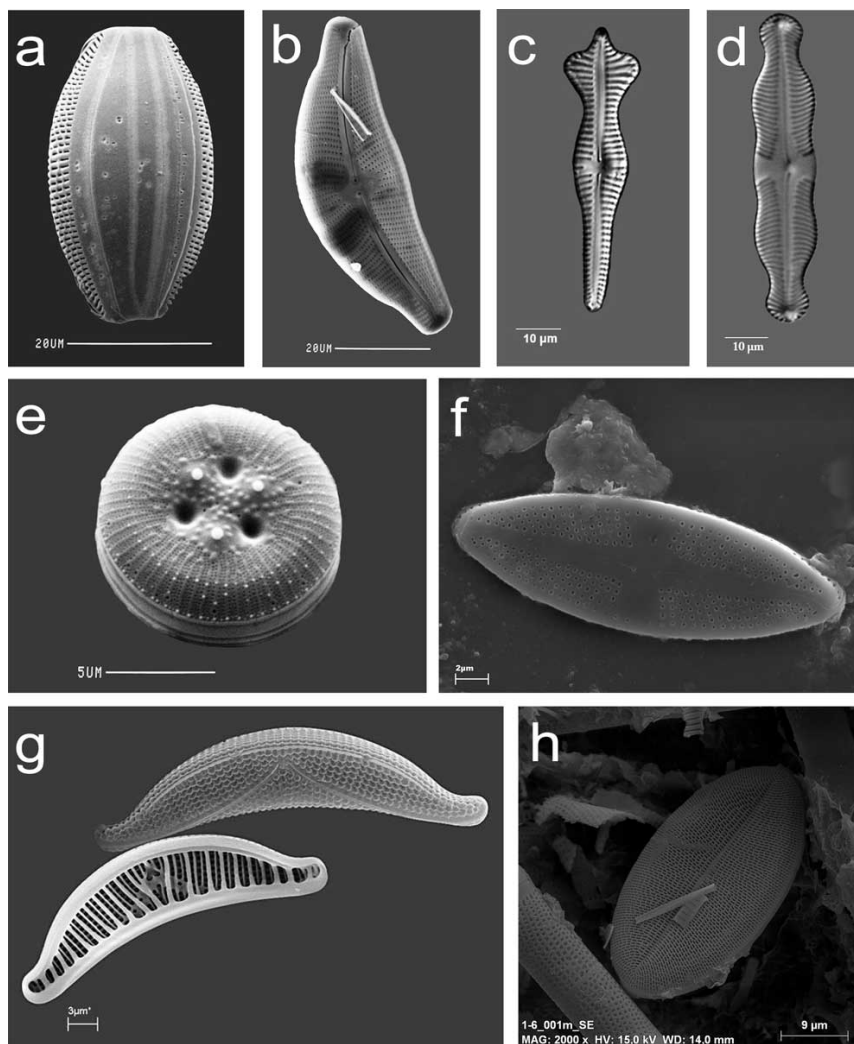
Metody oceny stanu zbiorników wodnych opierają się przede wszystkim na analizie parametrów fizyko-chemicznych (takich jak temperatura, pH, przewodnictwo elektrolityczne, stężenie tlenu oraz niektórych pierwiastków), co daje nam obraz obiegu biogenów w danym zbiorniku. W przypadku wykorzystywania organizmów wskaźnikowych, bada się często skład gatunkowy okrzemek (Bacillariophyceae) – mikroskopowych glonów. Okrzemki są organizmami kosmopolitycznymi spotykanymi w każdym zbiorniku wodnym (Podbielkowski 1996, Van den Hoek i in. 1995, Kitner i Pouličková 2003, Bąk i in. 2006, Lee 2008). Jest to również jedna z najlepiej poznanych grup taksonomicznych, na temat której powstało dużo prac naukowych (Siemińska 2007). Określenie składu gatunkowego i dominantów przy określonym parametrze wody w zbiorniku, który badamy pozwala nam na poznanie preferencji siedliskowych tych gatunków, a także pokazuje charakterystykę siedliska, w którym występują.

Wskaźniki bioróżnorodności wykorzystujące okrzemki to między innymi indeks Shannon-Weavera czy Evenness, które pokazują stopień zróżnicowania badanego środowiska pod kątem struktury jakościowej i ilościowej zbiorowisk. Kluczową rolę w tego typu badaniach odgrywa również indeks Van Dam'a, ponieważ znając skład gatunkowy środowiska jesteśmy w stanie dokonać oceny gatunków dominujących i oceny preferencji siedliskowych w danym zbiorniku na podstawie poszczególnych parametrów, takich jak pH, zasolenie, status troficzny, saprobność, stężenie tlenu (Van Dam i in. 1994). W użyciu są również wskaźniki, które stosuje się międzynarodowo i cechuje je duża uniwersalność, których przykładem jest wskaźnik okrzemkowy, ściśle związany z indeksem trofii (Ruszczyńska i Picińska-Fałtynowicz 2013).

Przy badaniach stanu ekologicznego duże znaczenie ma wybór wskaźnika, który będzie odpowiadał występującym w danym zbiorniku grupom organizmów jak i parametrom fizyko-chemicznym wody, ale równie istotne jest miejsce poboru prób do analizy. W przypadku stawów, na których nie ma wiele udokumentowanych badań, najbardziej optymalne wydają się badania zbiorowisk fitobentosu, a więc mikroskopijnych glonów występujących w osadach dennych. W skład tych siedlisk wchodzi głównie okrzemki. Równie istotne dla stawów będzie badanie zbiorowisk peryfitonu znajdujących się na roślinności częściowo zanurzonej, jak np. pałka wąskolistna (*Typha angustifolia* L.) i zanurzonej (np. *Myriophyllum spicatum* Glück). W zbiorowiskach peryfitonowych bada się głównie skład jakościowy i ilościowy okrzemek.

Okrzemki są bardzo dobrą grupą organizmów wskaźnikowych stanu ekologicznego (Bucka i Wilk-Woźniak 2002). Są to mikroskopijne jednokomórkowe glony, posiadające ścianę komórkową wysyconą krzemionką tworzącą denko i wieczko, w obrębie których wyróżnia się pas obwodowy i okrywy. Okrywy poszczególnych gatunków różnią się między sobą dzięki różnorodnej ornamentacji (Podbielowski 1996, Van den Hoek i in. 1995). Na okrywach możemy zaobserwować rafę, prążki (w formie kresek i kropek tworzących linie), fibule (rys. 1). Wiele gatunków cechuje się bardzo charakterystycznym kształtem, ale głównym kryterium rozróżniającym gatunki jest wielkość okryw, ilość prążków, występowanie i kształt rafy, a w przypadku gatunków z rodziny *Nitzschia* również ilość i gęstość występowania fibul.

Okrzemki występują we wszystkich rodzajach wód, zarówno słodkich jak i słonych, płynących i stagnujących (Van Dam i in. 1994). Dokładna analiza składu jakościowego i ilościowego danego zbiorowiska pozwala na określenie preferencji siedliskowych gatunku oraz korzystnych dla niego parametrów fizyko-chemicznych, które wspierają dominację danego taksonu (Kitner i Pouličková 2003). Na podstawie takiej analizy możemy określić stan ekologiczny badanego środowiska, związany ze strukturą gatunkową i proporcjami ilościowymi między gatunkami okrzemek.



Rysunek 1. Zdjęcia okrzemek spod mikroskopu SEM (fot. B. Messyasz: a – *Amphora* sp., b – *Cymbella* sp., c – *Gomphonema* sp., d – *Pinnularia* sp., e – *Cyclotella* sp., f – *Caloneis* sp., g – *Epithemia* sp., h – *Cocconeis* sp.)

METODY BADAŃ

Rozpoczynając badanie stanu ekologicznego stawu, w pierwszej kolejności dokonujemy pomiarów wody w terenie oraz poboru prób. W przypadku poboru prób fitobentosu, należy zebrać próby jakościowe zgodnie z metodyką z substratów zanurzonych w wodzie (Kawecka i Eloranta 1994, PN-EN ISO 5667-4, 2003). Próby peryfitonowe zbiera się z określonej powierzchni zanurzonych części łodygi roślin (np. pałki wąskolistnej) lub drewna, poprzez zeszkobanie szczoteczka całego osiadłego materiału. W przypadku roślin zanurzonych zbierane są fragmenty o określonej wielkości roślin. Wszystkie zebrane w terenie próby należy utrwalić roztworem 4% formaldehydu i przenieść do laboratorium do dalszych badań. Jeśli pobieramy próby peryfitonu z makrozielenic, zebrane plechy należy przetransportować w plastikowych pojemnikach do laboratorium w celu oczyszczenia ich z drobnych zanieczyszczeń przed dalszym przygotowaniem substratu do analiz.

Kolejną istotną kwestią jest zbadanie parametrów fizyko-chemicznych wody. Część z tych parametrów bada się bezpośrednio w terenie przy użyciu przenośnych mierników wieloparametrowych (np. miernik *Professional Plus* firmy *YSI*): temperatura [°C], pH, tlen rozpuszczony [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$] i przewodnictwo elektrolityczne [$\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$]. Dalsze analizy chemiczne przeprowadza się w laboratorium. W tym celu należy zebrać próby wody o objętości 1 dm^3 , zakonserwować je chloroformem i przewieźć w szczelnych pojemnikach do laboratorium.

Badania przeprowadzane w laboratorium to w pierwszej kolejności ciąg dalszy analiz fizykochemicznych wody, takich jak: ustalenie zawartości jonów azotu, siarczanów i fosforu, zawartości chlorków, określenie mętności i barwy wody. W celu zbadania parametru biologicznego jakim jest stężenie chlorofilu a przesącza się wodę na sączku z bibuły a następnie po ekstrakcji chlorofilu w etanolu i odstawieniu na 24 godziny do lodówki mierzy się za pomocą spektrofotometru absorbancję roztworu przy wielkości fali 665 nm i 750 nm i za pomocą wzorów oblicza stężenie chlorofilu w próbce.

W celu przygotowania prób do badań jakościowych i ilościowych fitobentosu należy z każdej próby przelać tę samą ilość materiału do probówek które następnie zalewa się 30% roztworem nadtlenku wodoru (perhydrol) i umieszcza w łaźni wodnej w celu rozpuszczenia materii organicznej. Próby wygotowuje się w łaźni w temperaturze ok. 80-85°C do momentu, kiedy pozostanie w nich jedynie osad z wytrawionych okrzemek. Następnie, w celu usunięcia resztek perhydrolu, należy próby odwirować kilka razy przepłukując za każdym razem wodą destylowaną. Tak przygotowane próbki przelewa się do

szczelnych buteleczek z wodą destylowaną, dodając kilka kropli formaldehydu w celu jej konserwacji. Próby takie można w dowolnym momencie oglądać pod mikroskopem lub też zrobić z nich preparaty trwałe, na przykład przy użyciu żywicy Naphrax.

Próby okrzemkowe obserwuje się pod mikroskopem przy użyciu obiektywu o powiększeniu 100x. Jeśli istnieje taka możliwość, dobrze jest używać mikroskopu z podpiętym aparatem i odpowiednim oprogramowaniem (np. program CellSensEnty), ponieważ daje to możliwość wykonania zdjęć, a także dokładniejszych pomiarów wielkości okryw i znacznie ułatwia rozpoznawanie przynależności obserwowanych osobników do poszczególnych grup i gatunków. Przy rozpoznawaniu gatunków należy korzystać z aktualnych kluczy fykologicznych (Krammer i Lange-Bertalot 1991, 2011; Pliński 1979, Pliński i Witkowski 2009). Przy analizie jakościowej i ilościowej przyjmuje się zasadę oznaczania i liczenia 500 okryw okrzemek w próbie. Na podstawie otrzymanych danych ustala się gatunki i taksony dominujące, ich preferencje siedliskowe związane z warunkami fizykochemicznymi. Użycie Indeksu Van Dam'a (Van Dam i in. 1994) służy przedstawieniu preferencji siedliskowych taksonów okrzemek, które oznaczono w próbie, a które odnoszą się do takich parametrów jak m.in.: zasolenie, pH, koncentracja tlenu czy status troficzny. Zastosowanie wskaźnika różnorodności gatunkowej Shannona-Weavera oraz wskaźnika rozłożenia gatunków Evenness (Kawecka i Eloranta 1994) pozwala nam z kolei na analizę składu gatunkowego i jego rozkładu, biorąc pod uwagę różnice w ilości komórek pomiędzy gatunkami występującymi w poszczególnych próbach. Na podstawie oszacowania gatunków i ilości komórek okrzemek w próbach wylicza się również indeks okrzemkowy i indeks trofii, do którego metodyka znajduje się w wytycznych Europejskiej Ramowej Dyrektywy Wodnej.

Próby peryfitonowe z roślinności zanurzonej i makrozielenic przygotowuje się w podobny sposób jak próby fitobentosowe, należy jednak wziąć pod uwagę, że wygotowywanie ich może zająć więcej czasu ze względu na trwałość materiału biologicznego. Ponadto, w przypadku makrozielenic należy również wyeliminować z próby kryształły węglanu wapnia występujące m.in. na plechach gałęzatkki (*Cladophora* sp.), poprzez dodanie do próby kwasu po wygotowaniu i wstępnym odwirowaniu. Następnie tak jak w przypadku prób fitobentosowych należy odwirować próby przepłukując wodą destylowaną, przenieść do pojemnika i dodać kilka kropli formaldehydu.

W celu oceny stanu roślinności zanurzonej i makrozielenic należy oczyścić próby z zanieczyszczeń, zwarzyć ich mokrą masę a następnie wysuszyć w 45°C.

Po wysuszeniu, pod mikroskopem mierzy się wielkość komórek badanych roślin lub glonów, a po dodaniu płynu Lugola liczbę i średnice pirenoidów. Barwiąc próby błękitem metylenowym dokonuje się również pomiaru liczebności i średnicy jąder komórkowych.

WSKAŹNIKI OCENY JAKOŚCI WÓD

Uzyskane w badaniach parametry fizyko-chemiczne sugerują nam z jakim typem troficznym zbiornika mamy do czynienia. Duże stężenie pierwiastków biogennych czy niskie stężenie tlenu są charakterystyczne dla zbiorników silnie eutroficznych. Z kolei duże stężenie chlorofilu wskazuje na dużą biomasę glonów. Potwierdzenie stanu trofii zbiornika wodnego znajdujemy również w kompozycji gatunkowej: w wodach silnie zeutrofizowanych nie znajdziemy gatunków charakterystycznych dla wód oligotroficznych i vice versa. Na podstawie danych dotyczących stężeń poszczególnych pierwiastków biogennych możemy również wysnuć wnioski dotyczące zagospodarowania terenu zlewni, na przykład związane z stosowaniem nawozów mineralnych czy wpływem powierzchniowym. W przypadku wykorzystywania dużej ilości nawozów w sąsiedztwie stawu woda w nim będzie się cechowała dużymi stężeniami azotu i fosforu, co będzie miało również swoje odzwierciedlenie w strukturze gatunkowej zbiorowiska glonów.

W analizie mikroskopowej prób fitobentosowych i peryfitonowych zwraca się uwagę na dwa aspekty – ilościowy i jakościowy. W celu zmierzenia zagęszczenia okrzemek liczy się okrywy w przeliczeniu na 1 mm². Przy analizach jakościowych, jak wspomniano wcześniej, oznacza się gatunki dla 500 obserwowanych okryw, pomijając okrywy które są uszkodzone w stopniu uniemożliwiającym ich rozpoznanie, oraz okrywy których uszkodzenie sugeruje że mogły one się znaleźć w próbie przez przypadek, np. przez falowanie wody, z innych części zbiornika. Badając staw raczej nie pojawia się problem przeniesienia okryw z innego miejsca, jest to natomiast istotny aspekt przy badaniu składu gatunkowego okrzemek w zbiornikach, w których mieszanie wody występuje w większym stopniu, przede wszystkim w rzekach oraz jeziorach przepływowych. W analizie jakościowej (wskaźnik bogactwa gatunkowego) ważne są nie tylko proporcje między poszczególnymi gatunkami, ale również rodzajami w obrębie danej grupy taksonomicznej. Na podstawie bogactwa gatunkowego oraz liczebności komórek określa się gatunki oraz rodzaje dominujące. Może się zdarzyć, że gatunek dominujący pod względem liczby komórek w całkowitej liczebności danego zbiorowiska nie będzie należał

do grupy charakteryzującej się największym bogactwem gatunkowym (liczba gatunków).

Wskaźniki Shannona-Weavera oraz Evenness obliczamy na podstawie danych uzyskanych z analiz mikroskopowych prób. Wskaźniki te pomagają nam określić poziom różnorodności biologicznej pobranych prób. Wskaźnik Shannona-Weavera określa prawdopodobieństwo, że dwa wylosowane z próbki osobniki będą należały do różnych gatunków, natomiast wskaźnik Evenness – wskaźnik równomierności – wyraża stosunek rzeczywistej różnorodności do różnorodności maksymalnej.

Indeks Van Dam'a, utworzony w 1994 roku przez Van Dam'a, pokazuje preferencje siedliskowe dla poszczególnych gatunków, biorąc pod uwagę najbardziej optymalne warunki siedliskowe w których obserwuje się maksimum występowania danego gatunku. Jest to wskaźnik obrazujący parametry fizykochemiczne środowiska takie jak pH, zasolenie, koncentracja tlenu rozpuszczonego w wodzie, wpływ cząsteczek azotu na metabolizm komórki, status troficzny zbiornika wodnego oraz jego saprobowość, co daje nam obraz stanu ekologicznego wybranego zbiorowiska.

Kolejnym ważnym wskaźnikiem jest indeks okrzemkowy. Jest to wskaźnik używany do oceny stanu ekologicznego zbiorowisk fitobentosu, którego podstawą jest struktura taksonomiczna okrzemek. Dla poszczególnych typów zbiorników wodnych określa się taksony referencyjne i wskaźnikowe okrzemek (Schaumburg i in. 2005, wg Hofmann 1999, Ruszczyńska i Picińska-Fałtynowicz 2013). Przy wyliczaniu indeksu okrzemkowego ważne jest przede wszystkim określenie, które z gatunków wskaźnikowych występują w próbie, następnie zaś jaki jest ich wkład procentowy w skład gatunkowy badanej próby. W powiązaniu z indeksem okrzemkowym wylicza się również indeks troficzny, który służy ocenie produktywności biologicznej danego zbiorowiska. Oba wspomniane indeksy służą klasyfikacji zbiorowiska okrzemek poddanego badaniu do grupy charakterystycznej dla danej jakości wód, co pozwala na określenie stanu ekologicznego.

Indeks okrzemkowy oblicza się według równania:

$$DI = \frac{ZTJ + ZpGR}{2a}, \text{ gdzie:}$$

$$ZTJ = 1 - ((TJ - 1) * 0,25)$$

$$ZpGR = (pGR + 1) * 0,5$$

Podstawą do wykonania tego równania jest wyliczony na podstawie wzoru Indeks Troficzny (TJ):

$$TJ = \frac{\sum(TJi \cdot wTJi \cdot Li)}{\sum(wTJi \cdot Li)}, \text{ gdzie:}$$

Tji – wartość wrażliwości na stan troficzny *i*-tego taksonu;

wTJi – wartość wagowa (zakres tolerancji) *i*-tego taksonu;

Li – względna obfitość *i*-tego taksonu (liczba osobników tego taksonu podzielona przez liczbę wszystkich osobników zidentyfikowanych).

Kolejnym elementem przy obliczaniu Indeksu Okrzemkowego jest Indeks Gatunków Referencyjnych (pGR), obliczany ze wzoru:

$$pGR = \frac{NB - (NC + ND)}{NB + NC + ND}, \text{ gdzie:}$$

NB – liczba taksonów referencyjnych I i II grupy jezior;

NC – liczba taksonów referencyjnych II grupy jezior, a degradacyjnych I grupy jezior;

ND – liczba taksonów degradacyjnych dla obu grup jezior.

Stan ekologiczny określa się na podstawie indeksu okrzemkowego zgodnie z tabelą 1.

Tabela 1. Stan ekologiczny zgodnie z Indekssem Okrzemkowym (DI) (według Cicierska i Dynowska 2013)

Wartość Indeksu Okrzemkowego (DI)	Stan ekologiczny
>0,80	bardzo dobry
0,60	dobry
0,40	umiarkowany
0,15	słaby
<0,15	zły

ANALIZA PRZYPADKU: STAW POLITOLOGIA

OPIS STAWU

Podane metody określania stanu ekologicznego zastosowano w badaniu stawu Politologia celem zbadania w jakim stopniu metody te są miarodajne w przypadku tego typu zbiorników.

Staw Politologia jest to niewielki sztuczny staw na terenie kampusu Morasko Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, o charakterze zbiornika retencyjnego. Staw ten ma 2100 m², kształtem przypomina prostokąt o krótszym brzegu ok. 25 m i dłuższym ok. 75 m (Łepkowska 2014). Jest to zbiornik słabo zbadany, stąd też brak literatury na jego temat. W pobliżu stawu płynie Różany Strumień, z którego staw pobiera wodę.



Rysunek 2. Lokalizacja stawu Politologia w Poznaniu przy ulicy Unultowskiej

Zgodnie z przedstawioną w początkowej części rozdziału metodyką, próby fitobentosowe dla badanego stawu zostały pobrane z powierzchni występującej w zbiorniku pałki wąskolistnej *Typha angustifolia* L., z drewna oraz rośliny zanurzonej *Myriophyllum spicatum* Glück. Pobrano również próby plechy glonów makroskopowych *Cladophora fracta* (O.F. Müller ex Vahl) Kützing. W terenie dokonano pomiarów podstawowych parametrów fizykochemicznych oraz pobrano wodę do dalszych analiz laboratoryjnych.

CHARAKTERYSTYKA SIEDLISKA

Wyniki pomiarów terenowych oraz analizy fizykochemicznej pokazano w tabeli 2.

Tabela 2. Wartości parametrów fizykochemicznych wód pobranych ze stawu Politologia w dniu 18 sierpnia 2016 roku

Parametr	Wartość
Temperatura [°C]	21,7
pH	7,86
Przewodnictwo elektrolityczne [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	864,0
Stężenie tlenu [$\text{mg O}_2/\text{L}$]	8,9
Wysycenie wody tlenem [%]	96,5
Przezroczystość wody [m]	0,3
Chlorki [mg/L]	792
Mętność [NTU]	5,16
Chlorofil-a mikroorganizmów [$\mu\text{g}/\text{L}$]	9,80
Barwa wody [$\text{mg Pt}/\text{L}$]	20
N-NO_3^- [mg/L]	0,9
NO_3^- [mg/L]	3,9
N-NH_3 [mg/L]	0,12
NH_3 [mg/L]	0,15
NH_4^+ [mg/L]	0,16
PO_4^{3-} [mg/L]	0,09
P [mg/L]	0,03
P_2O_5 [mg/L]	0,07
SO_4^{2-} [mg/L]	85

Wśród badanych form azotu mineralnego największe stężenie odnotowano dla azotu azotanowego (N-NO_3^-) – 3,9 mg/L. Ogólnie, wartość azotu azotanowego w obu formach była wyższa niż azotu amonowego w badanych formach, wśród których najniższą wartość zanotowano dla azotu amonowego (N-NH_3) – 0,12 mg/L. Natomiast stężenie fosforanów w stawie Politologia, nie przekraczające 1 mg/L, wskazuje na wody o dużym przeżyźnieniu. Największe stężenie wśród form fosforu odnotowano dla PO_4^{3-} – 0,09 mg/L, zaś najniższą jego wartość w formie P 0,03 mg/L.

WSKAŹNIK BOGACTWA GATUNKOWEGO

W badanych próbkach fitobentosu zidentyfikowano łącznie 65 taksonów okrzemek należących do rzędów Centrales i Pennales, w tym trzy taksony z rodziny Thalassiosiraceae z rzędu Centrales i 62 taksony z rodzin Fragilariaceae, Achnantheaceae, Rhopalodiaceae, Naviculaceae, Bacillariaceae oraz Surirellaceae, z rzędu Pennales. Wśród zbadanych substratów największe bogactwo gatunkowe okrzemek wystąpiło w próbce pobranej z rośliny zanurzonej *Myriophyllum* (48 gatunków), najmniejsze zaś na próbach pobranych z pałki wąskolistnej (35 i 36 gatunków odpowiednio dla dwóch stanowisk). We wszystkich czterech próbach okrzemki z rzędu Centrales stanowiły niecałe 10% całkowitej liczby taksonów, przy ponad 90% obecności taksonów z rzędu Pennales. Do najliczniej reprezentowanych rodzajów zaliczono *Navicula* (6 – 10 gatunków w zależności od położa), *Gomphonema* (1 – 6 gatunków), *Fragilaria* (1 – 4) oraz *Nitzschia* (3 – 4). Analiza liczby taksonów i liczebności osobników wykazała zróżnicowanie zbiorowisk peryfitonowych w zależności od podłoża, na którym występowały. Najbardziej zróżnicowane zbiorowisko okrzemek zaobserwowane zostało w próbce pobranej z rośliny zanurzonej *Myriophyllum*. Była to również próba o największej liczbie okryw (8740 okryw/mm²).

W kategorii liczebności w każdym z badanych zbiorowisk dominowały okrzemki z rodzaju *Fragilaria*, w tym głównie gatunki *Fragilaria capucina* Desmazières i *Fragilaria gracilis* Østrup, stanowiąc duży odsetek w próbach fitobentosowych (największy, bo aż 29% w próbce z drewna). Obok gatunków z rodzaju *Fragilaria* zaobserwowano również duże ilości okrzemek z rodzajów *Amphora* i *Gomphonema* (w próbce z pałki wąskolistnej osiągające odpowiednio 15,7% i 11,65% wszystkich gatunków) a także *Navicula* (12,5% w próbce z drewna). Pozostałe rodzaje przedstawione zostały w tabeli 3.

Tabela 3. Liczebność okryw [okryw/mm²] oraz ich procentowy udział w próbach zbiorowiska fitobentosu stawu Politologia

Zbiorowiska fitobentosu	Palka I	%	Palka II	%	Drewno	%	Myriophyllum	%
<i>Amphora</i>	1110	15,7	570	9,1	500	6,6	600	6,9
<i>Cocconeis</i>	570	8,1	570	9,1	630	8,4	1360	15,6
<i>Cyclotella</i>	360	5,1	350	5,6	80	1,1	380	4,3
<i>Cymatopleura</i>	0	0,0	0	0,0	80	1,1	40	0,5
<i>Cymbella</i>	70	1,0	70	1,1	300	4,0	220	2,5
<i>Fragilaria</i>	890	12,6	1260	20,0	2180	29,0	2090	23,9
<i>Gomphonema</i>	820	11,6	380	6,0	70	0,9	530	6,1
<i>Hippodonta</i>	330	4,7	350	5,6	250	3,3	60	0,7
<i>Navicula</i>	660	9,4	610	9,7	940	12,5	810	9,3
<i>Nitzschia</i>	250	3,5	180	2,9	520	6,9	470	5,4
<i>Stauroneis</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	80	0,9
<i>Suriella</i>	30	0,4	10	0,2	100	1,3	0	0,0
<i>Ulnaria</i>	650	9,2	500	7,9	170	2,3	150	1,7
Pozostałe	1310	18,6	1140	22,9	1710	22,7	1950	22,3

Wśród oznaczonych gatunków zaobserwowano 19 występujących we wszystkich badanych próbkach (frekwencja 100%), 10 gatunków występujących na połowie stanowisk (frekwencja 50%) oraz 24 gatunki, które występowały jedynie na jednym stanowisku (frekwencja 25%) i były dla niego charakterystyczne. Gatunki dominujące określono na podstawie największej liczebności okryw. Należą do nich: *Achnantheidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki, *Amphora pediculus* (Kützing) Grunow ex A. Schmidt, *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Fragilaria capucina* Desmazières.

INDEKS VAN DAM'A

Za pomocą indeksu Van Dam'a określono stan ekologiczny badanych zbiorowisk fitobentosu. Z 65 zaobserwowanych gatunków jedynie 57 zostało

opisane parametrami wyróżnionymi w tym indeksie. Wśród nich znalazły się również gatunki, które są opisane jako wskaźnik jednego lub kilku parametrów. Analizując preferencje występujących w próbach gatunków do pH wody, zaobserwowano przewagę alkalifilnych gatunków (18 – 25 gatunków w zależności od stanowiska). Gatunki okołoneutralne występowały również dość licznie (7 – 11 gatunków), natomiast stwierdzono jedynie cztery gatunki należące do alkalibiontów, a w dwóch próbach (z pałki wąskolistnej i *Myriophyllum*) dodatkowo zaobserwowano jeden gatunek acidobiontyczny. Analizując parametr zasolenia wody, zaobserwowano przewagę gatunków słodkowodno-barkicznych (27 – 35 gatunków), kilka gatunków barkiczno-słodkowodnych (2 – 5) oraz 1 – 2 gatunki typowo słodkowodne. Nie stwierdzono obecności gatunków barkicznych. W każdym z badanych zbiorowisk dominowały gatunki azoto-autotroficzne (18 – 24). Odnotowano również 1 – 3 gatunki fakultatywnie azoto-heterotroficzne oraz dwa gatunki obligatoryjnie azoto-heterotroficzne. Pod kątem natlenienia, w większości prób zaobserwowano okrzemki preferujące wysoki poziom koncentracji tlenu (50 – 75%), przy czym w obu próbach z pałki szerokolistnej (13 i 12 gatunków) oraz *Myriophyllum* (16 gatunków) przeważały gatunki preferujące natlenienie około 75%. W próbie z drewna z kolei dominowały gatunki preferujące natlenienie około 50%. Wśród zbiorowisk zaobserwowano również kilka (3 – 6) gatunków o preferencji natlenienia wody wynoszącej około 100%, oraz gatunki o preferencji natlenienia 30% (2 – 3 gatunki). Nie zaobserwowano okrzemek o niższych preferencjach stężenia tlenu w wodzie. Analizując gatunki wskaźnikowe pod kątem ich preferencji względem saprobowości zaobserwowano dominację gatunków β -mezosaprobowych (19 – 24 gatunki). W zbliżonych do siebie liczebnościach występowały taksony oligosaprobowe (3 – 4 gatunki), L-mezosaprobowe (4 – 6 gatunków) oraz L-mezo-/polisaprobowe (2 – 5). We wszystkich badanych zbiorowiskach stwierdzono tylko jeden gatunek będący wskaźnikiem warunków polisaprobowych. Ostatnia kategoria związana z indeksem Van Dam'a, w której dało się wyróżnić gatunki wskaźnikowe, to żywność wód czyli trofia. Wśród zidentyfikowanych gatunków przeważały gatunki eutroficzne (14 – 20). Występowały również dość licznie gatunki mezo-eutroficzne (6 – 7) i oligo-eutroficzne (5 – 6), w także w mniejszych ilościach gatunki hypereutroficzne (1 – 3), mezotroficzne (1 – 2) oraz oligotroficzne (1 – 2).

WSKAŹNIK RÓŻNORODNOŚCI BIOLOGICZNEJ

Zebrane dane ze zbiorowisk fitobentosu poddano również analizie pod względem bioróżnorodności. Wykorzystano w tym celu wskaźnik Shannona-

Weavera, który obrazuje bogactwo gatunkowe danego siedliska. We wszystkich badanych zbiorowiskach zaobserwowano duże zróżnicowanie gatunkowe, co pokazuje wskaźnik w większości stanowisk na poziomie powyżej 4 (Tabela 4). Wskaźnik Evennes, pokazujący rozkład gatunków, utrzymywał się na podobnym poziomie, ok. 0,5 we wszystkich stanowiskach, co oznacza dość równomierny rozkład. W przypadku obu wskaźników zbiorowisko z *Myriophyllum* odbiega nieznacznie od reszty, co świadczy o tym, że jest to zbiorowisko o słabszej bioróżnorodności, jak również mniej równomiernym rozkładzie gatunków.

Tabela 4. Wartości wskaźników bioróżnorodności dla okrzemek

Zbiorowisko fitobentosu	Shannon-Weaver	Evennes
Pałka I	4,52	0,48
Pałka II	4,37	0,47
Drewno	4,78	0,50
Myriophyllum	3,85	0,39

INDEKS TROFICZNY I OKRZEMKOWY

Dla rozpoznanych i policzonych gatunków okrzemek obliczono indeks troficzny, a następnie również indeks okrzemkowy, w celu oceny ekologicznej analizowanych zbiorowisk fitobentosowych. W tabeli 5 przedstawiono wartości tych indeksów.

Tabela 5. Wartości indeksu troficznego i okrzemkowego dla badanych zbiorowisk

Zbiorowisko fitobentosu	Indeks trofii TJ	Indeks okrzemkowy DI
Pałka I	4,37	0,18
Pałka II	4,43	0,18
Drewno	4,44	0,15
Myriophyllum	4,13	0,25

Wartości indeksu okrzemkowego dla wszystkich czterech stanowisk klasyfikują wodę stawu Politologia do IV grupy jakości wody, charakteryzującej

się słabym potencjałem ekologicznym. Wartość indeksu trofii jest wysoka i na wszystkich stanowiskach przekracza 4, natomiast indeks okrzemkowy ma wartości niskie – pomiędzy 0,15 a 0,25. Jako że klasyfikacja na podstawie indeksu trofii i okrzemkowego skierowana jest głównie do oceny stanu ekologicznego jezior, możemy wnioskować, że wyniki te nie ukazują w pełni potencjału ekologicznego stawu.

EWALUACJA MODELU

Wśród taksonów występujących w badanych zbiorowiskach fitobentosunajliczniejsze pod względem reprezentowanych gatunków były rodzaje: *Gomphonema*, *Amphora*, *Fragilaria* i *Navicula*, które w charakterystyce ekologicznej zalicza się do taksonów kosmopolitycznych, występujących powszechnie w żywnych wodach.

Badane próby różniły się między sobą zarówno pod kątem struktury ilościowej jak i jakościowej zbiorowisk okrzemek. Zbiorowiska z drewna i pałki wąskolistnej charakteryzowały się zbliżonym bogactwem gatunkowym i liczebnością okryw, natomiast zbiorowisko z *Myriophyllum* cechowało się największą różnorodnością gatunkową jak i największą liczbą komórek okrzemek.

Indeks Van Dam'a dla wód stawu Politologia sugeruje zaliczenie ich do kategorii wód eutroficznych. Stwierdzono w nim dominację gatunków alkalifilnych i β -mezosaprobowych oraz przewagę gatunków, które preferują wysokie natlenienie wody i są azotowo-autotroficzne. Uzyskane wartości indeksu okrzemkowego wskazują na słabą jakość wód badanego stawu we wszystkich badanych zbiorowiskach, przy czym najwyższa wartość indeksu okrzemkowego zanotowana została dla zbiorowiska fitobentosu z *Myriophyllum spicatum*. Bioróżnorodność zbiorowisk peryfitonowych była stosunkowo duża, co potwierdził indeks Shannona-Weavera, osiągający wartości zbliżone do 4 we wszystkich analizowanych zbiorowiskach. Indeks rozkładu gatunków Evenness dla badanych prób uzyskał wartości pokrywające się z wynikami indeksu Shannona-Weavera.

Porównując stawy do płytkich jezior możemy stwierdzić, że są one stosunkowo heterogeniczne pod kątem struktury zbiorowisk fitobentosowych. Wyniki badań wskazują, że najodpowiedniejszą próbą do oceny stanu ekologicznego stawu była próba pobrana ze zbiorowiska fitobentosu z drewna, a więc podłoża chropowatego i płaskiego. Jednakże najdokładniejsze wartości

dotyczące stanu jakości wody pozyskano dla próby zbiorowiska z *Myriophyllum*, charakteryzującego się luźną powierzchnią i strukturą architektoniczną substratu.

Wyniki uzyskane w badaniach wskazują na możliwość zastosowania indeksu okrzemkowego obliczanego dla płytkich jezior również w metodyce badań stawu, przy wykorzystaniu analiz zbiorowisk fitobentosu z różnych substratów.

PODSUMOWANIE

Istnieje wiele metod, które mogą być wykorzystywane do oceny stanu i potencjału ekologicznego zbiorników wodnych. W przypadku stawów powstaje problem oceny potencjału ekologicznego wynikający z faktu, iż stanowią one przedmiot niewielu badań. W efekcie nie można ich między sobą porównywać ani stosować ujednoczonej metodyki. Metody używane do określania stanu ekologicznego jezior mogą nie mieć zastosowania dla stawów, ze względu na ich specyficzny charakter. Stawy są płytkimi zbiornikami, w których nieustannie zachodzą zmiany parametrów fizyko-chemicznych związanych z turbulencją wody, są one jednak na tyle płytkie, że nie występują w nich obszary beztlenowe. Wysoki poziom natlenienia może być związany z zachodzącymi w powierzchniowej warstwie wody stawu intensywnymi procesami fotosyntezy, prowadzonymi głównie przez roślinność, ale również fitoplankton. Wody stawów najczęściej wykazują dużą mętność, co w dużym stopniu związane jest z zawiesiną materii organicznej oraz faktem silnego zakwitnięcia fitoplanktonu i pojawem makroskopowych zielenic nitkowych na jego powierzchni w okresie letnim. Istotną rolę w środowisku wodnym pełnią również jony azotu oraz fosforu. Jony azotu występują w formie azotu wolnego, azotu amonowego, azotynowego oraz azotanowego. Wartość stężenia poszczególnych form w głównej mierze związana jest z procesami prowadzonymi przez mikroorganizmy danego zbiornika i zmianą warunków tlenowych w ciągu roku. Każdego rodzaju zaburzenia w stosunku pierwiastków między innymi azotu i fosforu mogą przyczynić się negatywnie do wzrostu glonów (Eloranta i Kawecka 1994, Reynolds 2006). W badanym stawie stężenie pierwiastków takich jak azot czy fosfor mają stosunkowo niską wartość, co może świadczyć o cyklu sprawnego obiegu materii w zbiorniku i wykorzystaniu ich przez żyjące w nim organizmy wodne. Stężenie siarki notowane było na wysokim poziomie, jednakże pierwiastek ten zawsze występuje w dużych stężeniach w wodach (Eloranta i Kawecka 1994, Dojlido 1995, Dojlido i Hermanowicz 1999).

Na podstawie przedstawionego modelu można zauważyć, że wykorzystanie okrzemek jako organizmów wskaźnikowych do przeprowadzania tego typu oceny jest możliwe. Biorąc pod uwagę iż stawy to płytkie zbiorniki, procesy

fizykochemiczne zachodzą tam w pewnym stopniu podobnie jak w jeziorze płytkim i w takim przypadku, odpowiednie do oceny stanu ekologicznego wód wydają się zbiorowiska fitobentosu (Ruszczyńska i Picińska-Fałtynowicz 2013), które ukazują najdokładniej zmiany w tym dynamicznym środowisku i charakteryzują się największą w nim bioróżnorodnością (Kajak 1998, Van den Hoek i in. 1995, Reynolds 2006). Należy także zaznaczyć, iż właściwości wód w dużym stopniu zależą od otoczenia wokół badanego siedliska, między innymi charakteru zlewni, rodzaju gleby, roślinności czy też wpływu człowieka na dany obszar (Eloranta i Kawecka 1994). W wyniku czego w danym siedlisku obserwuje się określony skład gatunkowy będący wynikiem działania czynników o różnym natężeniu, np. biologicznych (Eloranta i Kawecka 1994, Lampert i Sommer 1996, Kajak 1998, Reynolds 2006).

Należy również zwrócić uwagę, że w celu prawidłowej oceny jakości wód stawu, pobór prób fitobentosowych powinien być wykonany z odpowiedniego podłoża. Przykład stawu Politologia wskazuje, że do oceny stanu ekologicznego stawu najodpowiedniejsza była próba fitobentosu pobrana z podłoża chropowatego i płaskiego, zaś najdokładniejszy odczyt wartości dotyczącej jakości wody uzyskano dla próby z substratu o luźnej powierzchni architektonicznej (*Myriophyllum*). Wskazane jest pobieranie prób fitobentosu z rośliny zanurzonej, gdyż charakteryzuje się ona większą heterogenicznością organizmów poroślowych i tym samym staje się bardziej czułym wskaźnikiem.

Podsumowując przeprowadzone badania stwierdzono, iż stawy mimo swojej małej powierzchni stanowią miejsce o dużej bioróżnorodności. Zbiorniki wodne, takie jak staw Politologia stanowią modelowy przykład badań określających zależności między parametrami fizyko-chemicznymi, a poszczególnymi organizmami. Stan potencjału ekologicznego stawu Politologia można ocenić, jako umiarkowany z zastrzeżeniem, iż należy zbadać i usunąć bądź zminimalizować dostające się do niego zanieczyszczenia. Jeżeli chodzi o porównanie zbiorowisk fitobentosu w ocenie stanu ekologicznego wód najbardziej odpowiednie wydaje się wykorzystanie do tego typu badań próby z drewna, jak i z roślinności zanurzonej *Myriophyllum*. Dzięki próbom z tych najdokładniej przedstawiono właściwości badanego środowiska i oceniono jego stan ekologiczny. Przy badaniach stawów powinno się stosować wskaźniki ogólnie wykorzystywane przy badaniach płytkich jezior, takie jak wskaźnik okrzemkowy. Umożliwi to wypracowanie metody badań dla stawów, które stanowią przyszłość badań limnologicznych.

LITERATURA

1. Allan J. D. 1998. Ekologia wód płynących. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, ss. 448.
2. Bąk M., Dziedzic J., Gąbka M., Gregorowicz P., Mrozińska, Owsiany P.M., Pelechaty M., Pliński M., Siemińska J., Witkowski A. 2006. Red list of the algae in Poland. W: Mirek Z., Szelaż Z., Wojewoda W., Zarzycki K. Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany. Polish Academy of Sciences, Kraków: 35-52.
3. Bucka H., Wilk-Woźniak E. 2002. Monografia. Gatunki kosmopolityczne i ubikwistyczne wśród glonów pro – i eukariotycznych występujących w zbiornikach wodnych Polski południowej. Zakład Biologii wód im. K. Starmacha PAN, Kraków, ss. 233.
4. Burchardt L. 1994. Bioindykacja w ocenie ekosystemu jeziornego. W: Burchardt L. (red.). Teoria i praktyka badań ekologicznych. Idee Ekologiczne t.4, Seria Szkice nr 3. Wydawnictwo Sorus, Poznań: 71-76.
5. Burchardt L., Łastowski K., Szmajda P. 1994. Różnorodność ekologiczna a bioindykacja. W: Burchardt L. (red.). Teoria i praktyka badań ekologicznych. Idee Ekologiczne t.4, Seria Szkice nr 3. Wydawnictwo Sorus, Poznań: 27-43.
6. Burchardt L., Pawlik-Skowrońska B. 2005. Zakwity sinic – konkurencja międzygatunkowa i środowiskowe zagrożenie. Wiadomości Botaniczne 49(1/2):39-49.
7. Celewicz-Gołdyn S., Joniak T., Kuczyńska-Kippen N., Messyas B., Nagengast B., Stefaniak K. 2009. Funkcjonowanie zbiorowisk planktonu w zróżnicowanych siedliskowo drobnych zbiornikach wodnych Wielkopolski. Wydawnictwo-Drukarnia BONAMI, Poznań, ss. 504.
8. Chimbari M., Phiri C. Dhlo. 2007. Epiphytic diatoms associated with submerged macrophyte, *Vallisneria aethiopica*, in the shallow marginal areas of Sanyati Basin (Lake Kariba): a preliminary assessment of their use as biomonitoring tools. Aquatic Ecology 41:169-181.
9. Chudyba D., Hull M., Wielgosz S., Widuto J. 1976. Atlas organizmów wskaźnikowych do oceny wód powierzchniowych. Skrypty Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie. Dział Wydawnictw, Olsztyn, ss. 218.

10. Ciecierska H., Dynowska M. 2013. Biologiczne metody oceny stanu środowiska t.2, Ekosystemy wodne. Podręcznik metodyczny. Wydawnictwo Mantis, Olsztyn, ss. 316.
11. Danilov R.A., Ekelund N.G.A. 2001. Comparison of usefulness of three types of artificial substrata (glass, wood and plastic) when studying settlement of three types of artificial lakes of different trophic status. *Journal of Microbiological Methods* 45:167-170.
12. Dembowska E.A. 2015. Seasonal variation in phytoplankton and aquatic plants in floodplain lakes (lower Vistula River, Poland). *Wetlands Ecol. Manage* 23:535-549.
13. Dojlido J.R. 1995. *Chemia wód powierzchniowych*. Wydawnictwo Ekonomia i Środowisko, Warszawa, ss. 342.
14. Dojlido J., Hermanowicz W. 1999. *Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków*. Wydawnictwo Arkady, Warszawa, ss. 555.
15. Dondajewska R., Gąbka M., Jakubas E., Jakubowska N., Joniak T., Klimaszuk P., Kozak A., Messyasz B., Nagengast B., Rybak M., Świdnicki K. 2015. Ocena stanu śródlądowych wód powierzchniowych. Przewodnik do badań terenowych i laboratoryjnych. Wydawnictwo Kontekst, ss. 163.
16. Eloranta P., Kawecka B. 1994. *Zarys ekologii glonów wód słodkich i środowisk lądowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, ss. 248.
17. Guiry M.D., Guiry G.M. 2017. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication [online]. National University of Ireland, Galway. Dostęp: <http://www.algaebase.org> [19.10.2017].
18. Hašler P., Lysáková M., Pouličková A., Spears B. 2008. The ecology of freshwater epipelagic algae: an update. *Phycologia* Vol. 47(5): 437-450.
19. Kajak Z. 1998. *Hydrobiologia-limnologia. Ekosystemy wód śródlądowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, ss. 355.
20. Kitner, M., Pouličková, A., 2003. Littoral diatoms as indicators for the eutrophication of shallow lakes. *Hydrobiologia*, 506-509; 519-524.
21. Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991. Bacillariophyceae. Teil 3, Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. *Süßwasserflora von Mitteleuropa* band 2/3. Gustav Fischer. Verlag Jena, ss. 576.

22. Krammer K., Lange-Bertalot H. 2011. Bacillariophyceae. Part 5, English and French translations of the keys. Süßwasserflora von Mitteleuropa Vol. 2/5. Spectrum Akademischer Verlag, ss. 311.
23. Kuczyńska-Kippen N., Messyasz B. 1998. Phytoplankton and zooplankton in the zones of rushes and submerged vegetation of lake Lubaskie Duże. W: Oceanological Studies 2:23-27.
24. Lampert W., Sommer U. 1996. Ekologia wód śródlądowych. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, ss. 389.
25. Lee R. E. 2008. Phycology. Cambridge University Press, ss. 547.
26. Łepkowska K. 2014. Heterogeniczność zbiorowisk okrzemek epifitycznych. Praca magisterska, manuskrypt. Zakład Hydrobiologii UAM, Poznań ss.163.
27. Messyasz B., Pikosz M., Łęska B., Schroeder G., Fabrowska J. 2015. Identification and ecology of macroalgae species existing in Poland. In: Kim Se-Kwon & Chojnacka K. (eds) Marine algae Extracts: Processes, Products, and Applications. Wiley – VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany: 17-39.
28. Messyasz B., Piechota J., Pikosz M., Radziszewska A., Treska E. Kołodziejka A., 2016. Zmiany sezonowe zawartości kryształów CaCO₃ oraz peryfitonu okrzemek na powierzchni plech *Cladophora glomerata*. W: Grzesiak P. (red.) Środowisko i przemysł t. VI. Wydawnictwo Cursiva: 333-355.
29. Picińska-Fałtynowicz J., Ruszczyńska J. 2013. Ocena stanu ekologicznego rzek i jezior na podstawie fitobentosu okrzemkowego. W: Ciecierska H., Dynowska M. (red.), Biologiczne metody oceny stanu środowiska. Tom II: Ekosystemy wodne. Podręcznik metodyczny. Wydawnictwo Mantis Olsztyn: 59-80.
30. Pikosz M., Messyasz B. 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*. 44 (2): 273-281.
31. Pliński M., Witkowski A. 2009. Okrzemki – Bacillariophyta (Diatoms). Część pierwsza: Okrzemki centryczne (Coscinodiscophyceae). Flora Zatoki Gdańskiej i Wód Przyległych, Bałtyk Południowy t. 4/1. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, ss. 223.
32. Pliński M. 1979. Glony Zatoki Gdańskiej: klucz do oznaczania gatunków cz. IV, Okrzemki. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, ss. 183.

33. Pliński M. 1992. *Hydrobiologia ogólna*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, ss. 189.
34. PN-EN ISO 5667-4. 2003. *Jakość wody. Pobieranie próbek. Część 4.: Wytyczne dotyczące pobierania próbek z jezior naturalnych i sztucznych zbiorników zaporowych*.
35. Podbielkowski Z. 1996. *Glony*. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa, ss. 215.
36. Reynolds C.S. 2006. *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press, ss. 535.
37. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 listopada 2011 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych. Dz.U. 2011 nr 257 poz. 15059.
38. Siemińska J. 1964. *Chrysophyta. 2, Bacillariophyceae – Okrzemki. Flora słodkowodna Polski. T.6*. Wydawnictwo Naukowe PWN, ss. 609.
39. Siemińska J. 2007. *Polscy badacze okrzemek*. *Wiadomości Botaniczne* 51(1/2): 27-46.
40. Starmach K. 1972. *Zielenice nitkowe: Ulothrichales, Ulvales, Prasiolales, Sphaeropleales, Cladophorales, Chaetophorales, Trentepohliales, Siphonales, Dichotomosiphonales. Flora słodkowodna Polski t.10*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa – Kraków, ss. 750.
41. Van den Hoek, C. Jahns, H.M., Mann, D.G. 1995. *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge University Press, First edition, pp. 623.
42. Van Dam H., Merten A., Sinkeldam J. 1994. *A coded checklist and ecological indicators values of freshwater diatoms from the Netherlands*. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 28(1): 117-133.
43. Whitton B.A. 1970. *Biology of freshwater Cladophora*. *Water Res.* 4: 457-476.

Rozdział 4

WPLYW PARAMETRÓW BOROWANIA LASEROWEGO NA MIKROSTRUKTURĘ I MIKROTWARDOŚĆ WARSTWY AZOTOWANEJ

Aneta Bartkowska

Politechnika Poznańska, Wydział Budowy Maszyn i Zarządzania, Instytut
Inżynierii Materiałowej, pl. M. Skłodowskiej-Curie 5, 60-965 Poznań

1. WSTĘP

Współcześnie wytwarzane materiały uzyskuje się przy użyciu coraz to nowszych technologii produkcji, które pozwalają osiągnąć lepsze właściwości mechaniczne, tribologiczne uwzględniając jednocześnie konkurencyjną cenę wykonania, ograniczoną szkodliwość dla środowiska czy późniejszy ich recykling [1, 2].

Do tej pory szeroko poznanymi technologiami w kształtowaniu warstwy wierzchniej były procesy dyfuzyjne takie jak nawęglanie [2], azotowanie [2, 3] czy borowanie [1, 2, 4]. Obecnie stosuje się procesy kompleksowe, które polegają na łączeniu dotychczas znanych obróbek takich jak np. borowania z nawęglaniem czyli proces boronawęglania [5], czy borowania z azotowaniem czyli proces boroazotowania [6-10]. Te innowacyjne metody i techniki inżynierii powierzchni podwyższają właściwości stali takie jak np. twardość, odporność na zużycie przez tarcie, odporność korozyjną czy właściwości wytrzymałościowe. Mankamentem technologicznym wytwarzania takich warstw jest ich wysoka energochłonność.

W przypadku warstw boroazotowanych dyfuzyjnie stosując borowanie po azotowaniu [8] otrzymuje się porowate warstwy dwustrefowe o twardości

przypowierzchniowej około 1600HV i podwyższonej twardości rdzenia z uwagi na obecność azotu.

Obecnie dużym zainteresowaniem cieszą się warstwy powierzchniowe uzyskane przy użyciu procesów wysokoenergetycznych. Jedną z nowoczesnych i wysokowydajnych technologii kształtowania materiałów jest technika z udziałem lasera [11].

Obecnie stosowane jest laserowe stopowanie powierzchni stali np. borem, chromem, węglnikami [9-10], jak również modyfikacja laserowa uprzednio wytworzonej warstwy np. borowanej dyfuzyjnie, którą poddaje się laserowemu przetapianiu [4]. Głównym celem obróbki laserowej jest wzbogacenie warstwy innymi pierwiastkami oraz rozdrobnienie mikrostruktury, przez co uzyskuje się polepszenie właściwości użytkowych materiałów.

W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki badań wpływu gęstości mocy wiązki lasera oraz prędkości skanowania wiązki lasera podczas laserowego stopowania borem amorficznym uprzednio azotowanej stali 42CrMo4 o strukturze $\gamma' + \alpha$ na wymiary powstałych ścieżek laserowych.

2. METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na stali stopowej średniowęglowej 42CrMo4 o składzie chemicznym przedstawionym w tablicy 1. Próbkę miała kształt tulei o wymiarach: średnica zewnętrzna – 20 mm, średnica wewnętrzna – 12 mm, wysokość – 12 mm.

Tablica 1. Skład chemiczny stali [%wag]

Pierwiastek	C	Mn	Si	P	S	Cr	Ni	Mo	Cu
% wag	0,40	0,56	0,30	0,02(2)	0,02(6)	0,93	0,27	0,12	0,12

Azotowanie przeprowadzono metodą gazową, w której wykorzystano atmosferę z rozkładu amoniaku NH_3 . Zastosowane parametry azotowania (temperatura 550°C w czasie 20 h) pozwoliły wytworzyć atmosferę o potencjale azotowym $Np^{\gamma'} = 0,7$ [$\text{atm}^{-1/2}$], wpływającym na powstanie warstwy składającej się z faz: $\gamma' + \alpha$ [3].

Do badań użyto próbek, które były ulepszone cieplnie przed azotowaniem, to jest hartowane z temperatury 850°C w oleju i odpuszczane w temperaturze

570°C w czasie 1 h. Na próbki po procesie azotowania została nałożona powłoka o grubości ok. 40 μm , która składała się z boru amorficznego, wody destylowanej oraz szkła wodnego w określonych proporcjach, a następnie poddana laserowemu przetopieniu.

Stopowanie laserowe borem warstwy powierzchniowej wykonano przy użyciu lasera molekularnego CO_2 firmy TRUMPH (typ TLF 2600 Turbo) o mocy znamionowej 2600W zintegrowanego z tokarką umożliwiającą ruch posuwisto – zwrotny i obrotowy próbek.

Laserową obróbkę cieplną (LOC) przeprowadzono dla gęstości mocy wiązki lasera w zakresie $q = 25 - 58 \text{ kW/cm}^2$ oraz prędkości skanowania wiązką w zakresie $v_f = 0,17 - 5,76 \text{ m/min}$. Badania prowadzono przy stałej średnicy wiązki lasera $d_f = 2 \text{ mm}$ o przekroju kołowym.

Celem laserowego stopowania badanych próbek, które polegało na skanowaniu ich wzdłuż linii prostej równoległej do osi było ustalenie parametrów LOC umożliwiających uzyskanie najkorzystniejszych właściwości warstwy powierzchniowej podczas stopowania laserowego po linii śrubowej. Za najkorzystniejsze właściwości uznano relatywnie dużą twardość warstwy powierzchniowej przy minimalnej porowatości. Kolejność poszczególnych operacji wytwarzania warstwy powierzchniowej przedstawia schemat na rysunku 1.



Rysunek 1. Schemat wytwarzania warstwy powierzchniowej

Badania mikrostruktury wykonano za pomocą mikroskopu świetlnego Metaval produkcji Carl Zeiss Jena oraz elektronowego mikroskopu skaningowego Tescan VEGA 5135. Obserwacje mikrostruktury przeprowadzono na zglądach metalograficznych szlifowanych na papierach o malejącej ziarnistości, następnie polerowanych w zawiesinie tlenku aluminium oraz trawionych 2% roztworem alkoholowym kwasu azotowego.

Badania składu fazowego przeprowadzono na dyfraktometrze rentgenowskim Kristalloflex 4 firmy Siemens z zastosowaniem promieniowania Mo K_α .

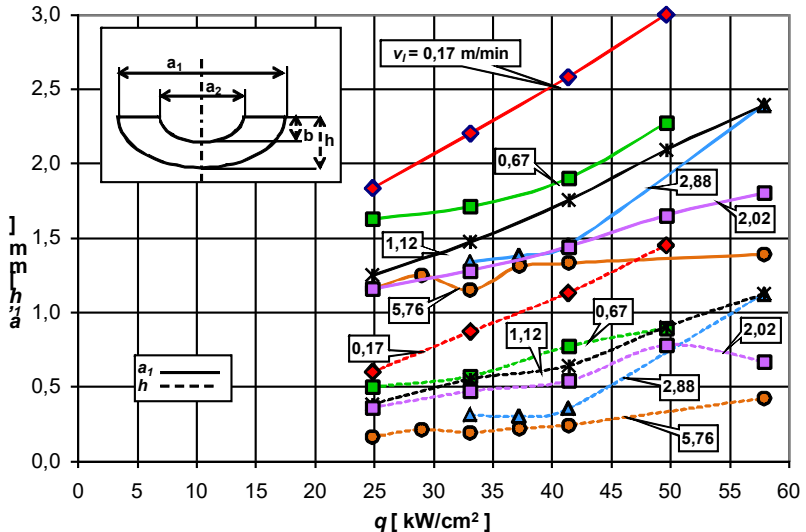
Badanie mikrotwardości przeprowadzono na mikrotwardościomierzu typu Zwick 3212B, NRD.

Pomiar mikrotwardości próbek przeprowadzono sposobem Vickersa wg PN-EN ISO 6507-1, na które działała nominalna wartość siły obciążającej $F = 0,9807 \text{ N}$ o symbolu twardości HV0,1. Czas obciążenia podczas pomiarów wynosił 15 s.

3. WYNIKI BADAŃ

3.1. WPŁYW PARAMETRÓW LASEROWEJ OBRÓBKIE CIEPLNEJ NA WYMIARY ŚCIEŻEK LASEROWYCH

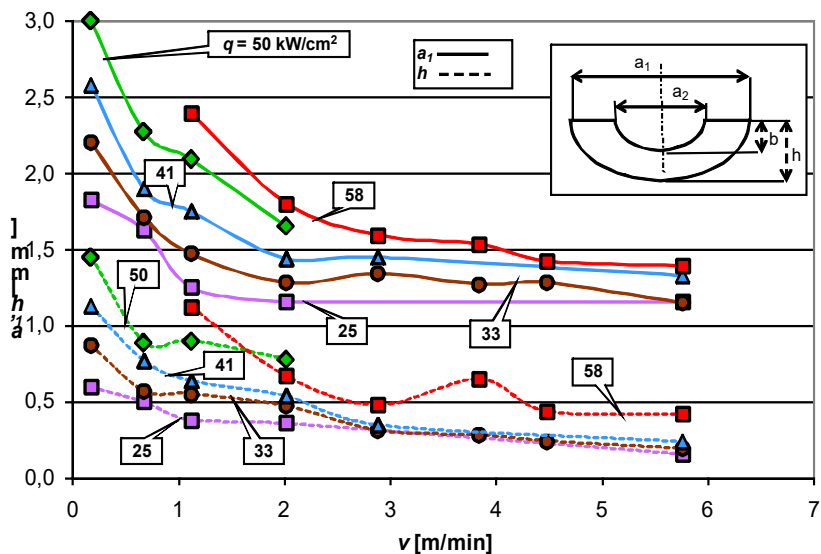
Laserowa modyfikacja stali 42CrMo4 składała się ze stopowania borem uprzednio azotowanej stali o strukturze $\gamma + \alpha$. W mikrostrukturze otrzymanych ścieżek laserowych wyróżniono trzy obszary: strefę przetopioną (SP), strefę wpływu ciepła (SWC) oraz podłoże. Badano wpływ zmiennych: gęstości mocy wiązki lasera q [kW/cm^2] i prędkości skanowania wiązką lasera v_l [m/min] na wymiary ścieżek laserowych to jest głębokość (h) oraz szerokość (a_1).



Rysunek 2. Wpływ gęstości mocy wiązki lasera na szerokość i głębokość SWC; $a_1, h = f(q)$, $v_l = \text{constans}$

Na rysunku 2 przedstawiono wykres zależności $a_p, h = f(q)$, gdy $v_l = \text{constans}$, gdzie stosując stałą prędkość skanowania wiązką lasera (v_l) a zmienną gęstość mocy wiązki lasera (q) zmieniają się wymiary ścieżek laserowych. Wraz ze wzrostem gęstości mocy wiązki lasera zwiększają się głębokość – h i szerokość – a_l ścieżki laserowej.

Wpływ prędkości skanowania na wymiary ścieżek $a_p, h = f(v_l)$ dla różnych wartości q przedstawiono na rysunku 3. Można zauważyć, że wraz ze wzrostem prędkości skanowania wiązką lasera maleją wymiary ścieżek laserowych. Stosując średnie i duże prędkości skanowania wiązki laserowej z przyjętego zakresu zastosowanych parametrów (od ok. 2–6 m/min) otrzymane ścieżki mają zbliżone wymiary.



Rysunek 3. Wpływ prędkości skanowania na szerokość i głębokość SWC; $a_p, h = f(v_l)$, $q = \text{const}$

Badania makro – i mikroskopowe wytworzonych ścieżek laserowych oraz badania mikrotwardości pozwoliły wybrać najkorzystniejsze parametry laserowej obróbki cieplnej przeprowadzonej po linii prostej. Szczegółowym badaniom poddano ścieżki zestawione w tabelicy 2, w której przedstawiono

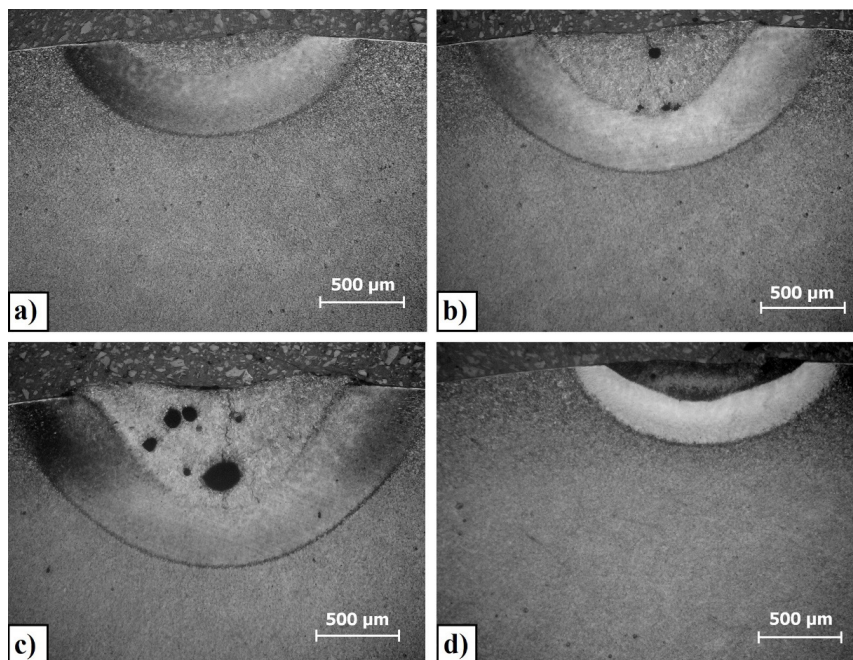
wymiary badanych ścieżek laserowych, gdzie a_1 – szerokość ścieżki, a_2 – szerokość SP, b – głębokość SP, h – całkowita głębokość ścieżki.

Tablica 2. Wpływ parametrów LOC na wymiary ścieżek

Parametry LOC			Wymiary ścieżki [mm]			
P [kW]	q [kW/cm ²]	v_l [m/min]	a_1	a_2	b	h
1,8	58	5,76	1,35	1,17	0,38	0,49
1,3	41	0,17	2,58	1,61	0,73	1,13
1,0	33	0,17	2,20	1,35	0,52	0,87
1,0	33	1,12	1,47	1,11	0,32	0,55
0,8	25	0,17	1,83	1,20	0,23	0,60
0,8	25	0,67	1,63	1,21	0,23	0,50

3.2. MIKROSTRUKTURA I SKŁAD FAZOWY OTRZYMANYCH WARSTW POWIERZCHNIOWYCH

Mikrostruktury przedstawione na rysunku 4 uzyskano dla różnych gęstości mocy lasera i prędkości wiązki laserowej. Z przedstawionych zdjęć mikrostruktur wynika, że ze wzrostem gęstości mocy wiązki lasera przy stałej v_p rosną wymiary ścieżki oraz ilość porów (rys. 4a-4c). Mała prędkość skanowania wiązką lasera i mała gęstość mocy wiązki lasera (rys. 4a) nie powodują tworzenia się porów, gdyż przy takich parametrach procesu zachodzi wolne studzenie i nadmiar azotu uwalnia się w procesie krzepnięcia. Zwiększenie gęstości mocy wiązki lasera jak i prędkości skanowania sprzyja tworzeniu się porów, które gromadzą się w środkowej części ścieżki laserowej. Przy dużych prędkościach, pory powstają na granicy strefa przetopiona a strefa wpływu ciepła (rys. 4d).



Rysunek 4. Mikrostruktura azotowanej stali po stopowaniu laserowym borem:

LOC: $q = 25 \text{ kW/cm}^2$, $v_l = 0,17 \text{ m/min}$

LOC: $q = 33 \text{ kW/cm}^2$, $v_l = 0,17 \text{ m/min}$

LOC: $q = 41 \text{ kW/cm}^2$, $v_l = 0,17 \text{ m/min}$

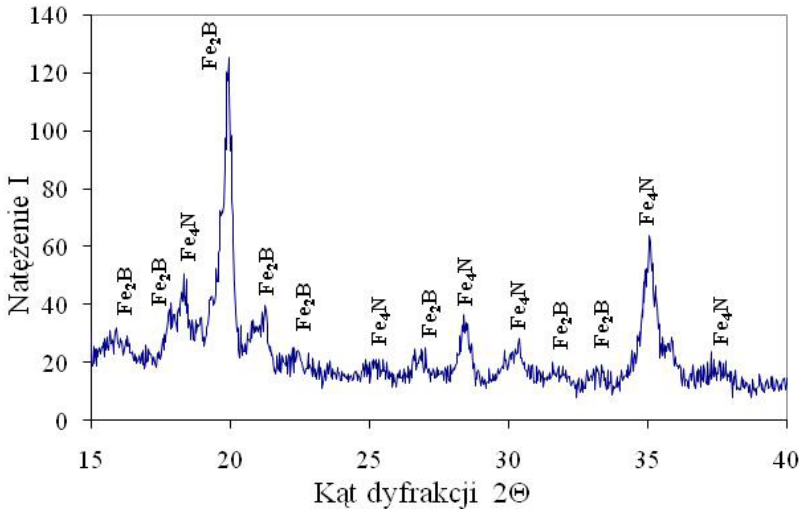
LOC: $q = 25 \text{ kW/cm}^2$, $v_l = 0,67 \text{ m/min}$

Problem związany z porowatością w stopach żelaza zawierających azot był analizowany między innymi w pracach [12-16]. W pracach [15, 16] autorzy badali rozpuszczalność azotu w ciekłym żelazie. Ich badania wykazały, że mniejsza rozpuszczalność azotu w ferrycie niż w cieczy powoduje wydzielenie się go w postaci gazowej. Zjawisko to można ograniczyć przez sterowanie szybkością krzepnięcia [12-16]. W przypadku małych szybkości stygnięcia pęcherze mogą wypłynąć na powierzchnię zanim metal zakrzepnie [14-16].

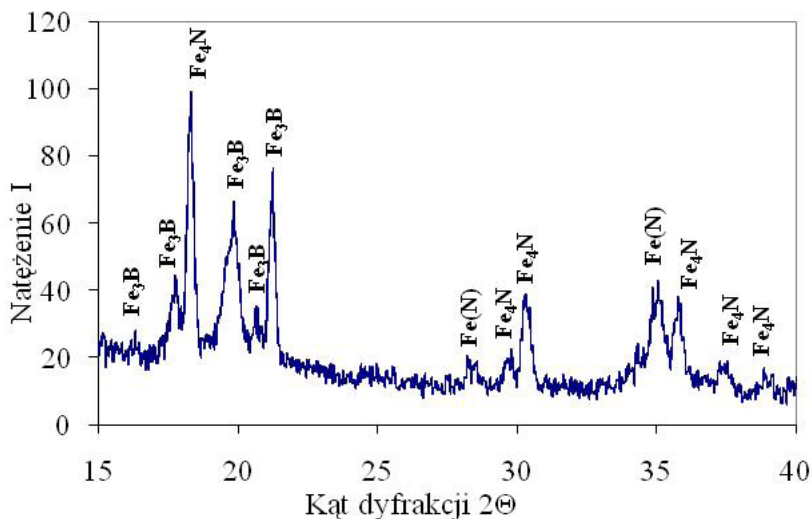
W pracy przeprowadzono badania analizy składu fazowego powierzchni próbek dla ścieżki o gęstości mocy wiązki lasera $q = 25 \text{ kW/cm}^2$ oraz prędkości skanowania wiązki lasera $v_l = 0,17 \text{ m/min}$, które wykazały, że w mikrostrukturze strefy przetopionej występują fazy borków Fe_2B i azotków Fe_4N (rys. 5). Zwiększając zakres wartości stosowanych parametrów lasera q i v_l w strefie

przetopionej wykazano również obecność martenzytu i fazy nierównowagowej Fe_3B (rys. 6). Na rysunku 7a przedstawiono mikrostrukturę strefy przetopionej różniącą się od strefy wpływu ciepła morfologią – wielkości i orientacji listew martenzytu spowodowane szybkością chłodzenia podczas krzepnięcia.

Wyniki badań dla ścieżki otrzymanej przy takiej samej gęstości mocy wiązki lasera ($q = 25 \text{ kW/cm}^2$) i większej prędkości skanowania wiązką lasera $v_l = 0,67 \text{ m/min}$ przedstawiono na rysunkach 4d i 7b. Na podstawie analizy mikrostruktury badanej ścieżki z rysunku 4d stwierdzono, że na granicy między strefą przetopioną a strefą wpływu ciepła występuje strefa eutektyki i strefa martenzytu (rys. 7b). W obszarze strefy przetopionej stwierdzono obecność wydzielań eutektyki o kształcie globularnym, zawierającej martenzyt oraz borki i azotki żelaza. Zdjęcia mikrostruktury dla gęstość mocy wiązki lasera $q = 33 \text{ kW/cm}^2$ przy prędkości skanowania wiązki laserowej $v_l = 1,12 \text{ m/min}$ przedstawiono na rysunku 7c.



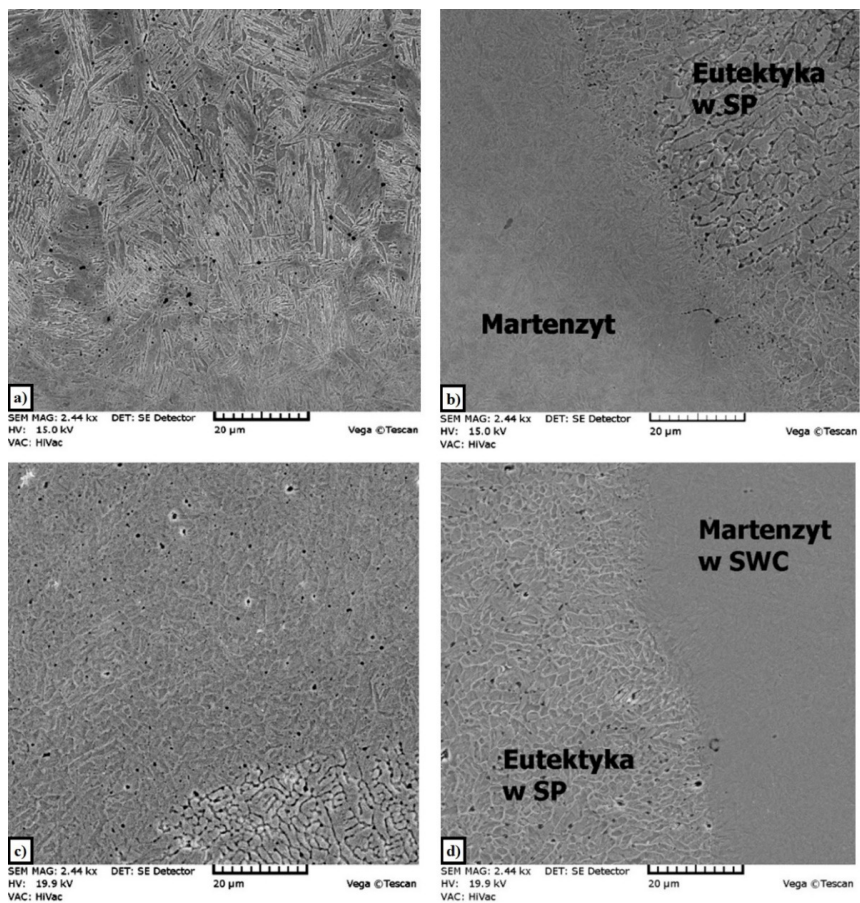
Rysunek 5. Rentgenowska analiza fazowa warstwy azotowanej po stopowaniu borem;
 LOC: $q = 25 \text{ kW/cm}^2$, $v_l = 0,17 \text{ m/min}$



Rysunek 6. Rentgenowska analiza fazowa warstwy azotowanej po stopowaniu borem;
 LOC: $q = 33 \text{ kW/cm}^2$, $v_l = 1,12 \text{ m/min}$

Badania mikrostruktury warstwy poddanej LOC wskazują, że strefa przetopiona ma mikrostrukturę przejściową między mikrostrukturą ścieżki z rysunku 7b ($v_l = 0,67 \text{ m/min}$) a mikrostrukturą ścieżki z rysunku 7d ($v_l = 5,76 \text{ m/min}$), co odpowiada dużej prędkości wiązki laserowej z zakresu badanych parametrów.

Z obserwacji mikrostruktury na rysunku 7c stwierdzono, że w wyniku przetopienia występuje mikrosegregacja składników stopu, co objawia się zróżnicowaną morfologią struktury. Wyniki badań dla gęstości mocy wiązki lasera $q = 58 \text{ kW/cm}^2$ i prędkości skanowania wiązką lasera $v_l = 5,76 \text{ m/min}$ przedstawiono na rysunku 7d. Na rysunku jest widoczny obszar przejścia między strefą przetopioną a strefą wpływu ciepła. Mikrostruktura ścieżki w obszarze strefy przetopionej zawiera eutektykę o kształcie dendrytycznym.



Rysunek 7. Mikrostruktura warstwy azotowanej po stopowaniu borem;

$LOC: q = 25 \text{ kW/cm}^2, v_1 = 0,17 \text{ m/min};$ widok SP;

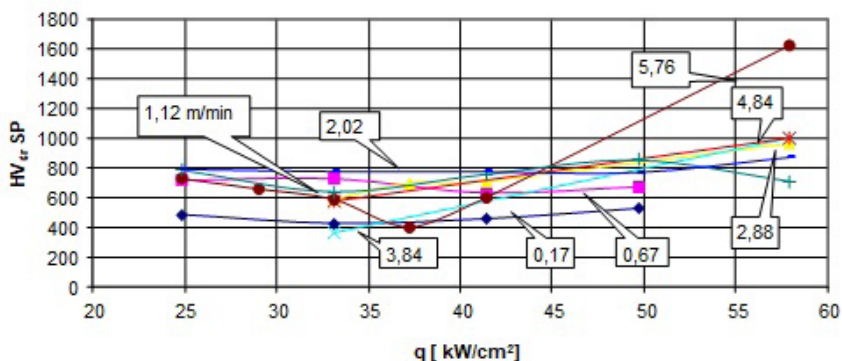
$LOC: q = 25 \text{ kW/cm}^2, v_1 = 0,67 \text{ m/min};$ granica SP a SWC

$LOC: q = 33 \text{ kW/cm}^2, v_1 = 1,12 \text{ m/min};$ widok SP

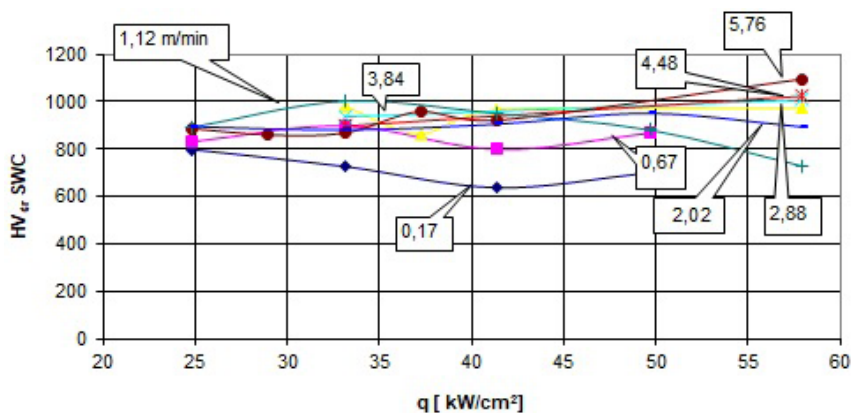
$LOC: q = 58 \text{ kW/cm}^2, v_1 = 5,76 \text{ m/min};$ granica SP a SWC

3.3. MIKROTWARDOŚĆ WARSTW AZOTOWANYCH PO LASEROWYM STOPOWANIU BOREM

Na rysunkach 8 i 9 przedstawiono zależność średniej wartości mikrotwardości warstw azotowanych po laserowym stopowaniu borem w obszarze SP i SWC od gęstości mocy wiązki lasera przy stałej prędkości skanowania.



Rysunek 8. Wykres zależności $HV_{tr, SP} = f(q)$, $v_l = constans$



Rysunek 9. Wykres zależności $HV_{tr, SWC} = f(q)$, $v_l = constans$

Wykres na rysunku 8 pokazuje, że ze wzrostem gęstości mocy wiązki lasera (q) zwiększają się wartości twardości w strefie przetopienia (SP). Większa gęstość mocy q wpływa też na jakość ścieżek. Wraz z jej wzrostem zwiększa się porowatość struktury w obszarze strefy przetopienia, a powierzchnia jest bardziej chropowata.

Wykres na rysunku 9 ilustruje zależność mikrotwardości w obszarze SWC od gęstości mocy wiązki lasera. Można zauważyć, że dla małych prędkości skanowania wraz ze wzrostem q widoczne są wahania mikrotwardości. Natomiast dla dużych prędkości skanowania mikrotwardość waha się w mniejszym stopniu.

4. WNIOSKI

Na podstawie wyników badań można sformułować następujące wnioski:

1. Na mikrostrukturę, wymiary i jakość ścieżek laserowych mają wpływ parametry laserowej obróbki cieplnej przebadane w zakresie: $q = 25\text{--}58$ kW/cm² i $v_l = 0,17\text{--}5,76$ m/min.
2. Przeprowadzone badania pozwoliły na dobór najkorzystniejszych parametrów LOC: gęstość mocy wiązki lasera (q) i prędkość skanowania wiązką lasera (v_l), umożliwiające uzyskanie stopowanej warstwy wierzchniej o dobrej jakości – małej chropowatości, równomiernej strukturze Są to: $q = 58$ kW/cm² i $v_l = 5,76$ m/min, przy których występują pojedyncze pory i duża twardość oraz $q = 25$ kW/cm² i $v_l = 0,17$ m/min, przy których nie występują pory, przy mniejszej twardości.
3. Mała gęstość mocy q i prędkość skanowania v_l powodują powstanie martenzytu o różnej orientacji z fazami Fe₂B i Fe₄N w strefie przetopionej.
4. Zwiększenie gęstości mocy i prędkości wiązki laserowej powoduje otrzymanie w strefie przetopionej mikrostruktury złożonej z eutektyki zawierającej martenzyt oraz fazy Fe₃B i Fe₄N.
5. Wraz ze wzrostem prędkości skanowania v_l (przy stałym q) maleją wymiary ścieżek, natomiast wraz ze wzrostem gęstości mocy q (przy stałym v_l) rosną wymiary ścieżek, ale jednocześnie pogarsza się ich jakość: powstają pory, następuje wzrost chropowatości.

Podziękowania

Serdecznie dziękuję pracownikom Laboratorium Technik Laserowych, Zakładu Obróbki Skrawaniem Politechniki Poznańskiej za możliwość przeprowadzenia obróbki laserowej.

LITERATURA

1. Burakowski T., Wierzchoń T., Inżynieria powierzchni metali, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1995.
2. Kula P., Inżynieria warstwy wierzchniej. Monografie. Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000.
3. Małdziński L. Termodynamiczne, kinetyczne i technologiczne aspekty wytwarzania warstwy azotowej na żelazie i stalach w procesach azotowania gazowego. Rozprawy nr 373, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań, 2002.
4. Pertek A. Kształtowanie struktury i właściwości warstw borków żelaza otrzymywanych w procesie borowania gazowego. Rozprawy nr 365. Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej Poznań 2001.
5. Kusmanov S. A., Tambovskii I. V., Naumov A. R., D'yakov I. G., Kusmanova I. A., Belkin P. N.: Anodic electrolytic-plasma borocarburing of low-carbon steel. Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces. 53, 2017, 488–494.
6. Balandin Yu. A. Boronitriding of die steels in fluidized bed. Metal Science and Heat Treatment, 46, 2004, 385–387.
7. Maragoudakis N.E., Stergioudis G., Omar H., Pavlidou E., Tsipas D.N. Boro-nitriding of steel US 37-1. Materials Letters, 57, 2002, 949– 952.
8. Wiśniewski K., Pertek A. Boroazotowanie stali 42CrMo4. Archiwum Technologii Maszyn i Automatyzacji, 28, 2008, 127–136.
9. Wiśniewski K., Bartkowska A., Pertek A. Laserowe stopowanie borem azotowanej stali 42CrMo4. Zeszyty Naukowe Politechniki Poznańskiej, Budowa Maszyn i Zarządzanie Produkcją, 9, 2008, 117–123.
10. Bartkowska A. Mikrostruktura i właściwości warstw boroazotowanych. Praca dyplomowa, 2008.
11. Kusiński J. Lasery i ich zastosowanie w inżynierii materiałowej, Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków, 2000.
12. Leda H. Stale azotowe. Wyd. Politechniki Poznańskiej, Poznań, 1992.

13. Ridolfi M.R., Tassa O. Formation of nitrogen bubbles during the solidification of 16–18% Cr high nitrogen austenitic stainless steels. *Intermetallics* 11, 2003, 1335-1338.
14. Seong-Ho Yang, Zin-Hyoung Lee A method for predicting nitrogen gas pores in nitrogen alloying stainless steels. *Materials Science & Engineering A*, 417, 2006, 307-314.
15. Siwka J., Svjažin A. G. Azot w ciekłych stopach żelaza. Wyd. Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa, 2006.
16. Pirowski Z. Zwiększenie odporności na zużycie erozyjne dwufazowego staliwa Cr-Ni przez dodatek azotu i innych pierwiastków międzywęzłowych. *Archiwum Technologii Maszyn i Automatykacji*, 26, 2006, 105–121.

Rozdział 5

WPLYW PARAMETRÓW BOROWANIA LASEROWEGO NA MIKROSTRUKTURĘ I WŁAŚCIWOŚCI AZOTOWANEJ STALI 42CrMo4

Aneta Bartkowska¹, Dariusz Bartkowski²

¹ Politechnika Poznańska, Wydział Budowy Maszyn i Zarządzania,
Instytut Inżynierii Materiałowej, pl. M. Skłodowskiej-Curie 5,
60-965 Poznań

² Politechnika Poznańska, Wydział Budowy Maszyn i Zarządzania,
Instytut Technologii Materiałów, pl. M. Skłodowskiej-Curie 5,
60-965 Poznań

1. WSTĘP

Procesy stosowane w przemyśle często charakteryzują się dużą energochłonnością a co za tym idzie negatywnie mogą wpływać na środowisko. W związku z tym coraz popularniejsze są metody mniej energochłonne, do których należą techniki wysokoenergetyczne, takie jak np. obróbka laserowa [1, 2]. Wiązkę lasera można zastosować do przetopienia, cięcia czy stopowania. Modyfikować wiązkę lasera można zarówno stopy żelaza [1 – 4], jak i innych metali [5]. Istotną rolę w technikach laserowych odgrywa stopowanie laserowe stali za pomocą np. boru, chromu, węgla, węglików [2 – 10].

W pracy [6] autor modyfikował laserowo próbki ze stali niskowęglowej 14MnCr5 pokryte pastą z węgla aktywnego. W wyniku nawęglania laserowego otrzymano utwardzoną strefę o budowie dendrytycznej i twardości ok. 900 HV_{0,1}, w obszarze przetopionej warstwy.

W pracy [10] autorzy przetapiali laserowo stal narzędziową uprzednio azotowaną oraz pokrytą chromem. Stwierdzili, że pęknięcia na powierzchni chromowanej spowodowane są naprężeniami spawalniczymi. W przypadku próbek azotowanych efektem spawania były gazowe pory uwolnione w procesie krzepnięcia metalu.

Laserową obróbkę cieplną z punktu widzenia zastosowania praktycznego przedstawili autorzy pracy [4]. Porównali oni badania zmęczeniowe próbek ze stali 40H ulepszanych cieplnie, hartowanych indukcyjnie oraz laserowo. Podczas hartowania laserowego zastosowali odstęp między ścieżkami laserowymi wynoszący $1,5d$, gdzie d to szerokość ścieżek. Zapewniało to odpowiednie wypełnienie powierzchni obrabianej. Przeprowadzone badania zmęczeniowe hartowanych laserowo ścieżek wykazały, że inicjacja pęknięcia występuje w strefach międzyscieżkowych, czyli w strefie przejściowej i utwardzonej materiału rodzimego [4].

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań laserowego stopowania borem uprzednio azotowanej stali 42CrMo4 przy całkowitym wypełnieniu ścieżkami laserowymi powierzchni obrabianej. Celem badań było ustalenie korzystnych parametrów laserowego stopowania z punktu widzenia struktury i właściwości wytworzonej warstwy wierzchniej. Za najkorzystniejsze właściwości uznano dużą twardość warstwy wierzchniej przy minimalnej porowatości.

2. METODYKA BADAŃ

Do badań zastosowano stal 42CrMo4, którą poddano procesowi boroazotowania, który był procesem kompleksowym łączącym w sobie cechy procesu azotowania i borowania. Skład chemiczny stali przedstawiono w tablicy 1. Próbkę miały kształt tulei o wymiarach: $D = 20$ mm, $d = 12$ mm, $h = 12$ mm.

Tablica 1. Skład chemiczny stali [%wag]

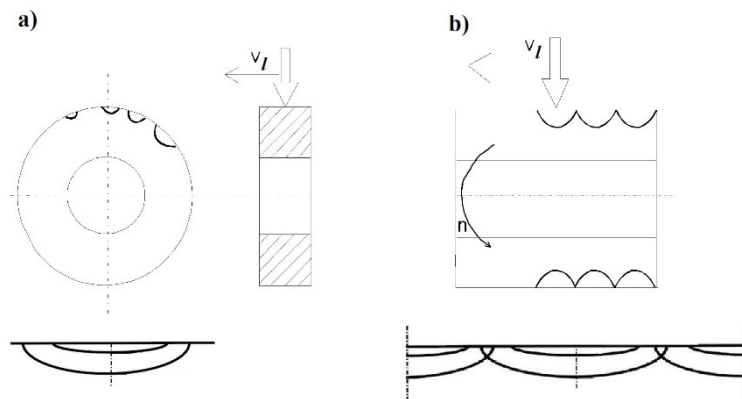
C	Mn	Si	P	S	Cr	Ni	Mo	Cu
0,40	0,56	0,30	0,02(2)	0,02(6)	0,93	0,27	0,12	0,12

Proces boroazotowania składał się z kilku etapów. W pierwszej kolejności próbki zostały poddane ulepszeniu cieplnemu (hartowane z temperatury 850°C w oleju i odpuszczane w temperaturze 570°C w czasie 1 h), następnie azotowaniu.

Proces azotowania gazowego miał na celu wytworzenie warstwy dyfuzyjnej składającej się z faz $\gamma' + \alpha$ [11]. W procesie azotowania wykorzystano atmosferę z rozkładu amoniaku NH_3 . Zastosowane parametry azotowania (temperatura 550°C w czasie 20 h) pozwoliły wytworzyć atmosferę o potencjale azotowym $Np'' = 0,7 [\text{atm}^{-1/2}]$, wpływającym na powstanie warstwy składającej się właśnie z faz: $\gamma' + \alpha$ [11].

Na tak wytworzoną warstwę została nałożona powłoka zawierająca bor amorficzny, którą następnie poddano oddziaływaniu wiązki lasera, tak aby powstała w efekcie warstwa powierzchniowa posiadająca właściwości przewyższające warstwę azotowaną. Powłoka boru miała grubość ok. $40 \mu\text{m}$.

We wcześniejszych publikacjach [7, 12] przedstawiono rezultaty wytworzenia ścieżek laserowych na powierzchniach walcowych próbek skanując je wzdłuż linii prostej (rys. 1a), równoległej do osi, które posłużyły do wyznaczenia parametrów dla ścieżek wielokrotnych po linii śrubowej (rys. 1b).



Rysunek 1. Schemat przebiegu obróbki laserowej oraz schemat ścieżki laserowej uzyskanej po linii prostej (a) i po linii śrubowej (b)

W niniejszym artykule badano wpływ sposobu rozłożenia ścieżek laserowych po linii śrubowej na mikrostrukturę, mikrotwardość oraz odporność na zużycie przez tarcie wytworzonej warstwy powierzchniowej.

Stopowanie laserowe wzdłuż linii śrubowej przeprowadzono na powierzchniach walcowych próbek dla gęstości mocy wiązki lasera (q) równym 16 kW/cm^2 , 21 kW/cm^2 i 25 kW/cm^2 oraz prędkości

skanowania wiązką lasera (v_l) równą 0,17 m/min i 2,02 m/min, stosując stałą średnicę wiązki lasera $d_l = 2$ mm. Parametrem decydującym o wypełnieniu powierzchni obrabianej był skok linii śrubowej (f) zmienny od 1 do 2 mm/obr.

Wykonano zdjęcia makroskopowe i mikroskopowe próbek po laserowej obróbce cieplnej wzdłuż linii śrubowej. Zdjęcia makroskopowe wykonano z użyciem aparatu fotograficznego Nikon D3000. Zdjęcia mikroskopowe wykonano na mikroskopie świetlnym Carl Zeiss Jena.

Pomiary mikrotwardości wytworzonych warstw dokonano na mikrotwardościomierzu typu Zwick 3212 w zakresie siły obciążającej $F = 0,098$ N (HV0,01).

Odporność na zużycie przez tarcie wyznaczano na maszynie badawczej MBT-1 typu Amsler z użyciem pary trącej pierścieni (próbka) – węgiel spiekany S20S (przeciwpróbka). Badania przeprowadzono w warunkach tarcia suchego przy stałym obciążeniu $F = 147$ N i prędkości obrotowej próbki $v = 0,26$ m/s ($n = 250$ obr/min). Odporność na zużycie określano na podstawie ubytku masy próbki, odniesionej do powierzchni tarcia [mg/cm^2] w jednostce czasu.

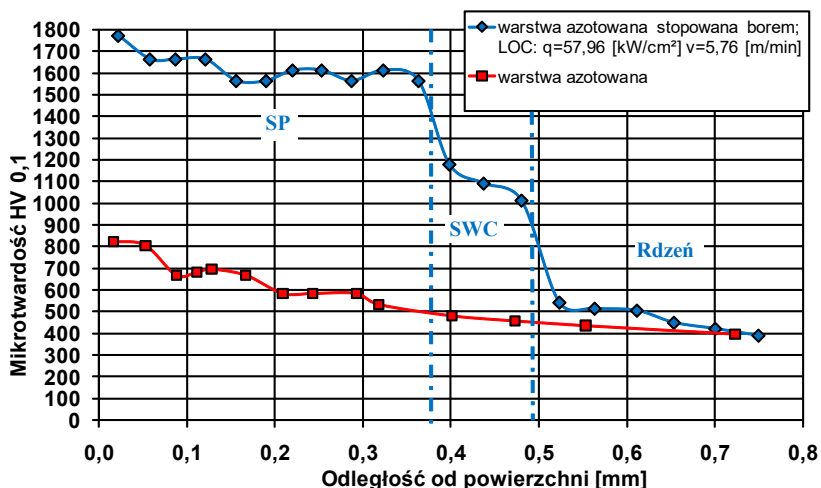
3. WYNIKI BADAŃ

W wyniku stopowania laserowego borem warstwy azotowanej otrzymano ścieżki laserowe składające się z trzech obszarów: strefy przetopionej (SP), strefy wpływu ciepła (SWC) oraz rdzenia.

Wyznaczono profile mikrotwardości dla warstw stopowanych borem przy różnych parametrach pracy lasera. Przykładowy profil mikrotwardości dla wybranej ścieżki przedstawiono na rysunku 1. Na wykresie zaznaczono przejścia mikrotwardości od strefy przetopionej SP, przez strefę wpływu ciepła SWC do rdzenia. Naniesiono profil mikrotwardości dla wyjściowej warstwy azotowanej o strukturze $\gamma' + \alpha$ przed procesem laserowego stopowania borem. Analiza wyników wykazała korzystny wpływ laserowego stopowania borem na profil mikrotwardości.

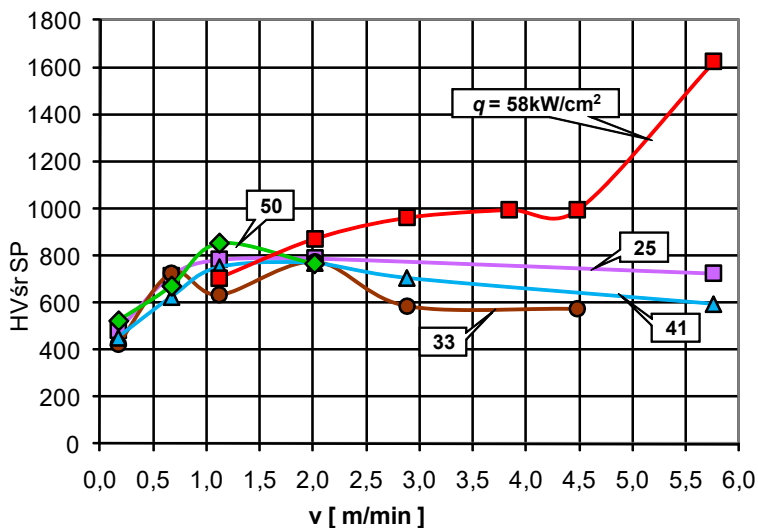
Na rysunku 2 przedstawiono zależność $HV_{sr} \text{ SP} = f(v_l)$, $q = \text{constans}$, przyjmując jako wynik średnią z pięciu pomiarów. Na podstawie rysunku 2 można stwierdzić, że przy małych gęstościach mocy wiązki lasera (q) i wraz ze zwiększaniem prędkości skanowania wiązką lasera (v_l) mikrotwardość rośnie. Natomiast w przypadku zastosowania średnich i dużych prędkości skanowania wiązką lasera mikrotwardość dla wszystkich gęstości mocy nieznacznie spada w obszarze SP.

Szybkie doprowadzenie do krystalizacji austenitu prowadzi do rozpuszczenia się w nim nadmiaru azotu. Dlatego zastosowanie dużej gęstości mocy wiązki lasera przy równie dużej prędkości skanowania spowoduje szybkie krzepnięcie, przez co azot nie zdoła się uwolnić i pozostanie w strukturze [13 – 17]. Częściowo zostanie zamrożony w porach, a częściowo wraz z borem wzmocni międzywęzłowo otrzymaną drobnokrystaliczną mikrostrukturę. Tak dobrane parametry stopowania laserowego sprzyjają uzyskaniu dużej mikrotwardości obrobionej laserowo stali. Rozważania te mają uzasadnienie dla parametrów LOC: $q = 58 \text{ kW/cm}^2$; $v_l = 5,76 \text{ m/min}$, których wyniki są przedstawione na rysunku 1 i 2.



Rysunek 1. Profil mikrotwardości stali 42CrMo4 azotowanej i stopowanej laserowo borem po linii prostej LOC: $q = 58 \text{ kW/cm}^2$; $v_l = 5,76 \text{ m/min}$

Na podstawie rysunku 2 można stwierdzić, że mikrotwardość w obszarze SP dla badanych ścieżek i stosowanych parametrów LOC wahała się w zakresie 600–1000 HV i była uzależniona od szybkości odprowadzania ciepła w głąb materiału.



Rysunek 2. Wykres zależności $HV_{sr} SP = f(v)$, $q = constans$

Dobrano gęstość mocy wiązki lasera i prędkość skanowania, umożliwiając uzyskanie stopowanej warstwy wierzchniej o jak najlepszych parametrach użytkowych – małej chropowatości, dużej mikrotwardości, równomiernej mikrostrukturze.

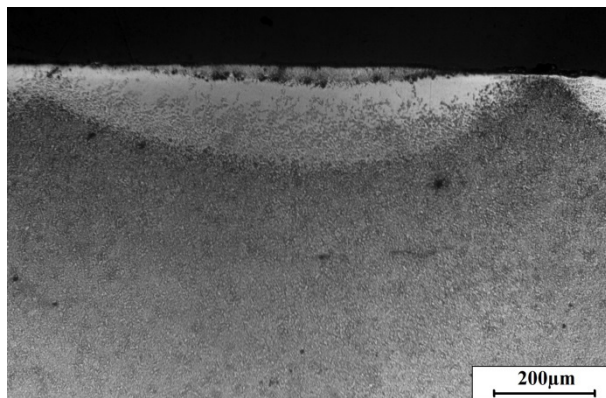
Wygląd makroskopowy próbek wraz z parametrami podano w tabelicy 2. Procesowi laserowego stopowania poddano próbki o różnym skoku linii śrubowej f , wpływającym na rozmieszczenie ścieżek i wypełnienie powierzchni obrabianej. Proces laserowego stopowania rozpoczynał się od małej gęstości mocy wiązki lasera i małej prędkości skanowania wiązką lasera, dla skoku linii śrubowej $f = 2$ mm/obr.

Tablica 2. Parametry LOC po linii śrubowej

Lp.	q [kW/cm ²]	v_1 [m/min]	f [mm/obr]	Wygląd makro
1	25	0,17	2	
2	25	2,02	2	
3	21	2,02	1	
4	16	2,02	1	

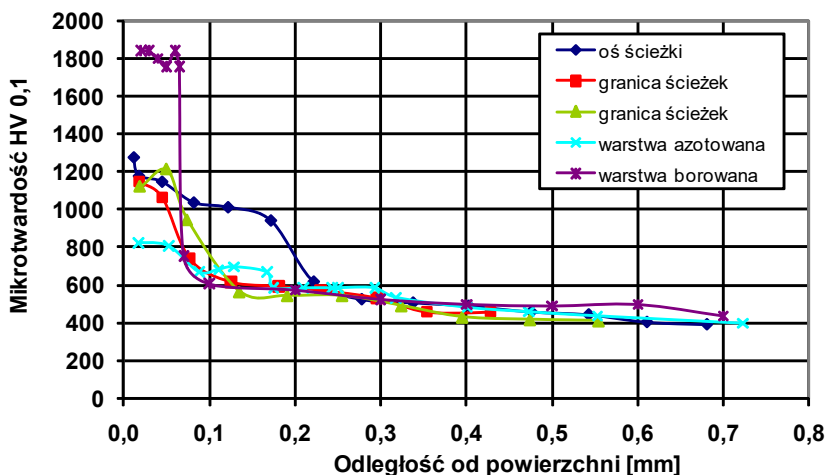
Otrzymana struktura charakteryzowała się dużym przetopieniem i nierównościami obszaru przetopionego. Z uwagi na niekorzystne zaobserwowane zjawisko, jakim jest duża chropowatość przy parametrach $q = 25 \text{ kW/cm}^2$ i większych (58 kW/cm^2) od tej wartości oraz $v_l = 0,17 \text{ m/min}$ (tablica 2, lp. 1) zwiększono prędkość skanowania wiązką lasera do $v_l = 2,02 \text{ m/min}$. W dalszym etapie zmniejszono oddziaływanie wiązki lasera z podłożem poprzez wzrost prędkości skanowania wiązką lasera (tablica 2, lp. 2). Wygląd makrostruktury był akceptowalny, jednakże powierzchnia nie była w całości wypełniona ścieżkami laserowymi i dlatego zmniejszono wartość f do 1 mm/obr . Dalsze badania przeprowadzono dla $f = 1 \text{ mm/obr}$ i $v_l = 2,02 \text{ m/min}$ stosując zmienną gęstość mocy wiązki lasera (tablica 2, lp. 3, 4). Za korzystny efekt stopowania przyjęto ścieżkę po LOC z gęstością mocy wiązki lasera 16 kW/cm^2 . Ścieżka charakteryzowała się nielicznymi porami i mikronierównościami w obserwacjach makrostruktury (tablica 2, lp. 4).

Na rysunku 3 przedstawiono widok rozłożenia ścieżek po linii śrubowej, w przypadku stykania się ścieżek ze sobą. Przy tak dobranych parametrach LOC, porowatość występuje jedynie na granicy między strefą przetopioną a strefą wpływu ciepła. Zastosowanie prędkości $v_l = 2,02 \text{ m/min}$ sprzyja zmniejszeniu udziału ilości tworzących się porów, zachowując przy tym dużą twardość obrabianego materiału.



Rysunek 3. Stal 42CrMo4 azotowana i stopowana laserowo borem, po linii śrubowej LOC: $q = 16 \text{ kW/cm}^2$; $v_l = 2,02 \text{ m/min}$

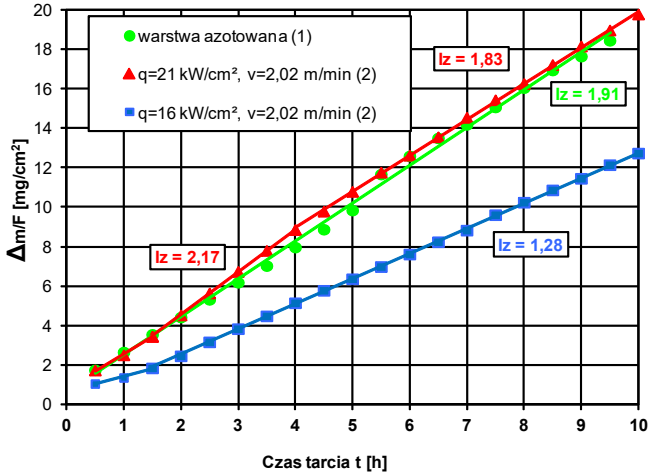
Na rysunku 4 przedstawiono profil mikrotwardości dla wybranych ścieżek laserowych – w osi ścieżki i na jej granicach. Uwzględniono również na wykresie profile mikrotwardości dla stali azotowanej i borowanej dyfuzyjnie. Można zauważyć, że obróbka cieplno-chemiczna połączona z laserową obróbką cieplną poprawia jakość badanych ścieżek. Uzyskana mikrotwardość jest wyraźnie większa niż w przypadku warstwy azotowanej, a kombinacja pierwiastków międzywęzłowych azotu i boru poprawia gradient mikrotwardości między warstwą, a podłożem. Wprawdzie otrzymana mikrotwardość jest mniejsza niż dla warstwy borowanej, ale warstwy stopowane laserowo w wyniku tak przeprowadzonej obróbki mają łagodniejszy gradient mikrotwardości.



Rysunek 4. Profil mikrotwardości stali 42CrMo4 azotowanej i stopowanej laserowo borem po linii śrubowej LOC: $q = 16 \text{ kW/cm}^2$; $v_l = 2,02 \text{ m/min}$ oraz profile mikrotwardości stali azotowanej i borowanej

Dla badanej ścieżki przedstawionej na rysunku 4 można zauważyć wyrównaną mikrotwardość w jej osi i na jej granicach. Na granicy ścieżek mikrotwardość jest nieznacznie mniejsza niż w osi ścieżek i charakteryzuje się również łagodnym gradientem przejścia od warstwy do podłoża. W strefie przetopienia otrzymana mikrotwardość wynosi ok. 1200 HV, w strefie wpływu ciepła mieści się w zakresie od 1200–1000 HV i następnie przechodzi do sorbitycznego rdzenia o mikrotwardości ok. 400 HV.

Przeprowadzono badanie odporności na zużycie przez tarcie stali 42CrMo4 azotowanej o strukturze $\gamma' + \alpha$, a następnie stopowanej borem porównując ją z warstwą azotowaną (rys. 5).



Rysunek 5. Odporność na zużycie przez tarcie stali 42CrMo4: 1) azotowanej, 2) azotowanej i stopowanej laserowo borem

Jak wynika z rysunku 5 większe zużycie wykazuje warstwa otrzymana przy większej gęstości mocy lasera $q = 21 \text{ kW/cm}^2$. Duże ubytki masy dla próbki o takich parametrach stopowania laserem spowodowane są prawdopodobnie występowaniem porów w strukturze, które zwiększają się wraz ze wzrostem gęstości mocy. Powierzchniowe nierówności struktury można zaobserwować na zdjęciach makroskopowych przedstawionych w tabelicy 2. Dla warstw poddanych laserowej obróbce zużycie ma charakter liniowy, ale proste mają różne kąty nachylenia. Próbkę po laserowym stopowaniu borem o gęstości mocy $q = 16 \text{ kW/cm}^2$ wykazuje mniejsze zużycie określone przez wskaźnik $I_z = 1,28 \text{ [mg/cm}^2 \times \text{h]}$ w porównaniu z warstwą azotowaną, dla której $I_z = 1,91 \text{ [mg/cm}^2 \times \text{h]}$.

4. WNIOSKI

1. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że na mikrostrukturę i mikrotwardość oraz odporność na zużycie przez tarcie stali mają wpływ parametry laserowej modyfikacji, jak: gęstość mocy wiązki

laserowej q i prędkość skanowania wiązki v_p , a także skok linii śrubowej f , pozwalający na uzyskanie powierzchni o różnym stopniu pokrycia ścieżkami.

2. Proponowane parametry LOC, które pozwalały otrzymać warstwy wierzchnie o dobrej jakości – małej chropowatości i porowatości, dużej twardości, równomiernej strukturze, charakteryzują się mniejszą ilością dostarczonego ciepła, a więc mniejszą q i v_l od stosowanych dla ścieżek pojedynczych.
3. Mikrotwardość wytworzonej warstwy boroazotowanej jest mniejsza od borowanej, ale większa od azotowanej. W strefie przetopienia otrzymano mikrotwardość ok. 1200 HV, w strefie wpływu ciepła ok. 1000 HV, przy sorbitycznym rdzeniu ok. 400 HV. Na granicy ścieżek mikrotwardość jest nieznacznie mniejsza niż w osi ścieżek, ale warstwa charakteryzuje się łagodniejszym gradientem przejścia od powierzchni do rdzenia w stosunku do warstwy borowanej.
4. Głębokość strefy oddziaływania lasera (strefa przetopiona i wpływu ciepła) jest około 2 razy większa od grubości warstwy borowanej.
5. Odporność na zużycie przez tarcie warstwy azotowanej stopowanej borem jest większa w porównaniu z warstwą azotowaną i jest porównywalna z warstwą borowaną dyfuzyjnie.

Podziękowania

Serdecznie podziękowania dla pracowników Laboratorium Techniki Laserowych, Zakładu Obróbki Skrawaniem Politechniki Poznańskiej za możliwość przeprowadzenia obróbki laserowej.

LITERATURA

1. Kusiński J.: Lasery i ich zastosowanie w inżynierii materiałowej, Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków, 2000.
2. Burakowski T., Wierzchoń T.: Inżynieria powierzchni metali, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1995.
3. Napadłek W., Przetakiewicz W.: Właściwości zmęczeniowe stali 40H hartowanej laserowo. Inżynieria Materiałowa, 6, 2000, 365-369.
4. Kąc S., Kusiński J., Hnat S., Woland A.: Struktura i właściwości laserowo przetopionej stali SWV9. Inżynieria Materiałowa, 5, 1999, 365-368.

5. Filip R.: Stopowanie laserowe jako metoda kształtowania właściwości użytkowych stopu tytanu Ti6Al4V. *Inżynieria Materiałowa*, 5, 2006, 943-946.
6. Buczma D.: Laser Carbonizing of Low-Carbon Steel. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 50, 2005, 49-53.
7. Wiśniewski K., Bartkowska A., Pertek A.: Laserowe stopowanie borem azotowanej stali 42CrMo4. *Zeszyty Naukowe Politechniki Poznańskiej, Budowa Maszyn i Zarządzanie Produkcją*, 9, 2008, 117-123.
8. Bartkowski D., Młynarczak A., Piasecki A., Dudziak B., Gościański M., Bartkowska A.: Microstructure, microhardness and corrosion resistance of Stellite-6 coatings reinforced with WC particles using laser cladding. *Optics and Laser Technology* 68, 2015, 191-201.
9. Bartkowski D., Bartkowska A.: Wear resistance in the soil of Stellite-6/WC coatings produced using laser cladding method. *Int J Refract Met H* 64, 2017, 20-26.
10. Vedani M., Previtali B., Vimercati G. M., Sanvito A. Somaschini G.: Problems in laser repair-welding a surface-treated tool steel. *Surface & Coatings Technology*, 201, 2007, 4518-4525.
11. Małdziński L.: Termodynamiczne, kinetyczne i technologiczne aspekty wytwarzania warstwy azotowej na żelazie i stalach w procesach azotowania gazowego. *Rozprawy nr 373, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań*, 2002.
12. Bartkowska A.: Wpływ parametrów borowania laserowego na mikrostrukturę i mikrotwardość warstwy azotowanej. *Środowisko i Przemysł. Cursiva* 2017.
13. Maragoudakis N.E., Stergioudis G., Omar H., Pavlidou E., Tsipas D.N.: Boro-nitriding of steel US 37-1. *Materials Letters*, 57, 2002, 949-952.
14. Ridolfi M.R., Tassa O.: Formation of nitrogen bubbles during the solidification of 16–18% Cr high nitrogen austenitic stainless steels. *Intermetallics* 11, 2003, 1335-1338.
15. Yang S.-H., Lee Z.-H.: A method for predicting nitrogen gas pores in nitrogen alloying stainless steels. *Materials Science & Engineering A*, 417, 2006, 307-314.
16. Siwka J., Svjažin A. G.: Azot w ciekłych stopach żelaza. *Wyd. Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa*, 2006.

17. Pirowski Z.: Zwiększenie odporności na zużycie erozyjne dwufazowego staliwa Cr-Ni przez dodatek azotu i innych pierwiastków międzywęzłowych. Archiwum Technologii Maszyn i Automatykacji, 26, 2006, 105-121.

Rozdział 6

MODYFIKACJA METODY SODA-CHLOR-SALETRA, JAKO ALTERNATYWA DLA PROCESU SOLVAY’A

**Sebastian Drużyński, Urszula Kielkowska, Mieczysław Trypuć,
Krzysztof Mazurek, Adriana Wróbel**

Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Chemii, ul. Jurija Gagarina 7,
87-100 Toruń

1. WPROWADZENIE

Węglan sodu (Na_2CO_3) jest jednym z najstarszych związków chemicznych wykorzystywanych przez człowieka. Współcześnie węglan sodu znajduje szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Wykorzystywany jest przede wszystkim do produkcji szkła oraz w przemyśle chemicznym do produkcji innych związków np. trójpolifosforanu sodu, szkliwa sodowego, sody oczyszczonej i detergentów. Ponadto węglan sodu stosowany jest w przemyśle metalurgicznym, celulozowo-papierniczym i energetycznym. Związek ten znajduje również zastosowanie, jako środek do zmiękczenia wody [1–4].

Ponad połowa produkcji węglanu sodu pochodzi z instalacji pracujących metodą amoniakalną wykorzystującą chlorek sodu. Zaproponowana przez Solvay’a metoda wywiera niekorzystny wpływ na środowisko naturalne poprzez duże ilości odpadów, zwłaszcza ciekłych, które dziesięciokrotnie przewyższają ilość wyprodukowanego węglanu sodu [1–4]. W związku z zaostrzającymi się normami dotyczącymi poziomu zanieczyszczeń emitowanych do środowiska z instalacji przemysłowych wydaje się konieczne prowadzenie badań, mających na celu poszukiwanie metod bezodpadowych, względnie modyfikacji istniejących

metod produkcji, które czyniłyby dane technologie bardziej ekonomicznymi energetycznie i surowcowo.

Wśród bezodpadowych metod produkcji węglańu sodu należy wymienić stosowaną w praktyce przemysłowej metodę DUAL oraz metody, które pomimo swoich znaczących zalet, nie znalazły jeszcze praktycznego zastosowania, tj. metodę Soda – Chlor – Saletra (SCS), metodę produkcji węglańu sodu z mirabilitu i metawanadanu sodu. Źródłem ograniczeń w przemysłowym wykorzystaniu określonych metod niskoodpadowych, w tym metody SCS, są ich wady na poszczególnych etapach produkcji. Stąd uzasadnione jest prowadzenie prac nad ich modyfikacją.

We wspomnianej metodzie Soda – Chlor – Saletra (SCS) procesowi karbonizacji poddawany jest amoniakalny roztwór azotanu sodu. W trakcie procesu karbonizacji wytrąca się wodorowęglan sodu, natomiast w roztworze powstaje w równoważnych ilościach azotan amonu. Po procesie filtracji wodorowęglanu sodu pozostaje roztwór o następującym składzie (w przeliczeniu na suchą masę) [5, 6]:

- 73–83% NH_4NO_3 ,
- 15–25% NaNO_3 ,
- ~2% NaCl .

Ług pofiltracyjny wykorzystywany jest do produkcji saletry amonowo-sodowej o przeznaczeniu nawozowym. Wytwarzanie tego produktu na drodze zateżania roztworu i krystalizacji utrudnia resztkowa ilość jonów chlorkowych pochodzących z procesu otrzymywania azotanu sodu ze stałego chlorku sodu i kwasu azotowego w obecności powietrza. Jony chlorkowe są katalizatorem niekontrolowanego rozkładu azotanu amonu. Z tego też względu podczas zateżania roztworu pofiltracyjnego, krystalizacji i późniejszego przechowywania saletry amonowo-sodowej występuje realne zagrożenie wybuchem [7, 8].

Celem prowadzonych badań było opracowanie metody pozwalającej na eliminację zagrożenia związanego z niekontrolowanym rozkładem azotanu amonu podczas etapu produkcji saletry amonowo-sodowej. Zagrożenie to można wyeliminować poprzez przeprowadzenie azotanu amonu w azotan sodu na drodze konwersji z metawanadanem sodu. Substraty oraz produkty reakcji konwersji tworzą układ par soli wymiennych. Z tego względu, do właściwego sterowania procesem konwersji azotanu amonu do azotanu sodu, konieczne jest wyznaczenie wykresów równowagowych wzajemnej rozpuszczalności soli w układzie par soli wymiennych $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3$

+ H₂O oraz wycinków politerm rozpuszczalności dla czterech układów trójskładnikowych, które są częściami składowymi wyżej wymienionego układu, tj.:

- NaVO₃ + NaNO₃ + H₂O,
- NH₄VO₃ + NH₄NO₃ + H₂O,
- NaNO₃ + NH₄NO₃ + H₂O,
- NH₄VO₃ + NaVO₃ + H₂O.

Rozpatrzenie możliwości wprowadzenia do metody SCS proponowanej modyfikacji wymaga również określenia najkorzystniejszych warunków prowadzenia procesu, tzn. temperatury, czasu, stosunku molowego reagentów, pozwalających uzyskać odpowiednio wysoką wydajność reakcji oraz minimalne zanieczyszczenie produktu solami wanadanowymi.

Przegląd literatury przedmiotu wskazuje, że proces konwersji azotanu amonu do azotanu sodu za pomocą metawanadanu sodu pozostaje do tej pory niezbadany. Z tego względu nie są dostępne wyniki eksperymentalne dotyczące badań równowagowych dla układu par soli wymiennych NaVO₃ + NH₄NO₃ + NaNO₃ + NH₄VO₃ + H₂O oraz dla dwóch układów trójskładnikowych: NaVO₃ + NaNO₃ + H₂O i NH₄NO₃ + NH₄VO₃ + H₂O.

W ramach badań prowadzonych nad wanadanową metodą produkcji węgla sodu [9-12] w satysfakcjonujący sposób opisano wzajemną rozpuszczalność soli dla układu trójskładnikowego NaVO₃ + NH₄VO₃ + H₂O [12].

Układ NH₄NO₃ + NaNO₃ + H₂O był często tematem badań naukowców. Niestety w przeważającej mierze są to badania z pierwszej połowy ubiegłego wieku, które są niepełne i niewystarczające, a tym samym niemożliwe jest ich wykorzystanie. Ponadto autorzy dochodzili do rozbieżnych wniosków, szczególnie w aspekcie tworzenia się w tym układzie soli podwójnej 2NaNO₃·NH₄NO₃·nH₂O [13-17].

2. WZAJEMNA ROZPUSZCZALNOŚĆ SOLI W UKŁADACH TRÓJSKŁADNIKOWYCH

2.1. UKŁAD $\text{NaNO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$

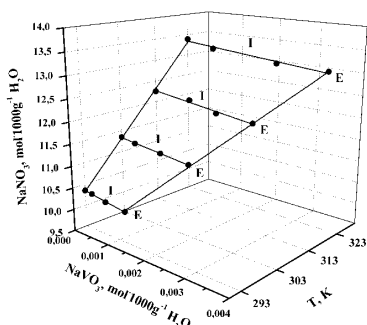
Na podstawie uzyskanych wyników eksperymentalnych wykreślono wycinek politermy rozpuszczalności badanego układu (rys. 1 i 2). Przedstawione izotermi dla temperatur 293, 303, 313 i 323 K składają się z dwóch gałęzi. Gałęzie izoterm odpowiadające roztworom nasyconym względem NaNO_3 oznaczono jako (I), natomiast gałęzie izoterm odpowiadające roztworom nasyconym względem NaVO_3 oznaczono jako (II). Punkty oznaczone literą (E) reprezentują roztwory eutoniczne, które nasycone są obiema solami.

Uzyskane wyniki wskazują, iż metawanadan sodu rozpuszcza się w nasyconych roztworach azotanu sodu w bardzo niewielkim stopniu. Z tego względu, w celu czytelnego zobrazowania zmian rozpuszczalności azotanu sodu wywołanych przez wzrost temperatury i stężenie metawanadanu sodu gałęzie (I) izoterm przedstawiono na osobnym rysunku 1.

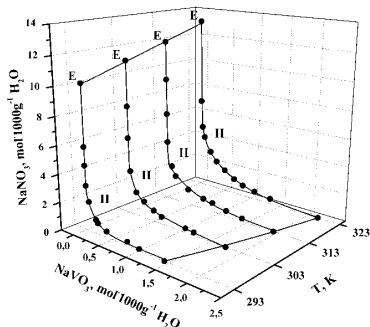
Przebieg gałęzi (I) izoterm rozpuszczalności na rysunku 1 jest prostoliniowy o nieznacznym ujemnym nachyleniu. Wskazuje to, że wraz ze wzrostem stężenia metawanadanu sodu następuje niewielki spadek rozpuszczalności azotanu sodu. Widoczny jest wzrost rozpuszczalności azotanu sodu wraz ze wzrostem temperatury. W roztworach eutonicznych wraz ze wzrostem temperatury następuje wzrost rozpuszczalności obu soli.

Gałęzie (II) izoterm rozpuszczalności (rys. 2) mają charakter hiperboliczny. Specyficzny przebieg krzywych spowodowany jest silnym wpływem wysalającym azotanu sodu na metawanadan sodu. W roztworach o wysokim stężeniu azotanu sodu rozpuszczalność metawanadanu sodu jest niska. Widoczny wzrost rozpuszczalności tej soli występuje, gdy stężenie azotanu sodu jest mniejsze niż $3 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$. Efekt silnego wysalania zmniejsza się wraz ze wzrostem temperatury. Dla wyższych temperatur dynamiczny wzrost stężenia metawanadanu sodu występuje przy wyższych stężeniach azotanu sodu. W temperaturze 293 K szybki wzrost stężenia NaVO_3 występuje dla stężenia NaNO_3 w roztworze wynoszącego $\sim 3 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$, natomiast w temperaturze 303 K dla stężenia NaNO_3 wynoszącego $\sim 2 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$.

Przeprowadzona analiza XRD fazy stałej wskazuje, iż w badanym układzie nie tworzą się sole złożone w fazie stałej.



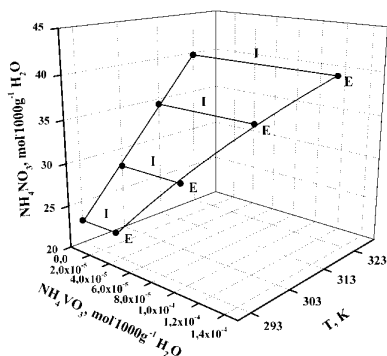
Rysunek 1. Wycinek politermy rozpuszczalności układu $\text{NaNO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ – gałęzie (I) izoterm rozpuszczalności [18].



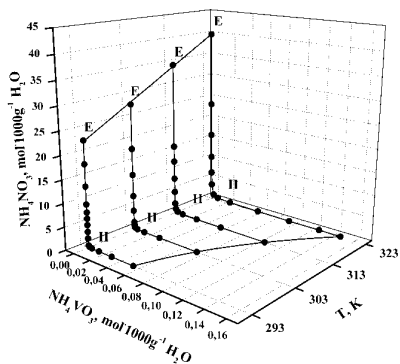
Rysunek 2. Wycinek politermy rozpuszczalności układu $\text{NaNO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ – gałęzie (II) izoterm rozpuszczalności [18].

2.2. UKŁAD $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$

Uzyskane dane równowagowe stanowiły podstawę wykreślenia wycinka politermy rozpuszczalności badanego układu trójskładnikowego (rys. 3 i 4). Przedstawione izotermy rozpuszczalności, w każdej z temperatur, składają się z dwóch części. Gałęzie izoterm rozpuszczalności oznaczone jako (I) odnoszą się do roztworów nasyconych względem azotanu amonu, zaś gałęzie izoterm rozpuszczalności oznaczone jako (II) odpowiadają roztworom nasyconym względem metawanadanu amonu. Punkty eutoniczne oznaczone na rysunkach 30 i 31 literą (E) reprezentują roztwory nasycone oboma solami. Wycinek politermy rozpuszczalności dla gałęzi (I) i (II) zostały pokazane oddzielnie ze względu na bardzo niską rozpuszczalność metawanadanu amonu w nasyconych roztworach azotanu amonu.



Rysunek 3. Wycinek politermy rozpuszczalności układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ – gałęzie (I) izoterm rozpuszczalności [19].



Rysunek 4. Wycinek politermy rozpuszczalności układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ – gałęzie (II) izoterm rozpuszczalności [19].

Gałęzie (I) izoterm rozpuszczalności zamieszczone na rysunku 3 wskazują, że metawanadan amonu nie wpływa na rozpuszczalność azotanu amonu. Rozpuszczalność azotanu amonu w wodzie, dla danej temperatury, praktycznie równa jest rozpuszczalności tej soli w roztworach eutonicznych.

Przebieg gałęzi (II) izoterm rozpuszczalności ma charakter hiperboliczny spowodowany bardzo silnym wpływem wysalającym azotanu amonu na metawanadan amonu. Efekt wysalający zmniejsza się wraz ze wzrostem temperatury. Wzrost stężenia metawanadanu amonu w wyższych temperaturach występuje przy wyższych stężeniach azotanu amonu. Zauważalny wzrost rozpuszczalności metawanadanu amonu występuje dla stężeń azotanu amonu poniżej: $0,5 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ w temperaturze 293 K, $1,0 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ w temperaturze 303 K, $3,3 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ w temperaturze 313 K i $3,5 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ w temperaturze 323 K.

Wykresy zamieszczone na rysunkach 3 i 4 wskazują na dodatni wpływ wzrostu temperatury na rozpuszczalność czystych soli w wodzie. Analogiczny wpływ wzrostu temperatury na rozpuszczalność obu soli, jest widoczny również dla roztworów eutonicznych.

Określenie potencjalnych zmian fazy stałej przeprowadzono analogicznie, jak w przypadku układu $\text{NaVO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ metodą XRD. Na zarejestrowanych dyfraktogramach stwierdzono obecność sygnałów charakterystycznych tylko dla azotanu amonu i metawanadanu amonu.

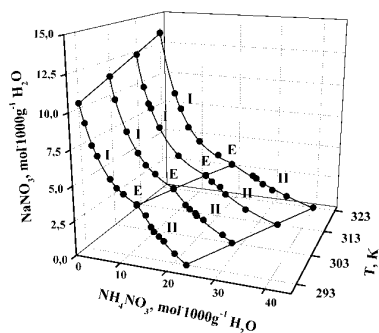
2.3. UKŁAD $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$

Uzyskane dane stanowiły podstawę do wykreślenia wycinka politermy rozpuszczalności soli w układzie $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (rys. 5) oraz zależności zmian gęstości roztworów równowagowych od ułamka molowego azotanu amonu (rys. 6). Ułamki molowe azotanu amonu i azotanu sodu zostały obliczone zgodnie z równaniami (1) i (2).

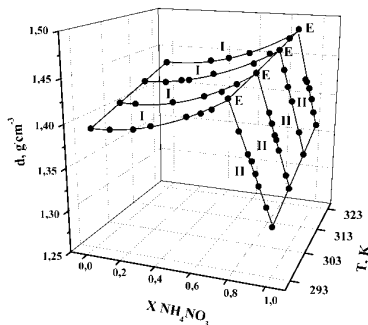
$$x_{\text{NaNO}_3} = \frac{[\text{NaNO}_3]}{[\text{NaNO}_3] + [\text{NH}_4\text{NO}_3]} \quad (1)$$

$$x_{\text{NH}_4\text{NO}_3} = \frac{[\text{NH}_4\text{NO}_3]}{[\text{NaNO}_3] + [\text{NH}_4\text{NO}_3]} \quad (2)$$

Izotermy rozpuszczalności, zamieszczone na rysunku 5, dla temperatur 293, 303, 313 i 323 K składają się z dwóch gałęzi. Gałęzie izoterm rozpuszczalności oznaczone jako (I) reprezentują roztwory nasycone względem azotanu sodu. Krzywe oznaczone jako (II) odpowiadają roztworom nasyconym względem azotanu amonu. Oznaczenie (E) odnosi się do roztworów eutonicznych, które nasycone są obiema solami. Przebieg gałęzi (I) izoterm rozpuszczalności dla rozpatrywanych temperatur wykazuje tendencję malejącą. Wraz ze wzrostem stężenia azotanu amonu maleje rozpuszczalność azotanu sodu. Dla gałęzi (II) izoterm rozpuszczalności obserwuje się analogiczną zależność świadczącą o wysalającym wpływie azotanu sodu na azotan amonu. Dodatkowo zaobserwować można wpływ podwyższania temperatury na zmniejszenie rozpuszczalności azotanu sodu oraz wzrost rozpuszczalności azotanu amonu w roztworach eutonicznych.



Rysunek 5. Wycinek politermy rozpuszczalności układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ [20].



Rysunek 6. Gęstości rozwiązań równowagowych w zależności od ułamka molowego NH_4NO_3 [20].

Krzywe zamieszczone na rysunku 6 posiadają jedno charakterystyczne załamanie dla rozwiązań eutonicznych. Przeprowadzona analiza dyfraktograficzna dowodzi, że rozwiązania eutoniczne pozostają w równowadze z azotanem sodu i azotanem amonu. Stwierdzono, iż w badanym zakresie temperatur rozwiązania odpowiadające gałęziom (I) izoterm pozostają w równowadze z fazą stałą azotanu sodu, natomiast rozwiązania reprezentowane przez gałęzie (II) izoterm z fazą stałą azotanu amonu.

W literaturze przedmiotu, w części prac [13, 14] wykazywano, że w zakresie temperatur 293–303 K, w badanym układzie tworzy się uwodniona sól podwójna o wzorze $2\text{NaNO}_3 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Na żadnym z wykonanych rentgenogramów nie zaobserwowano sygnałów charakterystycznych dla tego związku, tj. innych niż sygnały pochodzące od azotanu sodu i azotanu amonu. Dowodzi to zatem, iż w badanym zakresie temperatur w fazie stałej nie tworzą się ani sole podwójne ani ich hydraty. Uzyskane wyniki pozostają w zgodzie z pracami innych autorów [15, 16, 17], którzy również nie zaobserwowali tworzenia się nowej fazy stałej w układzie $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$.

4. WZAJEMNA ROZPUSZCZALNOŚĆ SOLI W UKŁADZIE $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$

Na podstawie wyznaczonych stężeń równowagowych jonów w roztworach, obliczono ułamki molowe jonów sodowych i wanadanowych(V), które posłużyły do wykreślenia izoterm rozpuszczalności układu czteroskładnikowego w rzucie ukośnym na płaszczyznę według Jänecke'go. Ułamki molowe jonów sodowych i wanadanowych(V), bez uwzględniania w obliczeniach ilości moli rozpuszczalnika, obliczono zgodnie z równaniami (3) i (4).

$$x_{\text{Na}^+} = \frac{[\text{Na}^+]}{[\text{Na}^+] + [\text{NH}_4^+]} \quad (3)$$

$$x_{V(V)} = \frac{[V(V)]}{[V(V)] + [\text{NO}_3^-]} \quad (4)$$

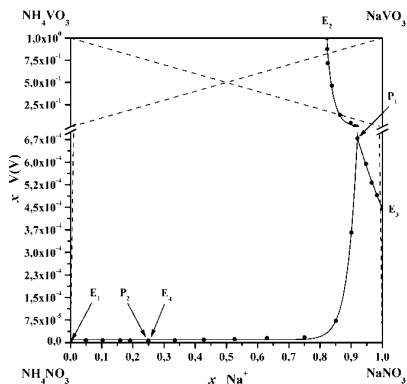
Wykresy równowagowe dla układu czteroskładnikowego dla temperatur 313 i 323 K zamieszczono odpowiednio na rysunkach 7–8. Wykres równowagowy dla układu czteroskładnikowego jest wynikiem rzutowania ukośnego izoterm rozpuszczalności tego układu, oraz izoterm rozpuszczalności jego podukładów dwu- i trójskładnikowych, na płaszczyznę, którą stanowi pole kwadratu. Wierzchołki kwadratu reprezentują czyste sole: NH_4VO_3 , NH_4NO_3 , NaVO_3 i NaNO_3 . Na boki kwadratu rzutowane są izoterm rozpuszczalności czterech układów trójskładnikowych o wspólnym jonie wraz z ich punktami eutonicznymi oznaczonymi jako:

- E_1 dla układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$,
- E_2 dla układu $\text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$,
- E_3 dla układu $\text{NaVO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$,
- E_4 dla układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$.

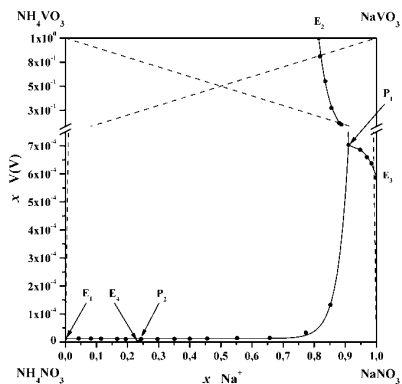
W polu wykresu na rysunkach 7–8 widoczne są izoterm rozpuszczalności dla układu czteroskładnikowego $\text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$. Na wykresach zaznaczone są punkty potrójne P_1 i P_2 reprezentujące roztwory nasycone trzema solami: P_1 – roztwór nasycony względem NaVO_3 , NH_4VO_3 i NaNO_3 , P_2 – roztwór nasycony względem NH_4NO_3 , NH_4VO_3 i NaNO_3 . Punkty eutoniczne oraz punkty potrójne badanego układu ($E_1 - E_4$, P_1 i P_2) wyznaczają pięć fragmentów izoterm rozpuszczalności:

- krzywa $E_1 - P_2$ odpowiada roztworom nasyconym względem fazy stałej składającej się z azotanu i metawanadanu amonu,
- krzywa $E_4 - P_2$ odpowiada roztworom nasyconym względem azotanów sodu i amonu,
- krzywa $P_1 - P_2$ reprezentuje roztwory, które są nasycone względem azotanu sodu i metawanadanu amonu,
- krzywa $E_2 - P_1$ odpowiada roztworom nasyconym względem metawanadaniów sodu i amonu,
- krzywa $E_3 - P_1$ reprezentuje roztwory nasycone względem azotanu i metawanadanu sodu.

Wymienione krzywe dzielą pola wykresów równowagowych na 4 części reprezentujące pola krystalizacji poszczególnych składników układu. Wielkość pól krystalizacji odpowiednich soli zmienia się w szeregu: $\text{NH}_4\text{NO}_3 < \text{NaNO}_3 \ll \text{NaVO}_3 \ll \text{NH}_4\text{VO}_3$. Zauważyć należy, iż pole krystalizacji metawanadanu amonu dominuje wielkością nad polami pozostałych składników układu, tzn., że metawanadan amonu jest solą najtrudniej rozpuszczalną w układzie.



Rysunek 7. Izoterma rozpuszczalności układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ w temperaturze 313 K (linią przerywaną zaznaczono przekątną wykresu) [21–23].



Rysunek 8. Izoterma rozpuszczalności układu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ w temperaturze 323 K (linią przerywaną zaznaczono przekątną wykresu) [21–23].

Na tej podstawie można stwierdzić, że reakcja konwersji azotanu amonu do azotanu sodu przy użyciu metawanadanu sodu będzie przebiegać w pożądanym

kierunku. Fakt ten potwierdzają również wartości iloczynów z rozpuszczalności par soli nieposiadających wspólnego jonu (tabela 1).

Tabela 1. Wartości iloczynów z rozpuszczalności dla substratów i produktów reakcji konwersji oraz wydajność względem jonu amonowego.

Temperatura K	Iloczyn z rozpuszczalności		$W_{NH_4^+}$ %
	$mol^2 \cdot kg^{-2} H_2O$		
	$S_{NH_4NO_3} \cdot S_{NaVO_3}$	$S_{NH_4VO_3} \cdot S_{NaNO_3}$	
293	32,403	0,551	93,6
303	48,762	0,832	92,8
313	66,811	1,271	91,8
323	85,617	1,949	91,0

Na tej podstawie stwierdzono, że chemicznie trwałą parą soli w badanym układzie jest metawanadan amonu i azotan sodu. Sole te mogą współtworzyć roztwory wzajemnie nasycone. Chemicznie nietrwałą parą soli w badanym układzie jest azotan amonu i metawanadan sodu. Na rysunkach 7, 8 pola krystalizacji tych soli nie sąsiadują ze sobą, co świadczy o tym, że nie ma możliwości utworzenia roztworów wzajemnie nasyconych obiema solami.

Punkty P_2 na rysunkach 7, 8 położone są w polu trójkąta, którego wierzchołki stanowią czyste sole: azotan amonu, metawanadan amonu i azotan sodu. Badania rentgenograficzne wskazują, że roztwory te pozostają w równowadze z fazą stałą złożoną z azotanu amonu, metawanadanu amonu oraz azotanu sodu. Skład jakościowy roztworów reprezentowanych przez punkty P_2 odpowiada składowi fazy stałej, z którą roztwór pozostaje w równowadze. Roztwory te są więc zbieżnie nasycone.

Roztwory w punktach P_1 (rys. 7 i 8), ponieważ położone są w tym samym polu, co punkty P_2 , powinny pozostawać w równowadze z azotanem amonu, azotanem sodu oraz metawanadanem amonu w fazie stałej. Analiza fazy stałej wskazuje jednak jednoznacznie, że faza stała złożona jest z azotanu sodu, metawanadanu sodu oraz metawanadanu amonu. Pozwala to na stwierdzenie, iż roztwory reprezentowane przez punkty P_1 są niezbieżnie nasycone względem fazy stałej.

Z uzyskanych danych wynika, że dodatek metawanadanu amonu do roztworu oznaczonego, jako E_3 , który jest nasycony względem azotanu sodu i metawanadanu sodu, powoduje przebieg reakcji chemicznej odwrotnej do reakcji konwersji. Reakcja ta zachodzi do momentu nasycenia roztworu względem metawanadanu amonu, czyli do momentu osiągnięcia składu roztworu w punkcie P_1 . W punkcie P_1 obserwuje się minimalną wartość ułamka molowego jonów amonowych dla roztworów nasyconych względem metawanadanu amonu. Z tego względu w punkcie tym (tj. P_1) osiąga się maksymalną wydajność reakcji konwersji dla badanego układu par soli wymiennych. Wydajność precypitacji metawanadanu sodu na podstawie wykresów równowagowych (rys. 7 i 8) wyznacza się w sposób graficzny. Z wierzchołka wykresu równowagowego odpowiadającego metawanadanowi sodu prowadzi się prostą przechodzącą przez punkt P_1 . Prosta ta przecina oś, na której odłożone są ułamki molowe jonów sodowych. Wartość ułamka molowego jonów sodowych w punkcie przecięcia prowadzonej prostej z osią pomnożona przez 100% stanowi maksymalną wydajność reakcji podwójnej wymiany. Wyznaczone w ten sposób wydajności reakcji konwersji zestawiono w tabeli 1.

Skład fazy stałej pozostającej w równowadze z roztworami oraz możliwość tworzenia się w badanym układzie nowych faz stałych określono na podstawie analizy rentgenograficznej. W roztworach nasyconych względem metawanadanu sodu (rys. 7 i 8) (krzywe wyznaczone przez punkty $E_2 - P_1 - E_3$) w fazie stałej tworzy się $\text{NaVO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ oraz $\beta - \text{NaVO}_3$. Uzyskane wyniki są analogiczne, jak w przypadku układów trójskładnikowych zawierających metawanadan sodu: $\text{NaNO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ i $\text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ [78]. Dla pozostałych próbek fazy stałej nie stwierdzono tworzenia się hydratów lub soli podwójnych.

5. NAJKORZYSTNIEJSZE PARAMETRY PRECYPITACJI METAWANADANU AMONU

Z wykresów równowagowych w rzucie ukośnym na płaszczyznę według Jánecke'go wynika, że maksymalną wydajność reakcji konwersji uzyskuje się w punktach potrójnych P_1 , które reprezentują roztwory nasycone trzema solami. Prowadząc proces konwersji nie można dopuścić do sytuacji, w której w wyniku reakcji, zamiast czystego produktu (NaNO_3), uzyska się mieszaninę kryształów soli. Istnieje, zatem konieczność określenia parametrów fizykochemicznych oraz składu roztworu, który zapewniac będzie uzyskiwanie czystego produktu oraz możliwie wysoką wydajność.

Uzyskane wyniki eksperymentalne dotyczące zmian stężeń jonów amonowych, wanadanowych(V), gęstości oraz wydajności reakcji konwersji w zależności od czasu i warunków prowadzenia procesu strącania metawanadanu amonu zobrazowano na rysunkach 9 i 10. Wydajności reakcji względem jonu amonowego w funkcji czasu dla równomolowego stosunku reagentów obliczono zgodnie z równaniem (5), natomiast dla stosunku molowego $\text{NH}_4\text{NO}_3 : \text{NaVO}_3$ 1,5 : 1 obliczono zgodnie z równaniem (6), gdzie uwzględniono stosowany nadmiar azotanu amonu w stosunku do metawanadanu sodu.

$$W_{\text{NH}_4^+}^{(t)} = \frac{C_{\text{NH}_4^+}^{(0)} - C_{\text{NH}_4^+}^{(t)}}{C_{\text{NH}_4^+}^{(0)}} \cdot 100\% \quad (5)$$

$$W_{\text{NH}_4^+}^{(t)} = \frac{1,5 \cdot (C_{\text{NH}_4^+}^{(0)} - C_{\text{NH}_4^+}^{(t)})}{C_{\text{NH}_4^+}^{(0)}} \cdot 100\% \quad (6)$$

w których:

$C_{\text{NH}_4^+}^{(0)}$ – początkowe stężenie jonów amonowych w roztworze,

$C_{\text{NH}_4^+}^{(t)}$ – stężenie jonów amonowych po czasie (t),

Na podstawie uzyskanych danych stwierdzić można, że reakcja strącania metawanadanu amonu z roztworów azotanu amonu wobec azotanu sodu, jak i bez NaNO_3 , dla obu stosunków molowych, przebiega w początkowym stadium bardzo dynamicznie. Już po pierwszej godzinie prowadzenia procesu uzyskuje się wydajności rzędu 80%. Zastosowany nadmiar azotanu amonu w stosunku do metawanadanu sodu, jak również wzrost temperatury, nie wywiera znaczącego wpływu na czas, w jakim osiągnany jest stan równowagi reakcji.

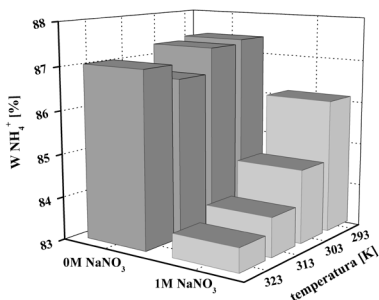
Dla obu stosunków stechiometrycznych azotanu amonu do metawanadanu sodu, z dodatkiem jak również bez dodatku azotanu sodu, stan równowagi reakcji stwierdzono po około 20 godzinach prowadzenia procesu.

Zaobserwować można, że w stanie równowagi dla stechiometrycznego stosunku molowego reagentów wzrost temperatury skutkuje zmniejszeniem wydajności. Związane jest to ze wzrostem rozpuszczalności metawanadanu amonu. Dla stechiometrycznego stosunku molowego reagentów obserwuje się obniżenie maksymalnych wydajności, dla reakcji prowadzonych z dodatkiem azotanu sodu, w stosunku do wartości osiąganych dla roztworów bez dodatku tej soli. Uzyskane wyniki wskazują, iż w obecności NaNO_3 następuje przesunięcie stanu równowagi reakcji w kierunku substratów. Obserwacja ta jest zgodna z wynikami, jakie uzyskano podczas badań równowagowych dla układu trójskładnikowego $\text{NaVO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$, dla którego przebieg izoterm rozpuszczalności wskazywał na silny wpływ wysalający azotanu sodu na metawanadan sodu.

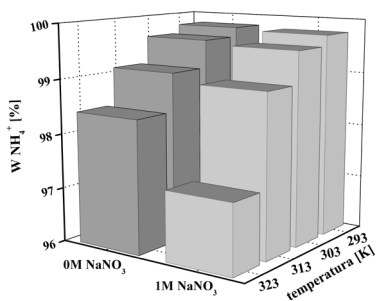
Zastosowanie nadmiaru azotanu amonu w stosunku do metawanadanu sodu całkowicie eliminuje wpływ dodatku azotanu sodu na stan równowagi reakcji konwersji. We wszystkich badanych przypadkach uzyskuje się całkowity stopień przereagowania metawanadanu sodu. Dodatkową korzyścią jest wydajne ograniczenie stężenia jonów wanadanowych(V) w roztworze wywołane wysalającym wpływem azotanu amonu na metawanadan amonu, co ograniczać będzie straty produkcyjne związków wanadu.

Analiza uzyskanych danych eksperymentalnych wskazuje, iż stan bliski stanowi równowagi osiągany jest już po 5 godzinach prowadzenia reakcji. Prowadzenie reakcji powyżej 5 godzin i związane z tym obniżenie stężenia jonów amonowych w roztworze nie wpływa znacząco na wzrost wydajności reakcji. Warto podkreślić, iż wydłużenie czasu prowadzenia konwersji powoduje ciągły wzrost stężenia jonów wanadanowych, co jest niekorzystne ze względu na możliwość wystąpienia strat związków wanadu. Z tych względów optymalny czas prowadzenia precypitacji metawanadanu amonu wynosić powinien ok. 4–5 godzin.

Obliczone wydajności reakcji oraz zawartość związków wanadu w produkcie końcowym, azotanie sodu, dla wyznaczonego optymalnego czasu prowadzenia reakcji zestawiono na rysunkach 11 i 12. Wykresy te ilustrują wpływ dodatku azotanu sodu oraz wzrostu temperatury prowadzenia procesu na wydajność reakcji oraz zanieczyszczenie produktu końcowego solami wanadanowymi. Po 5 godzinach prowadzenia reakcji obserwuje się analogiczne zależności jak w stanie równowagi.



Rysunek 9. Wydajność precipitacji metawanadanu amonu po 5 godzinach prowadzenia reakcji dla stosunku molowego $\text{NH}_4\text{NO}_3 : \text{NaVO}_3$ 1 : 1 [24].



Rysunek 10. Wydajność precipitacji metawanadanu amonu po 5 godzinach prowadzenia reakcji dla stosunku molowego $\text{NH}_4\text{NO}_3 : \text{NaVO}_3$ 1,5 : 1 [24].

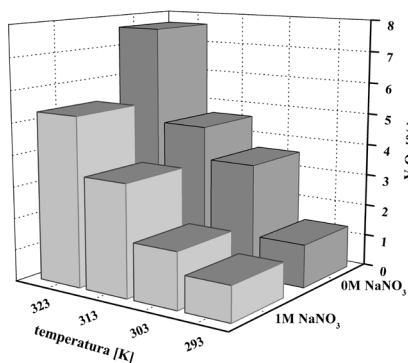
Stwierdzono ponownie, iż dodatek azotanu sodu obniża wydajność reakcji. A efekt ten uwidacznia się silnie ze wzrostem temperatury, w szczególności dla stechiometrycznego stosunku reagentów. Dla stosunku molowego azotanu amonu do metawanadanu sodu równego 1,5:1 zjawisko to jest również widoczne, ale różnice pomiędzy wydajnościami dla danej temperatury są niewielkie. Można, zatem powiedzieć, że zastosowany nadmiar azotanu amonu skutecznie niweluje niekorzystny wpływ azotanu sodu na wydajność. Dodatkowo na rysunkach 9 i 10 zauważyć można, że wzrost temperatury negatywnie wpływa na wydajność reakcji konwersji, przy czym wydajności maleją wyraźniej ze wzrostem temperatury dla roztworów z dodatkiem azotanu sodu.

Istotnym zagadnieniem prowadzonych badań jest określenie warunków prowadzenia reakcji, w których uzyskuje się produkt w minimalnym stopniu zanieczyszczony solami wanadanowymi. Zanieczyszczenie produkowanej saletry sodowej związkami wanadu determinuje jej przydatność do celów nawozowych oraz przekłada się na straty procesowe związków wanadu. Rysunki 11 i 12 obrazują wpływ temperatury i dodatku azotanu sodu na zawartość soli wanadanowych w azotanie sodu, stanowiącym suchy produkt, po 5 godzinach prowadzenia reakcji.

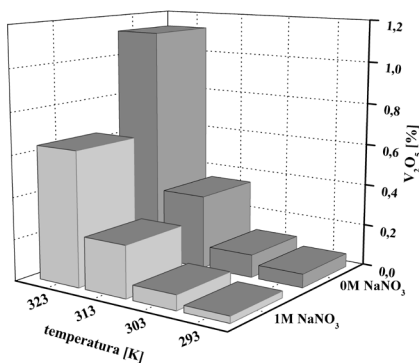
Zawartość związków wanadu dla równomolowego stosunku reagentów jest stosunkowo wysoka i zawiera się w przedziale 1–8%, w przeliczeniu na V_2O_5 (rys. 11). Wzrost temperatury powoduje widoczne zwiększenie zawartości związków wanadu w roztworze NaNO_3 . Ograniczenie zawartości związków wanadu uzyskać można poprzez dodatek azotanu sodu, który ogranicza rozpuszczalność metawanadanu amonu.

Zmniejszenie zanieczyszczenia saletry sodowej związkami wanadu uzyskać można prowadząc proces z niedomiarem metawanadanu sodu. Zawartość związków wanadu w produkcie dla stosunku molowego azotanu amonu do metawanadanu sodu równego 1,5:1 zawiera się w przedziale 0,02–1,20%, w przeliczeniu na V_2O_5 (rys. 12). Temperatura i dodatek azotanu sodu wywierają analogiczny wpływ na zawartość związków wanadu w saetrze sodowej, jaki zaobserwowano w przypadku prowadzenia reakcji o równomolowym stosunku reagentów.

Stwierdzono, że najwyższe możliwe początkowe stężenie azotanu amonu zapewniające dogodne warunki mieszania oraz wysokie wydajności reakcji wynosi 2,5 M. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów dla wyższych stężeń początkowych azotanu amonu stwierdzono trudności w zapewnieniu odpowiednich warunków mieszania.



Rysunek 11. Zawartość soli wanadanowych w produkowanej saetrze sodowej w przeliczeniu na V_2O_5 po 5 godzinach prowadzenia reakcji dla stosunku molowego $NH_4NO_3 : NaVO_3$ 1 : 1 [24].



Rysunek 12. Zawartość soli wanadanowych w produkowanej saetrze sodowej w przeliczeniu na V_2O_5 po 5 godzinach prowadzenia reakcji dla stosunku molowego $NH_4NO_3 : NaVO_3$ 1,5 : 1 [24].

W trakcie dodawania roztworów azotanu amonu o wyższych stężeniach do stałego metawanadanu sodu mieszanina reakcyjna ulegała zestaleniu a dalsze prowadzenie procesu było niemożliwe.

Należy zauważyć, że w rzeczywistym ługu pofiltracyjnym uzyskiwanym w metodzie SCS, nie można uniknąć obecności azotanu sodu. Jest to związane z wydajnością procesu karbonizacji amoniakalnych solanek azotanu sodu, która w optymalnych warunkach wynosi około 80%. Oddzielanie azotanu amonu od azotanu sodu, np. na drodze krystalizacji, przed procesem precypitacji metawanadanu amonu, ze względu na energochłonność procesu, jest bezcelowe. Zastosowanie nadmiaru azotanu amonu w stosunku do metawanadanu sodu pozwala wyeliminować negatywny wpływ obecności azotanu sodu na wydajność procesu precypitacji. Postępowanie takie skutkować będzie jednak zawartością azotanu amonu w produkcie (do 25% w przeliczeniu na suchą masę). Redukcja zawartości azotanu amonu w uzyskiwanym produkcie o 55%, w stosunku do saletry uzyskiwanej w metodzie SCS, zapewnia brak zagrożenia wybuchowego podczas obróbki cieplnej roztworu w obecności chlorków [7, 8, 25]. Ujemną stroną prowadzenia procesu w ten sposób jest niecałkowity odzysk amoniaku z roztworu pofiltracyjnego.

6. PODSUMOWANIE

W ramach przeprowadzonych badań wyznaczono cztery izotermie rozpuszczalności dla układu czteroskładnikowego $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ w rzucie ukośnym na płaszczyznę według Jänecke'go w temperaturach 293, 303, 313 i 323 K. Określono również przebieg wycinków politerm rozpuszczalności dla trzech układów trójskładnikowych: $\text{NaNO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ i $\text{NaNO}_3 + \text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{H}_2\text{O}$, które są częściami składowymi wyżej wymienionego układu czteroskładnikowego.

Wyznaczone izotermie dla układu czteroskładnikowego dla danych temperatur składają się z pięciu gałęzi rozdzielających cztery pola krystalizacji odpowiednio: NH_4NO_3 , NaVO_3 , NaNO_3 i NH_4VO_3 oraz dwóch punktów potrójnych P_1 i P_2 . Punkt P_1 odpowiada roztworom niezbieżnie nasyconym względem NaVO_3 , NaNO_3 i NH_4VO_3 , natomiast roztwór reprezentowany przez punkt P_2 jest zbieżnie nasycony względem NaNO_3 , NH_4NO_3 i NH_4VO_3 .

Najwyższą wydajność procesu precypitacji NH_4VO_3 dla danych temperatur uzyskuje się w punktach potrójnych P_1 . Ułamek molowy jonów amonowych, dla tych roztworów, przybiera wówczas najniższą wartość. W praktyce proces precypitacji należy prowadzić w taki sposób, aby uzyskać roztwór o składzie bliskim punktowi P_1 .

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż precypitację metawanadanu amonu najkorzystniej jest prowadzić przy zachowaniu następujących parametrów procesu [24]:

- stężenie początkowe azotanu amonu 2,5 M,
- temperatura 293–303 K,
- czas 4–5 godzin,
- stosunek stechiometryczny reagentów NH_4NO_3 : NaVO_3 1,5:1.

Zastosowanie wymienionych parametrów zapewnia wydajność reakcji wynoszącą 99,6–99,8% oraz zanieczyszczenie produktu solami wanadanowymi na poziomie 0,02–0,06%, w przeliczeniu na V_2O_5 .

Proponowane rozwiązanie umożliwia eliminację zagrożenia wybuchowego, jakie stwarza NH_4NO_3 w obecności jonów chlorkowych podczas procesu zatężania roztworu pofiltracyjnego po odsączeniu NaHCO_3 jak też krystalizacji oraz późniejszego przechowywania produkowanej saletry.

Zastosowanie w procesie stosunkowo drogiej związków wanadu nie jest wadą proponowanego rozwiązania. Wykorzystywane podczas procesu związki tego pierwiastka znajdują się w obiegu zamkniętym a ich straty produkcyjne są niewielkie [25]. W proponowanym rozwiązaniu jako surowiec do produkcji metawanadanu sodu można wykorzystać zużyty katalizator wanadowy stosowany w przemyśle w produkcji kwasu siarkowego(VI) w procesie utleniania tlenku siarki(IV) do tlenku siarki(VI) [26].

LITERATURA

1. Praca zbiorowa pod redakcją A. Bukowskiego „*Technologia sody*” Państwowe Wydawnictwo Techniczne, Warszawa 1958.
2. E. Bortel, H. Koneczny „*Zarys technologii chemicznej*” Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1992.
3. J. Kępiński, K. Kałucki, I. Pollo „*Technologia chemiczna nieorganiczna*” Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1984.
4. A. Niederliński, A. Bukowski, H. Koneczny „*Soda i produkty towarzyszące*” Wydawnictwa Naukowo–Techniczne, Warszawa 1978.
5. Praca zbiorowa pod redakcją E. Pischingera „*Badania nad nową metodą produkcji sody*” tom I, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 1967.

6. Praca zbiorowa pod redakcją E. Pischingera „*Badania nad nową metodą produkcji sody*” tom II, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 1969.
7. A. Kołaczkowski „*Samorzutny rozkład saletry amonowej*” Prace Naukowe Instytutu Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych Politechniki Wrocławskiej, Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1980.
8. W. Bobrownicki, A. Biskupski, A. Kołaczkowski „O termicznym rozkładzie saletry amonowo-sodowej” *Chemia Stosowana*, 1977, 21, 3 – 18.
9. M. Trypuć, U. Kielkowska „The investigation on $\text{NaVO}_3 - \text{NaHCO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ system” *Polish Journal of Applied Chemistry*, 1995, 1, 103 – 109.
10. M. Trypuć, U. Kielkowska „Solubility in the $\text{NH}_4\text{HCO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ system” *Journal of Chemical and Engineering Data*, 1996, 41, 1005 – 1007.
11. M. Trypuć, U. Kielkowska „Solubility in the $\text{NH}_4\text{HCO}_3 + \text{NaHCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ system” *Journal of Chemical and Engineering Data*, 1998, 43, 201 – 204.
12. M. Trypuć, U. Kielkowska „Solubility in the $\text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ system” *Journal Chemical and Engineering Data*, 1997, 42, 523 – 525.
13. E. A. Nikitina „Equilibrium in the system $\text{NH}_4\text{NO}_3 - \text{NaNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ ” *Zhurnal Obshchei Khimii*, 1933, 3, 513 – 518.
14. A. S. Karnaukhov „The solubility isotherm of the ternary system sodium-nitrate-ammonium nitrate-water at 25degree” *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 1951, 81, 593 – 595.
15. G. Bergman, L. F. Shulyak „Ammonium nitrate – sodium nitrate water system” *Zhurnal Neorganicheskoi Khimii*, 1972, 17, 1141 – 1145.
16. H. Koneczny; M. Lango „*Badania nad nową metodą produkcji sody*”, „*Badania nad układem trójskładnikowym $\text{NaNO}_3 - \text{NH}_4\text{NO}_3 - \text{H}_2\text{O}$* ” tom I, 155 – 160, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 1967.
17. Y. S. Shenkin, S. A. Ruchnova, N. A. Rodionova „Sodium nitrate–ammonium nitrate–water system” *Zhurnal Neorganicheskoi Khimii*, 1975, 20, 2852 – 2854.

18. M. Trypuć, S. Drużyński „Investigation of the solubility in the $\text{NaVO}_3 - \text{NaNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ system” *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2007, 46, 2688 – 2692.
19. M. Trypuć, S. Drużyński „Investigation of mutual solubility in the $\text{NH}_4\text{VO}_3 - \text{NH}_4\text{NO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ system” *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2009, 48, 5058 – 5063.
20. M. Trypuć, S. Drużyński „Solubility in the $\text{NH}_4\text{NO}_3 - \text{NaNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ system” *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2008, 47, 3767 – 3770.
21. M. Trypuć, S. Drużyński, U. Kiełkowska, K. Mazurek „Utilization of the post – filtration lye from the SCS method of soda production” *Polish Journal of Chemical Technology*, 2007, 9, 59 – 62.
22. M. Trypuć, S. Drużyński, K. Mazurek „Plotting of the solubility isotherm for the $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ system” *Polish Journal of Chemical Technology*, 2008, 10, 11 – 14.
23. M. Trypuć, S. Drużyński „Phase diagram for the $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{NH}_4\text{VO}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ system at 293 and 303 K” *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2009, 48, 6937 – 6942.
24. M. Trypuć, S. Drużyński „Optymalne parametry precypitacji metawanadanu amonu z ługu pofiltracyjnego pochodzącego z otrzymywania sodu z azotanu sodu” *Przemysł Chemiczny*, 2009, 88, 722 – 727.
25. M. Trypuć, S. Drużyński, K. Mazurek „Sposób utylizacji ługu pofiltracyjnego z produkcji sody metodą soda – chlor – saletra” *Zgłoszenie patentowe nr 383064, Biuletyn Urzędu Patentowego*, 2009, 4, 10.
26. M. Trypuć, S. Drużyński, K. Mazurek „Wykorzystanie zużytego katalizatora wanadowego do utylizacji ługu pofiltracyjnego z metody SCS produkcji sody” *Kwas siarkowy – Nowe możliwości*, 327 – 332, Wydawnictwo Instytutu Ochrony Roślin, Poznań 2008.

Rozdział 7

POLIMERY Z ODCISKIEM MOLEKULARNYM. WPŁYW REAKCJI POLIMERYZACJI NA POWINOWACTWO I SELEKTYWNOŚĆ POLIMERU WZGLĘDEM TEMPLATU/ANALITU

Maria Guć

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii,
ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań

Wdrukowywanie molekularne jest techniką wytwarzania usieciowanych polimerów z określonymi wnękami, które są komplementarne do cząsteczki matrycy pod względem wielkości, kształtu i funkcji chemicznej. W ostatnich latach technologia ta cieszy się ogromnym zainteresowaniem, ponieważ jest ona metodą wytwarzania „inteligentnych” receptorów, które są stosowane w wielu dziedzinach chemii. Pierwszym etapem tego procesu jest zazwyczaj interakcja pomiędzy monomerem funkcyjnym, a wybraną matrycą w odpowiednim rozpuszczalniku. Samoorganizacja cząsteczek monomerów w otoczeniu cząsteczki matrycowej zapewnia najkorzystniejsze wzajemne dopasowanie uwzględniające zarówno kształt cząsteczki, jak i obecność grup funkcyjnych przed rozpoczęciem procesu polimeryzacji i sieciowania. Tak powstały kompleks jest następnie polimeryzowany z zastosowaniem termicznego, bądź fotochemicznego inicjatora, w obecności czynnika sieciującego, tworząc trójwymiarową strukturę polimeru z odciskiem molekularnym (MIP) (ang. Molecularly Imprinted Polymer). W literaturze polskiej, ta grupa molekuł często nazywana jest również polimerami wdrukowanymi molekularnie, jako dosłowne tłumaczenie z języka angielskiego. Następnie matryca jest usuwana ze struktury polimeru, co prowadzi do utworzenia specyficznych miejsc wiążących. MIPs

są stabilne zarówno pod względem chemicznym jak i termicznym. Kluczową zaletą tych związków jest ich wysokie powinowactwo i selektywność względem templatu (matrycy, analitu), która pozwala na usunięcie związku ze złożonych próbek bez zbędnych operacji. Receptory otrzymane syntetycznie w stosunku do naturalnych charakteryzują się szeregiem licznych zalet. Są bardziej stabilne chemicznie, posiadają dużą masę cząsteczkową, są sztywne i nierozpuszczalne w wodzie. Ponadto można je otrzymać łatwo, szybko i przy stosunkowo niskim nakładzie finansowym, gdzie większość kosztów stanowi cena substancji stanowiącej matrycę. Ich naturalne odpowiedniki są mniejsze, bardziej elastyczne i większości przypadków rozpuszczalne w wodzie. Z uwagi na te zalety MIPs są obecnie szeroko stosowane w wielu dziedzinach chemii: w chromatografii, ekstrakcji do fazy stałej, w separacji membranowej. Polimery wdrukowane molekularnie są również stosowane, jako biosensory czy katalizatory. Z drugiej strony MIPs mają również wady. Należą do nich: niejednorodna dystrybucja miejsc wiązania matrycy, powolny transfer masy matrycy wewnątrz polimeru, nieregularny kształt polimeru, brak możliwości całkowitego usunięcia matrycy w procesie ekstrakcji. Wyizolowanie MIPs z roztworów wodnych można uzyskać przez filtrację lub odwirowanie. Procesy te stwarzają trudności w przypadku małych rozmiarów polimeru i silnego oddziaływania polimeru z wodą. Podjęto wiele starań, aby rozwiązać powyższe problemy. Jedną z alternatyw prowadzącą do rozwiązania powyższych problemów jest nadawanie MIPs właściwości magnetycznych. Ponadto, magnetyczne cząsteczki można łatwo odizolować z rzeczywistych próbek środowiskowych przy użyciu magnezu neodymowego [1-7]. Magnetyczne polimery z odciskiem molekularnym mag-MIPs (ang. magnetic – Molecularly Imprinted Polimers) wykazują większe powinowactwo do cząsteczek templatów niż tradycyjne MIPs. Proces separacji magnetycznej można przeprowadzić bezpośrednio w rzeczywistych próbkach, co jest szczególnie użyteczne w przypadku operacji na dużą skalę. Mag-MIPs można zsyntetyzować różnymi sposobami np. w procesie polimeryzacji w zawiesinie, czy polimeryzacji emulsyjnej. Magnetyzm najczęściej nadają polimerom cząsteczki Fe_3O_4 . Magnetyczne nano lub mikrocząstki są powszechnie stosowanymi komponentami magnetycznymi. Schematycznie proces otrzymywania mag-MIPs można podzielić na 4 następujące etapy. Pierwszym krokiem jest przygotowanie nanocząstek magnetycznych, takich jak Fe_3O_4 . Drugim etapem jest modyfikacja powierzchni lub funkcjonalizacja elementów magnetycznych np. przy użyciu TEOS (tetraetoksyilan). Trzecim etapem jest polimeryzacja przy użyciu sfunkcjonalizowanych nocząsteczek w obecności cząsteczek matrycy, monomeru funkcyjnego i środka sieciującego. Czwarty krok polega na usunięciu cząsteczek matrycy z polimeru. Proces otrzymywania

MIPs jest adekwatny do procesu otrzymywania mag-MIPs, pomija się w nim jednak etap otrzymywania, modyfikacji i dodania magnetycznych cząsteczek. Istnieje wiele czynników mających wpływ na selektywność i zdolności wiążące anality otrzymanych MIPs. Do głównych parametrów determinujących właściwości otrzymanych MIPs należą: typ użytych monomerów i rodzaj ich oddziaływań z matrycą, stosunek stężenia monomeru/templatu, sposób i warunki polimeryzacji, sposób usuwania matrycy z końcowego polimeru oraz wiele innych [8-18].

TEMPLATY

We wszystkich metodach otrzymywania MIPs kluczową rolę dogrywa templat, czyli tak zwany szablon/matryca/analit, dla którego syntetyzujemy polimer o charakterystycznych wnękach, zdolnych do jego niekowalencyjnego wiązania po usunięciu ze struktur polimeru. MIPs mają bardzo szerokie zastosowanie, jednak należy pamiętać, iż istnieją templaty, dla których otrzymanie MIPs jest bardzo trudne, wręcz niemożliwe. Projektując syntezę polimeru dla zdefiniowanego templatu należy, zwrócić uwagę na wiele aspektów związanych z cząsteczką matrycy, między innymi na to:

- czy matryca posiada grupy funkcyjne zdolne do niekowalencyjnego wiązania z monomerami polimeryzacji,
- czy szablon potencjalnie posiada właściwości mogące inhibitować bądź spowalniać reakcję polimeryzacji wolnorodnikowej lub jonowej,
- czy cząsteczka templatu będzie stabilna podczas procesu polimeryzacji w podwyższonej temperaturze (60°C),
- czy cząsteczka analitu będzie stabilna, kiedy użyjemy inicjatora termochemicznego polimeryzacji lub zastosujemy inicjację fotochemiczną w procesie polimeryzacji.

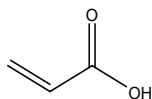
Istotnym problemem w procesie syntezy określonej masy polimeru MIPs jest konieczność posiadania dostatecznej ilości matrycy/analitu, zwłaszcza, gdy analit charakteryzuje się dużą masą cząsteczkową.

FUNKCJONALIZOWANE MONOMERY POLIMERYZACJI

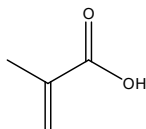
Wybór odpowiedniego monomeru odgrywa bardzo ważną rolę w otrzymywaniu polimeru o określonych właściwościach. Do wiązania chemicznego danego analitu dobierane są odpowiednie monomery, które z jednej strony tworzą niekowalencyjne wiązania z analitem z drugiej

strony posiadają grupy funkcyjne zdolne do polimeryzacji, najczęściej wolnorodnikowej. Na podstawie licznych eksperymentów przyjmuje się, iż najbardziej korzystny stosunek templat – monomer wynosi 1:4. W literaturze można znaleźć informację na temat licznych badań przeprowadzonych z użyciem najróżniejszych monomerów lub ich mieszanin. Bez wątpienia jednak do najczęściej stosowanych należą: kwas metakrylowy, amid kwasu akrylowego oraz 2- lub 4-winylopirydyna. Komercyjnie dostępne są monomery funkcyjne kwasowe, zasadowe i obojętne (rys.1)

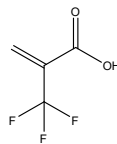
Monomery o charakterze kwasowym



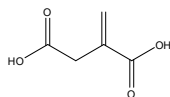
kwas akrylowy (AA)



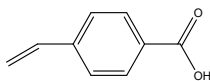
kwas metakrylowy (MAA)



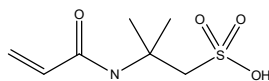
kwas 2 – (trifluorometylo) akrylowy(TFMAA)



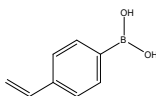
kwas itakonowy (IA)



kwas p-winylobenzoowy

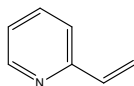


kwas 2-akryloamido-2-metylo-1-propanosulfonowy (AMPSA)

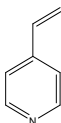


kwas4-winylobenzenoborowy

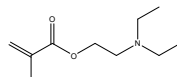
Monomery o charakterze zasadowym

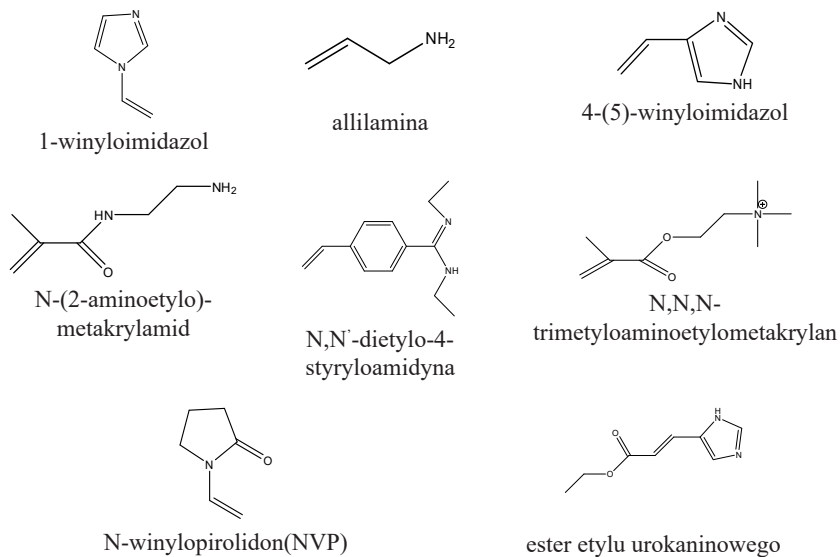


2-winylopirydyna (2-VP)

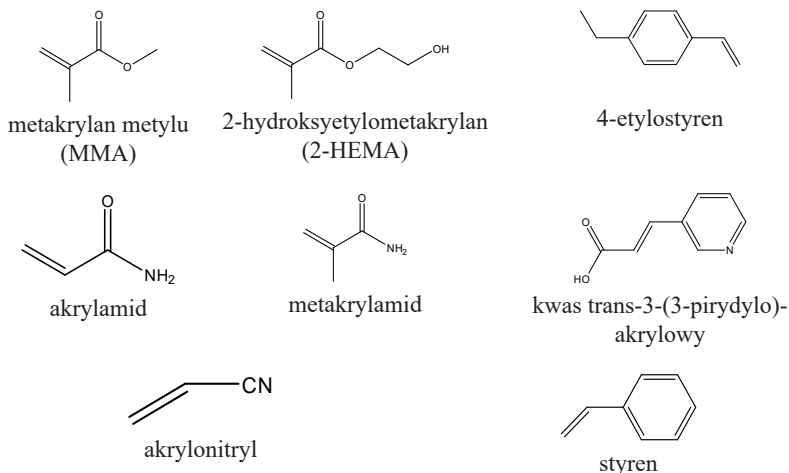


4 – winylopirydyna(4-VP)

N,N-
(dietyloaminoetylo)metakrylan
(DEAEM)



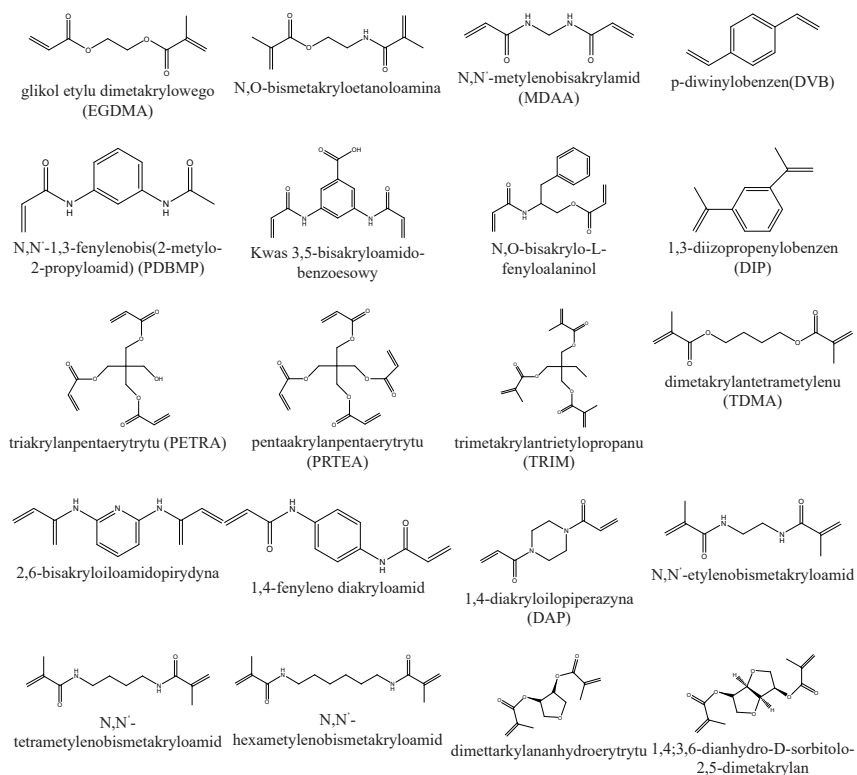
Monomery o charakterze obojętnym



Rysunek 1. Wybrane monomery funkcyjne używane do tworzenia wiązań niekowalencyjnych

CZYNNIKI SIECIUJĄCE

Czynnik sieciujący stosowany w procesie polimeryzacji odpowiada za morfologię otrzymanego polimeru, stabilizację powstających wnek wiążących i zapewnienie stabilności mechanicznej polimeru. Najczęstszymi czynnikami sieciującymi używanymi w procesach syntezy MIPs są: dimetakrylan glikolu metakrylowego (EGDMA), trimetakrylantrimetylopropanu (TRIM) oraz diwinylobenzen (DVB). Wybrane czynniki sieciujące używane w technologii molekularnego wdrukowania przedstawia rys.2.



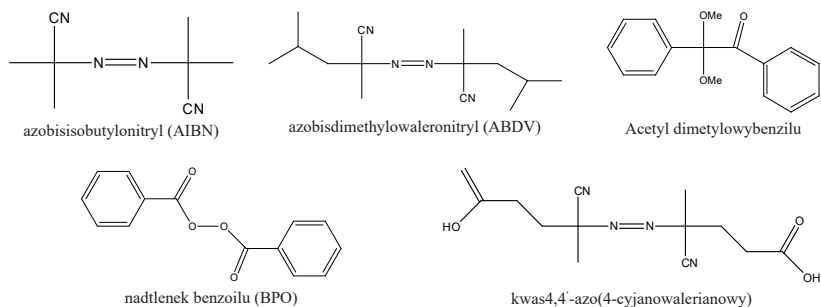
Rysunek 2. Wybrane czynniki sieciujące używane w technologii molekularnego wdrukowania

ROZPUSZCZALNIKI STOSOWANE W PROCESIE POLIMERYZACJI

W procesie syntezy MIP bardzo często używany jest rozpuszczalnik, jego rola z jednej strony polega na utworzeniu jednorodnej mieszaniny składników reakcji polimeryzacji z zachowaniem struktury utworzonych kompleksów analit-monomer, a z drugiej strony rozpuszczalnik odpowiada za tworzenie się por w mikroporowatej strukturze polimeru. W tego typu procesach rozpuszczalnik często nazywany jest porogendem. Podczas procesu polimeryzacji przy pomocy rozpuszczalnika można kontrolować zarówno morfologię powstającego polimeru, jak i całkowitą objętość porów. Zwiększenie ilości użytego porogenu powoduje wzrost całkowitej objętości porów w polimerze.

INICJATORY REAKCJI POLIMERYZACJI

Istnieje wiele inicjatorów, o różnych właściwościach chemicznych, które mogą być używane, jako czynniki generujące powstawanie wolnych rodników w procesie polimeryzacji wolnorodnikowej. Zazwyczaj są one stosowane na niskim poziomie stężeń w porównaniu do ilości użytego monomeru, np. 1% wag. lub 1% mol. w odniesieniu do całkowitej liczby moli podwójnych wiązań zdolnych do polimeryzacji. Zarówno szybkość jak i sposób rozkładu inicjatora do rodników mogą być zapoczątkowywane i kontrolowane na wiele sposobów: za pomocą ciepła, światła w zakresie widzialnym lub ultrafioletu lub za pomocą środków chemicznych lub metodami elektrochemicznymi. Wybrane inicjatory chemiczne stosowane podczas syntezy MIPs przedstawia rys.3. Jednym najczęściej stosowanych inicjatorów reakcji polimeryzacji w syntezie MIP jest azobisisobutyronitryl (AIBN). Cząsteczki AIBN rozkładają się na drodze fotolizy (UV) lub termolizy dając stabilizowane, skoncentrowane na atomie węgla rodniki zdolne do zainicjowania reakcji polimeryzacji. AIBN może polimeryzować np. metakrylan metylu w warunkach termicznych lub fotochemicznych do poli(metakrylanu metylu). Musimy jednak zwrócić uwagę na jeszcze jeden bardzo ważny aspekt. W syntezie MIP kluczową rolę odgrywa cząsteczka templat, więc i przy doborze inicjatora należy sprawdzić czy nasza matryca nie jest fotochemicznie tudzież termicznie niestabilna. Z tego powodu inicjator reagujący pod wpływem UV lub w podwyższonej temperaturze może okazać się nieużyteczny dla danej syntezy. W przypadku, gdy za wiązanie analitu z monomerem odpowiedzialne jest wiązanie wodorowe, to lepszą wydajność i jakość polimeru otrzymuje się stosując niższe temperatury w procesie polimeryzacji, jak również stosując inicjatory fotochemicznie, działające w niskich temperaturach.



Rysunek 3. Wybrane inicjatory chemiczne stosowane podczas syntezy MIPs

Otrzymane polimery można analizować na trzech płaszczyznach. Pod kątem ich właściwości chemicznych (analiza elementarna, FTIR oraz NMR ciała stałego, spektrometria mas) charakterystyki morfologicznej (wielkość, objętości porów i rozkładu na powierzchni polimeru) oraz zachowania rozpoznawania molekularnego w stosunku do matrycy (selektywność). Z czego niewątpliwie ostatnia z nich jest najczęściej i najszerszej poruszana w wielu pracach naukowych, gdyż to właśnie rozpoznawanie molekularne determinuje zastosowanie MIPs w analizie chemicznej [4, 19].

CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH TEMPLATÓW/ANALITÓW

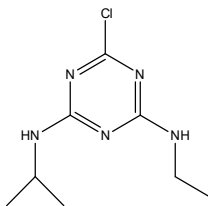
1. HERBICYDY

Herbicydy to rodzaj środków ochrony roślin służący do zwalczania chwastów w uprawach. Większość herbicydów to preparaty selektywne, zwalczające określone grupy roślin, a nieniszczące rośliny uprawne. Ze względu na zakres działania herbicydy możemy podzielić na selektywne i niszczące. Herbicydy selektywne mają wybiórczy charakter i mogą mieć różne zastosowanie. Mogą być przeznaczone do zwalczania tylko chwastów jednoliściennych lub dwuliściennych, a także określonych gatunków chwastów, np. perzu. Stosuje się również środki nieselektywne, zawierające glifosat, zwalczający wszystkie typy rośliny. Takie herbicydy są przydatne do likwidowania chwastów przed zakładaniem plantacji lub przy zmianie zastosowania uprawianych pól, w celu zwalczania uciążliwych chwastów. Herbicydy mogą mieć różną postać: koncentratu, płynu, granulatu, proszku. W zależności od rodzaju uprawy, przeznaczenia terenu, stanu zachwaszczenia, wielkości powierzchni, na której

będzie stosowany preparat, można dobrać odpowiedni rodzaj i postać herbicydu. Ważne jest również przestrzeganie zalecanych dawek preparatów. Zastosowanie herbicydów w zbyt dużej dawce, w nieodpowiedniej fazie rozwoju rośliny lub niewłaściwych warunkach atmosferycznych może uszkodzić roślinę uprawną wywołując poparzenia lub inne nieprawidłowości w rozwoju rośliny zwane uszkodzeniem herbicydowym. Ponadto herbicydy i ogólnie środki ochrony roślin okazały się jednak bronią obosieczną, gdyż – oprócz pozytywnych skutków – mają także skutki negatywne. Niektóre środki kumulują się w tkankach, co działa szkodliwie na organizm, ponadto mogą przebywać w glebie przez wiele lat, mimo iż z czasem ich biologiczna aktywność zanika, mają zdolności do bioakumulacji. Herbicydy powodują różne skutki zdrowotne, począwszy od wysypki skórnej do śmierci. Narażenie się na zatrucia często może wynikać z niewłaściwego ich stosowania np. przez bezpośredni kontakt pracowników z rozpylanymi związkami, ale także spożyciem pokarmów zanieczyszczonych resztkami chemikaliów znajdującymi się w glebie. Herbicydy mogą być transportowane z pól przez wody powierzchniowe nawet do odległych innych wód powierzchniowych i wód gruntowych, co jest szczególnie niebezpieczne, gdy wody te są wydobywane do celów spożywczych. Niektóre herbicydy rozkładają się szybko w glebach, a inne natomiast są bardzo trwale z długim okresem półtrwania w środowisku. Ze względu na powszechne stosowanie herbicydów konieczny jest ich ciągły monitoring w środowisku.

1.1. ATRAZYNA

Atrazyna (rys.4) jest stałym, białym związkiem organicznym umiarkowanie rozpuszczalnym w wodzie, dobrze rozpuszczalnym w np. etanolu, acetonie.



Rysunek 4. Wzór strukturalny atrazyny

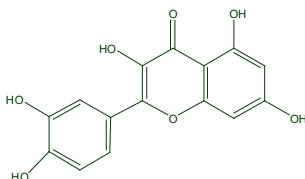
Atrazyna należy do klasy triazyny, które są zasadniczo herbicydami stosowanymi do zwalczania liściastych chwastów w uprawach trzciny cukrowej, kukurydzy, sorga, sosny, winogrona, trawników i terenów leśnych. Użycie triazyn stało się bardzo popularne ze względu na ich skuteczność wobec szerokiego spektrum chwastów. Atrazyna ma toksyczne właściwości i stanowi zagrożenie dla środowiska i zdrowia człowieka poprzez hamowanie odporności, zaburzenia rozrodczości i hormonalne, działanie kancerogenne. Użycie atrazyny zostało zakazane na terenie państw Unii Europejskiej z początkiem roku 2005 ze względu na przekroczenie norm stężeń tego pestycydu w wodach gruntowych. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) maksymalny poziom zanieczyszczenia atrazyną wody pitnej nie może przekraczać 0,2 ppb [20].

2. FLAWONOIDY

Flawonoidy to grupa organicznych związków chemicznych występujących w roślinach. Spełniają funkcję barwników, przeciwutleniaczy i naturalnych insektycydów oraz fungicydów. Uzasadnia to zwiększenie ich podaży w codziennej diecie poprzez spożywanie zalecanej ilości warzyw, owoców a także roślin strączkowych, które są bogatym źródłem przeciwutleniaczy. Prozdrowotne działania bioflawonoidów to między innymi wychwytywanie oraz wymiatanie wolnych rodników, obniżanie poziomu namnażania się komórek nowotworowych, regulacja metabolizmu hormonów steroidowych. A ponadto w wielu badaniach naukowych udokumentowano odwrotną korelację między wysokim spożyciem flawonoidów, a chorobami układu krążenia. Większość z nich jest barwnikami zgromadzonymi w powierzchniowych warstwach tkanek roślinnych, nadającymi intensywny kolor i ograniczającymi szkodliwy wpływ promieniowania ultrafioletowego. Wszystkie flawonoidy są oparte na szkielecie 2-fenylochromanu, przy czym większość typów flawonoidów z wyjątkiem katechin i antocyjanidyny, zawiera szkielet flawonu, z grupą ketonową w pozycji 4. Flawonoidy różnią się między sobą liczbą i rodzajem podstawników, przy czym różnice między związkami w poszczególnych klasach wynikają zazwyczaj z odmiennej budowy tylko jednego skrajnego pierścienia. Większość flawonoidów zawiera grupy hydroksylowe, z których jedna lub więcej jest zwykle połączona z cząsteczką cukru tworząc glikozydy. Dotąd rozpoznano ponad 8000 różnych flawonoidów, a 500 z nich zostało poznanych. Do najbardziej znanych związków flawonowych należy rutyna oraz kwercetyna.

2.1. KWERCETYNA

Kwercetyna (rys.5) to organiczny wielopierścieniowy związek aromatyczny pochodzenia roślinnego z grupy flawonoli mający zastosowanie w lecznictwie. Stosowany jest też do barwienia bawełny na kolory brązowo-czerwone, pomarańczowe i oliwkowo-czarne oraz w analizie chemicznej jako odczynnik selektywny.



Rysunek 5. Wzór strukturalny kwercetyny

Kwercetyna może występować w roślinach jako pochodna glikozydowa lub w stanie wolnym. Źródłem kwercetyny są m.in. truskawki, szpinak, kalafior, kwiaty głogu i kasztanowca, cebula, kapary, gwiazdnica, perełkowiec, wyka, ziele żurawki, ziele śledziennicy, ziele czerwca, owoc migdałcznika, chebułowca oraz ziele estragonu. Kwercetyna znajduje zastosowanie w lecznictwie. Jest składnikiem wielu preparatów stosowanych pomocniczo w leczeniu alergii różnego pochodzenia w połączeniu z solami wapnia. Wykazuje aktywność przeciwalergiczną i przeciwzapalną poprzez hamowanie enzymów uczestniczących w produkcji leukotrienów i prostaglandyn. Hamuje również uwalnianie histaminy. Może być też stosowana w celu zmniejszenia aktywności hialuronidazy. Kwercetyna ma ważne znaczenie dla utrzymania silnych naczyń krwionośnych i może obniżać gęstość krwi, a więc i zapobiegać zakrzepom. Ponadto może chronić wątrobę i przeciwdziałać niebezpiecznym skutkom sztucznego estrogenu. Kwercetyna jest także niezbędna dla prawidłowej absorpcji witaminy C i zapobiega jej rozkładowi w organizmie [21].

3. ALKALOIDY

Alkaloidy to grupa naturalnie występujących, zasadowych związków organicznych z reguły heterocyklicznych. Głównie pochodzenia roślinnego, zawierających w swej budowie azot. Prekursorami do biosyntezy tych związków chemicznych są aminokwasy. Alkaloidy wykazują zwykle silne, nieraz trujące

działanie fizjologiczne na organizm człowieka. Dla chemii organicznej przez ponad 100 lat były przedmiotem badań strukturalnych i syntetycznych. Występują m.in. w maku, kawie, herbacie, tojadzie. Klasyfikuje się je wg pochodzenia lub budowy chemicznej. Do najbardziej znanych alkaloidów należą: atropina, brucyna, chinina, kodeina, kofeina, kokaina, meskalina, morfina, nikotyna, rezerpina, strychnina, teobromina. Rola alkaloidów w życiu roślin nie została dotychczas wyjaśniona. Pierwszym wyodrębnionym alkaloidem była morfina. Znanych jest obecnie ponad 2 tys. alkaloidów zarówno naturalnych, jak i syntetycznych. Są to ciała stałe lub ciecze, trudno rozpuszczalne w wodzie, o smaku gorzkim, w większości bardzo trujące. Na ogół alkaloidy są optycznie czynne. Niektóre są stosowane w lecznictwie. Jako leki stosowane są zazwyczaj w postaci soli, które są lepiej rozpuszczalne w wodzie. Największe znaczenie w lecznictwie mają alkaloidy tropanowe np. atropina, skopolamina, które występują w bieluniu, pokrzyku, lulku i działają rozkurczowo na mięśnie gładkie, rozszerzają źrenicę oka, hamują wydzielanie potu, śliny, śluzu. Drugą grupą są alkaloidy izochinolinowe np. papaweryna, występująca w maku, glistniku, dymnicy, berberysie i działająca przeciwbólowo i rozkurczowo. Pochodne fenantrenu np. morfina wywołują błogostan, uzależnienie i narkomanię. Kolejna grupa to alkaloidy indolowe np. ergotamina, ergometryna występujące w sporyszu i powodujące skurcz większych naczyń krwionośnych oraz macicy. Znajdują się też w korzeniu rauwolfii np. rezerpina, która obniża ciśnienie krwi oraz działa uspokajająco lub np. ajmalina przywracająca właściwy rytm serca. Alkaloidy indolowe obecne w barwinku różyczkowym np. winblastyna, winkrystyna działają przeciw białaczkowo. Używane są również alkaloidy purynowe jak kofeina, teobromina, alkaloidy pirydynowe i piperydynowe jak nikotyna, lobelina, alkaloidy sterolowe jak solanina, alkaloidy chinolinowe jak chinina, chinidyna, alkaloidy pirolizydynowe jak laziokarpina oraz wiele innych, ponieważ jest to szeroka grupa związków chemicznych.

3.1. KOFEINA

Kofeina jest to organiczny związek chemiczny, alkaloid purynowy znajdujący się w ziarnach kawy i wielu innych surowcach roślinnych. Może również być również otrzymana syntetycznie. Została odkryta przez niemieckiego chemika Friedricha Ferdinanda Rungego w 1819 roku. Kofeina jest środkiem psychoaktywnym z grupy stymulantów. Jest stosowana, jako dodatek do niektórych produktów, w tym napojów energetyzujących, a także do innych napojów, przede wszystkim gazowanych typu cola. Po dłuższym okresie regularnego przyjmowania kofeiny występuje zjawisko tachyfilaksji,

czyli stopniowego osłabienia odpowiedzi biologicznej ustroju. Czysta kofeina to biały proszek lub kryształy o kształcie igieł, bez zapachu, o gorzkim smaku. Kofeina stymuluje działanie ośrodkowego układu nerwowego oraz zwiększa metabolizm i jako taka jest używana zarówno w celach konsumpcyjnych oraz leczniczych. Zmniejsza odczucie zmęczenia fizycznego i przywraca ostrość umysłu w warunkach słabości lub sennego nastroju. Kofeinę i inne pochodne metyloksantyny stosuje się do leczenia bezdechu u noworodków oraz regulacji rytmu serca. Kofeina wpływa głównie na wyższy szczebel układu nerwowego, działając pobudzająco, zwiększając koncentrację i uwagę, ułatwiając formułowanie myśli i ogólną koordynację ciała. Dopiero w większych dawkach wywiera efekt również na poziomie rdzenia kręgowego. Przedawkowanie kofeiny niesie za sobą poważne konsekwencje: przy przedawkowaniu powyżej 0,5 g powoduje silne pobudzenie psychoruchowe, przyspieszenie i niemiarowość serca, bardzo silne zwiększenie diurezy, nudności, wymioty i osłabienie. W skrajnych przypadkach występują drgawki i porażenie ośrodka oddechowego. Dawka śmiertelna kofeiny dla dorosłego zdrowego człowieka wynosi ok. 10 gramów, śmierć następuje zazwyczaj w wyniku migotania komór serca. Prawdziwe zatrucia kofeiną są jednak rzadkie [22].

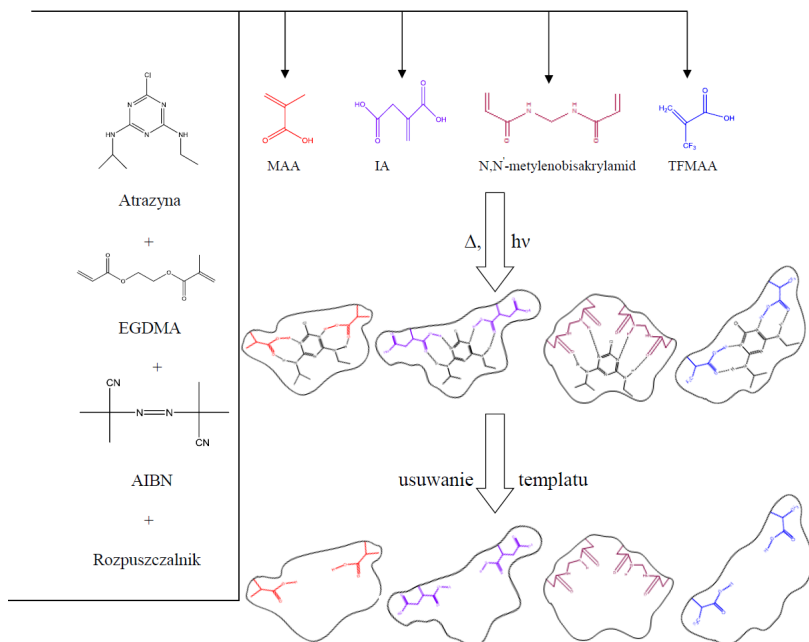
CHARAKTERYSTYKA WNĘK POLIMERU MIP POWSTAŁYCH W WYNIKU ODDZIAŁYWANIA TEMPLATU Z CZĄSTECZKAMI MONOMERÓW

Dokonano analizy wnęk MIPs otrzymanych dla wybranych związków chemicznych.

TEMPLAT – ATRAZYNA

Dokonano analizy 4 typów MIPs zawierających atrazynę, jako templat. Do syntezy polimerów wykorzystano różne monomery, zdolnych do tworzenia specyficznych przestrzeni selektywnych względem cząsteczki szablonu (rys.7).

W syntezie wykorzystano monomery, takie jak kwas metakrylowy, kwas itakonowy (IA), N,N'-metyleno-bis-akrylamid i kwas 2-(trifluorometylo)akrylowy (TFMAA). Wszystkie otrzymane MIPs tj. z różnymi monomerami oraz różnymi stosunkami monomer/szablon wykazały pewne efekty nadruku i selektywność względem szablonu. Najwyższą wydajność reakcji uzyskano przy zastosowaniu MAA w stosunku monomer:matryca 2:1 i w przypadku bisakrylamidu w stosunku monomer:matryca 3:1. Obydwa polimery wykazują



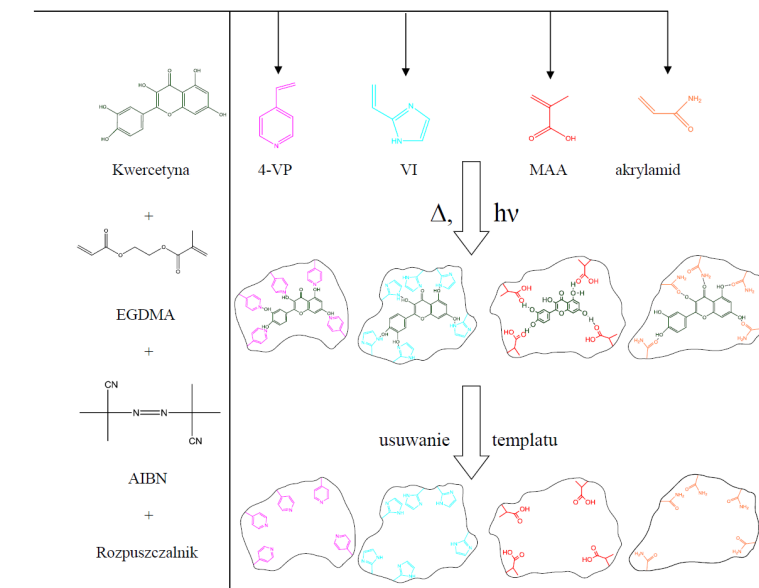
Rysunek 7. Struktury MIPs otrzymane z użyciem różnych monomerów oraz atrazyny jako templaty

niestety również dobrą selektywność względem strukturalnych analogów cząsteczki atrazyny. Ponadto otrzymany MIP z zastosowaniem MAA miał większą zdolność wiązania i selektywność względem cząsteczki matrycy niż otrzymane MIPs z zastosowaniem IA. Może to wynikać z faktu, że w nanomateriałach typu MAA grupy karboksylowe dwóch cząsteczek MAA są powiązane poprzez niekowalencyjne oddziaływania z drugorzędowymi grupami aminowymi pojedynczej cząsteczki atrazyny. Z drugiej strony w przypadku nanocząstek typu IA miejsce aktywne jest utworzone przez połączenie dwóch grup karboksylowych pojedynczej cząsteczki IA z cząsteczką matrycy. Ponadto oba polimery wykazują większą skuteczność wiązania i selektywność wobec cząsteczki atrazyny niż MIPs otrzymane z zastosowaniem TFMAA. TFMAA jest bardziej kwaśny, więc tym samym jest lepszym donorem w tworzeniu wiązań wodorowych niż MAA. Jednak fakt otrzymania MIPs z zastosowaniem TFMAA gorszej jakości i tym samym użyteczności wynika z negatywnego działania indukcyjnego trzech podstawników fluorowych TFMAA, w wyniku

silniejszych oddziaływań z estrowymi grupami funkcyjnymi EGDMA, które obniżają specyficzną zdolność wiązania MIP do cząsteczki atrazyny. Warto jednak zauważyć, że w syntezie ważny jest nie tylko sam użyty monomer, ale również stosunek molowy monomer/szablon. Synteza MIP oparta na bisakrylamidzie (monomer:templat 3:1), dała praktycznie taką samą wydajność reakcji, jak w przypadku polimeru z zastosowaniem MAA (monomer:templat 2:1), co wskazuje wyraźnie na wpływ tej wartości na wydajność reakcji. Po wykonaniu wielu symulacji komputerowych popartych licznymi pracami eksperymentalnymi uznaje się, że w celu uzyskania polimeru o najlepszych właściwościach przy użyciu monomeru MAA najkorzystniejszy stosunek monomeru do templaty wynosi 4:1 [23-32].

TEMPLAT – KWERCETYNA

Badano cztery typy polimerów molekularnych z matrycą kwercetynową. Do syntezy tych cząsteczek wykorzystano różne monomery, tworząc w ten sposób specyficzne przestrzenie selektywne względem cząsteczki szablony (rys 8).



Rysunek 8. Struktury MIPs otrzymane z użyciem różnych monomerów oraz kwercetyny jako templaty

W syntezie zastosowano monomery, takie jak: akrylamid (AA), 4-VP, winyloimidazol (VI) i kwas metakrylowy. Kwercetyna jest słabo rozpuszczalna w wodzie. Uważa się, że związki nierozpuszczalne w rozpuszczalnikach polarnych są trudne, jako szablony w syntezie MIP, nie z powodu metod samej syntezy, ale z powodu możliwości silniejszego oddziaływania cząsteczki matrycy z polarnym rozpuszczalnikiem niż z wnęką selektywną polimeru w momencie zastosowania MIP w analizie analitu np. kwercetyny w wodzie. Nie tworzy się w takich rozpuszczalnikach ponownie kompleks kwercetyna-polimer. Do syntezy polimeru dedykowanego kwercetynie wybiera się najczęściej, jako monomer funkcyjny akrylamid, a jako rozpuszczalnik niepolarny tetrahydrofuran (THF). W tym rozpuszczalniku cząsteczka kwercetyny zawierająca pięć grup hydroksylowych i jedną grupę karbonylową, może tworzyć wiązania wodorowe z grupami funkcyjnymi, takimi jak grupy hydroksylowe, aminowe i karbonylowe. Po usunięciu cząsteczki szablonu z polimeru specyficzne wnęki mogą ponownie wiązać za pomocą wiązań wodorowych cząsteczki kwercetyny. Gdy akrylamid jest używany, jako funkcjonalny monomer stosunek molowy monomeru do szablonu w trakcie procesu polimeryzacji, jest uważny za czynnik wywierający największy wpływ na siłę oddziaływania, oraz na liczbę i selektywność powstałych miejsc rozpoznawania molekularnego. Kiedy stosunek molowy monomer:kwercetyna w substratach reakcji wyniesie 7:1, ustalono, że wszystkie cząsteczki matrycy związane są z funkcjonalnymi monomerami. Jest to zjawisko niepożądane z powodu siły oddziaływania monomer-matryca. Przyjęto, że przy stosunku molowym monomer:matryca wynoszącym 4:1 uzyskuje się polimer o najlepszych właściwościach. Jednakże wielu naukowców twierdzi, że największa adsorpcję względem kwercetyny, jako templaty wykazuje polimer zsyntetyzowanym przy użyciu 4-VP jako monomeru. 4-VP jest odpowiednim monomerem, ponieważ jest zasadą, podczas gdy cząsteczki MAA czy kwasów trifluorometyloakrylowego (TFM) i itakonowego (IA) wykazujące charakter kwaśny tworząc słabsze oddziaływanie z cząsteczką kwercetyny. Przeprowadzono także systemowe badania nad wpływem stosunku templat, monomeru oraz czynnika sieciującego na ostateczne właściwości otrzymanych MIPs. Za najkorzystniejszy uznano stosunek templat:monomer:czynnik sieciujący jako 1:4:20. Pomimo, że polimer zawierający MAA jako monomer przy każdym stosunku templat:monomer:czynnika sieciującego wykazywał niższe powinowactwo wiązania cząsteczek matrycy niż z 4-VP to polimery na bazie MAA lub kwas akrylowy (AA) są powszechnie stosowane jako monomery funkcjonalne w wytwarzaniu MIPs. W celu przygotowania polimeru wdrukowanego względem kwercetyny Xu i wsp. [33] użyli AA, jako funkcjonalnego monomeru, a jako środka sieciującego TRIM. Polimer ten ma

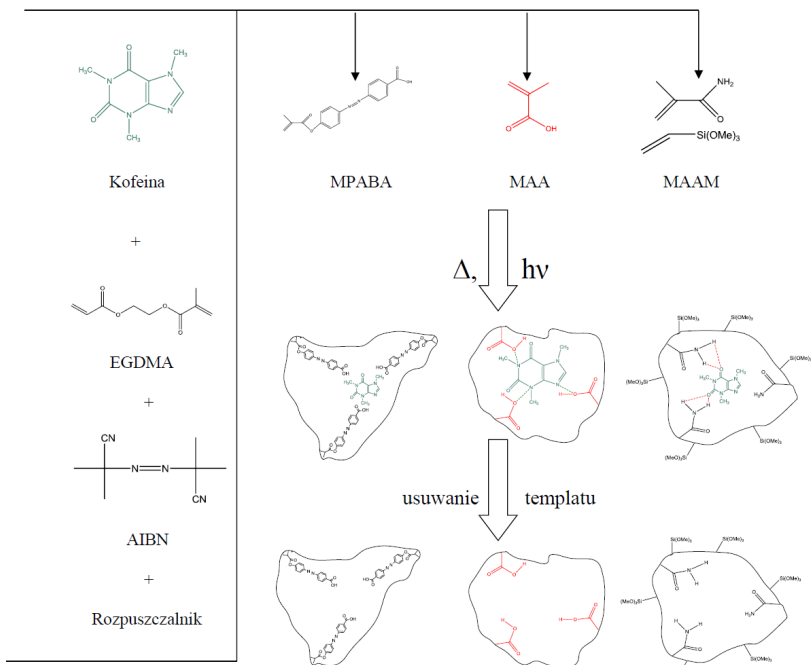
wysoką selektywność względem kwercetyny i może służyć do oddzielenia kwercetyny od izorhamnotyny. Rozpuszczalniki porogeniczne odgrywają ważną rolę w tworzeniu porowatej struktury MIP, zwanej makroporowatymi polimerami. Charakter i stężenie rozpuszczalników porogennych determinują siłę oddziaływań niekowalencyjnych i wpływają na morfologię polimerów, która bezpośrednio wpływa na wydajność wiązania przez MIP cząsteczek matrycy. W przypadku polimeru MIP dedykowanego kwercetynie najlepszym rozpuszczalnikiem okazał się THF.

W celu poprawy selektywności MIP względem kwercetyny, w pracy Y. Xia i wsp. [34] wykorzystano polimeryzację z zastosowaniem MAA jako funkcjonalnego monomeru i perełek chitozanu jako funkcjonalnej matrycy. Perełki chitozanu działają nie tylko, jako matryca nośna szkieletu, co nadaje MIPs kuliste kształty, ale również są źródłem grup aminowych [33-47].

TEMPLAT – KOFEINA

Polimery MIP dedykowane cząsteczce kofeiny są szeroko badane przez wielu autorów. Związane jest to przede wszystkim z możliwością zastosowania tego typu polimerów w analityce chemicznej do zagęszczania selektywnego analitu oraz w procesach usuwania kofeiny ze składu roztworu kawy. Podczas syntezy MIPs użyto trzech rodzajów monomerów funkcyjnych: MPABA, MAA oraz metakrylamid (MAAM) (rys.9).

W pracy Gong i wsp., [49] użyto MPABA jak monomeru funkcyjnego. MPABA nie jest rozpuszczalny w acetonitrylu, chloroformie, metanol lub tetrahydrofuranie (THF), ale jest rozpuszczalny w dimetyloformamidzie (DMF) i dimetylosulfotlenku (DMSO). Z tego powodu w syntezie, w której uczestniczy cząsteczka MPABA można zastosować rozpuszczalnik porogenny. Podczas syntezy MIPs dedykowanego kofeinie zastosowano porogową mieszaninę rozpuszczalników acetonitrylu/DMF (5:1), a jako czynnik sieciujący zastosowano trimetylopropantrimetakrylanutrimetylu (TRIM), w stosunku do monomeru w ilości 6:1. W pracy S. Xu i wsp. [52] zastosowano w polimeryzacji cząsteczki MPABA. Inicjowana termicznie polimeryzacja sieciująca została przeprowadzona w ciemności. Otrzymane MIPs wykazywały zdolność do wiązania cząsteczek kofeiny. W pracach Lin i wsp., [48], Theodoridis i wsp. [51] oraz Liang i wsp. [50] przedstawiono zastosowanie dwóch monomerów w syntezie MIPs, wskazując na decydującą rolę grup siloksanowych na proces polimeryzacji i właściwości otrzymanego polimeru [48-53].



Rysunek 9. Struktury MIPs otrzymane z użyciem różnych monomerów oraz kofeiny jako templat

Warunki polimeryzacji tj. rodzaj templat, typ i stężenie monomerów, czynników sieciujących, temperatura polimeryzacji, użyty inicjator, rozpuszczalnik są ważnymi zmiennymi, które należy wziąć pod uwagę podczas przygotowywania syntezy MIP dedykowanemu konkretnemu analitowi. Aby uzyskać MIP o najlepszych właściwościach rozpoznawania stosuje się bardzo często na etapie wstępnym modelowanie molekularne, aby stworzyć wirtualną bibliotekę monomerów dla danego szablonu. Potencjalnie najlepiej dopasowane monomery, które tworzą najbardziej trwałe kompleksy z szablonem, są wybierane następnie w syntezie MIPs [54,55].

Podziękowanie

Praca została wykonana w ramach projektu nr 2016/21/B/ST4/02082 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

LITERATURA

1. A. Martín-Esteban, Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation, *Trends in Analytical Chemistry*, 45 (2013) 169-181.
2. S. Ansari, Application of magnetic molecularly imprinted polymer as versatile and highly selective tool in food and environmental analysis: Recent developments and trends, *Trends in Analytical Chemistry*, 90 (2017) 89-106.
3. S. Kazemi, A. Asghar Sarabi, M. Abdouss, Synthesis and characterization of magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles for controlled release of letrozole, *Korean J. Chem. Eng.*, 33 (2016) 3289-3297.
4. L. Figueiredo, G. L. Erny, L. Santos, A. Alves, Applications of molecularly imprinted polymers to the analysis and removal of personal care products: A review, *Talanta*, 146 (2016) 754-765.
5. L. Chen, S. Xu, J. Li, Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications, *Chem. Soc. Rev.*, 40 (2011) 2922-2942.
6. D.L. Huang, R.Z. Wang, Y.G. Liu, G.M. Zeng, C. Lai, P. Xu, B.A. Lu, J.J. Xu, C. Wang, C. Huang, Application of molecularly imprinted polymers in wastewater treatment: a review, *Environ Sci. Pollut. Res. Int.*, 22 (2015) 963-977.
7. C. Algieri, E. Drioli, L. Guzzo, L. Donato, Bio-mimetic sensor based on molecularly imprinted membranes, *Sensors*, 14 (2014) 13863-13912.
8. W. Rao, R. Cai, Y. Yin, F. Long, Z. Zhang, Magnetic dummy molecularly imprinted polymers based on multi-walled carbon nanotubes for rapid selective solid-phase extraction of 4-nonylphenol in aqueous samples, *Talanta*, 128 (2014) 170-176.
9. T. Madrakian, A. Afkhami, H. Mahmood-Kashani, M. Ahmadi, Superparamagnetic surface molecularly imprinted nanoparticles for sensitive solid-phase extraction of tramadol from urine samples, *Talanta* 105 (2013) 255-261.
10. X. Liu, L. Zhu, X. Gao, Y. Wang, H. Lu, Y. Tang, J. Li, Magnetic molecularly imprinted polymers for spectrophotometric quantification of curcumin in food, *Food Chemistry*, 202 (2016) 309-315.
11. R. J. Uzuriaga-Sánchez, S. Khan, A. Wong, G. Picasso, M. I. Pividori, M. D. P. Taboada-Sotomayor, Magnetically separable polymer (Mag-

- MIP) for selective analysis of biotin in food samples, *Food Chemistry* 190 (2016) 460–467.
12. Y. Zhang, Y. Li, Y. Hu, G. Li, Y. Chen, Preparation of magnetic indole-3-acetic acid imprinted polymer beads with 4-vinylpyridine and β -cyclodextrin as binary monomer via microwave heating initiated polymerization and their application to trace analysis of auxins in plant tissues, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 7337–7344.
 13. M. Villar-Navarro, M. J. Martín-Valero, R. M. Fernández-Torres, M. Callejón-Mochón, M. Á. Bello-López, Easy, fast and environmental friendly method for the simultaneous extraction of the 16 EPA PAHs using magnetic molecular imprinted polymers (mag-MIPs), *Journal of Chromatography B*, 1044–1045 (2017) 63–69.
 14. Z. Lin, H. Zhang, L. Li, Z. Huang, Application of magnetic molecularly imprinted polymers in the detection of malachite green in fish samples, *Reactive and Functional Polymers*, 98 (2016) 24–30.
 15. L. Chen, B. Li, Application of magnetic molecularly imprinted polymers in analytical chemistry, *Anal. Methods*, 4 (2012) 2613–2621.
 16. H. Li, W. Xu, N. Wang, X. Ma, D. Niu, B. Jiang, L. Liu, W. Huang, W. Yang, Z. Zhou, Synthesis of magnetic molecularly imprinted polymer particles for selective adsorption and separation of dibenzothiophene, *Microchim Acta*, 179 (2012) 123–130.
 17. F. Ning, H. Peng, L. Dong, Z. Zhang, J. Li, L. Chen, H. Xiong, Preparation and Characterization of Superparamagnetic Molecularly Imprinted Polymers for Selective Adsorption and Separation of Vanillin in Food Samples, *J. Agric. Food Chem.*, 62 (2014) 11138–11145.
 18. S. Hussain, S. Khan, S. Gul, M. I. Pividori, M. D. P. Taboada-Sotomayor, A novel core@shell magnetic molecular imprinted nanoparticles for selective determination of folic acid in different food samples, *Reactive and Functional Polymers*, 106 (2016) 51–56.
 19. P. A. G. Cormack, A. Z. Elorza, Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization, *Journal of Chromatography B*, 804 (2004) 173–182.
 20. Red. F. Müller, *Agrochemicals – Composition, Production, Toxicology, Applications*, (WILEY-VCH, Germany, 2000).
 21. Red. E. Grotewold, *The Science of Flavonoids*, (Springer, USA, 2006)
 22. Red. E. Fattorusso, O. Tagialatela-Scafati, *Modern Alkaloids. Structure, Isolation, Synthesis and Biology*, (WILEY-VCH, Germany, 2008).

23. Y. Zhang, R. Liu, Y. Hu, G. Li, Microwave Heating in Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer Beads for Trace Triazines Analysis in Complicated samples, *Anal. Chem.*, 81 (2009) 967-976.
24. J. C. Yang, H. Shin, S. W. Hong, J. Y. Park, Lithographically patterned molecularly imprinted polymer for gravimetric detection of trace atrazine, *Sensors and Actuators B*, 216 (2015) 476-481.
25. F. N. Andrade, C. E. Domingues-Nazario, A. J. Santos-Neto, F. M. Lancas, Development of on-line molecularly imprinted solid phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry for triazine analysis in corn samples, *Anal. Methods*, 18 (2016) 1181-1186.
26. X. Li, Y. Wang, Q. Sun, B. Xu, Y. Yu, X. Wang, Molecularly imprinted solid phase extraction in a syringe filter for determination of triazine herbicides in Radix Peoniae Alba by ultra-fast liquid chromatography, *Talanta*, 148 (2016) 539-547.
27. J. Chen, L. Bai, K. Liu, R. Liu, Y. Zhang, Atrazine Molecular Imprinted Polymers: Comparative Analysis by Far – Infrared and Ultraviolet Induced Polymerization, *Int. J. Mol. Sci.*, 15 (2014) 574-587.
28. M. Zarejousheghani, P. Fiedler, M. Moder, H. Borsdorf, Selective mixed-bed solid phase extraction of atrazine herbicide from environmental water samples using molecularly imprinted polymer, *Talanta*, 129 (2014) 132-138.
29. A. L. Ahmad, N. F. C. Lah, S. C. Low, Molecular Imprinted Polymer for Atrazine Detection Sensor: Preliminary Study, *Chemical Engineering Transactions*, 45 (2015) 1483-1488.
30. I. Royani-Widayani, M. Abdullah-Khairurrijal, An Atrazine Molecularly Imprinted Polymer Synthesized Using a Cooling-Heating Method with Repeated Washing : Its Physicochemical Characteristics and Enhanced Cavities, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 9 (2014) 5651-5662.
31. D. Lakshmi, M. Akbulut, P. K. Ivanova-Mitseva, M. J. Withcombe, E. V. Piletska, K. Karim, O. Guven, S. A. Piletsky, Computational Design and preparation of MIPs for Atrazine Recognition on a Conjugated Polymer-Coated Microtiter Plate, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 52 (2013) 13910-13916.
32. C. Gkementzoglou, O. Kotrotsiou, M. Koronaiou, C. Kiparissides, Development of sandwich-type filtration unit packed with MIP nanoparticles for removal of atrazine from water sources, *Chemical Engineering Journal*, 287 (2016) 233-240.

33. L. Yu, Y. Yun, W. Zhang, L. Wang, Preparation, recognition characteristic and properties for quercetin molecularly imprinted polymers, *Desalination and Water Treatment*, 34 (2011) 309-314.
34. X. Song, J. Li, J. Wang, L. Chen, Quercetin molecularly imprinted polymers: Preparation, recognition characteristic and properties as sorbent for solid-phase extraction, *Talanta*, 80 (2009) 694-702.
35. J. Xie, L. Zhu, H. Luo, L. Zhou, C. Li, X. Xu, Direct extraction of specific pharmacophoric flavonoids from ginkgo leaves using a molecularly imprinted polymer for quercetin, *Journal of Chromatography A*, 934 (2001) 1-11.
36. A. Pardo, L. Mespouille, B. Blankert, P. Trouillas, M. Surin, P. Dubois, P. Duez, Quercetin-imprinted chromatographic sorbents revisited: Optimization of synthesis and rebinding protocols for application to natural resources, *Journal of Chromatography A*, 1364 (2014) 128-139.
37. J. Krnanova, N. Denderz, J. Lehotay, M. Samohyl, Determination of Some Flavonoids by HPLC Using Quercetin-Molecularly Imprinted Polymers, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 38 (2015) 702-708.
38. S. K. Ersoy, E. Tutem, K. S. Baskan, R. Apak, C. Nergiz, Preparation, characterization and usage of molecularly imprinted polymer for the isolation of quercetin from hydrolyzed nettle extract, *Journal of Chromatography B*, 1017 (2016) 89-100.
39. J. O'Mahony, A. Molinelli, K. Nolan, M. R. Smytha, B. Mizaikoff, Anatomy of a successful imprint: Analysing the recognition mechanisms of a molecularly imprinted polymer for quercetin, *Biosensors and Bioelectronic*, 21 (2006) 1383-1392.
40. A. Alireza, R. Ali, J. Mohsen, M. A. Akbar, Synthesis and Evaluating of Nanoporous Molecularly Imprinted Polymers for Extraction of Quercetin as a Bioactive Component of Medicinal Plants, *J. Chem. Chem. Eng.*, 35 (2016) 11-19.
41. T. Piacham, C. Isarankura-Na-Ayudhya, V. Prachayasittikul, Quercetin-imprinted polymer for anthocyanin extraction from mangosteen pericarp, *Materials Science and Engineering C*, 51 (2015) 127-131.
42. V. Pakade, S. Lindahl, L. Chimuka, C. Turner, Molecularly imprinted polymers targeting quercetin in high-temperature aqueous solution, *Journal of Chromatography A*, 1230 (2012) 15-23.

43. A. Molinelli, R. Weiss, B. Mizaikoff, Advanced Solid Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymers for the Determination of Quercetin in Red Wine, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (2002) 1804-1808.
44. M. del Mar Castro Lopez, M.C. Cela Perez, M. S. Dopico Garcia, J. M. Lopez Vilarino, M. V. Gonzalez Rodriguez, L. F. Barral Losada, Preparation, evaluation and characterization of quercetin-molecularly imprinted polymer for preconcentration and clean-up of catechins, *Analytica Chimica Acta*, 721 (2012) 68-78.
45. K. Hemmati, A. Masoumi, M. Ghaemy, Tragacanth gum-based nanogel as a superparamagnetic molecularly imprinted polymer for quercetin recognition and controlled release, *Carbohydrate Polymers*, 136 (2016) 630-640.
46. M. Curcio, G. Cirillo, O. I. Parisi, F. Iemma, N. Picci, F. Puoci, Quercetin, – Imprinted Nanospheres as Novel Drug Delivery Devices, *J. Funct. Biomater*, 3 (2012) 269-282.
47. Y. Xia, T. Guo, M. Song, B. Zhang, B. Zhang, Selective separation of quercetin by molecular imprinting using chitostan beads as functional matrix, *Reactive & Functional Polymers*, 66 (2006) 1734-1740.
48. C. I. Lin, A. K. Joseph, C. K. Chang, Y. C. Wang, Y. D. Lee, Synthesis of molecular imprinted organic–inorganic hybrid polymer binding caffeine, *Analytica Chimica Acta*, 481 (2003) 175–180.
49. C. Gong, M. Hon-Wah Lam, H. Yu, The Fabrication of a Photoresponsive Molecularly Imprinted Polymer for the Photoregulated Uptake and Release of Caffeine, *Advanced Functional Materials*, 2006, DOI: 10.1002/adfm.200500907.
50. C. Liang, H. Peng, X. Bao, L. Nie, S. Yao, Study of a molecular imprinting polymer coated BAW bio-mimic sensor and its application to the determination of caffeine in human serum and urine, *The Analyst*, 124 (1992) 1781-1785.
51. G. Theodoridis, P. Manesiotis, Selective solid-phase extraction sorbent for caffeine made by molecular imprinting, *Journal of Chromatography A*, 948 (2002) 163–169.
52. S. Xu, J. Li, X. Song, J. Liu, H. Lu, L. Chen, Photonic and magnetic dual responsive molecularly imprinted polymers: preparation, recognition characteristics and properties as a novel sorbent for caffeine in complicated samples, *Anal. Methods*, 5 (2013) 124-134.

53. Y. Jin, D. Choi, K. H. Row, Adsorption isotherms of caffeine on molecular imprinted polymer, *Korean J. Chem. Eng.*, 25(4) (2008) 816-818.
54. B. Tse Sum Bui and K. Haupt, Molecularly imprinted polymers: synthetic receptors in bioanalysis, *Anal Bioanal Chem.*, 398 (2010) 2481–2492.
55. K. Karim, F. Breton, R. Reuillon, E. V. Piletska, A. Guerreiro, I. Chianella, S. A. Piletsky, How to find effective functional monomers for effective molecularly imprinted polymers?, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57 (2005) 1795-1808.

Rozdział 8

BADANIE PROCESU UTLENIANIA MCPA NA KATALIZATORZE TiO₂

Piotr Grzesiak¹, Tadeusz Hłyń¹, Joanna Łukaszyk¹, Grzegorz Schroeder²

¹Instytut Ochrony Roślin – PIB, Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska,
ul. W. Węgorzka 20, 60-318 Poznań

²Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii,
ul. Umultowska 89B, 61-61-614 Poznań

1. WPROWADZENIE

Współczesne rolnictwo wymaga stosowania nowoczesnych i efektywnych technologii uprawy i ochrony roślin, ale także nowych – a może przede wszystkim – skutecznych technologii ochrony środowiska. Rozwój przemysłu oraz intensyfikacja produkcji rolnej powodują zanieczyszczenie środowiska naturalnego. Żywność jest uprawiana na terenach objętych oddziaływaniem przemysłu, co powoduje, że na terenach tych istnieją specyficzne warunki uprawy. Dopiero kompleksowe podejście do środowiska i jego rolniczego wykorzystania prowadzi do zwiększenia bezpieczeństwa żywności. Wprowadzenie do obiegu masowego żywności niespełniającej wymogów bezpieczeństwa nie jest obecnie możliwe.

Spełnienie wymogów w zakresie bezpieczeństwa żywności, uprawianej szczególnie na terenach zagrożonych, wymaga poszukiwania nowych, efektywnych sposobów prowadzących do poprawy stanu środowiska. Jednym z takich kierunków jest z całą pewnością wykorzystanie zjawiska fotokatalizy i przemysłowe zastosowanie fotokatalizatorów w ochronie środowiska,

prowadzące do poprawy stanu środowiska poprzez wysokoefektywne utlenianie szkodliwych ekologicznie związków. Zastosowanie tego procesu w warunkach środowiskowych wymaga jednak użycia katalizatorów o wysokiej wydajności i efektywności.

Dłatego podjęto badania nad technologią otrzymania fotokatalizatorów na bazie TiO_2 o bardzo wysokiej skuteczności katalitycznej i przebadano możliwość ich wykorzystania do zwalczania opornych grzybów pleśniowych gatunku *Penicillium chrysogenum* [1]. Badania potwierdziły potrzebę poszukiwania innych zastosowań tego procesu w ochronie środowiska i rolnictwie.

1.1. WYKORZYSTANIE PROCESU FOTOKATALIZY

Proces fotokatalizy jest znany od dawna, a prowadzone badania pozwoliły na lepsze zrozumienie procesu oraz samego zjawiska. Pozwoliły także zdefiniować zalety oraz słabe strony tej metody. Liczne badania dotyczące fotokatalizy heterogenicznej wskazują, że tlenek tytanu (IV) charakteryzuje się wysoką fotoaktywnością katalityczną zarówno w fazie wodnej, jak i gazowej. Bardzo istotnym jest, że fotokataliza heterogeniczna z zastosowaniem TiO_2 , jako fotokatalizatora spełnia zasady zielonej chemii, będącej głównym narzędziem zrównoważonego rozwoju.

Tlenek tytanu (IV) jest związkiem chemicznym wykazującym stabilność fotochemiczną oraz wytrzymałość mechaniczną. Degradacja zanieczyszczeń w układzie TiO_2 /promieniowanie zachodzi w temperaturze otoczenia i pod ciśnieniem atmosferycznym. Metoda pozwala na całkowitą eliminację stosowania dodatkowych utleniaczy chemicznych, poprzez wykorzystanie tlenu z powietrza oraz energii odnawialnej w postaci światła słonecznego. Rodnik hydroksylowy, powstający na skutek procesów fotochemicznych, jest reaktywnym i nieselektywnie działającym utleniaczem zanieczyszczeń. Fotokataliza heterogeniczna daje możliwość całkowitej mineralizacji szerokiej gamy związków toksycznych lub nieulegających biodegradacji – w tym także pestycydów. Produktami końcowymi procesów fotokatalitycznych są: ditlenek węgla, woda oraz kwasy nieorganiczne.

Tlenek tytanu(IV) jest szeroko rozpowszechnionym w skorupie ziemskiej nietoksycznym związkiem chemicznym, charakteryzującym się wysoką stabilnością fotochemiczną wytrzymałością mechaniczną, a także brakiem rozpuszczalności. Najbardziej popularne odmiany polimorficzne TiO_2 to: anataz (rys. 1), rutyl (rys. 2) i brukit (rys. 3). Jon tytanu w naturalnie powstającej strukturze TiO_2 jest otoczony sześcioma jonami tlenu, które tworzą naroża

ośmiościanu. Koordynacja tlenu w rutylu jest bardzo zbliżona do prawidłowego oktaedru, natomiast w anatazie występują wyraźne odkształcenia od tej struktury.

Anataz powstaje w niższych temperaturach niż rutyl i jest odmianą metastabilną. Posiada większą powierzchnię właściwą i porowatość oraz większą ilość powierzchniowych grup hydroksylowych. W wysokiej temperaturze od około 400 do 850°C ulega przemianie w rutyl, a temperatura transformacji zależy od sposobu preparatyki TiO_2 [2]. Na skalę przemysłową anataz jest produkowany z rudy tytanowej najczęściej metodą siarczanową. Po ługowaniu rudy stężonym kwasem siarkowym siarczan tytanu poddawany jest hydrolizie, a wytrącony tlenek tytanu(IV) jest filtrowany i kalcynowany w temperaturze 300-600°C.



Rysunek 1. Odmiana anatazowa TiO_2



Rysunek 2. Odmiana rutyłowa TiO_2



Rysunek 3. Odmiana brukitowa TiO_2

Tlenek tytanu(IV) w postaci tzw. bieli tytanowej (TYTANPOL) jest produkowany metodą siarczanową między innymi w Zakładach Chemicznych POLICE S.A.

Innym sposobem produkcji TiO_2 jest metoda płomieniowego utleniania bezwodnego chlorku tytanu(IV) w fazie gazowej. Przy zastosowaniu metody chlorkowej TiO_2 stanowi mieszaninę anatazu (75%) i rutylu (25%).

Tlenek tytanu(IV) jest półprzewodnikiem typu n , dla którego liczba elektronów w paśmie przewodnictwa przekracza liczbę dziur w paśmie walencyjnym (tzw. przewodnictwo elektronowe). Przyczyną tego zjawiska jest powstawanie wakancji tlenowych [3]. Pasma walencyjne TiO_2 stanowią zhybrydowane orbitale 2p tlenu i 3d tytanu. Poziom przewodnictwa pochodzi głównie od orbitali 3d tytanu, z niewielkim udziałem orbitali 2p tlenu w górnej jego części [4]. Lokalizacja podstawowego pasma energetycznego wszystkich odmian polimorficznych TiO_2 jest jednakowa. Jednak występują różnice w położeniu dolnego skraju pasma przewodnictwa, co w konsekwencji powoduje różne wielkości przerw energetycznych anatazu (3,26 eV), rutylu (3,02 eV) i brukitu (2,96 eV) [5].

Efektywność fotokatalizy heterogenicznej z udziałem TiO_2 zależy przede wszystkim od rodzaju zastosowanego katalizatora i jego właściwości fizykochemicznych, a istotny wpływ na wydajność procesu mają [6-9]:

- stopień krystalizacji i ilość defektów w strukturze krystalicznej,
- powierzchnia właściwa BET i rodzaj porów,
- stopień hydroksylacji powierzchni i punkt zerowego ładunku,
- rozmiar oraz stopień aglomeracji cząstek katalizatora.

Najwyższą aktywnością katalityczną w świetle UV wykazuje anataz ze względu na dużą powierzchnię właściwą oraz wysoki stopień hydroksylacji powierzchni. Wartość energii wzbudzenia anatazu odpowiada kwantowi energii światła o długości fali równej 380 nm [10]. Katalizator tytanowy o dobrze rozwiniętej powierzchni właściwej posiada wiele miejsc aktywnych dla adsorpcji reagentów. Powierzchniowe grupy hydroksylowe pułapują wygenerowane dziury, co zmniejsza stopień rekombinacji wzbudzonych par nośników ładunku. Jednak negatywną stroną dużej powierzchni właściwej katalizatora jest obecność wielu defektów strukturalnych, które sprzyjają rekombinacji.

Rutyl wykazuje zazwyczaj słabszą aktywność fotokatalityczną z powodu szybszej rekombinacji fotowzbudzonych dziur i elektronów, a także mniejszej ilości miejsc aktywnych i grup hydroksylowych na powierzchni. Wysoka temperatura, przy której anataz transformuje do rutylu powoduje aglomerację i spiekanie ziaren katalizatora, a w konsekwencji wzrost wielkości cząstek i zmniejszenie powierzchni właściwej TiO_2 . Należy jednak pamiętać, że wysoka temperatura sprzyja krystalizacji TiO_2 . Mniejsza ilość defektów strukturalnych oznacza spadek stopnia rekombinacji nośników ładunku.

Naturalne promieniowanie UV stanowi tylko około 3-4% całego zakresu promieniowania docierającego do powierzchni Ziemi [11]. Najczęściej

stosowanym źródłem światła w fotokatalizie jest fluorescencyjna lampa Wooda, emitująca światło z zakresu 320-400 nm. Lampa jest stosunkowo niedroga, aczkolwiek jej budowa i wymiary uniemożliwiają minimalizację układu fotokatalizycznego. Można także stosować diody UVLED, które emitują światło w zakresie 370-400 nm.

W wielu ośrodkach naukowych na świecie prowadzone są badania nad katalizatorem tytanowym drugiej generacji aktywnym w świetle widzialnym w zakresie >400 nm. Rozszerzy to możliwości aplikacyjne fotokatalizy heterogenicznej i da możliwość degradacji zanieczyszczeń środowiska przy wykorzystaniu odnawialnego źródła energii, jakim jest światło słoneczne.

Główne wady tej metody to niska wydajność kwantowa oraz aktywność katalizyczna TiO_2 w zakresie promieniowania nadfioletowego. Koszt energii elektrycznej zużywanej na aktywację katalizatora sztucznymi źródłami światła jest czynnikiem limitującym zastosowanie tej metody na szeroką skalę w ochronie środowiska [11].

Jednym z kierunków zastosowania fotokatalizy jest rolnictwo, a w szczególności usuwanie ze środowiska pestycydów. Pestycydy należą do związków chemicznych powszechnie stosowanych w rolnictwie, a dynamiczny wzrost zapotrzebowania jest związany ze zwiększaniem się produkcji roślinnej i wzrostem liczby szkodników oraz chorób. Roczna światowa produkcja pestycydów wynosi kilkaset tysięcy ton. Związki te charakteryzują się dużą trwałością w środowisku oraz zdolnością do kumulowania się w organizmach żywych, a ich oddziaływanie jest w większości toksyczne. Z tego powodu wycofuje się sukcesywnie z użycia najbardziej niebezpieczne grupy tych substancji, ale mimo to w środowisku znajduje się olbrzymia ilość pozostałości pestycydowych i produktów ich rozkładu. Dotyczy to głównie zakładów produkujących środki ochrony roślin. W przypadku złego składowania tego typu odpadów występuje niebezpieczeństwo przedostawania się zanieczyszczeń do wód powierzchniowych oraz częściowo gruntowych.

Pestycydy znajdują się nie tylko w mogielnikach i na składowiskach, ale są także skumulowane w organizmach żywych czy osadach dennych zbiorników wodnych. Szczególnego znaczenia nabiera obecność pestycydów w środowisku wodnym, które jest pośrednikiem w migracji tych groźnych zanieczyszczeń do poszczególnych komponentów biosfery. Punktowymi źródłami zanieczyszczeń pestycydowych wód są: ścieki komunalne i przemysłowe, osady i odpady z zakładów produkujących pestycydy, ścieki powstałe przy konserwacji drewna oraz zakonserwowane drewno, ścieki powstałe podczas mycia sprzętu stosowanego do oprysków oraz źle zlokalizowane i wykonane mogielniki.

Najwięcej pestycydów zawierają wody powierzchniowe, a ich stężenia w tym środowisku mają na całym świecie tendencję wzrostową. Zawartość pestycydów w wodach powierzchniowych waha się od kilku do setek mg/m³. Największe stężenia pestycydów są rejestrowane w okresie spływu wód roztopowych lub powodziowych oraz podczas wykonywania zabiegów. Do wód podziemnych pestycydy przenikają w znikomych ilościach, ponieważ są zatrzymywane w poszczególnych warstwach gleby.

Dopuszczalne stężenie w wodzie do picia pestycydów wynosi 0,1 mg/m³ danej substancji – za wyjątkiem aldryny, dieldryny, heptachloru i epoksyheptachloru, które nie powinny występować w ilości większej niż 0,03 mg/m³. Wprowadzono również ograniczenie w zakresie sumy pestycydów na poziomie 0,5 mg/m³.

Szkodliwy wpływ pestycydów na organizmy polega na zakłóceniu równowagi biologicznej przez toksyczne działania na biocenozę, zakłóceniu procesów samooczyszczania środowiska, pogorszeniu ich właściwości organoleptycznych oraz zmniejszaniu napięcia powierzchniowego (skłonność do pienienia). Toksyczność pestycydów wobec organizmów wodnych zależy od temperatury, siły jonowej (zasolenie wody), zawartości i rodzaju zawiesin oraz od rodzaju pestycydów. Pestycydy stanowią także bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia człowieka. Niektóre pestycydy uważane są za mutageny i kancerogeny, podrażniają system nerwowy, powodują nudności i biegunkę, a w niektórych przypadkach zmiany w wątrobie i nerkach oraz zaburzenia równowagi hormonalnej.

Do usuwania tego typu toksycznych zanieczyszczeń stosuje się bardzo różne techniki, w tym tzw. metody głębokiego utleniania (AOP) do których zalicza się między innymi fotolizę UV, łączne działanie UV/H₂O₂, UV/O₃, UV/H₂O₂/O₃, fotokatalityczne utlenianie w wodnych zawiesinach półprzewodników, reakcję foto-Fentona, procesy z zastosowaniem ultradźwięków [12,13], a także procesy radiacyjne (promieniowanie jonizujące, lub wspomagane O₃, H₂O₂) [14]. Wspólną cechą tych metod jest wytwarzanie aktywnego rodnika hydroksylowego.

Proces fotokatalitycznego utleniania na półprzewodnikach jest procesem heterogenicznym i zależy od wielu czynników [15,16]. Spośród wszystkich badanych półprzewodników największą aktywnością cechuje się TiO₂. Jest on tani, łatwo podlega aktywacji promieniowaniem UV i nie rozpuszcza się w większości środowisk reakcji. Jest stabilny fotochemicznie i nietoksyczny [17]. Mechanizm działania TiO₂ oparty jest na separacji ładunków w półprzewodniku w wyniku absorpcji fotonu o energii 3,0-3,2 eV. Odpowiada to energii światła

z zakresu UV o długości fali 390 – 410 nm. Rozseparowane ładunki (elektron w paśmie przewodnictwa, dodatnia dziura w paśmie walencyjnym) mogą ulec rekombinacji lub migrować do powierzchni katalizatora i inicjować reakcje redoks z zaadsorbowanymi z roztworu cząsteczkami wody, tlenu i związków organicznych. W reakcjach z wodą generowane są reaktywne rodniki HO \cdot i O $_2\cdot$. W niskim zakresie pH powstają jony H $^+$ i następnie cząsteczki H $_2$ [18]. Fotokatalityczne utlenianie na ditlenku tytanu jest wykorzystywane między innymi do usuwania pestycydów [19,20].

Celem zwiększenia aktywności fotokatalizatorów półprzewodnikowych dokonuje się modyfikacji powierzchni metalami lub różnymi substancjami, a także wykorzystuje się procesy elektrodowe, gdzie np. ditlenek tytanu osadzony jest na elektrodzie [21,22]. Natomiast dodanie drugiego półprzewodnika powoduje przesunięcie widma absorbowanego przez półprzewodnik w kierunku światła widzialnego. Półprzewodnik o mniejszej energii wzbudzenia pochłania promieniowanie z zakresu większych długości fal powodując wybite elektronów z pasma walencyjnego, które są wychwytywane przez drugi półprzewodnik o większej energii wzbudzenia (np. TiO_2), na którym zachodzą reakcje redoks [23]. Pozwala to na lepsze rozseparowanie ładunku, przedłużenie czasu życia ładunku nośnika i udoskonalenie międzyfazowego transferu ładunku do zaadsorbowanego substratu. Stwierdzono, że dotowanie powierzchni TiO_2 metalami pozwala na zwiększenie jego aktywności w reakcji rozkładu związków organicznych. Jest to wynikiem zmian właściwości powierzchniowych półprzewodnika. Metal modyfikuje fotokatalityczne właściwości półprzewodnika przez zmianę dystrybucji elektronów. Spadek gęstości elektronów w półprzewodniku prowadzi do wzrostu kwasowości grup hydroksylowych. Ditlenek tytanu absorbuje tylko promieniowanie z zakresu UV. Implantowanie go jonami metali pozwala na zwiększenie spektrum absorpcji TiO_2 w kierunku zakresu widzialnego. Wykazano, że przesunięcie w kierunku większej długości fali zależy od stężenia jonów metali, podczas gdy wartości maksimum i minimum absorpcji pozostaje stała. W efekcie TiO_2 implantowany jonami metali może wykorzystywać promieniowanie słoneczne w granicach 25-30%. Modyfikowanie powierzchni ditlenku tytanu związkami Fe(III) lub związkami żelaza i Zn(II) także zwiększa aktywność TiO_2 [24].

Innymi dodatkami modyfikującymi strukturę i teksturę TiO_2 są metale szlachetne. Wydajność fotogenerowania pary elektron/dziura zależna jest od intensywności padania fotonów, których energia jest wyższa bądź równa pasmu wzbudzenia TiO_2 . Wzbogacenie TiO_2 srebrem powoduje zwiększenie zakresu absorpcji światła w kierunku światła widzialnego o długości >400 nm [25,26]. Podobnie wpływa modyfikacja TiO_2 platyną [27,28]. W reakcji

rozkładu wody wydziela się wodór, który w obecności metalu na powierzchni katalizatora prowadzi do pułapkowania elektronów w okolicach cząstek metalu. Wybite elektrony z pasma przewodnictwa migrują do cząstek metalu, gdzie są przez niego wychwytywane, hamując reakcje rekombinacji dziura/elektron. Dziura może migrować na powierzchnię półprzewodnika i generować reakcje prowadzące do rozkładu danego związku.

Katalityczne działanie ditlenku tytanu może być także zwiększane poprzez modyfikowanie jego powierzchni barwnikami. Chemisorpcja barwników na powierzchni ma na celu absorpcję promieniowania o jak najmniejszej energii, która powoduje wybite elektronu. Jeśli poziom energetyczny wzbudzonej cząsteczki barwnika jest wyższy niż poziom pasma przewodnictwa półprzewodnika, możliwe jest przeniesienie elektronu z cząsteczki barwnika do pasma przewodnictwa TiO_2 [29].

Efektywność reakcji fotokatalitycznego utleniania zależy od wielu czynników, a określenie ich wpływu na przebieg reakcji jest konieczne do określenia skuteczności badanych układów katalitycznych i możliwości wdrożenia tej techniki do wyznaczonych zastosowań [30].

W Instytucie Ochrony Roślin – PIB prowadzone są badania nad nowymi, wysokoaktywnymi katalizatorami na bazie kompozytów TiO_2 pozyskanych na różnych etapach produkcji bieli tytanowej i ich zastosowaniem w rolnictwie [31]. Przeprowadzono badania potwierdziły ich bardzo dużą przydatność do zwalczania grzybów z gatunku *Penicillium chrysogenum*, co pozwala na prowadzenie integrowanej produkcji rolniczej, w tym na terenach o specyficznych warunkach uprawy [32].

2. PLAN I METODYKA BADAŃ

Celem pracy było określenie aktywności katalitycznej nowych fotokatalizatorów w procesie głębokiego utleniania kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego ($\text{C}_9\text{H}_9\text{ClO}_3$), czyli modelowego herbicydu MCPA. Badania obejmowały:

1. Przygotowanie fotokatalizatorów.
2. Przygotowanie stanowiska badawczego.
3. Charakterystyka i wybór substancji modelowej oraz warunki prowadzenie badań.
4. Badanie procesu utleniania MCPA.
5. Omówienie wyników badań.

2.1. PRZYGOTOWANIE FOTOKATALIZATORÓW

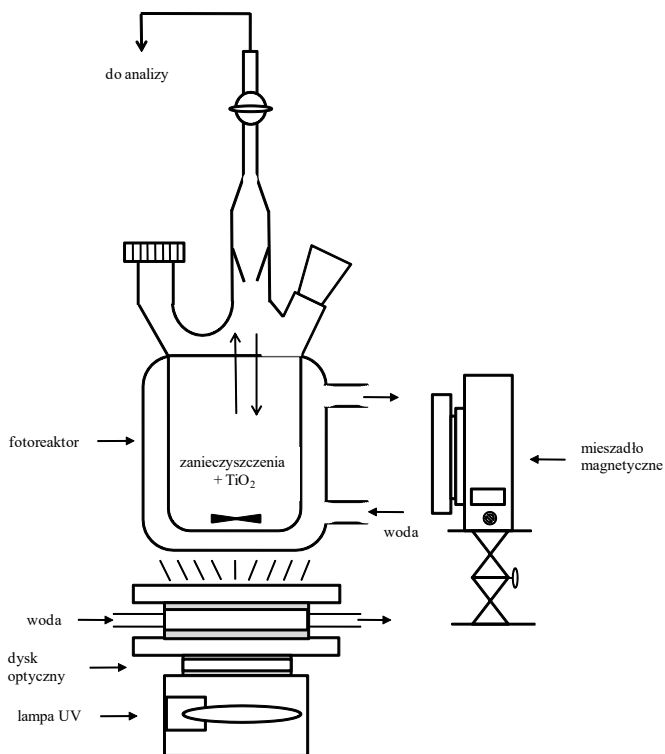
Katalizatory otrzymano na bazie komponentów ditlenku tytanu pozyskanych na różnych etapach produkcji bieli tytanowej w ZCH POLICE. Wytworzono 3 fotokatalizatory oznaczone FK1-FK3 w formie stałej, mogące pracować w zawieszynie z roztworem modelowym i przebadano ich aktywność katalityczną w reakcji utleniania herbicydu MCPA.

1. FK1 – fotokatalizator na bazie zmielonego klinkieru rutyłowego RD-5.
2. FK2 – fotokatalizator otrzymany z roztworu siarczanu tytanu TYS.
3. FK3 – fotokatalizator otrzymany z zawiesiny zarodków rutyłowych.

2.2. PRZYGOTOWANIE STANOWISKA BADAWCZEGO

Zbadanie kinetyki procesu rozkładu pestycydu jest działaniem podstawowym, pozwalającym uzyskać informacje na temat przebiegu procesu i określić możliwości jego wdrożenia, chociaż nieopowalającym na zmianę skali.

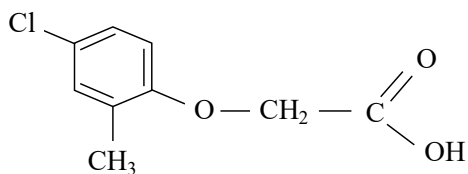
Proces fotokatalitycznego rozkładu modelowego roztworu pestycydu prowadzono w sposób ciągły w reaktorze laboratoryjnym – rysunek 4. W górnej części fotoreaktor zaopatrzony został w króciec do pobierania próbki do analizy. W kolbie wykonanej z materiału żaroodpornego z płaskim dnem zainstalowano filtr optyczny wykonany z kwarcu pozwalający na przenikanie promieni UV o długości ≥ 220 nm. Fotoreaktor wyposażono w mieszadło magnetyczne pozwalające na mieszanie mieszaniny reakcyjnej będącej zawiesziną roztworu modelowego pestycydu i fotokatalizatora. Światło UV wytwarzano przez lampy ksenonowe umieszczone w osłonie wody chłodzącej, zamkniętej przez optyczny krążek kwarcowy wykorzystywany do zapobiegania tworzenia się ozonu w warunkach laboratoryjnych. Promieniowanie IR (światło podczerwone), które mogłoby ogrzewać mieszaninę reakcyjną, rozpraszało za pomocą baterii wodnej wyposażonej w krążek optyczny dla pożądanego zakresu długości fal. Do stabilizacji temperatury medium reakcyjnego reaktor wyposażono w płaszcz wodny przez który przepływał płyn o stałej temperaturze.



Rysunek 4. Schemat reaktora laboratoryjnego do badania procesu utleniania pestycydu

2.3. CHARAKTERYSTYKA I WYBÓR SUBSTANCJI MODELOWEJ I WARUNKI PROWADZENIE BADAŃ

Po analizie właściwości fizyko – chemicznych oraz poziomu dopuszczalnych stężeń zdecydowano przebadac proces rozkładu herbicydu MCPA (ORGANIKA – SARZYNA), który jest związkiem trudnym do utlenienia ze względu na budowę strukturalną i specyfikę działania – przenikania do roślin przez liście i częściowo przez systemy korzeniowe. Wzór sumaryczny: $C_9H_9ClO_3$, grupa chemiczna: pochodne fenoksy kwasów, najwyższa dopuszczalna pozostałość MCPA $0,1 \text{ mg/m}^3$, nazwa chemiczna kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy, wzór strukturalny:



Klasyfikacja toksykologiczna: preparat posiada właściwości drażniące, wywołujące długotrwałe podrażnienie skóry. Preparat jest bardzo toksyczny dla organizmów wodnych, pszczół, flory i fauny naziemnej oraz organizmów glebowych. Powoduje długotrwałe, ale odwracalne zmiany w środowisku. Pobrane przez rośliny herbicydy podlegają w ich komórkach modyfikacjom strukturalnym i chemicznym. Przemiany te zachodzą zarówno u gatunków tolerancyjnych, jak i wrażliwych na daną substancję. U gatunków odpornych procesy zachodzą bardzo szybko, nie ma możliwości akumulowania herbicydu w roślinie i jego ingerowania w procesy metaboliczne. U gatunków wrażliwych procesy zachodzą bardzo wolno, a sam herbicyd transformowany jest w małej ilości.

Metabolizm pochodnych kwasów fenoksykarboksylowych jest różny w zależności od gatunku roślin. Najpopularniejsza jest reakcja hydroksylacji pierścienia w pozycji 4, co wiąże się z utratą atomu chloru na tej pozycji lub jego zamianą na pozycję 3 lub 5 w pierścieniu benzenowym. Inny mechanizm metabolizmu prowadzi przez rozpad łańcucha bocznego związku. Kolejnym jest wydłużanie łańcucha bocznego związku.

Jeśli chodzi o zdolność przemieszczania się herbicydu MCPA w glebie to należy on do herbicydów mobilnych ($K_{oc} < 500$ ml/g). Odnacza się krótkim zaleganiem w glebie (DT < 30 dni). Średnie jest ryzyko przemieszczania tych preparatów do głębszych warstw gleby.

Adsorpcja herbicydów zależy od pH gleby: jeśli gleba ma odczyn kwaśny, to herbicydy występujące w formie anionowej są w niewielkim stopniu adsorbowane. Większość herbicydów uzyskuje ładunek dodatni i jest silnie przyciągana (adsorbowana) przez ujemnie naładowane cząstki gleby.

Proces głębokiego utleniania MCPA prowadzono przy następujących warunkach:

Początkowe stężenie (obciążenie) MCPA w roztworze: 1,5; 1,0 i 0,5 mg/m³

Typ reaktora: ciągły z mieszaniem magnetycznym

Długości cykli: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 h

Temperatura: 22°C

pH roztworu: 6

Ilość katalizatora: 1,5 g/dm³

Pomiar stężenia MCPA: analizator OWO

Faza aktywna: zawiesina katalizatora w roztworze modelowym

Zmiany stężenia MCPA w roztworze określano na podstawie analizy zawartości ogólnego węgla organicznego (OWO) oraz chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT) – analiza wspomagająca. Pomiaru zawartości ogólnego węgla organicznego dokonywano dedykowanym analizatorem (OWO), natomiast ChZT oznaczano fotometrem. Skład roztworu po fotokatalitycznym utlenieniu MCPA określono metodą GC MS.

W oparciu o wyniki oznaczeń początkowej i końcowej zawartości MCPA w roztworze modelowym określono aktywność katalityczną badanych katalizatorów, jako stopień utlenienia składnika z zależności (1):

$$\eta = \frac{i_o - i_r}{i_o} \cdot 100 \quad (1)$$

gdzie:

n – stopień utlenienia (aktywność fotokatalizatorów), %

i_o – początkowa zawartość MCPA w roztworze, mg/m³

i_r – końcowa zawartość MCPA w roztworze, mg/m³

Wynik badań zamieszczono w tabelach 1-4.

Tabela 1. Zależność zawartości MCPA od stężenia początkowego i czasu pracy FK1

Stężenie początkowe MCPA, mg/m ³	Czas, h				
	Końcowa zawartość MCPA, mg/m ³				
	0,5	1	1,5	2	2,5
1,5	0,651	0,581	0,511	0,513	0,514
1,0	0,420	0,375	0,332	0,331	0,330
0,5	0,211	0,182	0,162	0,163	0,164

Tabela 2. Zależność zawartości MCPA od stężenia początkowego i czasu pracy FK2

Stężenie początkowe MCPA, mg/m ³	Czas, h				
	Końcowa zawartość MCPA, mg/m ³				
	0,5	1	1,5	2	2,5
1,5	0,0546	0,0248	0,0247	0,0248	0,0247
1,0	0,0342	0,0175	0,0174	0,0174	0,0175
0,5	0,0161	0,0079	0,0078	0,0077	0,0078

Tabela 3. Zależność zawartości MCPA od czasu pracy i ilości katalizatora FK3 w reaktorze

Stężenie początkowe MCPA, mg/m ³	Czas, h				
	Końcowa zawartość MCPA, mg/m ³				
	0,5	1	1,5	2	2,5
1,5	0,0555	0,0258	0,0257	0,0258	0,0258
1,0	0,0355	0,0182	0,0181	0,0182	0,0181
0,5	0,0167	0,0083	0,0083	0,0084	0,0083

Tabela 4. Zależność stopnia utlenienia MCPA od czasu i obciążenia reaktora

Stężenie MCPA, mg/m ³	Stopień utlenienia η , %				
Czas, h	0,5	1	1,5	2	2,5
Katalizator	FK1				
1,5	56,7	61,3	65,9	65,8	65,7
1,0	58,0	62,5	66,8	66,9	67,0
0,5	57,8	63,6	67,6	67,4	67,2
Katalizator	FK2				
1,5	96,4	98,3	98,4	98,3	98,4
1,0	96,6	98,3	98,3	98,3	98,3
0,5	96,8	98,4	98,4	98,5	98,4

Stężenie MCPA, mg/m ³		Stopień utlenienia η , %			
Katalizator			FK3		
1,5	96,5	98,3	98,3	98,3	98,3
1,0	96,5	98,2	98,2	98,2	98,2
0,5	96,7	98,3	98,3	98,3	98,3

3. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Celem badań było zbadanie aktywności katalitycznej nowych fotokatalizatorów w procesie głębokiego utleniania kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego ($C_9H_9ClO_3$), będącego składnikiem aktywnym wielu środków stosowanych w ochronie roślin oraz określenie możliwości ich zastosowania do poprawy stanu środowiska i zwiększenia bezpieczeństwa żywności.

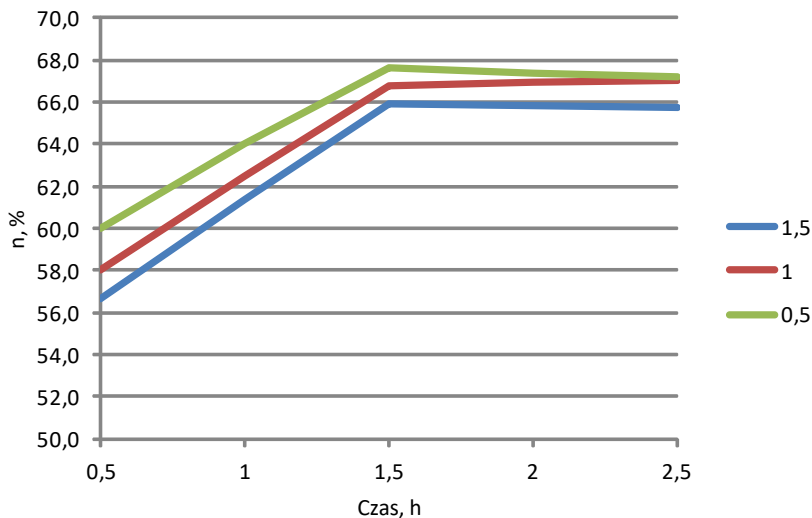
Do badań przygotowano 3 fotokatalizatory na bazie komponentów TiO_2 , pozyskanych na różnych etapach produkcji bieli tytanowej w ZCH POLICE, wg metody opracowanej w Zakładzie Ekologii i Ochrony Środowiska IOR-PIB. Fotokatalizator FK1 został wytworzony na bazie zmielonego klinkieru rutyłowego RD-5 (katalizator odniesienia), fotokatalizator FK2 otrzymano z roztworu siarczynu tytanu TYS, natomiast fotokatalizator FK3 otrzymano z zawiesiny zarodków rutyłowych. Roztwory wyjściowe TYS i zawiesiny zarodników rutyłowych różniły się zawartością TiO_2 . Ten ostatni zawierał o około 30% więcej TiO_2 . Żaden katalizator nie był dodatkowo implantowany innymi strukturami poprawiającymi ich aktywność katalityczną.

Badania aktywności fotokatalitycznej katalizatorów przeprowadzono na herbicydzie MCPA (kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy). Powodem wyboru związku utlenianego były właściwości fizyko – chemiczne oraz maksymalne, dopuszczalne stężenie tego związku w środowisku. Badania prowadzono w reaktorze pracującym w sposób ciągły, przy obciążeniu początkowym wynoszącym: 1,5; 1,0 i 0,5 mg/m³ i różnym czasie wynoszącym: 0,5; 1,0; 1,5; 2 i 2,5 godziny. Przez cały czas pracy reaktor naświetlany był światłem UV o długości fali od 220 nm. Po zakończeniu poszczególnych cykli czasowych pobierano próbkę roztworu do analizy. Zmiany stężenia MCPA określono na podstawie analiz OWO i ChZT, natomiast badanie składu roztworów po fotokatalitycznym utlenieniu MCPA wykonano metodą GC MS.

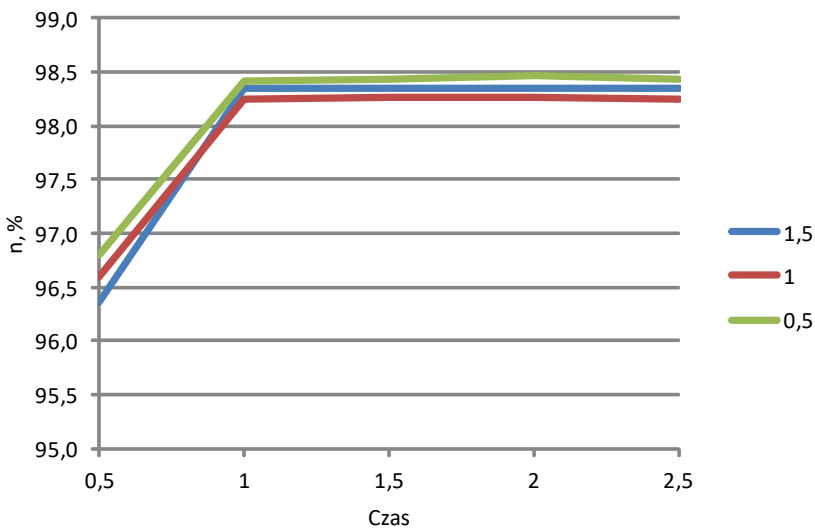
Badania wykazały wpływ czasu na proces utleniania oraz – w mniejszym stopniu – wpływ początkowego stężenia kwasu 4-chloro-2-

metylofenoksyoctowego, zróżnicowane w zależności od typu badanego katalizatora – tabela 1-4. W przypadku użycia katalizatora odniesienia FK1 zawartość kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego w roztworze po 0,5 godzinie pracy reaktora spadła z $1,5 \text{ mg/m}^3$ do $0,651 \text{ mg/dm}^3$, po 1,0 godzinie spadła do $0,581 \text{ mg/m}^3$, po 1,5 godzinie spadła do $0,511 \text{ mg/m}^3$, natomiast po 2,0 i 2,5 godzinach pracy reaktora spadła do około $0,513 \text{ mg/m}^3$. W badanym zakresie stężeń stopień utlenienia MCPA na tym katalizatorze wzrastał ze wzrostem czasu i od około 56,7% po 0,5 godzinie do około 65,8% po 2,5 godzinach – rysunek 5. Średni stopień utlenienia w badanym zakresie czasowym wynosił 63,1%, natomiast optymalny czas procesu wynosił 1,5 godziny. Dalszy wzrost czasu utleniania nie powodował istotnego wzrostu stopnia utlenienia badanej substancji. Przy niższym obciążeniu początkowym reaktora wynoszącym $1,0 \text{ mg/m}^3$ zawartość MCPA w roztworze po 0,5 godzinie pracy reaktora spadła do $0,420 \text{ mg/m}^3$, po 1,0 godzinie wynosiła $0,375 \text{ mg/m}^3$, po 1,5 godzinie wynosiła $0,332 \text{ mg/m}^3$, natomiast po 2 i 2,5 godzinach spadła do około $0,330 \text{ mg/m}^3$. Przy obciążeniu reaktora wynoszącym $1,0 \text{ mg/m}^3$ stopień utlenienia wzrastał ze wzrostem czasu trwania procesu od 58,0% do 67,0% po 2,5 godzinach – rysunek 5. Średni stopień utlenienia wynosił 64,2%, a optymalny czas procesu wynosił 1,5 godziny. Przy najniższym badanym obciążeniu wynoszącym $0,5 \text{ mg/m}^3$ zawartość MCPA w roztworze po 0,5 godzinie wynosiła $0,211 \text{ mg/m}^3$, po 1,0 godzinie spadła do $0,182 \text{ mg/m}^3$, po 1,5 godzinie spadła do $0,162 \text{ mg/m}^3$, natomiast po 2 i 2,5 godzinach wynosiła $0,163 \text{ mg/m}^3$. Stopień utlenienia zależał od czasu i wahał się od 57,8% po 0,5 godzinie do 67,2% po 2,5 godzinach – rysunek 5. Średni stopień utlenienia wynosił 64,7%, a optymalny czas procesu wynosił 1,5 godziny. W badanym zakresie obciążeń i czasu pracy reaktora zastosowanie katalizatora FK1 nie pozwoliło obniżyć zawartości MCPA do poziomu poniżej $0,1 \text{ mg/m}^3$.

Badania nowych fotokatalizatorów (FK2 i FK3) wykazały ich wyższą aktywność w procesie utleniania MCPA w stosunku do aktywności katalizatora FK1. W przypadku zastosowania katalizatora FK2 zawartość MCPA w roztworze po 0,5 godzinie pracy reaktora spadła z $1,5 \text{ mg/m}^3$ do $0,0546 \text{ mg/m}^3$, po 1 godzinie wynosiła $0,0248 \text{ mg/m}^3$. Dalszy wzrost czasu pracy reaktora nie powodował spadku zawartości substancji utlenianej poniżej $0,0247 \text{ mg/m}^3$. Stopień utlenienia zależał od czasu i wynosił 96,4% po 0,5 godzinie i wzrósł do 98,4% po 2,5 godzinach – rysunek 6. Średni stopień utlenienia wynosił 98,0%, a optymalny czas procesu utleniania wynosił 1 godzinę. Przy obciążeniu wynoszącym $1,0 \text{ mg/m}^3$ zawartość utlenianego MCPA w roztworze po 0,5 godzinie wynosiła $0,0342 \text{ mg/m}^3$, po 1 godzinie wynosiła $0,0175 \text{ mg/m}^3$, natomiast po 2,5 godzinach wynosiła $0,0175 \text{ mg/m}^3$. Stopień utlenienia



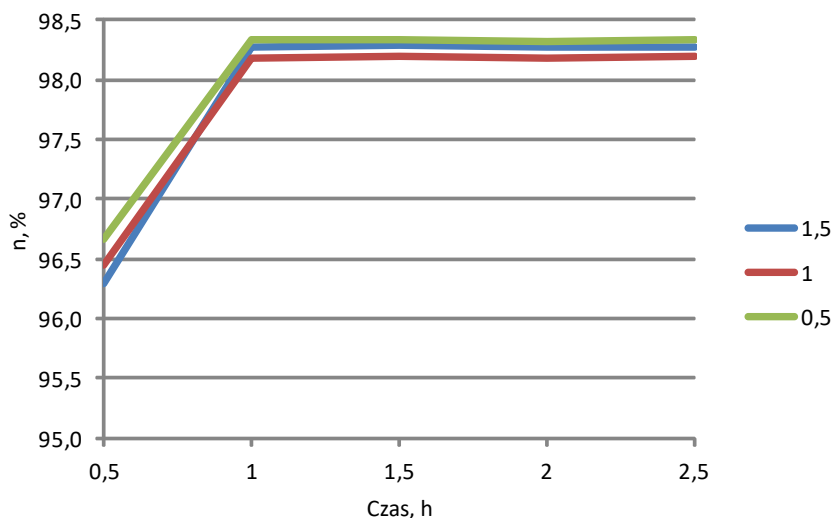
Rysunek 5. Zależność aktywności katalizatora FK1 od czasu przy różnych obciążeniach początkowych reaktora



Rysunek 6. Zależność aktywności katalizatora FK2 od czasu przy różnych obciążeniach początkowych reaktora

zależał od czasu i wynosił 96,6% do 98,3% po 2,5 godzinach pracy reaktora. Średni stopień utlenienia wynosił 97,9%, a optymalny czas utleniania wynosił 1 godzinę. Przy najniższym obciążeniu wynoszącym $0,5 \text{ mg/m}^3$ zawartość utlenianego składnika w roztworze po 0,5 godzinie pracy reaktora wynosiła $0,0161 \text{ mg/m}^3$, po 1 godzinie wynosiła $0,0079 \text{ mg/m}^3$, natomiast po 2,5 godzinie wynosiła $0,0075 \text{ mg/m}^3$. Stopień utlenienia wahał się od 96,8% po 0,5 godzinie do 98,4% po 2,5 godzinach. Średni stopień utlenienia wynosił 98,1%, a optymalny czas utleniania wynosił 1 godzinę. W badanym zakresie obciążeń i czasu pracy reaktora zastosowanie katalizatora FK2 pozwoliło obniżyć zawartości MCPA do bezpiecznego poziomu poniżej $0,1 \text{ mg/m}^3$.

W przypadku zastosowania katalizatora FK3 zawartość MCPA w roztworze po 0,5 godzinie pracy reaktora spadła z $1,5 \text{ mg/m}^3$ do $0,0555 \text{ mg/m}^3$, po 1 godzinie wynosiła $0,0258 \text{ mg/m}^3$. Taką samą zawartość utlenianej substancji oznaczono po 2,5 godzinach utleniania. Stopień utlenienia zależał od czasu i wynosił 96,5% po 0,5 godzinie i wzrastał do 98,3% po 2,5 godzinach – rysunek 7. Średni stopień utlenienia wynosił 97,9%, a optymalny czas procesu wynosił 1 godzinę. Przy obciążeniu początkowym wynoszącym $1,0 \text{ mg/m}^3$ zawartość utlenianego składnika wynosiła $0,0355 \text{ mg/m}^3$ po 0,5 godzinie, natomiast po 1 godzinie wynosiła $0,0182 \text{ mg/m}^3$. Dalszy wzrost czasu nie skutkowało spadkiem zawartości substancji utlenianej, która po 2,5 godzinach wynosiła $0,0181 \text{ mg/m}^3$. Stopień utlenienia zależał od czasu i wynosił 96,5% po 0,5 godzinie i wzrastał do 98,2% po 2,5 godzinach. Średni stopień utlenienia wynosił 97,8%, a optymalny czas procesu wynosił 1 godzinę. Przy zawartości początkowej MCPA wynoszącej $0,5 \text{ mg/m}^3$, po 0,5 godzinie zawartość MCPA spadła do $0,0167 \text{ mg/m}^3$, po 1 godzinie wynosiła $0,0083 \text{ mg/m}^3$. Dalszy wzrost czasu utleniania nie powodował wyraźnego, dalszego spadku zawartości MCPA w roztworze. Stopień utlenienia wynosił 96,7% po 0,5 godzinie i wzrastał do 98,3% po 2,5 godzinach. Średni stopień utlenienia wynosił 98,0%, a optymalny czas procesu wynosił 1 godzinę. W badanym zakresie obciążeń i czasu pracy reaktora zastosowanie katalizatora FK3 pozwoliło obniżyć zawartości MCPA do bezpiecznego poziomu poniżej $0,1 \text{ mg/m}^3$.



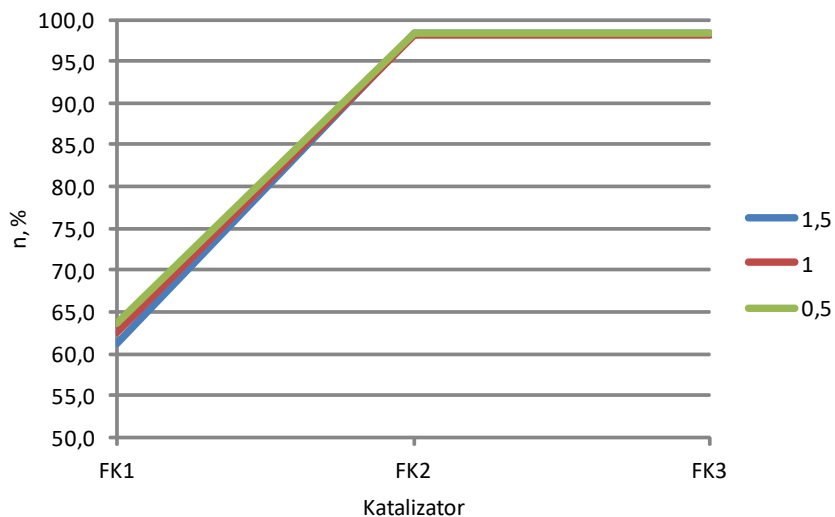
Rysunek 7. Zależność aktywności katalizatora FK3 od czasu przy różnych obciążeniach początkowych reaktora

Badania wykazały, że najmniejszą aktywność w procesie utleniania herbicydu MCPA posiadał katalizator FK1, natomiast zdecydowanie wyższą aktywnością katalityczną charakteryzowały się katalizatory FK2 i FK3, wytworzone według specjalnej metody opracowanej w Zakładzie EOS IOR-PIB – rysunek 8. Katalizatory te charakteryzowały się bardzo wysoką aktywnością, porównywalną z katalizatorami o zmodyfikowanej strukturze.

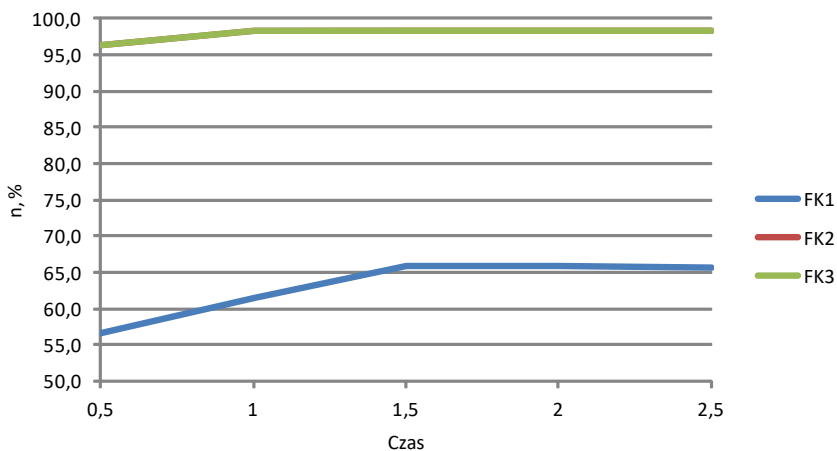
Analiza wyników badań wskazuje, że wydajność badanych fotokatalizatorów FK1-FK3 zależała od czasu – rysunek 9. W przypadku katalizatora FK1 maksymalną wydajność procesu uzyskano po 1,5 godziny trwania procesu, natomiast dla pozostałych katalizatorów maksymalną wydajność osiągnięto już po 1 godzinie pracy reaktora.

Aktywność katalityczna katalizatora FK1 zależała także od obciążenia, ze spadkiem którego wzrastał stopień utlenienia MCPA – rysunek 10. W przypadku katalizatorów FK2 i FK3 zależność od obciążenia w badanym zakresie była nieznacząca.

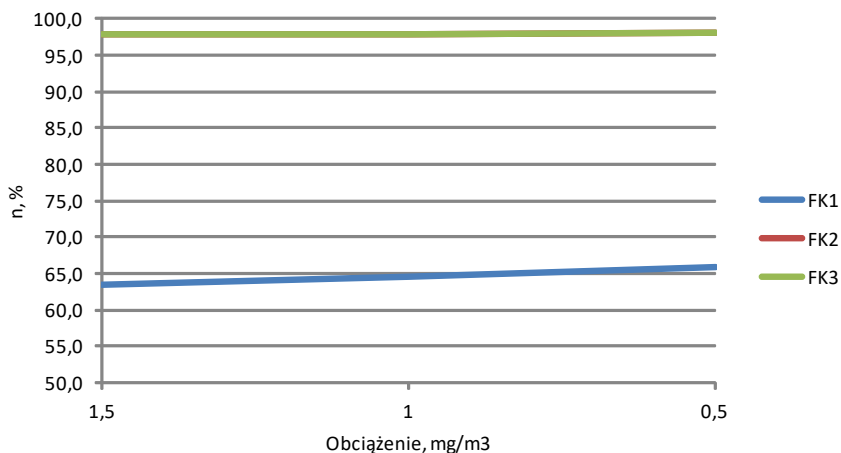
BADANIE PROCESU UTLENIANIA MCPA NA KATALIZATORZE TiO_2



Rysunek 8. Aktywność katalizatorów przy różnych obciążeniach początkowych reaktora



Rysunek 9. Zależność aktywności badanych katalizatorów od czasu pracy przy obciążeniu $1,5 \text{ mg/m}^3$



Rysunek 10. Zależność aktywności katalitycznej badanych katalizatorów od obciążenia

Uzyskane wyniki potwierdzają bardzo wysoką aktywność katalizatorów FK2 i FK3 w procesie utleniania/rozkładu kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA – $C_9H_9ClO_3$). Potwierdzony został także fotokatalityczny mechanizm działania katalizatorów. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość szerokiego i efektywnego stosowania tych fotokatalizatorów w rolnictwie. Jednak ich aplikacja wymaga dalszych badań, pozwalających na opracowanie instrukcji ich stosowania w rolnictwie zrównoważonym oraz instrukcji wykonywania zabiegów agrotechnicznych pozwalających na skuteczne ich stosowanie.

Zastosowanie fotokatalizatorów do rozkładu pestycydów może wpłynąć znacząco na poprawę stanu środowiska rolniczego, wzrost bezpieczeństwa żywności i przyczynić się do bezpiecznego przywracania obszarów o specyficznych warunkach uprawy do bezpiecznego rolniczego użytkowania [34,35].

4. WNIOSKI KOŃCOWE

1. Katalizatory TiO_2 otrzymane według metody IOR-PIB (FK2 i FK3) charakteryzowały się bardzo wysoką aktywnością w procesie utleniania/rozkładu kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA), umożliwiającą praktycznie całkowity rozkład MCPA w badanym zakresie stężeń i czasu trwania procesu.

2. Ich aktywność zależała od czasu i w mniejszym stopniu od obciążenia początkowego w badanych zakresach.
3. W badanym zakresie stężeń maksymalny czas rozkładu MCPA na katalizatorach FKS2 i FKS3 wynosił 1 godzinę.
4. Katalizatory te mogą być skutecznie stosowane w rolnictwie do głębokiego utleniania związków aktywnych zawartych w środkach ochrony roślin.

LITERATURA

1. Grzesiak P., Łukaszyk J., Schroeder G., Dąbrowski W. (2016) Zastosowanie fotokatalizy w integrowanej ochronie roślin (137-157). W Środowisko i Przemysł. Tom 6. Schroeder G., Grzesiak P. (Red.), Cursiva, 378 ss., ISBN 978-83-62108-35-0.
2. Grzechowiak J., Wereszczako-Zielińska I., (2000). Kataliza w ochronie środowiska – zastosowanie TiO_2 . Przemysł Chemiczny 79, 263-266.
3. Bak T., Nowotny J., Rekas M., Sorrell C.C. (2003). Defect chemistry and semiconducting properties of titanium dioxide: I. Intrinsic electronic equilibrium. J. Phys. Chem. Solids 64, 1043-1054.
4. Long M., Cai W., Wang Z., Liu G., (2006), Correlation of electronic structures and crystal structures with photocatalytic properties of undoped, N-doped and I-doped TiO_2 . Chem. Phys. Lett. 420, 71-76.
5. Banerjee S., Gopal J., Muraleedharan P., Tyagi A.K., Raj B., (2006), Physics and chemistry of photocatalytic titanium dioxide: Visualization of bactericidal activity using atomic force microscopy. Current Sci. 90, 1378-1383.
6. Carp O., Huisman C.L., Reller A., (2004), Photoinduced reactivity of titanium dioxide. Progress in solid state chemistry 32, 33-177.
7. Di Paola A., García-López E., Ikeda S., Marci G., Ohtani B., Palsimo L. (2002). Photocatalytic degradation of organic compounds in aqueous systems by transition metal doped polycrystalline TiO_2 , Catal. Today 75, 87-93.
8. Di Paola A., Marci G., Palsimo L., Schiavello M., Uosaki K., Ikeda S., Ohtani B., (2002), Preparation of polycrystalline TiO_2 photocatalysts impregnated with various transition metal ions: characterization and photocatalytic activity for the degradation of 4-nitrophenol, J. Phys. Chem. B. 106, 637-645.

9. Su C., Hong B.Y., Tseng C.M. (2004). Sol-gel preparation and photocatalysis of titanium dioxide. *Catal. Today* 96, 119-126.
10. Hoffmann M.R., Martin S.T., Choi W., Bahnemann D.W., (1995), Environmental applications of semiconductor photocatalysis, *Chem. Rev.* 95, 69-96.
11. Anpo M., (2000), Utilization of TiO₂ photocatalysts in green chemistry. *Pure Appl. Chem.* 72, 1787-1792.
12. Legrini O., Oliveros E., Braun E., (1993), Photochemical processes for water treatment. *Chemical Reviews* 93, 671-678.
13. Prousek J., (1996), Advance oxidation process for water treatment. Part I: Chemical process. Part II: Photochemical process. “, *Chem. Listy* 90, 229-237.
14. Zaleska A., Degradacja pestycydów chloroorganicznych w układzie UV/TiO₂. Studium doktoranckie przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 2000.
15. Zaawansowane techniki utlenienia w Ochronie Środowiska, Polska Akademia Nauk, Oddział w Łodzi, Komisja Ochrony Środowiska, Zarzycki R (Red.), Łódź 2002.
16. Bouquet-Somrani C, Finiels P., Graffin P., Olive J.L., (1996), Photocatalytic degradation of hydroxyiated biphenyl compounds. *Applied Catalysis B: Environmentai* 8, 101-106.
17. Chen F., Xie Y., Zhao J., Lu G., (2001), Photocatalytic degradation of dyes on a magnetically separable photocatalyst under visible and UV irradiation. *Chemosphere* 44, 1159-1168.
18. Kinkennon A.E., Green D.B., Hutchinson B., (1995), The use of simulated or concentrated natural radiation for the TiO₂-mediated photodecomposition of Basagran, Diquat and Diuron. *Chemosphere* 31, 3663 – 3671.
19. Dominguez C., Garcia J., Pedraz M.A., Torres A., Galan M.A., (1998), Photocatalytic oxidation of organic pollutants in water”. *Catalysis Today*, 40, 85 – 101.
20. Chiarenzelli J.R., Scudato R.J., Rafferty D.E., Wunderlich M.L., Roberts R.N., Pagano J.J., Yates M., (1995), Photocatalytic degradation of simulated pesticides reinstates in water and water + soil matrices, *Chemosphere* 30 (1), 173 – 185.

21. Turner J.C.R. (1981). An introduction to the theory of catalytic reactors. *Catalysis Science and Technology*, vol. 1. Springer-Verlag, Berlin, 43-86.
22. Pelizzetti E., Minero C. (1994). Metal Oxides as Photocatalyst for Environmental Detoxification. *Comments Inorg. Chem.*, 15, 297-337.
23. Linsalbigier A.L., Lu G., Yates J., (1995), Photocatalysis on TiO₂ surfaces: principles, mechanisms and selected results. *Chemical Reviews*, 95, 735-748.
24. Yuan Z., Jia J., Hang L., (2002), Influence of codoping of Zn(II) + Fe(III) on the photocatalytic activity of TiO₂ for phenol degradation. *Materiale Chemistry and Physic* , 73, 323-326.
25. Li Y., Li X., Li J., Yin J., (2005), Photocatalytic degradation of methyl orange in sparged tube reactor with TiO₂-coated activated karbon composites. *Catalysis Communications*, 6, 650-655.
26. Gupta A.K., Pal A., Sahoo C., (2006), Photocatalytic degradation of a mixture of Crystal Violet (Basic Violet 3) and Methyl Red dye in aqueous suspension using Ag⁺ doped TiO₂. *Dyes and Pigments*, 69, 224 – 232.
27. Kim K.D., Han D.N., Lee J.B., (2006), Kim T.K. Formation and characterization of Ag-deposited TiO₂ nanoparticles by chemicals reduction metod. *Scripta Materialia*, 54, 143 – 146.
28. Chen J., Ollis D.F., Rulkens W.H., Bruning H., (1999), Photocatalyzed oxidation of alcohols and organochlorides in the presence of native TiO₂ and metallized TiO₂ suspension. Part (I): Photocatalytic activity and pH influence. *Water Research*, 33, 3, 661-675.
29. Litter M., I., (1999), Heterogeneous photocatalysis. Transition metal ions in photocatalytic system. *Applied Catalysis B: Enviromental*, 23, 89-98.
30. Paszyc S., *Podstawy fotochemii*. PWN, Warszawa, 1983.
31. Grzesiak P., Łukaszyk J., Hłyń T., Ratajczak H., (2015)., Badanie możliwości zastosowania nanotechnologii i fotokatalizy w rolnictwie zrównoważonym z uwzględnieniem ochrony roślin. EOS IOR-PIB nr 226.
32. Grzesiak P., Łukaszyk J., Schroeder G., Dąbrowski W., (2016), Zastosowanie fotokatalizy w integrowanej ochronie roślin (137-157). W *Środowisko i Przemysł*. Tom 6. Schroeder G., Grzesiak P. (Red.), *Cursiva*, 378 ss., ISBN 978-83-62108-35-0.

33. Grzesiak P., Rosada J., (2013), Modern technological processes, and the possibility of integrated agricultural production in industrialized areas. (39-58). Reclamation and revitalization of demoted areas. (Red. Malina G.) ss. 268, Poznań, ISBN 978-83-89696-78-9.
34. Grzesiak P., Hłyń T., (2014), Utylizacja odpadów przemysłowych a stan środowiska. W Środowisko i Przemysł. Tom 4. Schroeder G., Grzesiak P. (Red.), *Cursiva* 272 ss., ISBN 978-83-62108-28-2.
35. Grzesiak P., Łukaszyk J., (2013), Nowe technologie w rolnictwie. (58-72). W Środowisko i przemysł. Tom 4. Schroeder G. Grzesiak P. (Red.) *Cursiva*, 272 ss., ISBN 978-83-62108-28-2.

Rozdział 9

ZASTOSOWANIE TECHNIK MEMBRANOWYCH DO SEPARACJI JONÓW WANADU Z ROZTWORU PO ŁUGOWANIU ZUŻYTEGO KATALIZATORA WANADOWEGO

Krzysztof Mazurek¹, Sebastian Drużyński¹, Urszula Kielkowska¹,
Piotr Grzesiak²

¹ Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Chemii, ul. Jurija Gagarina 7, 87-100 Toruń

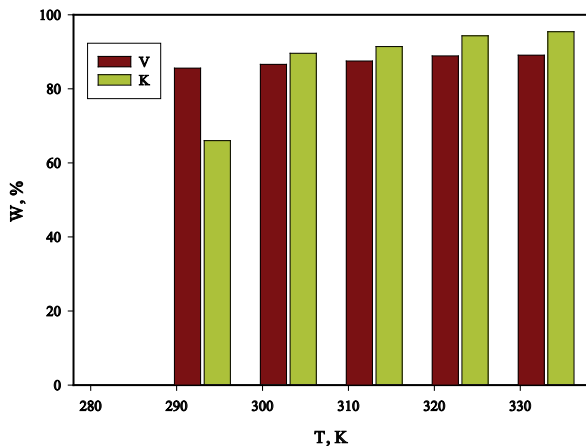
² Instytut Ochrony Roślin – PIB, Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska,
ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań

1. WPROWADZENIE

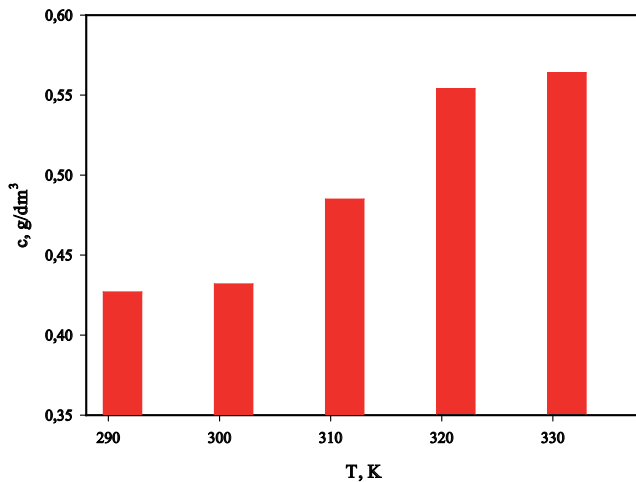
Ługowanie odpadów katalizatora wanadowego roztworami kwasów mineralnych i organicznych pozwala na osiągnięcie wydajności procesu przekraczającej 90% w stosunku do obu składników fazy aktywnej katalizatora [1-6]. Wydajność ta jest zadowalająca z technologicznego punktu widzenia.

Roztwór po ługowaniu katalizatora zawiera w 1 dm³ ok. 4 – 5 g związków wanadu w przeliczeniu na V₂O₅ oraz ok. 7 – 8 g związków potasu w przeliczeniu na K₂O [1-6].

Wymywanie składników zużytego katalizatora w środowisku kwaśnym wiąże się z przechodzeniem do roztworu znaczących ilości zanieczyszczeń – głównie związków żelaza. Poziom stężenia tlenku żelaza(III) w roztworze po ługowaniu roztworem kwasu może wynosić nawet 0,5 g/dm³ i uzależniony jest od warunków procesu, jak i stopnia zanieczyszczenia katalizatora związkami żelaza [1-6].

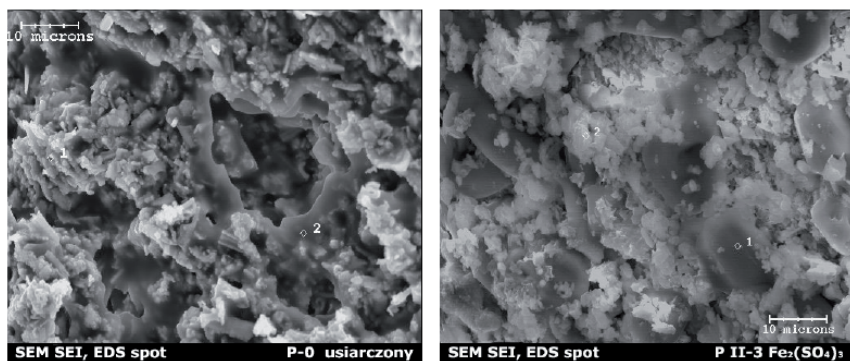


Rysunek 1. Wpływ temperatury na wydajność ekstrakcji składników fazy aktywnej katalizatora za pomocą 4% roztworu kwasu szczawiowego ($t = 1h$, $S:L = 1:10$).



Rysunek 2. Wpływ temperatury na stężenie jonów żelaza w roztworze po ługowaniu odpadowego katalizatora wanadowego za pomocą 4% roztworu kwasu szczawiowego ($t = 1h$, $S:L = 1:10$).

Z punktu widzenia wykorzystania roztworu po ługowaniu do otrzymywania czystych składników fazy aktywnej lub wykorzystania roztworu bezpośrednio do produkcji nowej, świeżej masy katalizatora, tak wysokie stężenie związków żelaza nastęrcza wiele trudności. Przede wszystkim związki żelaza mają tendencję to współstrącenia się ze związkami wanadu, przez co zanieczyszczałyby produkt finalny jakim byłby czysty V_2O_5 . Poza tym obecność związków żelaza w tak dużej ilości w roztworze uniemożliwia wykorzystanie go bezpośrednio do produkcji świeżej masy katalizatora. Wiązałoby się to z wprowadzeniem do masy katalitycznej związków żelaza, a więc związków będących jednym z czynników jego trwałej dezaktywacji [7-9]. Żelazo powoduje pogorszenie właściwości fizycznych katalizatora niezależnie od ilości i formy w jakiej zostało do niego wprowadzone. Powoduje ono również znaczące pogorszenie właściwości katalitycznych. Najczęściej żelazo wprowadzane jest do katalizatorów w formie tlenkowej lub siarczanowej. Badania wykazały, iż tlenek żelaza bardzo trudno przechodzi w formę siarczanową i przemiana ta w warunkach pracy katalizatora ma charakter złożony i czasowy, a jej szybkość jest związana z warunkami i czasem pracy katalizatora. W miarę upływu czasu początkowa zawartość żelaza tlenkowego maleje na skutek tworzenia się $Fe_2(SO_4)_3$. Ten z kolei reaguje z podstawowymi składnikami fazy aktywnej jakim są $K_3V(SO_4)_3$ i $KV(SO_4)_2$ tworząc związki typu $K_3V_{1-x}Fe_x(SO_4)_3$ i $KV_{1-x}Fe_x(SO_4)_2$. Powstające związki są bardzo trwałe chemicznie i zupełnie nieaktywne w niskich temperaturach, a ich stopień nieaktywności wzrasta wraz ze wzrostem udziału molowego żelaza [7-9].



Rysunek 3. Zdjęcia SEM katalizatora wanadowego nie zawierającego żelaza (1) i zawierającego żelazo siarczanowe (2) [8].

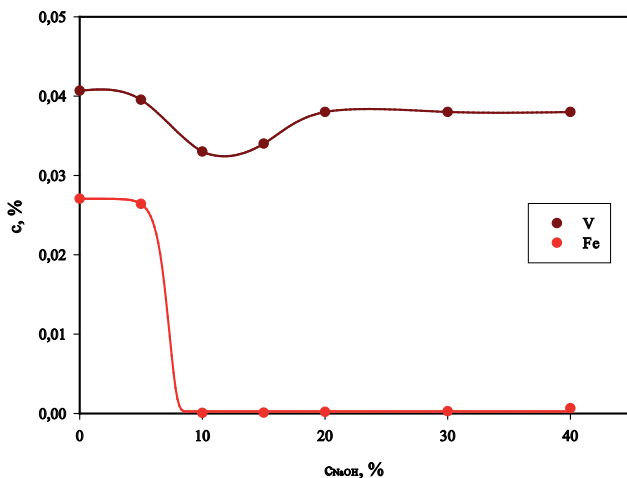
Dlatego konieczne jest opracowanie sposobu separacji związków wanadu od związków żelaza, który ułatwi późniejsze zagospodarowanie roztworu po ługowaniu zużytego katalizatora wanadowego.

Z technologicznego punktu widzenia najbardziej korzystnymi metodami rozdzielenia jonów wanadu i żelaza wydają się być [10-13]:

- selektywna precypitacja,
- wymiana jonowa,
- procesy membranowe.

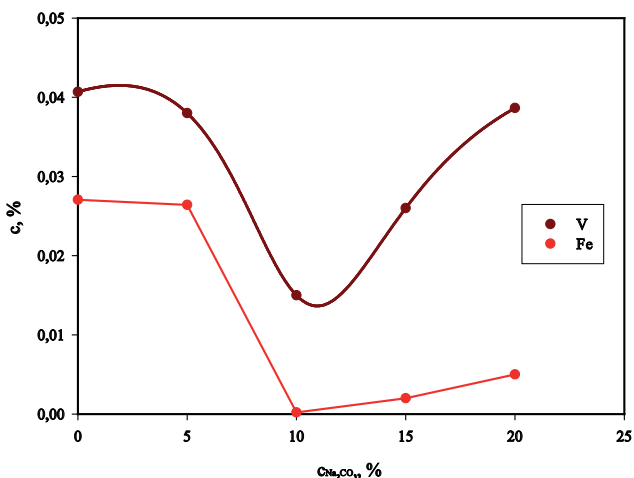
Przeprowadzone przez autorów badania dotyczące opracowania sposobu selektywnej precypitacji żelaza z roztworu po ługowaniu zużytego katalizatora wanadowego wykazały wysoką skuteczność tej metody [10].

Wydajność procesu strącania związków żelaza w postaci trudnorozpuszczalnych wodorotlenków lub węglanów jest na poziomie przekraczającym 95%, przy stratach wanadu rzędu kilku, kilkunastu procent w zależności od warunków prowadzenia procesu.



Rysunek 4. Wpływ stężenia wodorotlenku sodu na zawartość jonów wanadu i żelaza w roztworze.

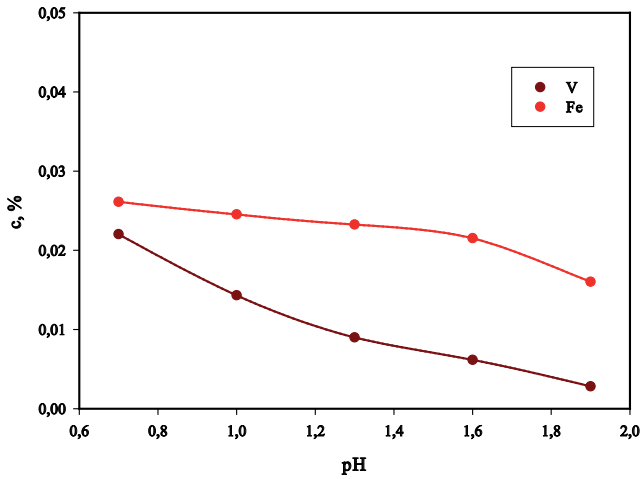
W przypadku stosowania jako czynnika strącającego NaOH optymalnymi parametrami procesu są: $c \geq 15\%$, $T = 30^\circ\text{C}$, $t = 15$ min, $L:L = 1:0,5$. W takich warunkach wydajność precypitacji wynosi ponad 99%, przy stratach wanadu w granicach 10 – 15% i stratach potasu poniżej 5%.



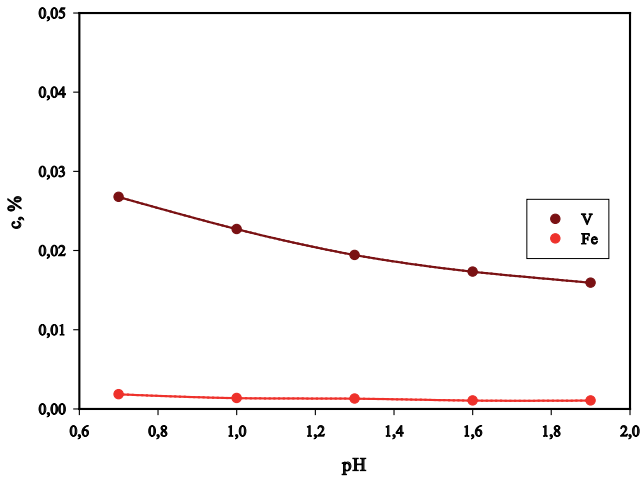
Rysunek 5. Wpływ stężenia węglanu sodu na zawartość jonów wanadu i żelaza w roztworze.

Dla roztworu Na_2CO_3 jako czynnika strącającego optymalne parametry prowadzenia procesu to: $c \geq 15\%$, $t = 6$ h, $T = 50^\circ\text{C}$, $L:L = 1:0,5$. Zastosowanie tych parametrów umożliwia wyodrębnienie z roztworu ponad 97% żelaza, przy stratach wanadu wynoszących poniżej 20% i stratach potasu na poziomie 1%.

Równie korzystne rezultaty autorzy uzyskali w przypadku stosowania metody wymiany jonowej [10-11]. Stosowane w badaniach kationity chelatujące Dowex® M4195 i Purolite® S957 zapewniają również bardzo wysoki stopień wyodrębnienia z roztworu jonów odpowiednio: wanadu (powyżej 85%) i żelaza (powyżej 96%) [10]. Biorąc pod uwagę cel prowadzonych badań korzystniejsze z ekonomicznego i technologicznego punktu widzenia rezultaty uzyskano dla kationitu chelatującego Dowex® M4195, który gwarantuje wyższy poziom rozdzielania jonów badanych pierwiastków. Jednakże dla osiągnięcia korzystnych rezultatów rozdzielania wymaga on zmiany pH roztworu wyjściowego.



Rysunek 6. Wpływ pH roztworu na stopień adsorpcji jonów wanadu i żelaza na kationicie chelatującym Dowex® M4195.



Rysunek 7. Wpływ pH roztworu na stopień adsorpcji jonów wanadu i żelaza na kationicie chelatującym Purolite® S957.

Kationit Purolite® S957, co prawda nie wymaga zmiany pH roztworu, jednakże jest on mniej selektywny i w jego przypadku obserwuje się straty wanadu na poziomie 30%.

Trzecia z rozpatrywanych metod rozdziału jonów wanadu od jonów żelaza, a więc procesy membranowe należą do dużej grupy technik rozdzielania składników mieszanin ciekłych i gazowych [14]. W zależności od właściwości stosowanej membrany mogą one służyć do rozdzielania cząstek o różnych wymiarach i właściwościach. Specjalne typy membran umożliwiają rozdzielanie składników nawet niewiele różniących się wielkością. Procesy z zastosowaniem tzw. membran jonowymiennych umożliwiają rozdzielanie różnych jonów [14].

Zastosowanie technik separacji membranowej dynamicznie wzrasta z uwagi na niewielkie rozmiary i prostotę instalacji oraz niskie koszty eksploatacyjne w porównaniu z klasycznymi technikami [14].

W pracy przedstawiono wyniki badań mających na celu określenie możliwości zastosowania technik membranowych do selektywnego wydzielania wanadu lub żelaza z roztworu po ługowaniu zużytego katalizatora wanadowego z wykorzystaniem metody elektrodializy.

2. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Podczas badań nad separacją składników roztworu uzyskanego po ługowaniu zużytych mas katalitycznych wykorzystano pięciokomorowy elektrodializer własnej konstrukcji wyposażony w elektrody platynowe oraz membrany jonoselektywne (Eurodia Industrie S.A.).

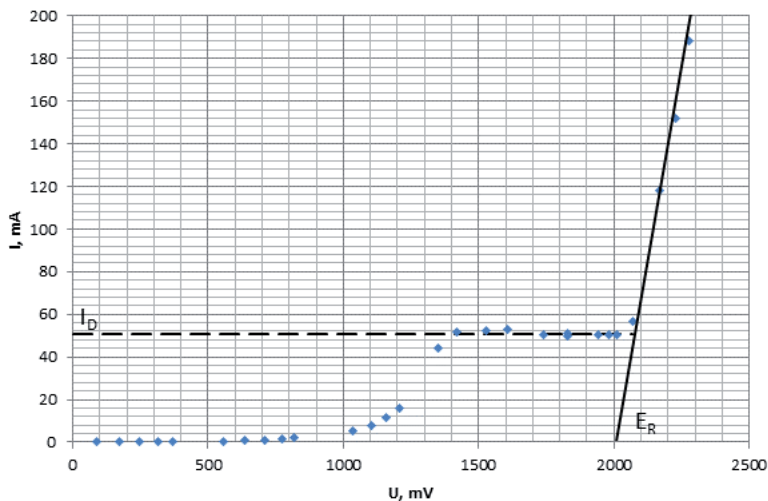
Przed przeprowadzeniem elektrodialitycznej separacji składników ługu ekstrakcyjnego membrany jonoselektywne poddano kondycjonowaniu oraz wyznaczono ich pojemności jonowymiennie i stopień sorpcji wody.

W pierwszym etapie membrany poddano pęcznieniu w wodzie dejonizowanej oraz 0,1% roztworze NaCl w temperaturze 323,15 K przez 5 dób. Po upływie 24 h membrany wyjęto osuszono i pozostawiono przez 2 h w stanie suchym. Po upływie drugiej doby membrany umieszczono na 24 h w 0,1% roztworze NaCl. Po kolejnych 24 h membrany zanurzone w wodzie dejonizowanej, następnie, co 24 h membrany wyjmowano z wody osuszano pozostawiano na dwie godziny w stanie suchym i z powrotem zanurzano w świeżej wodzie dejonizowanej. Po okresie kondycjonowania oznaczono pojemność jonowymienną membran oraz stopień sorpcji wody.

Tabela 1. Charakterystyka stosowanych membran jonoselektywnych.

	AMX	CMX
Pojemność jonowymienna meq/1g (suchej membrany)	2,00 ± 0,03	1,64 ± 0,01
Zawartość wody %	18,02 ± 0,28	27,09 ± 0,59

Warunki prądowe pracy elektrodializera wyznaczono metodą Cowana rejestrując zależność prądowo – napięciową $I = f(U)$ (rysunek 8) dla stałych warunków pracy elektrodializera (skład, stężenie, temperatura, szybkość przepływu elektrolitu). Przeprowadzone badania dla różnych liniowych prędkości przepływu elektrolitu wykazały wyraźny wzrost granicznego prądu dyfuzyjnego wraz ze wzrostem prędkości przepływu elektrolitu.

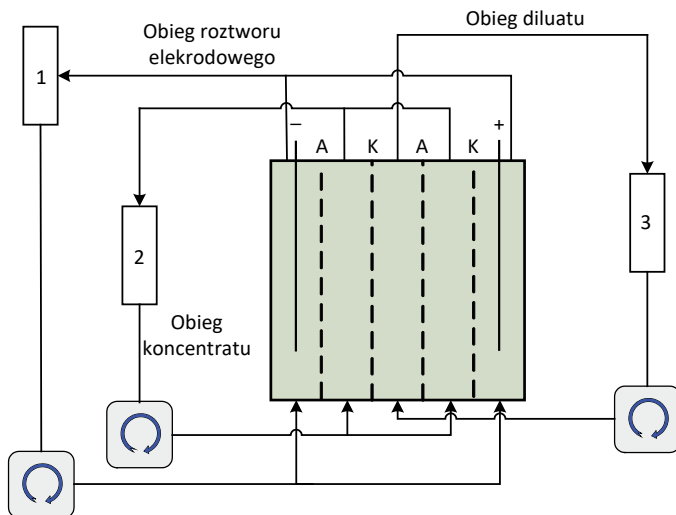


Rysunek 8. Zależność prądowo napięciowa dla elektrodializera (liniowa prędkość przepływu elektrolitu $10 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$): I_D – graniczny prąd dyfuzyjny, E_R – potencjał rozkładowy.

W badaniach zastosowano układ pomiarowy, którego schemat przedstawia rysunek 9. Elektrodializer wyposażono w dwie pary membran kationo i anionowymiennych. Membrany podzieliły przestrzeń elektrodializera na pięć

komór: dwie komory elektrodowe, dwie komory zażęzania i jedną komorę odsalania.

Jako roztwór elektrodowy zastosowano 5% kwas siarkowy(VI), natomiast do komór zażęzania i komory odsalania kierowano ług po ekstrakcji zużytych mas katalizatora wanadowego. Roztwory elektrolitów podczas procesu krążyły w obiegach zamkniętych między komorami elektrodializera a zbiornikami.



Rysunek 9. Schemat stosowanego układu pomiarowego: 1 – zbiornik roztworu elektrodowego; 2 – zbiornik koncentratu; 3 – zbiornik diluatu; A – membrana anionowymienna; K – membrana kationowymienna.

W celu ustalenia strumieni poszczególnych jonów, w trakcie procesu pobierano próbki elektrolitów bezpośrednio ze zbiorników i odpowiednio rozcieńczano. Następnie oznaczano stężenie jonów: żelaza, potasu i wanadu.

Jony wanadu, oznaczono metodą spektrofotometryczną w postaci kompleksu z nadtlenkiem wodoru używając dwuwiązkowego spektrofotometru UV – VIS UVD – 3000 LABOMED.

Stężenie jonów żelaza i potasu oznaczono metodą spektrometrii absorpcji atomowej używając aparatu Savant AA Sigma GBC.

3. ZESTAWIENIE I OMÓWIENIE WYNIKÓW

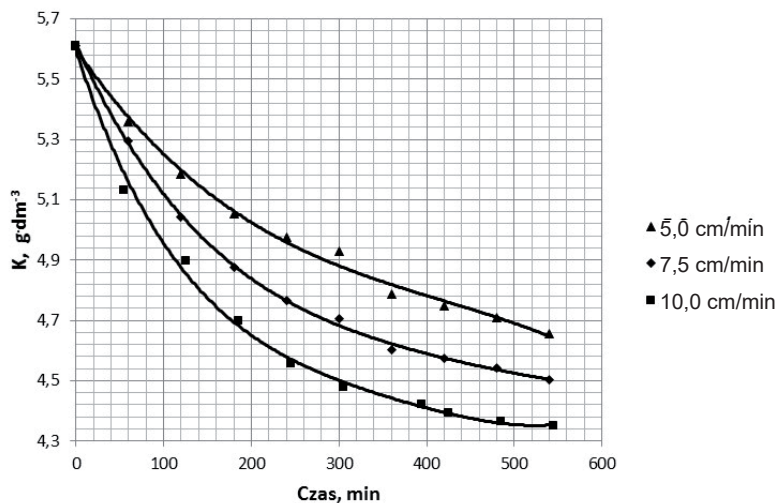
Przeprowadzone badania miały charakter wstępny i miały na celu określenie możliwości zastosowania elektrodializy do zateżenia roztworów po ekstrakcji zużytych katalizatorów wanadowych. Eksperymenty prowadzono w temperaturze 293,15 K dla trzech prędkości przepływu elektrolitu przez komory elektrodializera tj. 5,0; 7,5; 10,0 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$. Dla wszystkich stosowanych warunków określono parametry prądowe pracy elektrodializera, które zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Parametry pracy elektrodializera.

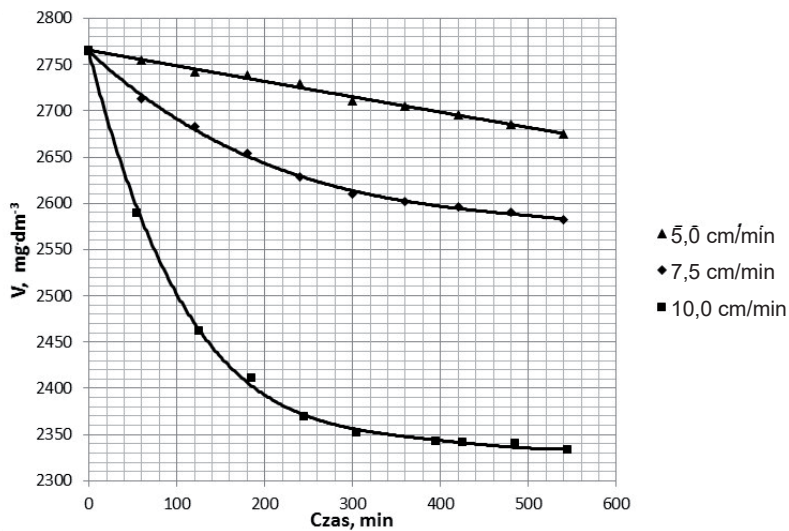
Parametr	5,0 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	7,5 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	10,0 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$
Potencjał rozkładowy, mV	1972	1983	2008
Napięcie zaciskowe, mV	1600	1600	1600
Graniczna gęstość prądu, $\text{A}\cdot\text{m}^{-2}$	0,88	1,57	3,55

Z zamieszczonych w tabeli 2 danych wynika, iż największe strumienie jonów przez membranę, i co z tym związane najwyższy stopień zateżenia roztworów, uzyskać można stosując przepływ 10,0 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$. Zwiększenie prędkości przepływu elektrolitów w komorach powoduje ograniczenie zjawiska polaryzacji stężeniowej, co skutkuje wzrostem granicznej gęstości prądu (I_D) i bardziej intensywny transport jonów przez membrany.

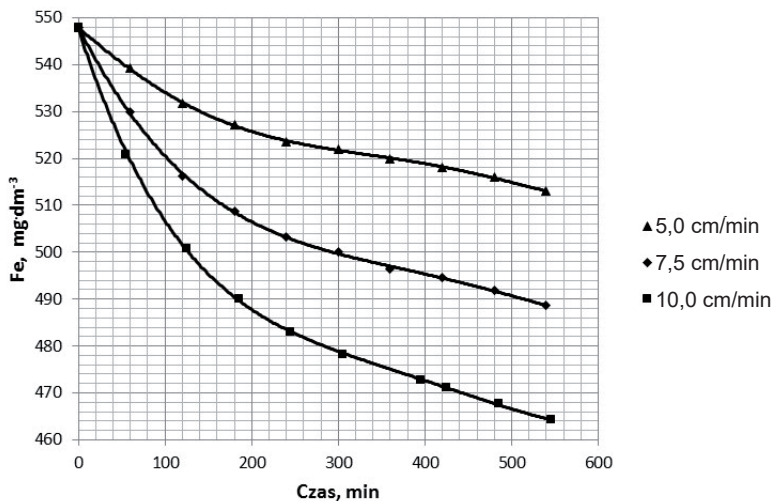
Rysunki 10 – 12 przedstawiają zmiany stężeń poszczególnych kationów w diluacie w czasie prowadzenia elektrodializy. Najbardziej dynamiczny spadek stężeń kationów odbywa się przez pierwsze 3 godziny trwania procesu. W początkowym stadium różnica potencjałów chemicznych poszczególnych kationów w roztworach koncentratu i diluatu jest niewielka, w związku z tym ich transport przez membranę z diluatu do koncentratu odbywa się bez przeszkód.



Rysunek 10. Zmiany stężenia jonów potasu w diluacie w zależności od czasu trwania procesu elektrodializy.



Rysunek 11. Zmiany stężenia jonów wanadu w diluacie w zależności od czasu trwania procesu elektrodializy.



Rysunek 12. Zmiany stężenia jonów żelaza w diluacie w zależności od czasu trwania procesu elektrodializy.

Z czasem różnica potencjałów chemicznych jonów w diluacie i koncentracji wzrasta do poziomu, przy którym pojawia się dyfuzja kationów z roztworu koncentratu do diluatu, która hamuje transport jonów w kierunku przeciwnym.

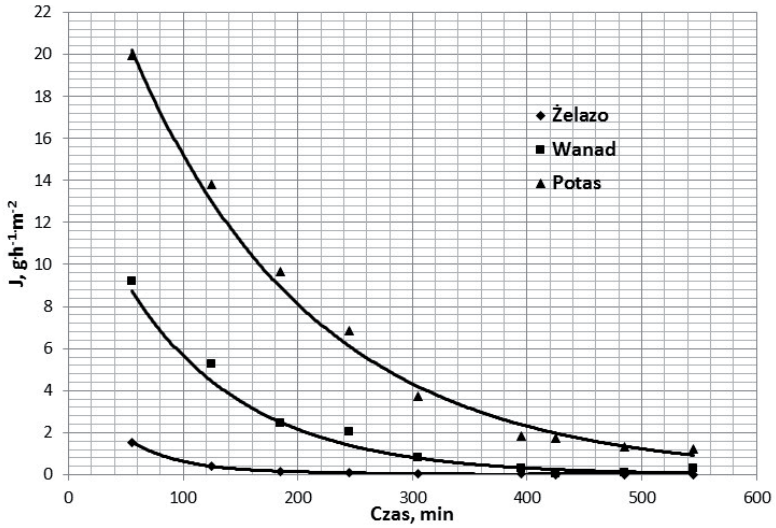
Rysunki 13 – 15 przedstawiają zmiany chwilowych strumieni kationów wanadu, żelaza i potasu w funkcji czasu prowadzenia elektrodializy dla trzech stosowanych w badaniach prędkości przepływu roztworów przez komory elektrodializera. Obserwowane strumienie chwilowe poszczególnych kationów wyraźnie maleją w trakcie trwania procesu, co związane jest ze wzrostem gradientu stężeń składników elektrolitu w komorach zateżnienia i rozcieńczenia.

Dane zawarte w tabeli 3 jak również wartości strumieni chwilowych (rys. 13 – 15) wskazują, że dla niższych prędkości przepływu elektrolitów (5,0 i 7,5 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$) transport kationów żelaza i wanadu jest niewielki. Zastosowanie przepływu 10,0 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$ powoduje wyraźny wzrost granicznej gęstości prądu w wyniku, czego transport tych jonów przez membrany staje się zauważalny. Obliczone strumienie średnie kationów wskazują, iż preferencyjnie transportowane są kationy potasu, następnie wanadu i kationy żelaza. Preferencja w transporcie poszczególnych kationów uwarunkowana jest ruchliwościami jonowymi, które maleją w szeregu: $\text{K}^+ > \text{VO}_2^+/\text{VO}^{2+} > \text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. Biorąc pod

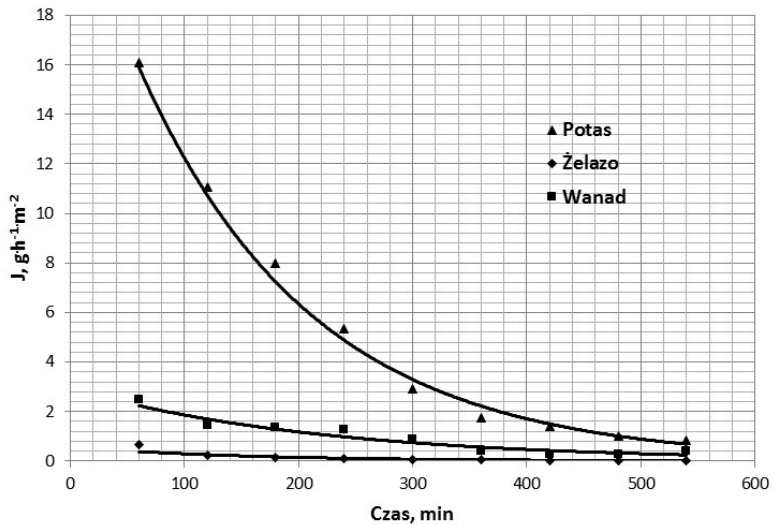
uwagę sumaryczne zmiany stężeń kationów w diluacie można obliczyć stopnie usunięcia poszczególnych kationów z roztworu. Maksymalne wartości stopnia usunięcia poszczególnych jonów z roztworu diluatu uzyskano dla prędkości przepływu $10 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$, dla kationów wanadowych, żelaza i potasu wynoszą one odpowiednio: 15,61, 15,28 i 22,5%.

Tabela 3. Parametry elektrodialitycznego załężania ługu po ekstrakcji zużytego katalizatora wanadowego (komora rozcieńczenia).

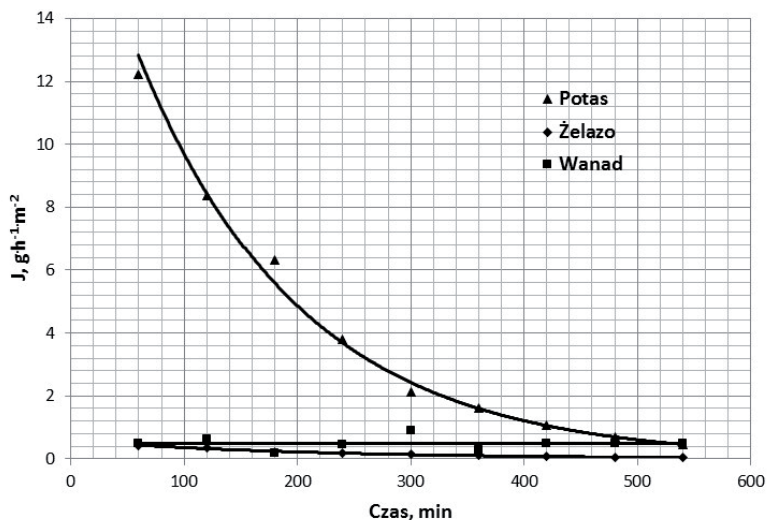
Liniowa prędkość przepływu elektrolitów	Parametr	Fe²⁺/Fe³⁺	VO₂⁺/VO²⁺	K⁺
$10 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$	Skład początkowy, $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	547,9	2765	5613
	Skład końcowy, $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	464,2	2333	4350
	Stopień usunięcia kationów, %	15,28	15,61	22,51
	Strumień średni, $\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$	0,44	2,29	6,69
$7,5 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$	Skład początkowy, $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	547,9	2765	5613
	Skład końcowy, $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	488,6	2582	4503
	Stopień usunięcia kationów, %	10,82	6,63	19,77
	Strumień średni, $\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$	0,32	0,98	5,90
$5,0 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$	Skład początkowy, $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	547,9	2765	5613
	Skład końcowy, $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	513,0	2675	4657
	Stopień usunięcia kationów, %	6,37	3,25	17,03
	Strumień średni, $\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$	0,19	0,48	5,11



Rysunek 13. Strumienie chwilowe składników ługu ekstrakcyjnego przez membranę kationowymienną dla prędkości przepływu 10,0 cm·min⁻¹.



Rysunek 14. Strumienie chwilowe składników ługu ekstrakcyjnego przez membranę kationowymienną dla prędkości przepływu 7,5 cm·min⁻¹.



Rysunek 15. Strumienie chwilowe składników ługu ekstrakcyjnego przez membranę kationowymienną dla prędkości przepływu $5,0 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$.

4. PODSUMOWANIE

Badania elektrodialitycznego załężania ługu po ekstrakcji zużytego katalizatora wanadowego prowadzono dla trzech prędkości przepływu roztworów przez komory elektrodializera. Korzystne warunki prowadzanie procesu uzyskano dla prędkości przepływu $10 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. Uzyskana w tych warunkach graniczna gęstość prądu pozwalała na efektywny transport jonów potasu i wanadu. Transport jonów żelaza dla zastosowanych parametrów elektrodializy jest niewielki, strumień średni jonów żelaza przez membranę, w zależności od prędkości przepływu, zawierał się w przedziale $0,2 - 0,5 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. W zastosowanych warunkach elektrodializy uzyskano maksymalny stopień załężenia roztworu ekstrakcyjnego $\sim 20\%$ dla przepływu $10 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ (biorąc pod uwagę zmiany stężeń jonów potasowych, wanadowych i żelaza).

Biorąc pod uwagę cel prowadzenia badań tzn. odzysk związków wanadu z ługu ekstrakcyjnego, względnie maksymalne załężenie ługu, należy stwierdzić, iż uzyskane wyniki nie są satysfakcjonujące. Dużo lepsze rezultaty odzysku związków wanadu z ługu ekstrakcyjnego można uzyskać na drodze wymiany jonowej na odpowiednio dobranych jonitach lub w procesie selektywnej precypitacji jonów żelaza.

LITERATURA

1. Mazurek, K., Trypuć, M., Recovery of the components of the spent vanadium catalyst with sulfuric(VI) acid solutions, *Przemysł Chemiczny*, 2009, 11, 1248 – 1251.
2. Mazurek, K., Research on the development of optimal parameters of potassium compounds leaching from spent catalysts used for oxidation of sulfur(IV) oxide, *Przemysł Chemiczny*, 2009, 9, 1033 – 1036.
3. Mazurek K., Białowicz K., Trypuć M., Recovery of vanadium, potassium and iron from a spent catalyst using urea solution. *Hydrometallurgy*, 2010, 103, 19 – 24.
4. Mazurek, K., Extraction of vanadium and potassium compounds from the spent vanadium catalyst from the metallurgical plant. *Polish Journal of Chemical Technology*, 2012, 14 (2), 49 – 53.
5. Mazurek, K., Recovery of vanadium, potassium and iron from a spent vanadium catalyst by oxalic acid solution leaching, precipitation and ion exchange processes. *Hydrometallurgy*, 2013, 134 – 135, 26 – 31.
6. Mazurek, K., Removal of vanadium, potassium and iron from spent vanadium catalyst by leaching with citric acid at atmospheric pressure. *Polish Journal of Chemical Technology*, 2014, 16 (1), 59 – 62.
7. Grobela, M., Grzesiak, P., Motała, R., The influence of iron oxide on properties and durability of vanadium catalyst used in the oxidation of sulfur dioxide. *Przemysł Chemiczny*, 2010, 89 (2), 178 – 182.
8. Grzesiak, P., Grobela, M., Motała, R., Łukaszyk, J., Phase changes in vanadium catalysts containing iron compounds. *Przemysł Chemiczny*, 2011, 90 (12), 2198 – 2201.
9. Ksibi, M., Elaloui, E., Houas, A., Moussa, N., Diagnosis of deactivation sources for vanadium catalysts used in SO₂ oxidation reaction and optimization of vanadium extraction from deactivated catalysts. *Appl. Surf. Science*, 2003, 220, 105 – 112.
10. Mazurek, K., Trypuć, M., Selective separation of vanadium and iron from vanadium catalyst leachate. *Przemysł Chemiczny*, 2014, 2, 258 – 263.
11. Drużyński, S., Mazurek, K., Białowicz, K., The use of ion exchange in the recovery of vanadium from the mass of a spent catalyst used in the oxidation of SO₂ to SO₃. *Polish Journal of Chemical Technology*, 2014, 16 (2), 69 – 73.

12. Mazurek, K., Drużyński, S., Investigations on solubility, density, and viscosity in the $\text{NaVO}_3 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ system from 293.15 K to 323.15 K. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 2014, 59, 1468 – 1475.
13. Mazurek, K., Drużyński, S., Phase Diagram for the $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{KVO}_3 + \text{NaVO}_3 + \text{K}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ System at 303.15 K and 323.15 K. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 2015, 60, 1715 – 1721.
14. Ceynowa, J., Membrany selektywne i procesy membranowe. Membrany teoria i praktyka. Zeszyt 1, Fundacja Rozwoju Wydziału Chemii, Toruń, 2003.

Rozdział 10

WYKORZYSTANIE WŁAŚCIWOŚCI JONOWYMIENNYCH OKSYWODOROTLENKU CYRKONU DO OCZYSZCZANIA CIEKŁYCH ODPADÓW TECHNOLOGICZNYCH

Mariola Bodzek-Kochel, Barbara Soltysik, Joanna Gluzińska
Instytut Nowych Syntezy Chemicznych, Oddział Chemii Nieorganicznej
„IChN” w Gliwicach, ul. Sowińskiego 11, 44-101 Gliwice

1. WPROWADZENIE

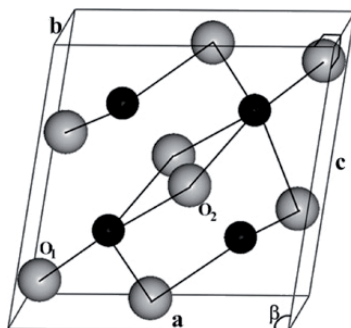
Ochrona środowiska wymusza wdrażanie tzw. czystych technologii (clean technology). Zrównoważone wykorzystanie surowców, poprawa efektywności energetycznej czy działania w zakresie szeroko rozumianej ochrony środowiska są głównymi wyznacznikami tego typu technologii. Związki cyrkonu, w tym ditlenek oraz oksywodorotlenek cyrkonu (= uwodniony tlenek cyrkonu), których źródłem pozyskiwania mogą być naturalne minerały takie, jak piaski cyrkonowe lub naturalny ditlenek cyrkonu – baddeleit (*foto. 1 i 2*) [1, 2], odgrywają w nich kluczową rolę. Ich znaczące miejsce w wielu dziedzinach przemysłu wynika z właściwości zarówno chemicznych, jak i mechanicznych.



Fot. 1. Kryształ krzemianu cyrkonu [1]



Fot. 2. Kryształ naturalnego ditlenku cyrkonu (baddeleyitu) [2]



Rysunek 1. Struktura krystalograficzna jednoskośna baddeleyitu [2]

2. OKSYWODOROTLENEK CYRконU – WŁAŚCIWOŚCI, OTRZYMYWANIE I ZASTOSOWANIE

Tlenki cyrkonu są bardzo słabo rozpuszczalne w wodzie (iloczyn rozpuszczalności $1,1 \cdot 10^{-54}$) [3]. Charakteryzują się natomiast dobrą rozpuszczalnością w mocnych kwasach mineralnych oraz bardzo stężonych alkaliach. Ponadto mają specyficzne właściwości wynikające ze struktury powierzchni [4].

W oparciu o doniesienia literaturowe, nierozpuszczalne, uwodnione tlenki metali wielowartościowych, wśród nich cyrkonu Zr(IV), charakteryzują się właściwościami jonowymiennymi. Stanowią one grupę syntetycznych wymienniczy nieorganicznych o dużej skuteczności i selektywności.

Amfoteryczny charakter oksywodorotlenku cyrkonu (uogólniony wzór $ZrO_2 \cdot nH_2O$) decyduje o tym, że posiada on zdolność do wchodzenia w reakcje z kwasami lub zasadami. Jego właściwości jonowymienne są pochodną warunków prowadzenia procesu otrzymywania (pH, temperatura wytrącania, stężenie i rodzaj związku wyjściowego). Nadmiar podczas syntezy mocnej zasady (np. NaOH) oraz wysokie końcowe pH roztworu determinuje strącanie związku hydroksylowego o charakterze kationitu. Natomiast w przypadku strącania roztworów chlorków lub azotanów cyrkonu amoniakiem, przy pH ≈ 9 , uzyskuje się materiał o dobrych właściwościach anionowymiennych. W środowisku zasadowym wykazuje zatem tendencję do wymiany kationów, w środowisku kwaśnym wymienia jony hydroksylowe na aniony [4-5].

Powinowactwo jonowymienne oksywodorotlenku cyrkonu wobec anionu maleje w szeregu:



Uwodniony tlenek cyrkonu otrzymuje się z piasków cyrkonowych, których głównym składnikiem jest minerał cyrkon (ZrSiO_4 – krzemian cyrkonu) oraz z baddeleitu będącego naturalnym ditlenkiem cyrkonu. Złoża baddeleitu eksploatowane są głównie w Brazylii, Rosji, Ukrainie i RPA, natomiast głównymi producentami koncentratów cyrkonowych są Australia, Republika Południowej Afryki, Stany Zjednoczone i kraje dawnego Związku Radzieckiego.

Etapem wyjściowym technologii otrzymywania uwodnionego tlenu cyrkonu jest reakcja rozkładu surowca, którą przeprowadza się między innymi poprzez stapianie naturalnych rud cyrkonu z wodorotlenkiem sodu w temperaturze w zakresie 650-850°C.

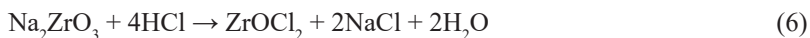
Zależnie od stosunku molowego reagentów reakcja rozkładu cyrkonu przebiega w następujący sposób [6]:



Natomiast dla baddeleitu proces rozkładu przebiega wg równania:



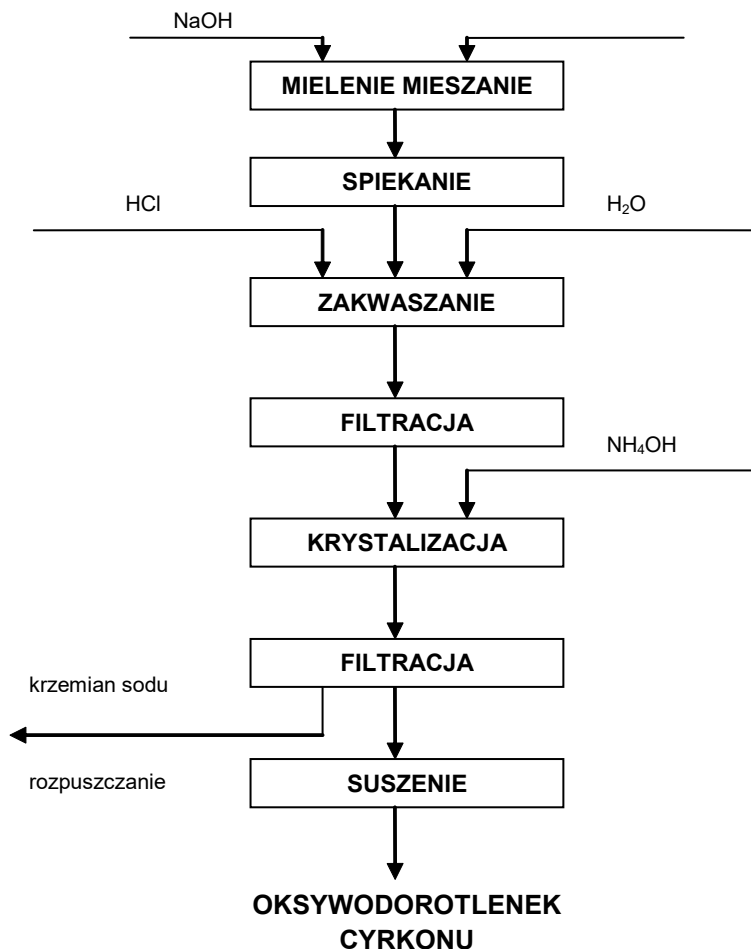
Produkty reakcji – silikocyrcyonian sodu i cyrcyonian sodu, rozpuszczają się w kwasach:



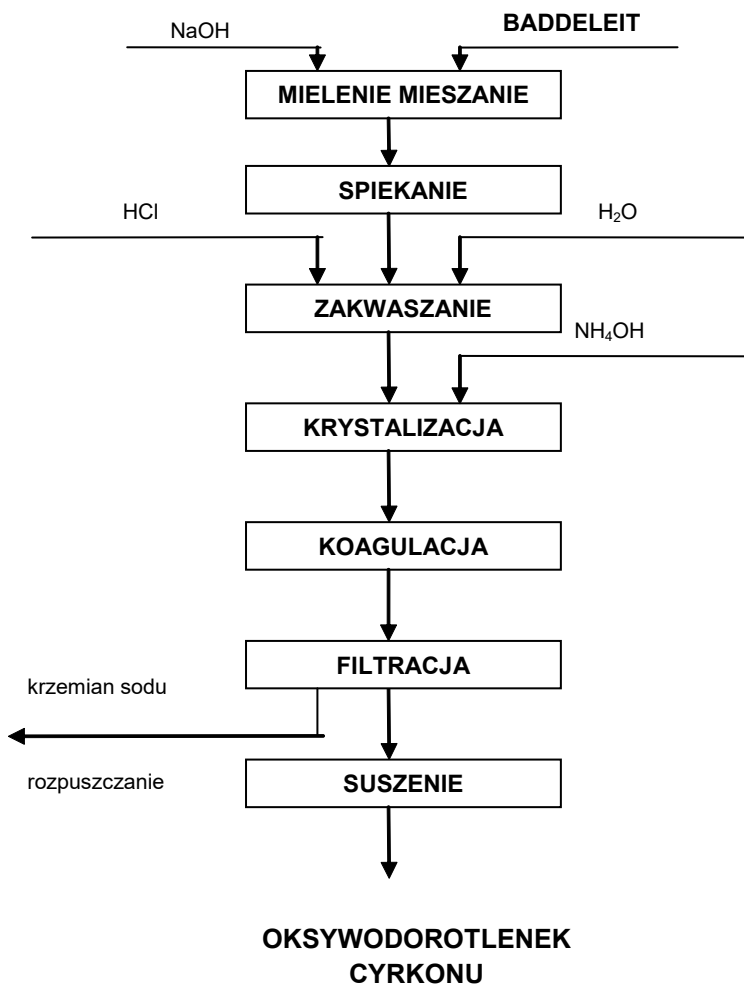
Następnie, poprzez działanie wodą amoniakalną, z roztworu soli cyrkonu wytrąca się oksywodorotlenek cyrkonu:



Na rysunkach 2 i 3 przedstawiono proces przeróbki koncentratu cyrkonowego oraz baddeleitu z uzyskaniem produktu oksywodorotlenku cyrkonu [4].



Rysunek 2. Schemat procesu otrzymywania oksywodorotlenku cyrkonu z piasków cyrkonowych



Rysunek 3. Schemat procesu otrzymywania oksywodorotlenku cyrkonu z baddeleitu

Reakcję rozkładu surowca można także przeprowadzić poprzez stapianie z węglanem sodu, przez chlorowanie w obecności grafitu oraz dysocjację termiczną w ługu plazmowym [7].

Uwodniony tlenek cyrkonu otrzymuje się również z roztworów soli cyrkonu(IV) – azotanu, chlorku, octanu, przez strącanie lub metodą zol-żelową.

Czynnikami strącającymi mogą być: woda amoniakalna, mocznik, łatwo hydrolizujące związki organiczne [8-10].

Obecnie związki cyrkonu znajdują znaczące miejsce w wielu dziedzinach przemysłu. Wynika to z ich właściwości mechanicznych oraz chemicznych, w tym z braku lub niskiej toksyczności, w porównaniu ze związkami, które zostały przez nie zastąpione. Tlenek cyrkonu uwodniony i niewodniony wykorzystywany jest [3, 9, 13-29]:

- w katalizie jako nośnik lub dodatek do układów katalitycznych stosowanych między innymi w ochronie środowiska, petrochemii, elektrokatalizie i polimeryzacji,
- jako adsorbent w procesach utylizacji odpadów technologicznych, adsorpcji jonów metali ciężkich z zanieczyszczonej wody,
- w procesach membranowego oczyszczania ścieków metodą mikro – i ultrafiltracji,
- w technologii chemicznej do otrzymywania pochodnych cyrkonu, takich jak: organiczne związki cyrkonu, sole cyrkonu; jako składnik wielu nanomateriałów (np. pallad – tlenek cyrkonu; aluminium – tlenek cyrkonu; tytanian sodu – tlenek cyrkonu; tlenek cyrkonu – krzemionka – karbaminian); jako składnik membran nieorganicznych,
- w analizie chemicznej, instrumentalnej (np. chromatografia jonowa – przykładowo oddzielanie kwasów karboksylowych),
- w medycynie (np. wymiana jonowa w procesie dializy, składnik ceramicznych instrumentów medycznych oraz specjalistycznej matrycy do badania ilości bakterii w próbkach żywności, klinicznych i środowiskowych) oraz stomatologii do produkcji między innymi wysokiej jakości materiału stosowanego w protetyce i preparatu do uszczelniania kanału korzeniowego,
- w elektronice i fototonice (np. luminofory, specjalistyczne, optyczne obudowy oraz w technologii plazmowej),
- jako materiał do wyrobu szkieł optycznych,
- w ceramice do produkcji obudów czy osłon odpornych na ścieranie, uderzenia oraz na zmiany temperatury oraz narzędzi, np. szybko tnących, do wyrobu produktów ceramiczno-metalicznych, charakteryzujących się bardzo wysoką odpornością chemiczną i mechaniczną.

Charakter fizykochemiczny tlenków cyrkonu decyduje o ich głównym zastosowaniu w katalizie i wymianie jonowej.

3. WYMIANA JONOWA

W ostatnich latach proces wymiany jonowej zyskał duże znaczenie techniczne w wielu dziedzinach przemysłu. Przy zastosowaniu wymiany jonowej okazało się możliwe wprowadzenie nowych metod technologicznych, między innymi do oczyszczania różnego rodzaju substancji, wydzielania określonych składników, w prowadzeniu procesów katalitycznych, przy czym metody te są niejednokrotnie o wiele łatwiejsze, dokładniejsze i tańsze niż stosowane dotychczas.

Poprzez wymianę jonową, w rozumieniu adsorpcji jonowymiennej, rozumie się proces polegający na wymianie ruchliwych jonów (kationów lub anionów) na inne jony tego samego znaku, zachodzący na jonicie zawierającym odpowiednie grupy funkcyjne.

Wymieniaczami jonowymi są substancje stałe, najczęściej wielkocząsteczkowe, usieciowane, o silnie rozwiniętej powierzchni. Wyróżniamy jonity:

- kationowe – mają charakter kwasowy i wymieniają z roztworem kationy (najczęściej jon wodorowy H^+ lub kationy metali alkalicznych, Na^+ i K^+),
- anionowe – mają charakter zasadowy, wymieniają z roztworem aniony (np. jon wodorotlenowy OH^- , Cl^-),
- amfoteryczne – zawierają zarówno grupy kwasowe i zasadowe (lub ich sole), mogą być również używane mieszaniny różnych jonitów.

Wymiana jonów następuje w określonych warunkach między wymieniaczem a roztworem określonych jonów. Warunkiem koniecznym do przebiegu procesu jest całkowita nierozpuszczalność jonitów w wodzie lub w innym rozpuszczalniku, w którym realizowany jest proces wymiany. Cząsteczka jonitu musi charakteryzować się taką strukturą, która umożliwi równoczesną wymianę jonów z roztworu oraz dyfuzję. Na przebieg procesu wymiany jonowej składają się etapy:

- przemieszczania się jonu z głębi roztworu do powierzchni jonitu,
- przemieszczania się jonu wewnątrz ziarna jonitu do grupy jonowymiennej,
- reakcji podwójnej wymiany,
- przemieszczania się wymienionego jonu z głębi ziarna do powierzchni,
- przejścia wymienionego jonu z powierzchni ziarna do roztworu.

Dobry jonit charakteryzuje zdolność do rozciągania porów na skutek solwatacji silnie polarnych grup dysocjujących jonów przez cząsteczki rozpuszczalnika, np. wody. Zjawisko takie nazywane jest pęcznieniem. Szybkość procesów wymiany jonowej uwarunkowana jest przebiegiem procesów dyfuzyjnych, a te są uzależnione od równowagi pęcznienia. Struktury łatwo pęczniejące, na ogół charakteryzują się niższą wytrzymałością mechaniczną. Natomiast w przypadku jonitów odpornych mechanicznie, ich struktura jest ścisła, o gorszych własnościach jonowymiennych. Na ogólną szybkość procesu wymiany jonowej wpływają: rodzaj i usieciowanie jonitu, temperatura procesu, stężenie roztworu oraz szybkość przepływu roztworu przez złożę jonitu. Zasadniczo im wyższa temperatura, tym gęstość roztworu jest mniejsza, grubość warstewki międzyfazowej maleje i proces dyfuzji przebiega szybciej. Na wzrost szybkości dyfuzji wpływa dodatkowo wyższe stężenie jonów w roztworze. Ponadto ze wzrostem usieciowania jonitu maleje szybkość dyfuzji wewnętrznej.

Inną ceną właściwością wymiennicza jonowego jest pojemność jonowymienna. Zależy ona od liczby grup funkcyjnych przypadających na jednostkę masy lub objętości wymiennicza [30]. Najczęściej pojemność jonowymienną mierzy się w milirównoważnikach (ładunku) na gram bezwzględnie suchego jonitu lub na 1 cm³ złoża jonitu w odpowiedniej formie jonowej. Jonity o większej pojemności jonowymiennej wymagają zastosowania bardziej stężonego eluentu.

Istotną właściwością jonitu jest również selektywność jonowymienna. Współczynniki selektywności opisują względne powinowactwo jonitu do różnych jonów. Określone są równaniem:

$$K_{A,E} = (A_r^{x-})^y (E_m^{y-})^x / (A_m^{x-})^y (E_r^{y-})^x \quad (8)$$

gdzie:

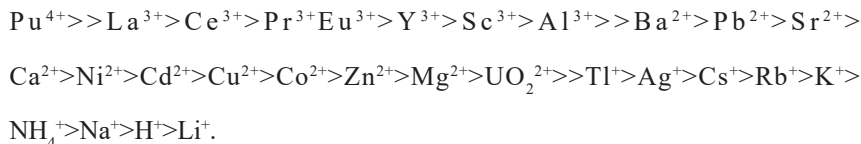
A – jednowartościowy anion,
E – jednowartościowy przeciwjon,

indeksy:

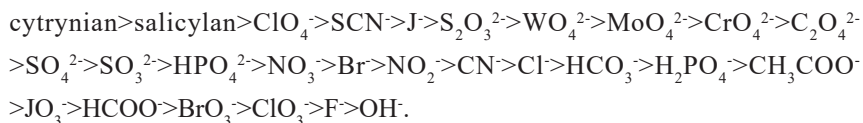
r – faza stacjonarna,
m – faza ruchoma,
x, y – stopień utlenienia,

Symbole w nawiasach oznaczają aktywności danych jonów.

Z uwagi na to, że często reakcja wymiany jonowej nie jest jedynym działającym mechanizmem retencji (np. rozpuszczone jony mogą być adsorbowane na powierzchni matrycy jonowymiennej), można jedynie w przybliżeniu przewidzieć względne powinowactwa jonitów do różnych jonów. Współczynniki selektywności dla kationów rozdzielanych na silnie kwaśnym jonicie można uszeregować w następującym porządku:



Współczynniki selektywności anionów rozdzielanych na zasadowym wymienniaczu anionowym można przedstawić w następującym szeregu:



Przy przewidywaniu kolejności uszeregowania jonów należy wziąć pod uwagę następujące parametry:

- ładunek rozpuszczonego jonu,
- solwacyjną wielkość rozpuszczonego jonu,
- stopień usieciowania jonitu,
- polarność rozpuszczonego jonu,
- pojemność jonowymienną jonitu,
- rodzaj grupy funkcyjnej jonitu,
- stopień, w jakim rozpuszczony jon oddziałuje z matrycą jonowymienną.

Stosowane w praktyce jonity to jonity organiczne, np. żywicowe i nieorganiczne, przykładowo zeolity, permutyty, żele tlenków glinu i żelaza, a także nierozpuszczalne związki cyrkonu [31, 32]. Nieorganiczne wymienniacze jonowe są bardziej trwałe niż sporządzone z substancji organicznych, a efektywność usuwania anionów ze ścieków za ich pomocą nie podlega tak dużym wahaniom jak w przypadku zastosowania materii organicznej.

Chromatografia jonowymienna jest wysoko sprawną chromatografią cieczową, która wykorzystując kolumny wypełnione materiałami zdolnymi do wymiany jonowej (kationowymiennymi lub anionowymiennymi) oraz odpowiednie wodne fazy ruchome, pozwala rozdzielać, identyfikować i oznaczać ilościowo mieszaniny kationów i anionów [30]. Istotną rolę odgrywa ona zwłaszcza w analizie śladowej. Do typowo analitycznych zastosowań chromatografii jonowymiennych, oprócz rozdzielania pierwiastków, należy usuwanie jonów przeszkadzających (np. fosforanów, szczawianów itp.), czy zagęszczanie roztworów zawierających składniki w śladowych stężeniach.

Rozdział chromatograficzny można prowadzić przy zastosowaniu następujących technik:

- chromatografii jonowymiennych,
- chromatografii „par jonowych” przy użyciu kolumn z odwróconym układem faz typu RP-18, RP-8 itp.,
- chromatografii wykluczania jonów (*ion-exclusion chromatography*),
- mieszanych technik rozdziału, takich jak chromatografia podziałowa z odwróconym układem faz, przy użyciu chelatujących faz stacjonarnych.

Chromatografia jonowymienna jest obecnie najczęściej stosowaną techniką rozdzielania substancji jonowych. Proces chromatograficzny, w tym przypadku, realizowany jest na wypełnieniach jonowymiennych, tzw. jonitach.

4. WYKORZYSTANIE WŁAŚCIWOŚCI JONOWYMIENNYCH OKSYWODOROTLENKU CYRKONU

Proces eliminowania z solanek jonów siarczanowych można prowadzić drogą wymiany jonowej, wykorzystując w tym celu wymiennicze jonowe zawierający oksywodorotlenek cyrkonu z centrami aktywnymi, zdolnymi do wymiany grupy OH^- na jony SO_4^{2-} . Jonity cyrkonowe stosuje się w kolumnie jonitowej, po uprzednim naniesieniu oksywodorotlenku cyrkonu na matrycę organiczną lub nieorganiczną, pełniącą rolę nośnika.

Sposób usuwania jonów wapniowych z solanek przemysłowych opisano w patencie amerykańskim [33]. Proces prowadzono przy założeniu minimalnego czasu kontaktu (5 min.) przepływającej solanki z wymienniczem jonowym oraz pH w zakresie 9-11. Zasadniczo, w charakterze substancji czynnej jonitu, stosuje się wodorotlenki między innymi cyrkonu, tytanu, molibdenu, toru, niobu, wolframu, cyny, tantalum lub ich mieszanek.

Mezoporowaty adsorbent jonowymienny zastosowano do usuwania jonów arsenu(V), fluorkowych oraz fosforanowych [34]. Uzyskano go metodą nanoszenia na porowaty jonit poliakrylowo-styrenowy azotanu lub chlorku cyrkonu z roztworu alkoholowego. Następnie w wyniku odparowania alkoholu i kontakt porowatego materiału pokrytego związkami cyrkonu z roztworem zasady, umożliwiono przejście soli cyrkonu w oksywodorotlenek stanowiący fazę aktywną jonitu.

Metodę anionowego oczyszczania wód gruntowych z jonów arsenu, żelaza lub nadchloranów przedstawiono w pracy [35]. Prezentowany wynalazek, przy wykorzystaniu węgla aktywnego, pokrytego wodorotlenkiem metali ziem rzadkich, m. in. cyrkonu, o powierzchni właściwej $850 \text{ m}^2/\text{g}$, w sposób ekonomiczny, umożliwił uzdatnianie wody do celów konsumpcyjnych. Możliwości adsorpcyjne determinowane są warunkami, w których węgiel jest poddawany aktywacji, np. kwasem siarkowym, azotowym lub ich mieszanką, w temperaturze powyżej 100°C i czasie 24 godzin.

Skuteczna eliminacja jonów arsenu As(V) oraz As(III) możliwa jest dzięki zastosowaniu krystalicznego uwodnionego tlenku cyrkonu [36]. Proces adsorpcji jonów As(V) przebiega w środowisku słabo kwaśnym i neutralnym, natomiast jonów As(III) przy pH w zakresie 9-10. Obecność typowych anionów (fosforanów i fluorków) nie zakłóca adsorpcji As(V). Adsorbent można regenerować przy pomocy 1 M roztworu wodorotlenku sodu w obecności 0,2 M roztworu buforu octanowego.

Eliminacja jonów arsenu(V) z wody pitnej lub ścieków jest możliwa dzięki mezoporowatemu uwodnionemu tlenkowi cyrkonu [37]. Amfoteryczny charakter jego właściwości determinowany jest wartościami pH, przy czym znaczne powinowactwo wobec arsenu(V) zaznacza się w szerokim zakresie pH. Szczególnie duża pojemność adsorpcyjna zaznacza się przy pH o wartości niższej od 8. Na pojemność tę negatywny wpływ mają w szczególności jony krzemianowe oraz fosforanowe, natomiast nie wpływa na nią obecność kationów metali przejściowych w stężeniu mniejszym niż 1 ppm. Kationy metali ziem rzadkich poprawiają natomiast efekt usunięcia jonów arsenu w znacznym stopniu.

Oksywodorotlenek cyrkonu znajduje zastosowanie w separacji z roztworów cynku [38]. Wyniki badań kinetyki procesu adsorpcji wskazują jej zgodność z klasyczną izotermą Freundlicha w całym zakresie stężeń badanych roztworów. Zauważono, że stopień separacji wzrasta wraz ze wzrostem wartości pH. Środowisko kwaśne powoduje natomiast jego słumienie.

Hydrat tlenku cyrkonu o wzorze $ZrO_2 \cdot nH_2O$ charakteryzuje się zdolnością usuwania chromu Cr(VI) z roztworu. Jednocześnie spadek wartości pH generuje tendencję wzrostową adsorpcji. Przeprowadzone studium [39] kinetyki i termodynamiki procesu, wpływu pH oraz izotermy adsorpcji, wskazują na model Langmuira przebiegu procesu. Przy wzroście temperatury z 24,8°C do 64,8°C obserwowano wzrost pojemności adsorpcyjnej z 61 do 66 mg/g. Efektywną desorpcję przeprowadzić można, wykorzystując wodę destylowaną, przy pH równym 12. Kwalifikuje to opisywany adsorbent do wykorzystania w kontroli zanieczyszczeń Cr(VI).

Oksywodorotlenek cyrkonu posiada zdolność adsorpcji jonów Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} i Co^{2+} , przy czym sorpcja wykazuje tendencję malejącą w kolejności $Cr^{3+} > Fe^{3+} > Mn^{2+} > Co^{2+}$ [40]. Proces został przebadany w warunkach zmieniających się parametrów: koncentracji jonów, pH oraz przy stałej temperaturze 90°C. Dla porównania przeprowadzono badania w takich samych warunkach fizykochemicznych, w których wykorzystano w charakterze adsorbentu uwodniony tlenek toru oraz magnetyt. Uzyskane wyniki wskazują na lepszą sorpcję w przypadku uwodnionego tlenku cyrkonu. Generalnie jednak stopień sorpcji w przypadku każdego z zastosowanych sorbentów jest stosunkowo niski. Lepsze wyniki sorpcji zaobserwowano w środowisku alkalicznym.

Wykorzystując uwodniony tlenek cyrkonu można usuwać zanieczyszczenia jonami strontu z radioaktywnych roztworów odpadowych [41]. W obecności jonów Ca^{2+} oraz Ba^{2+} proces adsorpcji nie przebiega jednak w sposób selektywny. Jego wykorzystanie zatem jako adsorbentu limitowane jest obecnością znacznych ilości tych jonów w roztworach. Badania pojemności adsorpcyjnej, czy jego stabilności termicznej i chemicznej, dają możliwość wykorzystania tego sorbentu w układach dekontaminacji wody.

Jony strontu można usuwać również z odpadowych, kwaśnych roztworów radioaktywnych, wykorzystując w charakterze adsorbentu mieszaninę uwodnionych tlenków cyrkonu i manganu w proporcji 1:1 [42]. Przeprowadzona interpretacja parametrów efektywności sorpcji w oparciu o izotermę Freundlicha oraz równanie Langmuira wskazuje na endotermiczną i spontaniczną naturę przebiegu procesu.

Interesującym przykładem jonitów cyrkonowych jest sześciocyjanożelazian cyrkonu o wzorze $ZrO(OH)_2 \cdot (ZrO_2)_2 \cdot Fe(CN)_6$. Charakteryzuje się on zdolnością specyficznego pochłaniania wyłącznie jonów cezu, np. z wody morskiej [43]. Zostało to wykorzystane do oznaczania jednego z produktów rozszczepienia uranu U-235, mianowicie promieniotwórczego cezu ($Cs-137$) w wodach morskich i innych materiałach [44].

W patencie amerykańskim [45] opisano metodę otrzymywania jonitu cyrkonowego, stosowanego w celu oczyszczania wody morskiej. Porowata, nieorganiczna baza, w skład której wchodzi: węgiel aktywny, silikon czy tlenek glinu, pokryta jest substancją aktywną – oksywodorotlenkiem cyrkonu, tytanu itp. W rezultacie utworzony zostaje amfoteryczny jonit, który zależnie od warunków prowadzenia procesu, umożliwia wymianę anionów lub kationów. Woda pochodząca z instalacji przemysłowej, obsługującej pracę reaktora nuklearnego, zawiera między innymi radioaktywny kobalt i uran. Zaprezentowany adsorbent jonowymienny umożliwia oczyszczanie wody w wyższej temperaturze z wymienionych pierwiastków. Związane jest to ze sposobem jego otrzymywania, podczas którego poddawany jest kalcynacji, w przypadku tlenku glinu, w zakresie temperatur 700-1100°C.

Uwodniony tlenek cyrkonu (Zr-żel), stanowiący wypełnienie porowatej żywicy polimerowej, można wykorzystać do chromatograficznej separacji kwasów karboksylowych [46]. W charakterze fazy mobilnej wykorzystuje się roztwór węgla sodu o stężeniu 3×10^{-3} mol/l. Kwasy α -hydroksymonokarboksylowe jako glikoniany czy laktany są zatrzymywane, natomiast kwasy monokarboksylowe jako mrówczany, octany, propioniany itp. są eluowane.

W amerykańskim patencie [47] zaprezentowano sposób usuwania anionów z solanek przy wykorzystaniu oksywodorotlenku cyrkonu, naniesionego na granulowany węgiel aktywny lub węgiel aktywny nasycony organicznymi żywicami. Adsorbent o preferowanej średnicy cząstek 0,5-5 mm, charakteryzuje się wysoką wydajnością jonowymienną oraz wysoką wytrzymałością mechaniczną, co pozwala na zastosowanie go zarówno w procesach adsorpcji prowadzonych w sposób ciągły w kolumnach, jak i adsorberach zbiornikowych z mieszadłami.

Anionit cyrkonowy zastosowano po raz pierwszy w procesie usuwania jonów siarczanowych z przemysłowych solanek przez japońską firmę Kaneka Corporation [4]. Proces przebiega w systemie dwóch reaktorów i dwóch próżniowych filtrów obrotowych. Anion siarczanowy reaguje z oksywodorotlenkiem cyrkonu w środowisku kwaśnym. W porównaniu, z wcześniej stosowaną metodą z wykorzystaniem związków baru, opisana metoda jest bardziej ekonomiczna. Jednocześnie jest korzystna w aspekcie ekologicznym, gdyż możliwe jest zastąpienie dotychczas stosowanych metod usuwania niepożądanych składników (np. strącanie siarczanów w postaci siarczanu baru) deponowanych na składowiskach odpadów.

Dzięki wymianie jonów OH^- na jony SO_4^{2-} możliwy jest proces eliminacji siarczanów z zanieczyszczonych roztworów chlorkowych. Przykładowo, w procesie prowadzonym w kolumnie wypełnionej złożem jonitu, możliwe jest obniżenie koncentracji jonów siarczanowych w 26% roztworze NaCl, z poziomu 970 ppm do wartości 110 ppm [48]. Natomiast w procesie desulfuryzacji roztworów przemysłowych zawierających 0,037% mas. SO_4^{2-} zastosowanie jonitu cyrkonowego daje możliwość obniżenia zawartości siarczanów do poziomu 0,001% mas.

Patent amerykański [49] opisuje proces usuwania z solanek jonów siarczanowych drogą adsorpcji z wykorzystaniem uwodnionego tlenku cyrkonu o ogólnym wzorze $\text{Zr}(\text{OH})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (n w zakresie 4-200). Desorpcję jonów i regenerację adsorbentu prowadzi się, wykorzystując w tym celu alkalia (roztwory węglanów, wodorowęglanów metali ziem alkalicznych lub wodorotlenków metali alkalicznych). Parametry takie, jak temperatura i czas trwania procesu, są takie same tak w przypadku desorpcji, jak i adsorpcji. W przedstawionym sposobie usuwania siarczanów uwzględniono całkowitą lub częściową cyrkulację, wielokrotnie regenerowanego, niesuszonego adsorbentu.

Proces wymiany jonowej wykorzystano do opracowania wynalazku [50], w którym do odzysku siarczanów z wody morskiej lub innej solanki wykorzystano adsorbent cyrkonowy o amorficznej, spolimeryzowanej strukturze, naniesiony na nośnik organiczny. Zastosowanie takiego adsorbentu umożliwia skuteczne usuwanie nie tylko siarczanów, ale i boranów, wodorowęglanów, fosforanów oraz fluorków. Inne rozwiązanie tych samych autorów [51] przedstawia sposób eliminacji jonów siarczanowych z solanek przy zastosowaniu wymienniacza jonowego osadzonego na syntetycznej żywicy. Proces prowadzi się w sposób ciągły, w temperaturze 40-60°C lub wyższej 100-120°C oraz przy pH roztworów w zakresie 2-3. Wydajność kolumny w widoczny sposób zależna jest od temperatury.

Oczyszczanie solanek z jonów siarczanowych i boranowych jest możliwe dzięki produktowi firmy Dow Chemical Company, o nazwie MSC-1, w którym oksywodorotlenek cyrkonu osadzony jest na węglu aktywnym [52}. Adsorpcję oraz desorpcję prowadzi się w kolumnie, w której przez złożę jonitu przepuszczany jest roztwór o $\text{pH}=2$, w temperaturze 65°C. Zaadsorbowane siarczany i borany usuwa się w wyniku przemywania określoną ilością wody wodorotlenku sodu, a następnie kwasu solnego. Zregenerowany w taki sposób jonit cyrkonowy jest zdolny do dalszej pracy.

W patencie [53] opisano sposób oczyszczania wodnych roztworów chlorków metali alkalicznych z jonów siarczanowych, z wykorzystaniem

adsorbentu cyrkonowego o średnicy cząstek 1-20 μm . Etap adsorpcji przebiega w preferowanych warunkach: $\text{pH}=3-6$, w temperaturze nie niższej niż 50°C . Desorpcję jonów prowadzi się w takiej samej temperaturze, co adsorpcję, przy $\text{pH}=9$. W celu osiągnięcia żądanego pH stosować można wodny roztwór amoniaku, wodorotlenki metali alkalicznych, wodorotlenek tetra-alkilamoniowy i in.

W charakterze jonitu do usuwania siarczanów z zanieczyszczonej solanki można również wykorzystać oksywodorotlenek cyrkonu naniesiony na materiał kompatybilny z roztworem solanki [54]. Wymiana jonowa prowadzone jest w kolumnie wypełnionej jonitem o średnicy cząstek nie mniejszej niż 30 μm (preferowana średnica $> 50 \mu\text{m}$). Zgodnie z ustaleniami autorów 1 mol jonów siarczanowych zostaje zaadsorbowany przez 1 mol oksywodorotlenku cyrkonu, o wzorze $\text{ZrO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (gdzie $n=0,3-7$).

Do selektywnej adsorpcji fosforanów(V) z wody morskiej lub ścieków w roli amorficznego adsorbentu można wykorzystać oksywodorotlenek cyrkonu $\text{ZrO}(\text{OH})_2 \cdot (\text{NaO})_{0,05} \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ [28]. Zauważono, że zwiększanie pH roztworu do wartości 6 generuje wzrost adsorpcji fosforanów, a następnie gwałtowny jej spadek. W porównaniu z innymi adsorbentami, bazującymi na podwójnych wodorotlenkach warstwowych, w przypadku zastosowanego adsorbentu, zaobserwowano znacznie większą skłonność adsorbowania fosforanów(V). Efektywną desorpcję zaadsorbowanego składnika przeprowadzić można wykorzystując 0,1 M roztwór NaOH.

Znaczącą rolę w sorpcji fosforanów(V) odgrywa mezostrukturalny oksywodorotlenek cyrkonu, syntezowany z uwodnionego siarczanu cyrkonu z wykorzystaniem środka powierzchniowo-czynnego (bromek heksadecylotrimetyloamonowy) jako matrycy [55]. Charakteryzuje się on wielkością porów 2-50 nm, dużą powierzchnią właściwą ($>1000 \text{ m}^2/\text{g}$) oraz 2-3 razy większą zdolnością sorpcji fosforanów w porównaniu z komercyjnymi żywicami anionowymiennymi.

W patencie amerykańskim [56] opisano metodę otrzymywania i zastosowania kompleksu cyrkonowego o wzorze $\text{Zr}(\text{OH})_4 \cdot \text{A}^- \cdot n\text{H}_2\text{O}$ lub $\text{ZrO}_2 \cdot \text{A}^- \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (A – stanowi anion, np. fluoru, boranu, nadchloranu, $n=1-10000$) do usuwania cyjanów z mediów przemysłowych. Adsorpcję prowadzi się w warunkach $\text{pH}=7,5-11$. Zanotowano wydajność powyżej 80%. Do desorpcji stosuje się NaOH, roztwór o stężeniu 1%. Regenerację jonitu cyrkonowego umożliwia zastosowanie kwasu chlorowodorowego ($\text{pH}=3$) oraz płukanie lekko zakwaszoną wodą.

Oksywodorotlenek cyrkonu domieszkowany tlenkami żelaza Fe(III) i Fe(II), o wzorze cząsteczkowym $ZrO(OH)_2 \cdot 1,6Fe_3O_4 \cdot 2,5H_2O$, może być wykorzystany do usuwania arsenianów(V), które zostają zredukowane do arsenianów(III) [57]. Sorbent o powierzchni właściwej 151 m²/g charakteryzuje niewielka przeciętna średnica porów (ok. 540 nm). Równowagę sorpcji można osiągnąć w czasie 25 h. Lepszy efekt adsorpcji uzyskuje się przy niższych wartościach pH.

Do separacji molibdenianów ze specyficznych układów typu Cl-MoO₄²⁻, Br-MoO₄²⁻, I-MoO₄²⁻ i in. można zastosować uwodniony tlenek cyrkonu wraz z etylenodiaminą w proporcji 3:1 [58].

Sposób otrzymywania nowego materiału wykorzystywanego w procesie dializy, gdzie sorbent składa się z kwaśnego fosforanu cyrkonu oraz zasadowego uwodnionego tlenku cyrkonu przedstawiono w patencie amerykańskim [59]. Fosforan cyrkonu absorbuje takie kationy, jak: NH₄⁺, Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺, natomiast oksywodorotlenek cyrkonu umożliwia wymianę anionów (PO₄²⁻, F⁻, CH₃COO⁻). Wspólne wykorzystanie tych dwóch związków ma miejsce w systemie REDY, w którym fosforan cyrkonu odpowiedzialny jest za wymianę kationów, a oksywodorotlenek cyrkonu za wymianę anionów. Wynalazek charakteryzuje możliwość wymiany jonowej bez konieczności oddzielania kwaśnego fosforanu cyrkonu (AZP) i alkalicznego oksywodorotlenku cyrkonu (NaHZO).

5. PODSUMOWANIE

Jonit zawierający w swym składzie oksywodorotlenek cyrkonu może być wykorzystany do usuwania zarówno anionów, jak i kationów z ciekłych odpadów technologicznych. Charakteryzuje się on zdolnością usuwania całej gamy jonów w tym: siarczanowych, boranów, wodorowęglanów, fosforanów, fluorków, arsenianów, cyjanków, arsenu, żelaza lub nadchloranów itp.

Właściwości jonowymiennie jonitu cyrkonowego determinowane są, m. in.: sposobem otrzymywania oksywodorotlenku cyrkonu (stężenie, czystość i rodzaj surowca, pH oraz temperatura strącania), rodzajem nośnika, na który naniesiono substancję aktywną, jak również warunkami prowadzenia procesu wymiany jonowej.

Wydajność procesu adsorpcji uwarunkowana jest właściwościami fizykochemicznymi zastosowanego wymiennicza, warunkami prowadzenia procesu oraz rozwiązaniami aparaturowymi.

Skuteczne usuwanie zanieczyszczeń z ciekłych odpadów technologicznych możliwe jest również dzięki wykorzystaniu właściwości niektórych pochodnych oksywodorotlenku cyrkonu.

Stosowanie oksywodorotlenku cyrkonu lub jego pochodnych w procesach wymiany jonowej w wielu gałęziach gospodarki, począwszy od przemysłu chemicznego, poprzez spożywczy po rolnictwo i medycynę, jest korzystne również z punktu widzenia ochrony środowiska. Daje bowiem możliwość wykorzystania tych związków w technologiach oczyszczania strumieni odpadowych i utylizacji odpadów przemysłowych. Przez wprowadzenie nowych rozwiązań technologicznych możliwa jest eliminacja stosowanych dotychczas metod usuwania zanieczyszczeń, nierzadko wiążących się z wytwarzaniem trudnych do zagospodarowania odpadów, np. siarczan baru.

LITERATURA

1. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=10477463>, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=10441268>.
2. by Rob Lavinsky, iRocks.com – CC-BY-SA-3.0, dostęp 25.07.2017.
3. https://www.google.pl/search?q=baddeleyite&sa=N&tbm=isch&tbo=u&source=univ&ved=0ahUKEwjp2O3wmZ_WAhUiApoKHUvTBkAQsAQIQQ&biw=1366&bih=653.
4. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, T. 22, John Wiley&Sons In., New York 1970.
5. Cichy B., Bunikowska B., Kwiecień J., Kołodziejczyk J.: *Zirconium Hydroxide – Properties, Preparation and Use*, Polish Journal of Chemical Technology 2003, 5, 3, 55.
6. Saikiki K., Yoshida N.: *New desulfation system for Chlor Alkali Plant*, London International Chloride Symposium, czerwiec 1994.
7. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Fifth Completely revised Edition, vol. A 28, 1996.
8. Yamaguchi T.: *Application of ZrO₂ as a catalyst and a catalyst support*, Catalysis Today 1994, 20, 199.
9. Siuciu C., Gagea L., Hoffmann A.C., Mocean M.: *Sol-gel production of zirconia nanoparticles with a new organic precursor*, Chem. Eng. Sci. 2006, 61, 7831.
10. Agoudjil N., Kermadi S., Larbot A.: *Synthesis of inorganic membrane by sol-gel process*, Desalination 2008, 223, 417.

11. Oliveira A.P.A., Torem M.L.: *The influence of precipitation variables on the aggregation and crystalline structure of stabilized zirconia powders*, Powder Technology 2001, 119, 181.
12. Lewicki A., Paryjczak T., Rynkowski J.: *Dwutlenek cyrkonu w katalizie. Właściwości i zastosowania*, Wiadomości chemiczne 1996, 50, 11-12.
13. Kowalczyk J., Madejska L., Mazanek C.: *Możliwości wykorzystania krajowej bazy surowcowej dla otrzymywania związków cyrkonu*, Rudy i metale 1991, 36, 9.
14. Klocke F., Linke B., Schluetter D.: *Development of reliable grinding procedure for ceramic medical instruments*, Prod. Eng. Res. Devel. 2009, 6, 10.
15. Knote A., Kruger H. G., Selve S., Kups Th.: *Metal-ceramic composite layers on stainless steel through the combination of electrophoretic deposition and galvanic processes*, J.Mater. Sci. 2007, 42, 4545.
16. Lee J., Kwon B., Jang J., Yoon Yo, Kim J.: *High mobility organic transistor patterned by the shadow-mask with all structure on a plastic substrate*, J. Mater. Sci. 2007, 42, 1026.
17. Rudnev V. S., Yarovaya T. P., Kilin K. N., Malyshev I. V.: *Plasma-Electrolytic Oxidation of Valve Metals in Zr(IV) – Containing Electrolytes*, Prot. of Metals and Physical Chemistry of Surfaces 2010, 46, 456.
18. Virgens C., Rangel M.: *Influence of the preparation method on the textural properties of zirconia*, React. Kinet. Catal. Lett. 2005, 84, 183.
19. Saraidarov T., Reifeld R.: *Synthesis and Characterization of Lead Sulfide Nanoparticles in Zirconia – Silica – Urethane Thin Films Prepared by the Sol-Gel Process*, Journal of Sol-Gel Science and Technology 2003, 26, 533.
20. Snytnikov V., Dubov D., Zaikovskii V., Ivanova A., Stoyanovskii V., Parmon V.: *Production of Nanomaterials by Vaporizing Ceramic Targets Irradiated by Moderate-Power Continuous-Wave CO₂ Laser*, Journal of Applied Mechanics and Technical Physics 2007, 48, 292.
21. Rodrigues C., Ferreira O., Alves O.: *Nanostructures of sodium titanate/zirconium oxide*, J.Nanopart. Res. 2010, 12, 2355.
22. Monopoli A., Nacci A., Calo V., Ciminale F., Cotugno P., Mangone A., Giannossa L., Azzone P., Cioffi N.: *Palladium/Zirconium Oxide Nanocomposite as a Highly Recyclable catalyst for C-C Coupling Reactions In Water*, Molecules 2010, 15, 4511.

23. Romanova R., Petrova E.: *Phase Composition of Aluminum-Zirconium Oxide Nanocrystals Prepared by Electrochemical Coprecipitation*, Russian Journal of Physical Chemistry 2006, 80, 974.
24. Reddy J., Sayari A.: *Nanoporous zirconium oxide prepared using the supramolecular templating approach*, Catalysis Letters 1996, 38, 219.
25. Arantes T., Mambrini G., Stroppa D., Leite E., Longo E., Ramirez A., Camargo E.: *Stable colloidal suspensions of nanostructured zirconium oxide synthesized by hydrothermal process*, J. Nanopart Res. 2010, 10, 1007.
26. Vaivars G., Mokrani T., Hendricks N., Linkov V.: *Inorganic membranes based on zirconium phosphate for fuel cell*, J. Solid State Electrochem. 2004, 8, 882.
27. Tanuma T., Okamoto H., Ohnishi K., Morikawa S. Suzuki T.: *Activated zirconium oxide catalysts to synthesize dichloropentafluoropropane by the reaction of dichlorofluoromethane with tetrafluoroethylene*, Applied Catalysis 2009, 359, 1.
28. Citak D., Tuzen M., Soylak M.: *Simultaneous coprecipitation of lead, cobalt, copper, cadmium, iron and nickel in food samples with zirconium (IV) hydroxide prior to their flame atomic absorption spectrometric determination*, Ford. Chem. Toxicol. 2009, 47, 2302.
29. Chitrakar R., Tezuka S., Sonoda A., Sakane K., Ooi K., Hirotsu T.: *Selective adsorption of phosphate from seawater and wastewater by amorphous zirconium hydroxide*, J. Colloid. Interface Sci. 2005, 15, 426.
30. Palmer D., Machesky M., Benezeth P., Wesolowski D., Anovitz L., Deshon J.: *Adsorption of Ions on Zirconium Oxide Surfaces from Aqueous Solutions at High Temperatures*, J. Solution Chem. 2009, 38, 907.
31. Gierak A.: *Analiza jonów nieorganicznych w wodzie metodą chromatografii jonowej*, Ochrona Środowiska 1997, 2, 19.
32. Rabek T. I.: *Teoretyczne podstawy syntezy polielektrolitów i wymienniczy jonowych*, PWN 1960.
33. Samuelson O.: *Jonity w chemii analitycznej*, PWN, Warszawa 1958.
34. Frianeza-Kullberg T. C.: *Purification of brines with hydrous metal oxide ion exchangers*, Patent US 4855059 A (1989).
35. Suzuki T., Matsunaga H, Yokoyama T.: *Method for the preparation of a high-porosity adsorbent loaded with crystalline hydrous zirconium oxide*, Patent US 6077809 (2000).

36. Cannon F., Chen W., Parette R., Dempsey B., Sun F., Zou J.: *Method for oxyanion removal from ground water*, Patent US 0102562A1 (2006).
37. Suzuki T. M., Bomani J., Matsunaga H., Yokoyama T.: *Preparation of porous resin loaded with crystalline hydrous zirconium oxide and its application to removal of arsenic*, *Reactive & Functional Polymers* 2000, 43, 165.
38. Bortun A., Bortun M., Pardini J., Khainakov S. A., García J. R.: *Effect of competitive ions on the arsenic removal by mesoporous hydrous zirconium oxide from drinking water*, *Materials Research Bulletin* 2010, 45, 1628.
39. Mishra S. P., Singh V. K., Tiwari D.: *Inorganic particulates in removal of toxic heavy metal ions. IV. Efficient removal of zinc ions from aqueous solution by hydrous zirconium oxide*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 1996, 210(1), 207.
40. Rodrigues L. A., Maschio L. J., da Silva R. E.: *Adsorption of Cr(VI) from aqueous solution by hydrous zirconium oxide*, *Journal of Hazardous Materials* 2010, 173, 630.
41. Venkataramani B., Venkateswarlu K. S., Shankar J., Baetsle L. H.: *Sorption properties of oxides. II. Sorption of certain corrosion product cations on hydrous zirconium oxide, thorium oxide and magnetite*, *Proc. Indian Acad. Sci.* 1978, 87 A(12), 415.
42. İnan S., Tel H., Altaş Y.: *Sorption studies of strontium on hydrous zirconium dioxide*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 2006, 267(3), 615.
43. İnan S., Altaş Y.: *Adsorption of strontium from acidic waste solution by Mn-Zr mixed hydrous oxide prepared by co-precipitation*, *Separation Science and Technology* 2010, 45(2), 269.
44. Cygański A., Sołoniewicz R.: *Laboratorium analizy ilościowej. Zeszyt 3: Metody rozdzielania i zagęszczania. Metody instrumentalne. Kolorymetria. Potencjometria. Konduktometria – skrypt Politechniki Łódzkiej*, wyd. II, Łódź 1979.
45. Minczewski J., Marczenko Z.: *Chemia analityczna. Analiza ilościowa – tom 2*, PWN, Warszawa 1985.
46. Fujita K., Takeuchi S., Yamashita H., Nakajima F.: *Method for supporting hydrous metal oxide on carrier*, Patent US 4178270 (1978).

47. Inoue Y., Tani K., Suzuki Y.: *Evaluation of hydrous zirconium oxide loaded porous polymer resin for ion chromatographic separation of carboxylic acids*, *Chromatographia* 1995, 40, 577.
48. Wakamatsu H., Sakurai M., Murakami T., Kumoi S.: *Ion-exchanger, process for production thereof, and process for removal of multiply charged anions employing the ion-exchanger*, Patent US 5948265 A (1999).
49. Bunikowska B., Synowiec P.: *Praca niepublikowana IChN, nr ew. 4200 (2000)*.
50. Joubert P.: *Removal of sulfate ions from saline solutions comprised thereof*, Patent US 5536415 A (1996).
51. Lee J. M., Bauman W. C.: *Removal of sulfate ions from brine using amorphous polymeric zirconium oxide formed within a macroporous polymer matrix*, Patent US 4415678 A (1983).
52. Lee J. M., Bauman W. C.: *Removal of sulfate ions from brine*, Patent US 4488949 A (1984).
53. Weller J. P.: *Hydrous oxide activated charcoal*, Patent US 4692431A (1987).
54. Shiga M., Kano T., Kishi T.: *Method for removing sulfate ions from aqueous solution of alkali metal chloride*, Patent US 5071563 A (1991).
Ulan J. G., Maycock K. R., Drackett T. S., Mok F. M. F.: *Process for removing sulphate from aqueous solution*, Patent US 5618437 A (1997).
55. Lee S., Lee B. C., Lee K. Y., Lee S. H., Iwamoto M.: *Phosphate sorption characteristics of zirconium meso-structure synthesized under different conditions*, *Environmental Technology* 2007, 28, 785.
56. Clarke R., Butler D.: *Compositions and methods for anion absorbent metal hydroxide*, Patent US 20040141904A1 (2004).
57. Zheng Y. M., Lim S. F., Chen J. P.: *Preparation and characterization of zirconium-based magnetic sorbent for arsenate removal*, *Journal of Colloid and Interface Science* 2009, 338, 22.
58. Qureshi S. Z., Ahmad I., Khayer M. R.: *Synthesis and physical studies on a new anion exchange material: zirconium(IV) ethylenediamine and its application to the separation of MoO_4^{2-} from other anionic species*, *Ann. Chim. Sci. Mat.* 1999, 24, 531.
59. Wong R.J.-H.: *Acid Zirconium Phosphate and Alkaline Hydrous Zirconium Oxide Materials For Sorbent Dialysis*, Patent US 20100078387 A1 (2010).

Rozdział 11

ODPADY ELEKTRYCZNE I ELEKTRONICZNE ŹRÓDŁEM ODZYSKU CENNYCH SUROWCÓW

Marta Stechman, Jolanta Miśkiewicz

Instytut Nowych Syntez Chemicznych Oddział Chemii Nieorganicznej
„IChN” w Gliwicach, ul. Sowińskiego 11, 44-101 Gliwice

Zużyty sprzęt elektryczny i elektroniczny, czyli odpady elektryczne i elektroniczne, zwłaszcza elektroniczne są przedmiotem znacznego zainteresowaniem nie tylko z powodu rosnącego strumienia tych odpadów, lecz także ze względu na niebezpieczne a zarazem cenne materiały w nich zawarte.

Sprzęt elektroniczny z punktu widzenia materiałowego to mieszanina różnego rodzaju metali zmieszanych lub pokrytych różnymi typami tworzyw sztucznych czy ceramiki. Metale to przeważnie metale nieżelazne oraz żelazo. Jeżeli chodzi o metale kolorowe to w odpadach występują najczęściej miedź, cynk, aluminium, ołów, nikiel, cyna oraz ich stopy jak też niewielka ilość metali szlachetnych takich jak złoto, srebro, platyna, pallad, rod [1]. Metale szlachetne ze względu na wysoką stabilność chemiczną oraz bardzo dobre właściwości przewodzące mają szerokie zastosowanie przy produkcji urządzeń elektronicznych, zwłaszcza jako styki w przekaźnikach, przełącznikach lub jako czujniki do określania prądu w funkcji temperatury. Wraz z postępowaniem technologicznym w nowoczesnych układach przełączających stosowane są rozwiązania obniżające pobór mocy, a co za tym idzie zawierające zmniejszone ilości metali nieżelaznych i szlachetnych [2]. Niemniej jednak z uwagi na niewielką zawartość platynowców w naturalnych zasobach ziemi, wyczerpywaniu się pierwotnych złóż, znaczne ich rozproszenie jak też na skomplikowanie procesowe technologii pozyskiwania, koszty ich wytwarzania są wysokie. Recykling metali, zwłaszcza szlachetnych, przynosi

wymierne korzyści nie tylko ekologiczne lecz także ekonomiczne, gdyż nie tylko oszczędzane są zasoby naturalne lecz również zmniejszane koszty, ponieważ pozyskiwanie metali w procesach ich odzysku nie generuje zwiększenia wydatków w porównaniu do górniczego pozyskiwania surowca. Ilość energii zużywana w procesach odzyskiwania metali z odpadów elektronicznych stanowi zaledwie 10 – 15% energii zużywanej przy pozyskiwaniu metali z rudy [3, 4, 5, 6, 7]. Stężenie składników w odpadach elektronicznych jest często wyższe niż w źródłach pierwotnych. Dotyczy to nie tylko materiałów, które w odpadach występują w stosunkowo dużym stężeniu np. miedzi, cynku lecz także takich jak metale szlachetne, których stężenie w odpadach jest na poziomie setnych części procenta. Przykładowo złoto w wyrobach komputerowych jest w stężeniu około 0,02%, w telefonach komórkowych 0,03% a w źródłach pierwotnych – rudach na poziomie około 0,0005% [8, 9, 10, 11,12]. Zatem pozyskiwanie metali szlachetnych z wtórnych źródeł takich jak odpady przemysłowe czy też odpady elektroniczne nabiera znaczenia priorytetowego [1,2], zwłaszcza że na światowych rynkach utrzymują się stosunkowo wysokie ceny metali szlachetnych. Zmiany średniorocznych cen metali szlachetnych w latach 2005 – 2017 przedstawiono poniżej.

Tabela 1. Ceny metali szlachetnych w latach 2005 – 2017, USD/oz

Rok	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Metal													
Platyna	900	1100	1200	1600	1250	1650	1850	1600	1515	1400	1057	973	960
Złoto	425	600	675	900	975	1175	1450	1700	1460	1250	1200	1280	1260
Pallad	255	325	350	400	255	475	825	675	720	795	625	630	835
Srebro	-	-	-	-	-	-	37,1	31,3	25	18,5	15,8	17,1	16,7

Obserwowano dynamiczne zmiany cen metali szlachetnych na rynkach światowych; do 2011 roku występował systematyczny wzrost cen metali szlachetnych, natomiast od 2012 roku notowane są spadki cen na platynę i srebro, a w przypadku złota spadek rejestrowany jest od 2013 r., natomiast

w przypadku palladu notowany jest wzrost z równoczesnymi wahaniami cen w latach 2012-2017, oscylują one w granicach 625 do 835 USD/oz.

W tym przełomowym 2011 roku światowa produkcja złota wynosiła 4000 ton z czego z odzysku otrzymano 1600 ton. Roczne światowe zapotrzebowanie na platynę kształtuje się na poziomie 230 ton z czego metal odzyskiwany to 54 tony; zapotrzebowanie na pallad to blisko 250 ton z czego ponad 10% pochodzi z recyklingu.

W ostatnich latach sprzęt elektroniczny stał się wszechobecny i konsumpcja tego typu urządzeń rośnie lawinowo. Równocześnie z wzrastającą podażą i popytem na wyroby elektroniczne rośnie strumień elektroodpadów, który jest jednym z najszybciej narastających na świecie. Szacuje się, że tylko w 2009 roku powstało około 53 mln ton odpadów elektronicznych, z czego około 13% poddano recyklingowi. Równocześnie odpady elektroniczne zmieniają się wraz z postępem technologii i ilości metali szlachetnych i kolorowych w złomie elektronicznym ulegają systematycznej obniżce [13].

Obecnie w Unii Europejskiej każdy mieszkaniec rocznie wytwarza około 17 – 20 kg odpadów elektrycznych i elektronicznych a ilość ich ciągle wzrasta. Bardzo istotnym problemem jest zróżnicowany skład chemiczny tego typu odpadów, dlatego też zarządzanie nimi jest niezmiernie ważne a w zasadzie niezbędne. Odpady elektroniczne są obiektem dużego zainteresowania nie tylko z uwagi na lawinowo rosnący ich strumień, lecz również z uwagi na materiały, które są w nich zawarte. Polityka UE dotycząca postępowania z ciągle rosnącym strumieniem odpadów elektronicznych jest w miarę racjonalna, gdyż w pierwszej kolejności zachęca do ponownego użycia sprzętu, potem odzysku materiałów poprzez techniki recyklingu a na końcu składowania lub spalania.

Stan prawny w Unii Europejskiej od 27.01.2003 r. reguluje uchwalona przez Parlament Europejski Dyrektywa 2002/96/WE, której głównym celem jest ograniczenie ilości zużytych sprzętów elektrycznych i elektronicznych poprzez ponowne użycie i recykling. Na państwa Unii Europejskiej nałożono także obowiązek projektowania i produkcji urządzeń, pozwalający na łatwy demontaż i odzysk. Ponowne wykorzystanie sprzętu, którego życie dobiegło końca, jest priorytetem zarządzania odpadami elektronicznymi i elektrycznymi, gdyż żywotność sprzętów jest przedłużona a objętość odpadów zredukowana. Przetwarzanie to proces, w którym zużyte produkty są demontowane, oczyszczane, naprawiane lub odnawiane, testowane i wprowadzane do produkcji nowego lub prawie nowego sprzętu.

Przeniesieniem Dyrektywy 2002/96/WE na stan prawny w Polsce jest ustawa o zużytych sprzęcie elektrycznym i elektronicznym z 29.07.2005 r. D.U. nr 190

poz. 1495. Zawiera ona podział odpadów na 10 grup wskazując najważniejsze ich rodzaje. Sprzęt elektroniczny znalazł się głównie w grupach 3 i 4; grupa 3 obejmuje sprzęt teleinformatyczny i telekomunikacyjny, grupa 4 sprzęt audiowizualny. Obejmują zatem one komputery, laptopy, notebooki, e-pady, drukarki, sprzęt kopiujący, kalkulatory, maszyny do pisania, terminale, faksy, telefaksy, telefony, automaty telefoniczne, odbiorniki radiowe, telewizyjne, sprzęt wideo, sprzęt hi-fi, wzmacniacze dźwięku, instrumenty muzyczne itp. Oprócz tego w grupach 5 – 10 również mogą znajdować się odpady elektroniczne.

Od stycznia 2009 r. obowiązuje nowelizacja ustawy, która ma za zadanie dopracować system i umożliwić zebranie 4 kg zużytego sprzętu na 1 mieszkańca zgodnie z Dyrektywą Unijną, która obowiązuje od 1 stycznia 2008 r. Sytuacja w Polsce na rynku odpadów elektrycznych i elektronicznych jest niestety gorsza niż w UE, bo do 2009 r. nie udało się zebrać 4 kg odpadów na 1 mieszkańca a tylko 2,7 kg, niemniej jednak z roku na rok strumień odpadów wprowadzanych na rynek wzrasta i tendencja ta według prognoz powinna się utrzymywać. Przyczyną tego stanu jest nie tylko rozwój techniczny i technologiczny urządzeń elektronicznych, lecz również rosące z ogromną dynamiką zapotrzebowanie na nowoczesne urządzenia wyposażone w sterowniki elektroniczne. Parlament Europejski reagując na szybkie zmiany rynku w 2012 roku uchwalił kolejną Dyrektywę dotyczącą zużytego sprzętu elektrycznego i elektronicznego (WEEE) 2012/19/UE. Zaimplementowaniem zapisów Dyrektywy do prawa krajowego jest ustawa o zużytym sprzęcie elektrycznym i elektronicznym z dnia 11 września 2015 r. D.U. 2015, nr. 0, poz. 1688 (obowiązująca od 1 stycznia 2016 r.), która określa środki służące ochronie środowiska i zdrowia ludzi przez zapobieganie niekorzystnym skutkom wytwarzania zużytego sprzętu elektrycznego i elektronicznego, zwanego dalej „zużytym sprzętem” i gospodarowania nim lub przez ograniczanie tych skutków oraz ogólnych skutków wykorzystania zasobów i poprawę efektywności ich wykorzystania.

Udostępnianie na rynku sprzętu odbywa się zgodnie z obowiązującymi w ustawie obowiązkami zbliżonymi do tych zawartych w nowelizacji poprzedniej ustawy z lipca 2015 r.

Zapisy ustawy powinny przyczynić się do zwiększania masy zbieranego zużytego sprzętu, gdyż art. 20 ustawy wskazuje, że wprowadzający sprzęt jest zobowiązany do osiągnięcia minimalnych rocznych poziomów zbierania zużytego sprzętu, które wynoszą:

- od dnia 1 stycznia 2018 do 31 grudnia 2020 r. nie mniej niż 40% średniorocznej masy sprzętu wprowadzanego na rynek, a w przypadku

sprzętu należącego do grupy 3 (lampy) nie mniej niż 50% średniorocznej masy sprzętu wprowadzanego do obrotu,

- od dnia 1 stycznia 2021 r. nie mniej niż 65% średniorocznej masy sprzętu wprowadzanego do obrotu lub 85% masy zużytego sprzętu wytworzonego na terytorium kraju.

Przy czym w obliczaniu nie uwzględnia się masy zużytego sprzętu powstałego ze sprzętu, który nie został wprowadzony do obrotu oraz odpadów poprodukcyjnych. Obliczanie minimalnego poziomu zbierania zużytego sprzętu do dnia 31 grudnia 2020 r. prowadzony jest oddzielnie dla każdej grupy sprzętu, z której powstał ten zużyty sprzęt, wg wzoru:

$$P_z = \frac{M_z}{M_w} \cdot 100$$

przy czym:

$$M = \frac{R_1 + R_2 + R_3}{3}$$

gdzie:

P_z – minimalny roczny poziom zbierania [%],

M_z – masa zebranego zużytego sprzętu powstałego ze sprzętu wprowadzonego do obrotu w danej grupie w roku kalendarzowym,

M_w – średnioroczna masa sprzętu wprowadzona do obrotu w danej grupie poprzedzająca dany rok,

R_1, R_2, R_3 – masa sprzętu wprowadzonego do obrotu w danej grupie w trzech latach poprzedzających.

Ustawa w załączniku 1 definiuje również grupy sprzętu.

1. Sprzęt działający na zasadzie wymiany temperatury.
2. Ekran, monitory i sprzęt zawierający ekrany o pow. powyżej 100 cm².
3. Lampy.
4. Sprzęt wielkogabarytowy, którego zewnętrzne wymiary przekraczają 50 cm (przynajmniej jeden wymiar).

5. Sprzęt małogabarytowy, którego żaden zewnętrzny wymiar nie przekracza 50 cm.
6. Małogabarytowy sprzęt informatyczny i telekomunikacyjny, którego żaden zewnętrzny wymiar nie przekracza 50 cm.

Rozwiązania przedstawione w ustawie mają zapewnić nie tylko właściwe zbieranie zużytych urządzeń, lecz również właściwe ich przetwarzanie, tylko w zakładach przetwarzania w celu odzyskania cennych surowców w sposób bezpieczny dla zdrowia i życia ludzi oraz środowiska naturalnego.

Pewną nowością jest wprowadzenie „Autoryzowanego Przedstawiciela”, który będzie odpowiedzialny za wykonanie na terytorium kraju obowiązków określonych ustawą dla wprowadzających sprzęt, w odniesieniu do wprowadzonego do obrotu sprzętu pochodzącego od tego producenta. Autoryzowany przedstawiciel jest wyznaczany w drodze umowy zawartej w formie pisemnej. Może nim być osoba fizyczna, jednostka organizacyjna nieposiadająca osobowości prawnej lub osoba prawna mająca siedzibę na terytorium kraju, w tym organizacja odzysku sprzętu elektrycznego i elektronicznego.

Innym ważnym rozwiązaniem ustawodawcy są zobowiązania finansowe. I tak wprowadzający sprzęt przeznaczony dla gospodarstw domowych jest obowiązany do wniesienia zabezpieczenia finansowego, na dany rok kalendarzowy, przeznaczonego na pokrycie opłaty produktowej. Zabezpieczenie finansowe ma formę depozytu wpłacanego na odrębny rachunek bankowy właściwego urzędu marszałkowskiego prowadzony w BGK, gwarancji ubezpieczeniowej bądź bankowej złożonej do marszałka województwa. Zabezpieczenie finansowe powinno zostać wniesione do 30 czerwca roku którego dotyczy zabezpieczenie. Marszałek województwa w terminie do 30 października roku następującego po roku kalendarzowym, w którym wniesiono zabezpieczenie dokonuje rozliczenia tego zabezpieczenia. W przypadku stwierdzenia, że wprowadzający sprzęt przeznaczony dla gospodarstw domowych, nie osiągnął wymaganego minimalnego rocznego poziomu zbierania zużytego sprzętu, poziomu odzysku lub poziomu przygotowania do ponownego użycia i recyklingu oraz nie wniósł opłaty produktowej, Marszałek województwa podejmuje decyzję o przeznaczeniu środków pochodzących z zabezpieczenia finansowego na poczet pokrycia opłaty produktowej.

Zbieranie oraz transport zużytego sprzętu mogą być dokonywane tylko przez podmioty uprawnione do tych czynności. Przetwarzanie zużytego sprzętu tzn. demontaż oraz przygotowanie do ponownego użycia, oraz przetwarzanie

odpadów powstałych po demontażu zużytego sprzętu prowadzi się wyłącznie przy zastosowaniu najlepszych dostępnych technik. Zakład przetwarzania musi być wyposażony w legalizowane urządzenia ważące, magazyn na odpady, pojemniki do magazynowania baterii, akumulatorów, kondensatorów itp., nieprzepuszczalne podłoża, urządzenia do oczyszczania wody, instalacje umożliwiające przetworzenie zużytego sprzętu oraz urządzenia umożliwiające wyeliminowanie substancji zubożających warstwę ozonową.

Działalność w zakresie recyklingu i innych procesów odzysku jest poddawana rejestracji a prowadzący działalność w zakresie recyklingu obowiązany jest do wydania zaświadczenia prowadzącemu zakład przetwarzania przekazującemu odpady do recyklingu.

Wraz ze wzrostem strumienia odpadów elektronicznych i doprecyzowywaniem uwarunkowań prawnych, obserwowany jest dynamiczny wzrost badań nad metodami odzysku metali zarówno z odpadów elektronicznych jak i elektrycznych.

Można wyróżnić trzy główne metody odzysku:

- pirometalurgiczne metody przetwarzania odpadów elektrycznych i elektronicznych,
- hydrometalurgiczne metody odzysku metali z odpadów elektronicznych,
- biotechnologiczne metody odzysku metali.

Bez względu na stosowaną metodę odzysku konieczne jest przeprowadzenie wstępnego demontażu odpadów z rozdziałem na części do ponownego wykorzystania, elementy toksyczne, które muszą być traktowane w sposób specjalny, oraz rozmontowanie urządzeń na elementy składowe nadające się do przetwarzania.

METODY DEMONTAŻU Z WYODRĘBNIENIEM CENNYCH SKŁADNIKÓW

Proces technologiczny odzysku metali w tym także szlachetnych z elektroodpadów składa się z wielu etapów. W pierwszym etapie odpady elektroniczne są rozmontowywane i poddawane segregacji na elementy elektroniczne i resztę części takich jak: kineskopy, obudowy, kable itp. Należy zaznaczyć, że pierwszy etap przygotowania dotyczy wszystkich metod odzysku. W przypadku stosowania metod pirometalurgicznych nie ma konieczności głębokiego rozfrakcjonowywania odpadów elektronicznych, gdyż tworzywa sztuczne w nich zawarte będą pełniły rolę reduktorów zastępując część koksu

w procesie. Jednak usunięcie z odpadów elementów zawierających szkło i ceramikę jest niezbędne dla zachowania sprawności procesu i nie zwiększania ilości odpadów w postaci żużla.

W przypadku stosowania procesów hydrometalurgicznych konieczne jest zastosowanie głębokiego przygotowania. Odpady elektroniczne składają się z wyrobów różnego pochodzenia z różnych etapów rozwoju technologii, zatem mogą się one różnić znacząco. W zależności od czasu powstania urządzenia instalowane na płytkach były montowane z zastosowaniem różnych technik np: lutowanie przewlekłe, lutowanie powierzchniowe, połączenia śrubowe, połączenia nitowe, podstawki itp. Do demontażu należy zastosować technikę odpowiednią do zastosowanego montażu. Najczęściej stosowane są dwie metody demontażu; demontaż selektywny i jednoczesny. W przypadku demontażu selektywnego następuje rozpoznawanie i odszukanie określonego elementu, określenie jego współrzędnych i zastosowanych połączeń i selektywny demontaż. W przypadku demontażu jednoczesnego płytka jest podgrzewana w celu wylutowania wszystkich elementów i następnego jednoczesnego ich usunięcia. Dodatkowym procesem koniecznym w przypadku jednoczesnego demontażu jest sortowanie zdemontowanych elementów. Może być on oparty o takie kryteria jak: elementy do ponownego wykorzystania, geometria, gęstość, właściwości magnetyczne, niebezpieczne, zawierające metale szlachetne do dalszej utylizacji. Elementy elektroniczne po demontażu i wstępnej segregacji, oraz po usunięciu w II etapie elementów zawierających metale żelazne czy też kolorowe np. aluminium, będą w III etapie poddawane wielostopniowej obróbce mechanicznej. Do takiej obróbki trafiają płyty główne komputerów, karty graficzne, płytki telefonów komórkowych, mikroprocesory, płytki innych wyrobów elektronicznych np. drukarek, analizatorów itp. W wyniku rozdrabniania i wielostopniowej separacji elektrostatycznej i magnetycznej, uzyskuje się rozdzielenie zmielonego materiału na trzy frakcje:

- niemetaliczną; zawierającą głównie tworzywa sztuczne i ich wypełniacze,
- ferromagnetyczną; zawierającą metale żelazne,
- metali nieżelaznych; zawierającą metale kolorowe i szlachetne.

Konieczność wielostopniowego przygotowania odpadów elektronicznych potwierdzają dane o zawartości metali w odpadach PCB. Poniżej przedstawiono informacje odnośnie zawartości metali w różnych odpadach PCB na podstawie danych literaturowych (tabela 2).

Tabela 2. Zawartość metali w różnych odpadach PCB

Lp.	Zawartość metalu	Pozycja bibliograficzna								
		[14,15]	[16-18]	[19]	[20,21]	[22]	[23,24]	[25]	[26]	[27]
1	miedź, Cu %	23,73	23,47	20	20	26,8	10	15,6	22	17,85
2	glin, Al %	4,7	1,33	5	2	1,9	7	-	-	4,78
3	ołów, Pb %	4,48	0,99	1,5	2	-	1,2	1,35	1,55	4,19
4	cynk, Zn %	0,75	1,51	-	1	1,5	1,6	0,16	-	2,17
5	nikiel, Ni %	3,32	2,35	1	2	0,47	0,85	0,28	0,32	1,63
6	żelazo, Fe %	7,47	1,22	7	8	5,3	12	1,4	3,6	2,0
7	cyna, Sn %	3,65	1,54	-	4	1,0	-	3,24	2,6	5,28
8	antymon, Sb %	1,82	-	-	0,4	0,06	-	-	-	-
9	złoto, Au ppm	800	570	250	1000	80	280	420	350	350
10	platyna, Pt ppm	-	30	-	-	-	-	-	-	4,6
11	srebro, Ag ppm	800	3301	1000	2000	3300	110	1240	-	1300
12	pallad, Pd ppm	210	294	110	50	-	-	10	-	250
13	Całkowita zawartość %	~50	~33	~35	~40	~40	~21	~22	~30	~38

Metale stanowią od 21 do 50% masy analizowanych odpadów, przy czym zawartość miedzi waha się w przedziale 10 – 26,8%, a żelaza w granicach od 1,22 do 12%. Udział pozostałych metali jest na nieco niższych poziomach, natomiast udział metali szlachetnych nie przekracza 0,1%.

PIROMETALURGICZNA METODA PRZETWARZANIA ODPADÓW ELEKTRYCZNYCH I ELEKTRONICZNYCH

Pirometalurgiczna metoda odzysku metali jest metodą dość popularną w ostatnich trzech dekadach. Polega ona na spalaniu i wytapianiu w plazmowym piecu łukowym lub wielkim piecu hutniczym lub stopionej kąpeli, wysegregowanych i rozdrobnionych elementów elektroodpadów. Jest to metoda odzysku nie tylko metali nieżelaznych, lecz także metali szlachetnych [28, 29,

30, 31, 32, 33]. Należy jednak podkreślić, że tą metodą mogą być utylizowane odpady w ilości nieprzekraczającej 10 – 15% całkowitej wydajności huty. Resztę stanowią koncentraty miedzi lub surówka i koncentraty ołowiu (w przypadku huty ołowiu) ewentualnie surówka cynku (w przypadku huty cynku). Niemniej jednak pomimo ograniczeń metodą tą można rocznie przerabiać nawet 100 tys. ton odpadów elektronicznych w jednym miejscu.

Pirometalurgiczne metody odzysku metali z odpadów elektronicznych, zastosowane do odzysku metali szlachetnych, są obarczone ograniczeniami. Metale szlachetne uzyskiwane są na samym końcu procesu, elementy ceramiczne i szklane zwiększają ilość żużla a tym samym zwiększają straty metali szlachetnych oraz nie można odzyskiwać metalicznego glinu i żelaza gdyż koncentrują się one w żużlu. Dodatkową uciążliwością są wydzielane toksyczne gazy w tym dioksyny, spowodowane obecnością tworzyw sztucznych i zawartych w nich halogenowych opóźniaczy palenia. Należy jednak podkreślić, że metody te stosowane są w warunkach przemysłowych z dużym powodzeniem. Przykładem mogą być rozwiązania takie jak: proces Noranda stosowany w Quebecu w Kanadzie lub Boliden Rönnsker Smelter Ltd w Szwecji z wykorzystaniem pieca Kaldo, czy też metoda jednoczesnego wytopiania i rafinacji stosowana w Belgii w Hucie Unicore.

Metodą pirometalurgiczną praktycznie wykorzystaną w Hucie w Quebecu (Kanada), przerabia się około 100 000 ton zużytego sprzętu elektronicznego rocznie. Stanowi to 14% całkowitej jej wydajności, resztę stanowią koncentraty miedzi. Materiały wchodzące do reaktora zostają zanurzone w kąpeli stopionej metalicznej miedzi o temperaturze 1250°C, która następnie utleniana jest sprężonym powietrzem (do zawartości 39% tlenu). Otrzymywane w mieszanej strefie utleniania metale takie jak żelazo, ołów i cynk są w postaci tlenkowej, która z krzemionką tworzy żużel. Żużel po ochłodzeniu i rozdrobnieniu poddawany jest procesom umożliwiającym odzysk metali przed utylizacją, natomiast miedź zawierająca cenne metale jest usuwana do konwertorów i następnie rafinowana. Dzięki elektrorafinacji odzyskiwane są metale szlachetne, stanowiące zanieczyszczenia takie jak złoto, srebro, platyna i pallad oraz selen, tellur, nikiel jak też miedź o wysokiej czystości.

Innym przykładem przetwarzania pirometalurgicznego elektrośmieci jest firma Boliben Ltd w Szwecji, wykorzystująca opatentowany reaktor Kaldo. Do pieców Kaldo trafia rocznie 100 000 ton zmielonych elektrośmieci, które zmieszane z surówką i koncentratami ołowiu są poddawane procesowi topienia. Gazy odlotowe są poddawane dodatkowemu spalaniu w powietrzu w temperaturze ok. 1200°C w tzw. spalaniu wtórnym, przy czym standardowo energia cieplna jest

odzyskiwana przez sieć parową. W piecach Kaldo otrzymywany jest stop miedzi, kierowany do konwersji w celu odzysku metali: Cu, Ag, Au, Pd, Ni, Se, Zn oraz pyły, kierowane do odzysku takich metali jak: Pb, Sb, W, Cd.

W ostatnich latach firma Unicore opublikowała informacje dotyczące procesu rafinacji metali szlachetnych w Hoboken (Belgia), który koncentruje się na odzysku metali szlachetnych z elektroodpadów. Zakład przetwarza 250 000 ton różnych odpadów rocznie, które stanowią 10% surowki. Pierwszym procesem w odzysku metali szlachetnych jest wytop odpadów w piecu „Isa Smelt”. Tworzywa sztuczne i inne organiczne substancje, zawarte w elektrośmieciach zastępują częściowo koks, zarówno czynnik redukujący jak i źródło energii.

Huta oddziela metale szlachetne w sztabkach miedzi oraz żużłu ołowianym, który poddawany jest dalszej obróbce. Sztabki miedzi są przetwarzane elektrolitycznie przez rafinację miedzi i metali szlachetnych odzyskując czystą miedź i metale szlachetne.

Żużel ołowiany poddawany jest przetwarzaniu polegającym na rafinacji ołowiu w hutniczym piecu ołowiowym, w którym redukuje się utleniony żużel ołowiowy z „Isa Smelt” wraz z surowcami zawierającymi duże ilości ołowiu z innych źródeł. W wyniku uzyskuje się zanieczyszczone sztabki ołowiu, kamień arsenowy, kamienie miedziove i zubożony żużel. Zanieczyszczone sztabki ołowiu zawierające metale szlachetne są dalej przetwarzane w rafinerii metodą Harrisa. Należy zauważyć, że odnotowuje się pozostałości metali specjalnych takich jak ind, tellur, selen uzyskiwanych w procesie rafinacji ołowiu. Metale te są odzyskiwane w specjalnej rafinerii. Technologia odzysku metali firmy Unicore składa się z kilku etapów, w tym metod pirometalurgicznych, procesu hydrometalurgicznego jak też metody elektrochemicznej. W wyniku odzyskuje się metale nieszlachetne, metale szlachetne, metale z grupy platynowców oraz metale specjalne.

Huta Unicore jest jednym z największych na świecie zakładów odzyskujących metale szlachetne o możliwości przerobu: 50 t Pt/rok, 100 t Au/rok, 2400 t Ag/rok.

Ciekawym rozwiązaniem dotyczącym pirometalurgicznego odzysku metali z elektroodpadów są wyniki uzyskane w 2004 r. w badaniach sponsorowanych przez Boliden Minerals AB, Europejskie Stowarzyszenie Producentów Tworzyw Sztucznych (APME) i Amerykańską radę Plastików (APC) [29].

Do badań zastosowano złom z komputerów osobistych (PC), który wprowadzano z surowką do pieca oddymiania cynku. Złom PC po usunięciu przez demontaż elementów zawierających Hg poddawano rozdrobnieniu i obróbce wstępnej, polegającej na magnetycznej separacji żelaza. Rozdrobniony

złom (~30 mm) mieszano ze skruszonym żużłem w stosunku masowym 50 : 50. Tworzywa sztuczne zawarte w złomie z PC wraz z miałem pełniły funkcje czynników redukujących, ułatwiających oddymianie cynku, ołowiu, arsenu i metali związanych. Miedź i metale szlachetne z odpadów elektronicznych wędrują do kolektora miedzi i następnie do huty miedzi w celu odzysku miedzi i metali szlachetnych. Wg raportu z APME przedstawionym powyżej sposobem można uzyskać niemal całkowity odzysk miedzi i metali szlachetnych.

Omówione powyżej pirometalurgiczne metody odzysku metali z odpadów elektronicznych, choć były od lat stosowane w praktyce do odzysku metali szlachetnych, charakteryzują się niestety pewnymi ograniczeniami;

- nie można odzyskiwać metalicznego glinu i żelaza gdyż znajdują się one w żużlu,
- obecność środków opóźniających palenie, zwłaszcza halogenowych, znajdujących się w tworzywach może prowadzić do powstawania dioksyn,
- elementy ceramiczne i szklane z elektroodpadów zwiększają ilość żużla, co zmniejsza odzysk metali szlachetnych ze złomu,
- metale szlachetne w procesie pirometalurgicznym otrzymywane są na samym końcu procesu.

TECHNIKI HYDROMETALURGICZNEGO ODZYSKU METALI Z ODPADÓW ELEKTRONICZNYCH

W ciągu ostatnich trzech dekad najbardziej aktywnym obszarem badań nad odzyskiem metali z elektronicznych odpadów są techniki hydrometalurgiczne, które w porównaniu z metodami pirometalurgicznymi są bardziej dokładne, przewidywalne i łatwiejsze w prowadzeniu.

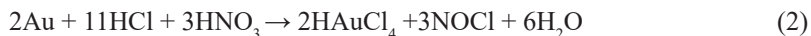
Hydrometalurgiczna metoda odzysku polega na kwasowym lub alkalicznym ługowaniu materiału odpadowego, rozdzielaniu i oczyszczeniu uzyskanego roztworu sposobami takimi jak strącanie zanieczyszczeń, ekstrakcja rozpuszczalnikiem, adsorpcja i wymiana jonowa. Operacje te są ukierunkowane na wyizolowanie i skoncentrowanie pożądaných metali. Hydrometalurgiczna metoda odzyskiwania metali z elektroodpadów składa się zasadniczo z dwu etapów; pierwszy polega na skutecznym wyługowaniu cennych składników do roztworu, drugi natomiast koncentruje się na odzyskiwaniu metali szlachetnych z roztworów z wysoką sprawnością [1, 14, 15, 17, 19, 22, 16, 34, 35]. Biorąc pod uwagę składy odpadowych płytek PBS (tabela 2) należy podkreślić niewielki udział metali szlachetnych w tych odpadach w porównaniu z metalami

kolorowymi. Do odzyskiwania metali szlachetnych z odpadów elektronicznych oprócz wstępnej obróbki fizycznej niezbędna jest wstępna obróbka chemiczna polegająca na rozpuszczeniu metali korowych takich jak miedź, ołów, cyna pozostawiając metale szlachetne w osadzie.

Ługowanie jest zatem pierwszym etapem hydrometalurgicznej obróbki odpadów elektronicznych. Najczęściej stosowane substancje w procesie ługowania do wstępnej obróbki chemicznej to kwas azotowy, kwas siarkowy i nadtlenek wodoru. Andrea Mecucci [36] do wstępnej obróbki chemicznej PCB stosował kwas azotowy o stężeniu 1 – 6 mol/L. W wyniku działania kwasu ekstrakcji podlegała miedź i ołów, natomiast wytrącanie cyny w postaci metastabilnego kwasu H_2SnO_3 obserwowano przy stężeniu kwasu powyżej 4 mol/L. Badaniami nad wpływem stężenia kwasu azotowego na szybkość rozpuszczania metali zajmowali się także autorzy publikacji [37]. Wykazali oni, że szybkość rozpuszczania metali rośnie ze stężeniem kwasu azotowego, przy czym stwierdzili, że miedź nie rozpuszcza się przy stężeniu kwasu poniżej 2,73 mol/L, natomiast inne metale nie wykazują takiego ograniczenia. Przy stężeniu kwasu azotowego na poziomie 4,55 mol/L (co odpowiada stężeniu 28,7%) stopień roztwarzania miedzi, żelaza i cynku wynosi odpowiednio 50, 80 i 93%.

Tradycyjnym medium używanym do rozpuszczania złota i platynowców jest kwas solny, azotowy, (woda królewska – kwas solny + azotowy 1: 3), halogenki, cyjanki, tiomocznik, tiosiarczan.

Reakcje zachodzące podczas stosowania wody królewskiej, mieszaniny stężonych kwasów solnego i azotowego, można przedstawić za pomocą następujących reakcji chemicznych;



Znane jest także zastosowanie systemów halogenków do ekstrakcji złota [5, 6, 7, 38, 39, 40, 41,42]. Złoto zarówno na pierwszym jak i trzecim stopniu utlenienia [Au(I) i Au(III)] tworzy z chlorkami, bromkami i jodkami kompleksy. Na skalę przemysłową stosowane są chlor/ chlorki, przy czym szybkości chlorowania są lepsze przy niskim odczynie (pH), wysokim stężeniu chloru i chlorków, podniesionej temperaturze i dużych powierzchniach kontaktu. Ługowanie złota za pomocą chlorków jest trudniejsze w aplikacji niż ekstrakcja za pomocą cyjanków, z powodu wysoce korozyjnych warunków ekstrakcji (środowisko kwaśne i warunki utleniające) oraz toksycznego działania chloru.

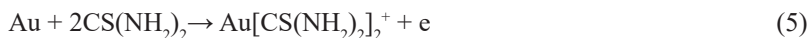
Niemniej jednak roztwory cyjanku też wykazują właściwości toksyczne, dlatego też metoda ługowania złota cyjankami wykorzystywana od ponad wieku jest metodą schodzącą. Przyczyną tego stanu był szereg wypadków środowiskowych w różnych kopalniach złota, które spowodowały poważne zanieczyszczenie rzek i wód gruntowych. Wykorzystywanie cyjanku jako substancji ługującej jest w zaniku, trwają poszukiwania innych, mniej toksycznych, substancji ługujących.

Proces ługowania złota cyjankami można przedstawić za pomocą następujących reakcji chemicznych;



Badania Dorin'a i Woods'a dotyczące wpływu odczynu na szybkości rozpuszczania metali szlachetnych (złota, srebra, palladu i platyny) w roztworze cyjanków wykazały, że maksymalny stopień rozpuszczania uzyskuje się w środowisku alkalicznym przy pH 10 – 10,5, a szereg aktywności metali szlachetnych wyglądał następująco: Au>Ag>Pd>Pt.

Metodą wschodzącą jest stosowanie do ekstrakcji złota tiomocznika $[(\text{NH}_2)_2\text{CS}]$. Wg informacji literaturowych wyniki badań dla tego czynnika ługującego w stosunku do złota zawartego w rudach okazały się obiecujące. W środowisku kwaśnym tiomocznik rozpuszcza złoto tworząc kationowy kompleks. Reakcję można przedstawić za pomocą następującego równania;

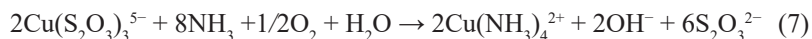


Badania Pyper'a i Hendrix'a wykazały, że szybkość ługowania zależy od stężenia tiomocznika i utleniacza jak też od odczynu układu. Wykazano, że zastosowanie żelaza w kwasie siarkowym jest skutecznym sposobem, gdyż jony żelaza wiążą się z tiomocznikiem w kompleksy.

Porównanie ługowania złota z rudy tiomocznikiem i cyjankami wykazało, że stopień wyługowywania złota za pomocą tiomocznika wynosi tylko, 75% przy czym zużycie tiomocznika i siarczanu żelaza jest duże, co stanowi istotną wadę z ekonomicznego punktu widzenia. Mimo stosunkowo dobrej skuteczności tiomocznika, jako czynnika ługującego złoto, jego zastosowanie

przemysłowe jest utrudnione, ze względu na wysokie zużycie czynnika ługującego, co negatywnie wpływa na ekonomikę procesu odzysku. Uważa się jednak, że wysokie koszty związane z ługowaniem wynikają prawdopodobnie z początkowej fazy rozwoju techniki ługowania tiomocznikiem

Kolejnym czynnikiem stosowanym do ługowania złota jest tiosiarczan amonu. Panuje pogląd, że rozpuszczanie złota w amoniakalnym roztworze tiosiarczanu jest reakcją elektrochemiczną, katalizowaną przez obecność jonów miedziowych. Elektrochemiczno-katalityczny mechanizm ługowania złota przez tiosiarczan amonowy badany był przez Aylmore'a i Muir'a. Zaproponowali oni mechanizm, który w uproszczeniu można przedstawić następującymi równaniami:



Utworzony kompleks złota z tiosiarczanem jest dość stabilny, jednak konieczne jest środowisko alkaliczne w celu przeciwdziałania rozkładowi tiosiarczanu. Zakres pH wyznacza bowiem odczyn buforu amonowego (9,25 pH) w temperaturze 25°C z uwagi na konieczność zapewnienia obecności amoniaku w układzie, dla wytworzenia kompleksu Cu^{2+} – amoniak.

Stabilność tiosiarczanu zmniejsza się wraz z podwyższeniem temperatury i obniżeniem odczynu układu. Korzystny odczyn układu mieści się w granicach 9 – 10 pH, ponieważ w tym zakresie zarówno tiosiarczan jak i amoniakalny kompleks $\text{Cu}(\text{II})$ są stabilne.

Problemem przy ługowaniu złota tiosiarczanem amonu jest wysokie zużycie czynnika podczas ekstrakcji. Literatura podaje, że nawet do 50% tiosiarczanu jest tracone z amoniakalnych roztworów zawierających miedź. Co więcej, proces ekstrakcji jest zazwyczaj powolny, pomimo stosowania jako utleniacza miedzi na drugim stopniu utlenienia.

W chwili obecnej nie ma prostej i niedrożej metody odzyskiwania złota z ługowania tiosiarczanem. Pomimo korzyści dla środowiska, metoda tiosiarczanowa jest nieekonomiczna z uwagi na wysokie zużycie czynnika ługującego.

Omówione powyżej metody hydrometalurgiczne dotyczą przeprowadzenia metali szlachetnych z fazy stałej do roztworów. W tablicy 3 przedstawiono stopień komercjalizacji alternatywnych w stosunku do cyjanków czynników stosowanych do ekstrakcji złota.

Tabela 3. Alternatywne czynniki stosowane do ekstrakcji złota

Rodzaj czynnika	Stopień koncentracji	Odczyn układu pH	Stan komercjalizacji
Amoniak	wysoki	8-10	pilot test
Amoniak/cyjanki	niski	9-11	aplikacja Cu/Au
Tiosiarczan amonu	wysoki	8,5-9,5	pół przemysłowe
Zawiesiny CN-elektrolizy	niski	9-11	ograniczony do historycznego
Siarcezek sodu	wysoki	8-10	tylko dla zastosowań geologicznych
a-hydroksynitryle (pochodne cyjanowodoru)	umiarkowany	7-8	brak
	umiarkowany	8-9	brak
Propenodinitryle	słabo określony	~9	brak
Alkaliczne organiczne cyjanki	słabo określony	~9	brak
Cyjanki wapnia	wysoki	8-9	brak
Podchloryny/chlorki	wysoki chlorki	6-6,5	znaczenie historyczne,
	wysoki	6-7	modernizacja znaczenie historyczne
Bromocyjanki			
Jodki	wysoki	3-10	brak
Wodorosiarczany/tlenki siarki	wysoki	4-5	brak
Bakterie	wysoki	7-10	brak
Neutralne kwasy organiczne	wysoki	5-6	brak
Dimetylosulfotlenek DMSO	słabo określony	7	brak
Dimetyloformamid DMF	wysoki	1-3	znaczenie historyczne
Brom/bromki	wysoki	1-2	do częściowej koncentracji
Tiomocznik	wysoki	1-2	do częściowej koncentracji
Rodanki (tiocyjaniany)	niski	1-3	brak
Woda królewska	wysoki	~1	znaczenie analityczne
Kwaśny chlorek żelaza	wysoki	~1	elektroliza Cu
Chlorowanie w wys. temperaturach	wysoki	6-7	znaczenie historyczne

Drugim etapem metody hydrometalurgicznej jest wydzielanie metali szlachetnych z roztworów poekstrakcyjnych. Koncentruje się on na

wysokosprawnym odzyskiwaniu metali szlachetnych z roztworów. Można do tego celu stosować różne techniki takie jak np. cementację, ekstrakcję, adsorpcję na węglu aktywnym czy wymianę jonową.

Należy tutaj zaznaczyć, że procesy odzysku metali szlachetnych, głównie złota i srebra, były znane wcześniej, gdyż stosowano je do odzyskiwania złota z roztworów uzyskiwanych w kopalniach. Przykładowo metoda cementacji cynkowej została zastosowana do odzyskiwania złota z roztworów cyjanków na skalę przemysłową już w 1890 roku. Proces stosowany był na całym świecie pod nazwą *Merill-Crowe process*.

Mechanizm procesu można przedstawić za pomocą następujących równań elektrochemicznych:



Zatem na katodzie zachodzi osadzanie złota natomiast na anodzie cynkowej następuje rozpuszczanie cynku zwane także anodową korozją cynku. W praktyce, jeżeli w układzie jest zbyt niskie stężenie cynku to na powierzchni cynku może utworzyć się warstewka pasywacyjna z wodorotlenku cynku. Praktycznie osadzanie złota jest stałe w zakresie pH 8 – 11, niemniej jednak obecność zanieczyszczeń w układzie takich jak ołów, miedź, nikiel, arsen, antymon i siarka są szkodliwe dla odzysku.

Odzyskiwanie złota z roztworów tiomocznika, tiosiarczynu lub tiocyjanianu przez redukcyjne wytrącanie złota za pomocą stabilizowanego borowodoru sodu (SBH) opisali Awadalla and Ritcey [19]. W badaniach stosowano borowoderek w postaci stabilizowanego wodnego roztworu zawierającego 12% wag. NaBH_4 i 40% NaOH. Wyniki wykazały, że jony złota mogą być efektywnie zredukowane do złota metalicznego z kwaśnych roztworów tiomocznika przez dodanie SBH nawet w temperaturze otoczenia, w dość szerokim zakresie stężeń (z bardzo rozcieńczonych jak i stężonych roztworów).

Stwierdzono także, że selektywnego odzysku złota można dokonywać z mieszaniny innych jonów w roztworach tiomocznika poprzez kontrolę ilości wprowadzonego czynnika strącającego.

Inną metodą stosowaną do odzysku metali szlachetnych z roztworów jest ekstrakcja rozpuszczalnikowa. Jako czynniki ekstrahujące stosowano pochodne

fosforoorganiczne, pochodne guanidyny jak też różne mieszaniny pochodnych związków aminowych i fosforoorganicznych (Amina pierwszorzędowa – Primene JMT, Primene 81R; Drugorzędowa amina – Adogen 283; Ester fosforowy – TBP; Ester fosfoniowy – DBBP; Tlenki fosfin ($R_3P=O$) – Cyanex 921; Czwartorzędowe sole amoniowe – Hosterex S2706; Pochodna guanidyny – LIX 79 oraz pierwszorzędowa amina + tlenki fosfin – Primene JMT + Cyanex 923).

Ekstrahent LIX 79 umożliwił wydobycie złota z zasadowych nośników cyjanku. Cyjankowy kompleks złota $Au(CN)_2^-$ – jest ekstrahowany lepiej na metalo-cyjano-kompleksach w środowisku alkalicznym.

Ekstrakcja złota z roztworów tiosiarczanu z alkilowymi estrami fosforu badana była przez Zhao i innych [43]. Stwierdzono, że wprowadzenie amoniaku ma silny wpływ na ekstrakcję złota z roztworów tiosiarczanu alkilowymi estrami fosforu. W zależności od obecności bądź nieobecności amoniaku, mechanizm ekstrakcji jest różny, niemniej jednak ilość odzyskiwanego złota w ekstrakcji to zawsze dwie cząsteczki Au w cząsteczce powstającego osadu $\{Na_1Au_2(S_2O_3^{2-})_j(OH^-)(NH_3)_2 \times mTBP\}$ lub $\{Na_1Au_2(S_2O_3^{2-})_j(OH^-)_mTBP\}$.

Do odzyskiwania metali szlachetnych z roztworów można także zastosować adsorpcje na węglu aktywnym. Już w 1946 roku została opatentowana przez McQuistona i Chapmana metoda odzysku złota i srebra z kompleksów cyjankowych na węglu aktywnym. Od tego czasu zostały do tej metody wprowadzone ulepszenia, co spowodowało, że jest to metoda stosowana w warunkach przemysłowych.

Mechanizm i kinetyka adsorpcji złota z roztworów na węglu aktywnym były badane przez wielu badaczy. Do opisu procesów adsorpcji stosowane są na ogół dwa równania izotermiczne: tzw. izoterma Langmuira (10) i izoterma Freundlicha (11).

$$Q = \frac{Q_{max} \cdot b \cdot c}{1 + b \cdot c} \quad (10)$$

gdzie:

Q – to ilość substancji zaadsorbowanej na jednostkę masy węgla

Q_{max} – maksymalna pojemność sorpcyjna

c – stężenie równowagowe adsorbatu w roztworze

b – stała równowagi adsorpcyjnej

$$Q = K \times C^n \quad (11)$$

gdzie:

K to stała Freundlicha.

n (0 < n < 1)

Teoretyczne podstawy równania Freundlicha wyjaśnił Langmuir w 1916 roku: „adsorpcja została osiągnięta, gdy prędkość, z jaką cząsteczki gazu są utrzymywane na powierzchni, równa jest szybkości ich odparowywania z powierzchni”. Dla procesów odzysku złota na węglu aktywnym ma jednak znaczenie opracowany przez La Brooy'a model, który można przedstawić następującym równaniem:

$$\Delta Q = k_e C t^n \quad (12)$$

gdzie:

ΔQ – wzrost ilości złota zaadsorbowanego na węglu aktywnym

C – stężenia złota w roztworze

t – czas

k_e – stałe doświadczalne

Przeprowadzone przez Juareza i Oliveira badania kinetyki adsorpcji złota na węglu aktywnym z roztworów tiomocznika wykazały dobrą zdolność doświadczalnych danych z przedstawionym modelem La Brooy'a, który został opracowany do okresowych badań adsorpcji złota z roztworów cyjanku.

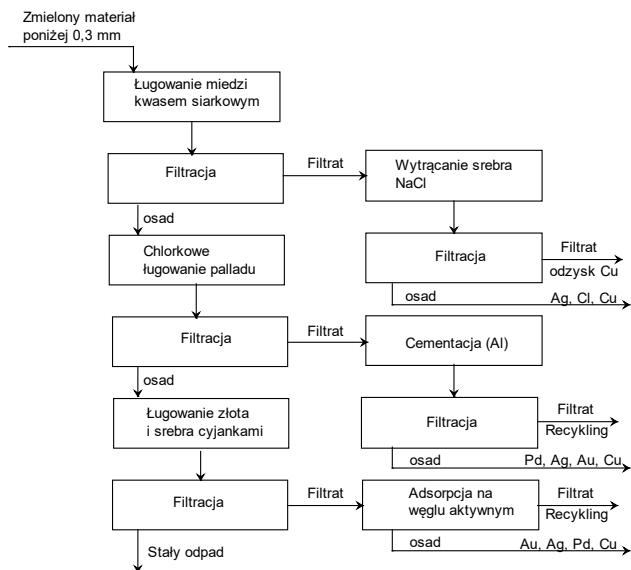
Do odzysku metali szlachetnych oprócz węgla aktywnego można stosować żywice jonowymiennie. I tak do odzysku złota z roztworów tiosiarczanu okazały się przydatne silnie zasadowe żywice IEX zawierające czwartorzędowe sole amoniowe. Odzyskiwanie złota z amoniakalnych roztworów tiosiarczanu zawierających miedź przy użyciu kolumn jonowymiennych prowadzili Zhang i Dreisinger [44, 45]. Badania prowadzono na żywicach z matrycą diwinylobenzenopolistyrenową, zawierającą jako grupy funkcyjne czwartorzędowe sole amoniowe. Stosowano żywice Dowex G51, Dowex 21K i Amberlite IRA-410. Badania wykazały, że w przypadku braku miedzi, złoto może zostać stosunkowo szybko zaadsorbowane na silnie zasadowej żywicy jonowymiennej z roztworów tiosiarczanu, przy czym stopień załadowania jest wysoki.

Niestety obecność miedzi zmniejsza skuteczność sorpcji, ze względu na niestabilność roztworu tiosiarczanu i możliwość tworzenia politionianów.

Thomas i inni osiągnęli pełny odzysk złota i srebra za pomocą silnych żywic jonowymiennych. Substancję ługującą zawierającą złoto poddawano operacjom RIP (żywica w zawieszynie) lub RIL (żywice, które stosowane są w przypadku odzyskiwania zarówno miedzi jak i złota) [20]. Badacze stwierdzili, że wyższe wartości złota odzyskiwano stosując bardzo rozcieńczone roztwory tiosiarczanu w temperaturze 45 – 55°C, przy czym lepsze wyniki otrzymywano przy wprowadzaniu żywicy do roztworu macierzystego zawierającego stałą pozostałość niż przy zastosowaniu roztworu pozbawionego fazy stałej. Uważa się, że obecność żywicy zmniejsza degradację tiosiarczanu złota i czynnika ługującego – tiosiarczanu amonu. Załadowana żywica jest kierowana do procesu wymywania wodą amoniakalną lub mieszaniną zawierającą tiosiarczan amonu (100 – 200 g/L). Eluat zawierający tiosiarczan amonu i miedź (500 – 1500 ppm) wraz z około 10% złota na żywicy zawraca się do ługowania. Po wymyciu miedzi żywicę poddaje się wymywaniu roztworem tiocyjanianu (100 – 200g/L) w celu eluowania złota z żywicy. Eluat jest przekazywany do procesu odzysku złota metodami elektrolitycznymi, natomiast żywica jest zawracana do procesu RIP. Z uwagi na fakt, że żywica wprowadzana do procesu RIP jest w postaci SCN – przypuszcza się, że złoto na żywicy występuje w postaci kompleksu $Au(SCN)_2^-$ [16].

Hydrometalurgiczne metody odzyskiwania metali szlachetnych ze zużytych wyrobów elektronicznych przeważać zaczęły pod koniec ubiegłego wieku. Przykładem hydrometalurgicznego odzysku metali szlachetnych jest metoda opracowana przez Quinet'a ze współpracownikami [13,46].

Surowiec wyjściowy zawierał: 27,37% miedzi, 0,52% srebra, 0,06% złota i 0,04% palladu. Został on rozdrobniony za pomocą młyna tnącego Retscha, a następnie rozfrakcjonowany na cztery grupy ziarnowe: powyżej 1,168 mm; 1,168 – 0,6 mm; 0,6 – 0,3 mm; poniżej 0,3 mm. Frakcja o najniższym uziarnieniu została poddana przetworzeniu różnymi metodami hydrometalurgicznymi takimi jak np. ługowanie kwasem siarkowym, chlorkami, tiomocznikiem, cyjankiem, cementacja, wytrącanie, wymiana jonowa i adsorpcja na węglu aktywnym. Zaproponowany sposób postępowania dla odzyskiwania metali szlachetnych ze zużytych telefonów komórkowych obrazuje schemat ideowy (rys. 1).



Rysunek 1. Schemat ideowy procesu odzysku metali szlachetnych z telefonów komórkowych wg Quineta [46]

Sposób przedstawiony na schemacie ideowym pozwolił na odzyskanie 93% srebra, 95% złota i 99% palladu. Zużycie surowców niezbędnych w proponowanym rozwiązaniu na 1 tonę materiału wyjściowego przedstawia tabela 4.

Tabela 4. Zestawienie zużycia reagentów w procesie Quineta [46]

Lp.	Reagent	[kg/t]
1	H_2SO_4	470
2	$Fe_2(SO_4)_3$	12
3	O_2	$36 \times 10^4 L$
4	H_2O_2	74
5	NaCN	19
6	HCl	165
7	Al	0,3
8	NaCl	1,7
9	Węgiel aktywny	94
10	NaOH	53

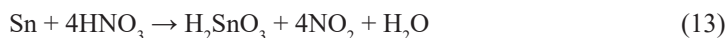
Proces odzyskiwania złota z odpadów stałych wytwarzanych w przemyśle elektronicznym był przedmiotem zainteresowania badaczy w kraju. Chmielewski i współpracownicy [47] opracowali proces hydrometalurgiczny, składający się z kilku etapów. Pierwszym jest termiczna obróbka odpadów, polegająca na niskotemperaturowym zwęglaniu odpadów i kolejnym prażeniu. Następnym krokiem jest ługowanie srebra kwasem azotowym (1:1) w temperaturze 40°C. Kolejnym etapem jest ługowanie złota też w temperaturze 40°C za pomocą wody królewskiej (3HCl : HNO₃). Z uzyskanego roztworu odzyskiwane jest złoto poprzez selektywną ekstrakcję malonianem dietylu. Ostatnim procesem jest uzyskiwanie metalicznego złota z fazy organicznej przez reakcję z kwasem mrówkowym, w środowisku utleniającym kwasu siarkowego i wody utlenionej. Należy nadmienić, że przeanalizowano cały szereg ekstrahentów; od heksanolu, ketonów, eterów, glikoli po neutralne frakcje ropy naftowej. Cechy brane pod uwagę to: selektywność, pojemność nasycenia, odporność na wodę królewską, nierozpuszczalność w wodzie oraz cena. Najlepszym ekstrahentem przemysłowym okazał się malonian dietylu, charakteryzował się on bowiem bardzo wysoką wartością współczynnika ekstrakcji, największą pojemnością nasycenia złotem 140 g/L jak też dobrą selektywnością.

W patencie Zhou i innych [48] przedstawiono sposób odzyskiwania metali szlachetnych (Ag, Au, Pd) z odpadów elektronicznych po uprzednim wyeliminowaniu tworzyw sztucznych i po rozpuszczeniu metali nieszlachetnych. Polega on na tym, że złom ogrzewa się w temperaturze 400 – 500°C przez 8 – 12 godzin w celu spalania tworzyw sztucznych. Następnie metaliczne pozostałości traktuje się kwasem solnym lub siarkowym w temperaturze 90°C w celu rozpuszczenia metali nieszlachetnych. Po filtracji pozostałość ługuje się w temperaturze 60°C za pomocą rozcieńczonego kwasu azotowego w stosunku ciało stałe/ciecz = 1 : 2 w celu rozpuszczenia srebra. Do ługowania złota i palladu stosuje się mieszaninę HCl i NaClO₃. Wykazano odzysk metali szlachetnych powyżej 92%. Również metodę hydrometalurgiczną opisuje proces opatentowany niedawno przez Kogan'a [49].

Proces polega na wprowadzeniu na trzy godziny złomu elektronicznego do roztworu kwasu solnego zawierającego 180 g/L HCl oraz 250 g/L MgCl₂ w temperaturze 80 – 95°C. W wyniku reakcji wyekstrahowano do roztworu 98% aluminium, 94% cyny; 96% ołowiu i 94% cynku. W celu odzyskania miedzi stałą pozostałość potraktowano roztworem kwasu siarkowego, zawierającym 50 g H₂SO₄/L i 200 g MgCl₂/L przez 2,5 h w temperaturze 80°C. Potencjał redox systemu ługowania utrzymywano w pobliżu 550 mV poprzez dodanie do zawiesiny 50% roztworu nadtlenku wodoru. W efekcie powyżej 96% miedzi i 98% niklu zostało rozpuszczone. Stałą pozostałość uzyskaną w wyniku

odsączenia i przemycia dodaje się do kwaśnego roztworu bromku sodu (zawierającego 30 g HCl/L oraz 180 g Br/L w celu odzysku metali szlachetnych. Do uzyskanej zawiesiny dodaje się 10% roztworu triizobutylofosfinosulfotlenku w fosforanie tributylu i nafcie. Przy intensywnym mieszaniu do układu wprowadza się 50% roztwór nadtlenu wodoru, zapewniający redox układu na poziomie 850 mV i temperaturę około 60°C. Pulpę mieszano 3 godziny, wyekstrahowano rozpuszczalnikiem organicznym 98% złota, 84% srebra, 96% palladu i 92% platyny. Metale wydzielano z roztworu organicznego za pomocą pyłu cynkowego w środowisku kwaśnym.

Bardzo ważnym zagadnieniem jest odzyskiwanie metali nieszlachetnych takich jak miedź, ołów, cyna ze złomu płytek drukowanych (PCB). Wielu naukowców zajmowało się tym odzyskiem. I tak Veit i inni opublikował wyniki swoich badań dotyczących odzyskiwania miedzi z PCB metodą obróbki mechanicznej i elektrometalurgię. Do elektrochemicznego odzyskiwania miedzi z PCB zastosowano wodę królewską i kwas siarkowy. Stwierdzono, że zawartość metalu w roztworze szybko zanikała, przy czym dla próbek rozpuszczonych w kwasie siarkowym spadek ten występował w mniejszym zakresie niż dla próbek rozpuszczonych w wodzie królewskiej. Zostało to wytłumaczone tym, że jony NO_3^- znajdujące się w wodzie królewskiej mogą działać, jako środek utleniający zmniejszając sprawność elektrolitycznego otrzymywania metali. Interesujący sposób postępowania dla odzysku metali nieszlachetnych z płytek drukowanych przedstawili Mecucci i Scott. Proces polega na ługowaniu kwasem azotowym o stężeniu 1 – 6 M uprzednio rozdrobnionych płytek drukowanych. W tych warunkach cyna wytrąca się w postaci kwasu cynawego zgodnie z równaniem reakcji:



Po oddzieleniu metodą filtracji, osad zawierający kwas cynawy jest następnie rozpuszczany w 1,5 M HCl zgodnie z reakcją:



Kolejnym etapem jest elektrodepozycja cyny metalicznej wg równania;



a otrzymany kwas solny zawracany jest do procesu rozpuszczania kwasu cynawego. Filtrat uzyskany po oddzieleniu kwasu cynawego poddawany jest neutralizacji za pomocą NaOH a następnie elektrochemicznemu procesowi rozdzielania. Na katodzie deponowana jest miedź:



a na anodzie wydzielany jest dwutlenek ołowiu PbO_2 :



Roztwór po elektrolizie jest regenerowany a otrzymany kwas azotowy zawracany do procesu ługowania.

Wyniki badań wykazały jednak, że odzyskiwanie miedzi i ołowiu jest bardzo zależne od pH. Dla 0,5 M HNO_3 uzyskiwano maksymalnie 43% odzysku przy gęstości prądu 20 mA/cm³. Stwierdzono, że wydajność obniżała się zarówno ze zmniejszeniem gęstości prądu i zwiększeniem stężenia kwasu osiągając tylko 5% odzysku przy 5 M HNO_3 . Niska wydajność depozycji miedzi i ołowiu przy wysokim stężeniu kwasu azotowego wynika z ponownego rozpuszczania miedzi i ołowiu.

Naukowcy z Korei [42] zbadali odzysk niklu, miedzi, cyny i ołowiu z wielowarstwowych kondensatorów ceramicznych lub z roztworów potrawiennych płytek obwodów drukowanych. Stwierdzono, że zastosowanie do ługowania kwasu azotowego zamiast roztworów HCl i H_2SO_4 spowodowało znaczne przyspieszenie procesu ekstrakcji niklu. Przy użyciu 1 M HNO_3 w temperaturze 90°C przy czasie reakcji 90 min i zawartości fazy stałej w pulpie na poziomie 5 g/L uzyskiwano 97% odzysk niklu. Analizując przedstawione powyżej hydrometalurgiczne metody odzysku metali z odpadów elektronicznych należy zauważyć, że większość metod oparta jest na ługowaniu kwasem i/lub ługowaniu halogenkami.

Wynika to z faktu, że ługowanie kwasem umożliwia usuwanie metali nieszlachetnych w celu uwolnienia powierzchni metali szlachetnych. Niemniej jednak, w celu opracowania przyjaznych dla środowiska metod odzyskiwania metali szlachetnych należy większą uwagę zwrócić na ocenę wpływu proponowanych technik na środowisko.

Metody odzysku metali szlachetnych z odpadów elektronicznych opracowane w latach 1992 – 2007 prezentuje tabela 5.

Tabela 5. Hydrometalurgiczne metody odzysku metali szlachetnych z odpadów elektronicznych [14, 15, 22, 33, 47, 48]

Odzyskiwany metal	Zasada metody	Produkt	Rok publikacji
Au i Ni	Ługowanie metali bazowych w kwasie siarkowym z utleniaczem (siarczan żelaza) i woda królewska dla metali szlachetnych	Nikiel i złoto w roztworze	1992
Au	Ciśnieniowe roztwarzanie w środowisku alkalicznym w temperaturze 80-190°C w celu odzysku glinu i następnie roztwarzanie w kwasie siarkowym w autoklawie pod ciśnieniem tlenku siarki dla odzysku metali nieżelaznych	Wzbogacony koncentrat metali szlachetnych	1993
Cu, Pb, Sn, Au	Ługowanie HNO ₃ , PCB, elektrolityczna obróbka termiczna, osadzanie metali bazowych, ługowanie HNO ₃ i ługowanie wodą królewską w celu rozpuszczenia złota, ekstrakcja złota z roztworu za pomocą dietylomalonate, roztwór siarczanu żelaza używany do wytrącania	Miedź, ołów i cyna, metaliczne złoto	1997
Au, Sn, Pb	Rozdrobnione elektrośmieci traktowano roztworem ługującym opartym na NaCl, CuCO ₃ i HCl. Luty zostały rozpuszczone w roztworze zawierającym Ti(IV) i kwas. Cynę i ołów odzyskiwano metodą elektroosadzania.	Złoto pozostałe Sn i Pb	2003-2004
92% Au, Ag, Pd	HCl lub H ₂ SO ₄ stosowano do rozpuszczania metali podstawowych, ługowanie srebra i palladu, ługowanie złota i palladu przez HCl i NaClO ₃ ; wytrącanie Au przez FeCl ₂ .	Złoto płytki	2005

Odzyskiwany metal	Zasada metody	Produkt	Rok publikacji
Cu, Ag (93%), Pd (99%), Au (95%)	Kwas siarkowy dodawano do ługowania miedzi, chlorki do ługowania palladu, tiomocznik lub cyjanki do ługowania złota i srebra, adsorpcja na węglu aktywnym złota, srebra i palladu.	AgCl, Cu, Pd, Au	2005
Au (98%_), Pd (96%), Pt (92%), Ag (84%), Cu (98%)	H ₂ SO ₄ i MgCl ₂ do rozpuszczania metali bazowych; HCl i jon bromkowy stosowane do rozpuszczania metali szlachetnych, wytrącanie złota pyłem cynkowym. Miedź rozpuszczano kwasem siarkowym lub wodą królewską; elektroosadzanie zastosowano do odzysku miedzi.	Au i proszki PGM	2006
Ni	Ługowanie niklu z odpadowych wielowarstwowych ceramicznych kondensatorów prowadzono przy zastosowaniu 1M HNO ₃ w temp. 90°C przez 90 minut i gęstości zawiesiny 5 g/L.	Ni w roztworze	2007
Au i Ag	Odpady elektroniczne rozdrobnione do 0,5 nm traktowano mieszaniną KJ i J ₂ lub NaCl i proszkiem; roztwór ekstrakcyjny używano do odzysku złota i srebra.	Au i Ag	2007
Au	Chipy komputerowe traktowano kwasem azotowym dla rozpuszczenia metali bazowych; pozostałość ługowano wodą królewską; siarczan żelazawy stosowano do wytrącania odzyskanego złota.	Złote płatki	2007

Odzyskiwanie metali szlachetnych może zatem być prowadzone różnymi technikami hydrometalurgicznymi. Niemniej jednak zastosowane rozwiązania nie mogą być niebezpieczne dla człowieka ani dla środowiska oraz muszą równocześnie być ekonomiczne.

Tabela 6. Wyniki badań laboratoryjnych różnych naukowców nad odzyskiwaniem metali szlachetnych z odpadów elektronicznych

Lp.	Odzyskiwany metal	Czynnik ługujący	Parametry procesowe	Autorzy badań
1	Au, Ag i Pd	woda królewska	stosunek metali do czynnika ługującego 1:2	Park i Fray [71]
2	Au	HNO ₃ , żywica epoksydowa, woda królewska	etap I – HNO ₃ etap II – żywica epoksydowa etap III – woda królewska	Sheng i Etsell [72]
3	Au, Ag, Pd i Cu	H ₂ SO ₄ , chlorki, tiomocznik, cyjanki	ługowanie i odzysk metali przez cementację, wytrącanie, wymianę jonową i adsorpcję na węglu	Quinet i inni [73]
4	Au	HNO ₃ i woda królewska	ługowanie HNO ₃ i woda królewska, ekstrakcja z r-ru dietylu malonate	Chmielewski i inni [47]
5	Ag, Au i Pd	HCl, H ₂ SO ₄ i NaClO ₃	prażenie e-odpadów w 400 – 500°C i kolejno ługowanie	Zhou i inni [48]
6	Al, Sn, Pb i Zn; et. I Cu i Ni; et. II Au, Ag, Pd i Pt et. III	HCl, MgCl ₂ , H ₂ SO ₄ i H ₂ O ₂	rozpuszczanie e-odpadów w różnych rozpuszczalnikach etapowo	Kogan [74]
7	Cu	woda królewska, H ₂ SO ₄	wzbogacone e-odpady rozpuszczane w różnych rozpuszczalnikach	Veit i inni [75]
8	Pb, Cu	HNO ₃	elektrochemiczne katodowe osadzanie miedzi	Mecucci i Scott [76]

Z zestawienia wynika, że HNO_3 , H_2SO_4 i HCl są traktowane, jako bazowe rozpuszczalniki dla roztwarzania metali szlachetnych z odpadów elektronicznych. Z ekstraktów odzyskiwane są metale szlachetne, metodami podobnymi do stosowanych w przemyśle wydobywczym. Hydrometalurgiczne procesy są stosowane z sukcesem w odniesieniu do odzysku metali szlachetnych z elektrośmieci, jednakże procesy te zawierają także działania uboczne, dlatego ilość aplikacji przemysłowych jest niewielka.

BIOTECHNOLOGICZNE METODY ODZYSKU METALI

W ostatniej dekadzie obserwowany jest ogromny wzrost zainteresowania metodami biometalurgicznymi. Biometalurgia posiada potencjał pozwalający na dokonanie przełomu technologicznego z uwagi na zainteresowanie tą nową technologią największych międzynarodowych ośrodków. Już od 25 lat prowadzone były badania pozwalające na zrozumienie procesów biochemicznych związanych z obróbką metali. Są w toku badania dla takich metali jak miedź, nikiel, kobalt, cynk, złoto i srebro. Jednak w celu odzyskania złota i srebra bakterie stosowane są do usuwania przeszkadzających siarczków metali z rud metali szlachetnych [50].

Wszystkie drobnoustroje do zaspokojenia swoich funkcji życiowych potrzebują metali; do budowy struktury i/lub do działań katalitycznych. Bakterie mają zdolność do wiązania jonów metali obecnych w otoczeniu zewnętrznym na powierzchni komórki lub ich transport do komórki. Ta informacja metal/mikroby umożliwia selektywne bądź nieselektywne odzyskiwanie metali [51, 52].

W biometalurgii przy odzyskiwaniu metali rozróżniamy dwa główne obszary; bioługowanie i biosorpcja. Bioługowanie jest z powodzeniem stosowane do odzysku metali z ich siarczków, które są głównymi minerałami nośnymi dla wielu metali szlachetnych i nieszlachetnych. Technicznie możliwa jest ekstrakcja przez bioługowanie z rud siarczkowych takich metali jak Co, Mo, Ni, Pb i Zn jednak obecnie jedynie miedź i żelazo są przemysłowo uzyskiwane tymi metodami.

Proces biosorpcji jest fizykochemicznym oddziaływaniem między naładowanymi grupami na powierzchni mikroorganizmów i jonami w roztworze, w którym mogą być wykorzystywane zarówno żywe jak i martwe mikroorganizmy. Mikroorganizmy takiej jak: glony, bakterie, drożdże i grzyby są znane z aktywnego gromadzenia metali ciężkich i szlachetnych [53]. Proces oparty na biosorpcji posiada wiele zalet w porównaniu z tradycyjnymi metodami.

Są to przede wszystkim niskie koszty eksploatacyjne, zmniejszenie ilości szlamu i wysoka wydajność detoksykacji ścieków.

Biosorbenty wytwarza się z naturalnej biomasy lub odpadów biomasy z glonów, grzybów i bakterii. Bardzo zróżnicowane są rodzaje biomasy wykorzystywanej do biosorpcji metali szlachetnych. Biosorbentami mogą być, bowiem różne bakterie, grzyby, algi, białka, czy też tanina, chitosan itp. [54, 55, 56, 57, 58, 59] Należy zaznaczyć, że warunki kasowe sprzyjają biosorpcji metali szlachetnych z roztworu, zwłaszcza na bakteriach i pochodnych chitozanu. Wydajność adsorpcji metali szlachetnych na różnych rodzajach biomasy wahają się od $Q_{\max} = 0,003$ do 40 mmol/g suchej biomasy. Badania koncentrują się głównie na biosorpcji złota, należałoby więcej uwagi poświęcić biosorpcji srebra z roztworów jak też odzyskiwania metali szlachetnych z roztworów wielopierwiastkowych [60].

Biomasa używana, jako biosorbent może być stosowana w postaci naturalnej lub zmodyfikowanej np. przez sieciowanie w celu poprawy efektywności biosorpcji [61, 62, 63].

Na szczególną uwagę przy odzyskiwaniu metali szlachetnych zasługuje chitosan i jego pochodne, ze względu na uzyskiwane stosunkowo duże pojemności adsorpcji z roztworu jonów takich metali jak Au^{3+} , Pt^{4+} , Pd^{2+} .

Chitosan jest pochodną chityny, drugim najczęściej występującym po celulozie biopolimerem. Jego zaletą w przypadku sorpcji metali szlachetnych jest fakt, że anionowe grupy chitozanu są łatwo protonowane w środowisku kwaśnym. Ponadto chitozan może być łatwo modyfikowany przez wprowadzenie nowych grup funkcyjnych do głównego łańcucha polimeru, powodujących zmianę właściwości i funkcji [58].

Najczęściej biomasa stosowana jako biosorbent zostaje formowana przez obudowę lub sieciowanie z uwagi na poprawę właściwości fizykochemicznych mikrobiologicznej biomasy.

Biosorpcja jest bardzo złożonym procesem, w którym nie rozróżniamy fizycznej lub chemicznej adsorpcji na ścianach komórek. Właściwości fizykochemiczne takie jak wymiana jonowa, kompleksowanie, koordynacja, chelatacja między jonami metalu a ligandami zależą od konkretnych właściwości biomasy. Inne mechanizmy usuwania metali zależne od metabolizmu to wytrącanie metali jako siarczki lub fosforany, maskowanie jonów przez białka, peptydy lub siderofory wiążące metale, transport i wewnętrzne upakowanie.

Mechanizm ten można uprościć i biosorpcję metali szlachetnych z roztworów można traktować jako sorpcję chemiczną i fizyczną. Mechanizm

sorpcji chemicznej obejmuje kompleksowanie, chelatację, mikrostrącanie i mikrobiologiczną redukcję, podczas gdy mechanizm sorpcji fizycznej obejmuje zazwyczaj działanie sił elektrostatycznych i wymianę jonową. Przykładem mechanizmu sorpcji fizycznej jest sorpcję dicyjanozłocianu (I) przez membranę skorupki jajka [52]. Również sorpcją fizyczną jest tłumaczony mechanizm adsorpcji jonów złota i srebra przez dwie odmiany grzyba (*Cladosporium cladosporioides*) [64, 65], gdyż nie stwierdzono zmian chemicznych w biosorbencie po naładowaniu metalem. Sugeruje to, że kwasowe warunki sprzyjają działaniu elektrostatycznemu między anionami złota (AuCl^+) i protonowaną biomasą.

Jednak ostatnio coraz częściej badacze proponują chemiczne mechanizmy adsorpcji. Przykładowo zaproponowany mechanizm interakcji tetrachlorozłocianu (III) z algą *Chlorella vulgaris* polega na szybkiej redukcji złota (III) do złota (I) po czym następuje powolna redukcja do złota (0). Uważano, że reakcje wymiany ligantów, prowadzące do tworzenia wiązań między Au (I) i siarką i/lub azotanem miały miejsce w algach. Podobny mechanizm zaproponowano dla zdealgizowanych odpadów wodorostów. Stwierdzono bowiem obecność koloidalnego złota na powierzchni biosorbentu, a redukcja złota (III) do złota (I) i złota (0) została potwierdzona za pomocą ESEM i przez zmierzenie odległości wiązań charakterystycznych dla metalu.

Badania dotyczące odzysku metali szlachetnych z odcieków ze złomu elektronicznego z użyciem *Desulfovibrio desulfuricans* prowadzono w Wielkiej Brytanii. Próbkę złomu elektronicznego z uprzednio obniżoną zawartością żelaza i glinu w początkowym etapie były hydrometalurgicznie selektywnie ługowane w celu całkowitego usunięcia cyny/ołowiu i ~40% miedzi. Rozpuszczona miedź i składniki stopu lutowniczego odzyskiwano elektrochemicznie, natomiast zubożony złom traktowano wodą królewską. Uzyskany odciek w kolumnowym elektrobioreaktorze został skontaktowany z biomasą (dla usunięcia Au) lub zpalladowaną biomasą (w celu usunięcia Pd) początkowo w atmosferze azotu a następnie wodoru w warunkach elektrochemicznych.

Biosorpcja metali szlachetnych w roztworów jest w ostatnich latach obiektem powszechnego zainteresowania. Wydaje się, że dalsze badania będą zmierzać w kierunku poszukiwania i modyfikowania biomasy w celu uzyskiwania produktów o coraz lepszych właściwościach biosorpcyjnych [66].

Praktyczne zastosowanie bioługowania do odzysku metali szlachetnych i nieszlachetnych to ługowanie zwałowe lub ługowanie w zbiorniku z mieszaniem. Ługowanie zwałowe zostało zastosowane jako kontrolowany proces przy rudach miedzi o niskiej jakości. Przez około 40 lat z powodzeniem do aktywacji

wzrostu mikroorganizmów, które powodują utlenienie minerałów siarczkowych, stosowano techniki biologicznego ługowania oparte na obiegu wody i powietrza przez zwały grubo rozdrobnionej rudy. Bioługowanie w zbiorniku z mieszaniem pierwszy raz zostało zastosowane 20 lat temu. Większość stosowanych obecnie technik bioługowania w zbiorniku z mieszaniem dotyczy obróbki trudno odzyskiwalnych złotych arsenopirytowych – pirytowych koncentratów flotacyjnych, w których złoto uwięzione w siarczkach uwalniane jest przez bioutlenianie minerałów gospodarza a następnie odzyskiwane typowymi metodami [67, 68].

Zatem bioługowanie stosowane jest w przypadku rud odpornych na bezpośrednie procesy cyjanizacji, dla których konieczny jest rozkład mineralnej struktury siarczkowej przed procesami wyodrębnienia złota. Bioługowanie zapewnia nowe, energooszczędne podejście do trudno reaktywnych rud gdyż bez wstępnej obróbki odzysk złota metodą cyjanowania wynosił poniżej 50%, natomiast zastosowanie wstępnie metody biologicznej pozwala na odzysk powyżej 95% złota metodami ekstrakcyjnymi.

Interesujące są wyniki badań prowadzonych w celu określenia możliwości odzysku złota z płytek drukowanych w procesie bioługowania. Elementy płytek elektronicznych zawierające złoto uzyskiwano przez ręczne cięcie i sortowanie. Wykorzystując mikroorganizm *c. violaceum* stwierdzono, że złoto może być mikrobiologicznie wyługowane z płytek drukowanych, przy czym stopień odzysku złota wyniósł tylko 14,9% [69].

Eksperymenty prowadzone przez Brandla nad zastosowaniem mikrobiologii do mobilizowania metali z odpadów elektronicznych wykazały, że ługowanie przy użyciu mieszanej kultury (*Thiobacillus ferrooxidans* i *T. thiooxidans*) jest efektywne przy niezbyt dużej ilości złomu. Zwiększenie ilości złomu prowadzi do podwyższenia pH. W celu zmniejszenia efektów toksycznych dla mikroorganizmów zaproponowano dwuetapowy proces. W pierwszym etapie biomasa jest wytwarzana bez złomu elektronicznego a w drugim wprowadzany jest złom w różnych stężeniach i prowadzony proces inkubacji przez dodatkowy okres czasu. Wykazano, że przy stężeniu 5 – 10 g/L mikroorganizmy były w stanie wymyć więcej niż 90% dostępnych Al, Cu, Ni i Zn. Przy wyższych stężeniach mobilizacja metali została zmniejszona.

Badano również skuteczność ługowania metali za pomocą grzybów (*A. niger* and *Penicillium simplicissimu*) z odpadów elektronicznych. Jednoetapowe eksperymenty wykazały, że przy stężeniu >10 g złomu/L zawiesiny hodowla drobnoustrojów została zahamowana. Przy dwuetapowym ługowaniu stężenie do 100 g złomu/L umożliwia niemal całkowite rozpuszczenie dostępnych

Cu, Pb, Sn i Zn. Z uwagi na fakt, że coraz więcej informacji dotyczących bioługowania pojawia się w literaturze fachowej można sądzić, że metoda ta będzie się rozwijać dynamicznie [70].

PODSUMOWANIE

Zapotrzebowanie na metale szlachetne generowane jest przez intensywny rozwój zaawansowanych technologii elektronicznych jak też rozwój przemysłu motoryzacyjnego, petrochemicznego i chemicznego. Ze względu na unikatowe właściwości, metale szlachetne pełnią kluczową rolę we wspomnianych gałęziach przemysłu i można je uznać za metale strategiczne. Niewielka zawartość metali szlachetnych w naturalnych zasobach ziemi, wyczerpywanie się pierwotnych złóż oraz znaczne ich rozproszenie powodują, że proces otrzymywania ich w stanie czystym jest drogi i trudny technologicznie. Niezbędne jest zatem odzyskiwanie ich z odpadów przemysłowych a opracowanie metod ich pozyskiwania z wtórnych źródeł nabiera znaczenia priorytetowego, zwłaszcza że ich ceny na giełdach światowych są nadal wysokie. W ostatnich latach elektronika zrewolucjonizowała świat, gdyż sprzęt elektroniczny stał się wszechobecny za sprawą rosnącej lawinowo jego konsumpcji. Równocześnie wraz ze wzrostem popytu rośnie strumień elektroodpadów stając się jednym z najszybciej narastających. Polityka Unii Europejskiej, dotycząca postępowania z elektrośmieciami jest racjonalna, gdyż zachęca do ponownego użycia sprzętu i/lub odzysku materiałów poprzez recykling a na końcu dopiero do składowania lub spalania. Należy zaznaczyć, że odpady elektroniczne zmieniają się znacząco wraz z postępowaniem technologii wytwarzania produktów i zawierają coraz mniej metali szlachetnych i nieżelaznych w złomie elektronicznym. Generalnie metody odzysku metali szlachetnych z odpadów elektronicznych można podzielić na trzy etapy:

- demontaż z wyodrębnieniem cennych składników,
- oczyszczanie przez zastosowanie obróbki metalurgicznej i/lub mechanicznej,
- oczyszczanie z zastosowaniem obróbki chemicznej i/lub metalurgicznej.

Pomimo, że w literaturze fachowej omawiane są różne metody odzysku metali to na wyróżnienie zasługują następujące metody:

- pirometalurgiczna metoda przetwarzania elektrośmieci,
- hydrometalurgiczne metody odzysku metali z odpadów elektronicznych,
- biotechnologiczne metody odzysku metali,

Proces technologiczny odzysku metali szlachetnych składa się z wielu operacji jednostkowych i procesów, w których odpady elektroniczne są rozmontowywane i poddawane wstępnej segregacji na elementy elektroniczne i resztę części (np. kineskopy, obudowy, kable itp.). Elementy elektroniczne po usunięciu elementów zawierających metale żelazne czy też kolorowe poddawane będą wielostopniowej obróbce mechanicznej. Do takiej obróbki trafią płyty główne komputerów, karty graficzne, płytki telefonów komórkowych, mikroprocesory, płytki innych wyrobów elektronicznych np. drukarek, analizatorów itp. W wyniku rozdrobnienia i separacji elektrostatycznej jak też amagnetycznej, uzyskuje się rozdzielenie zmielonego materiału na trzy frakcje:

- metali nieżelaznych, zawierających metale kolorowe i szlachetne,
- ferromagnetyczną, zawierającą metale żelazne,
- niemetaliczna zawierającą głównie tworzywa sztuczne i ich wypełniacze.

Należy zaznaczyć, że wieloetapowego przygotowania wymagają procesy hydrometalurgicznego odzysku, w przypadku stosowania metod pirometalurgicznych nie ma konieczności tak głębokiego rozfrakcjonowywania odpadów elektronicznych gdyż zawarte w nich tworzywa sztuczne zastępują część koksu i pełnią rolę reduktorów. Jednak elementy zawierające szkło i ceramikę powinny zostać usunięte gdyż zwiększają ilość żużla a tym samym obniżają sprawność odzysku metali.

Odzyskiwanie zasobów metali takich jak miedź, cynk, cyna, ołów, złoto, nikiel, pallad i srebro jest znaczącą korzyścią obróbki wysokojakościowych odpadów elektrycznych i elektronicznych czyli tzw. e-złomu. Przedstawiona szeroka analiza informacji literaturowych potwierdza fakt, że wstępna obróbka powinna zmierzać do wstępnego rozdzielenia metali a tym samym zmierzać w kierunku zmniejszenia widocznych strat takich metali jak złoto, pallad i srebro. Wyniki analizy sugerują, że odzysk metali z e-śmieci powinien być określany ilościowo w stosunku do indywidualnie odzyskiwanych metali, a nie jako zbiorczy stopień odzysku wszystkich metali.

LITERATURA

1. Chehade Y. et al.: Recovery of Gold, Silver, Palladium, and Copper from Waste Printed Circuit Boards. International Conference on Chemical, Civil and Environment engineering (ICCEE'2012) March 24-25, (2012) Dubai.

2. Busselle L.D., Moore T.A., Shoemaker J.M., et al., Separation processes and economic evaluation of tertiary recycling of electronic scrap, in: IEEE International Symposium on Electronics and the Environment, (1999), pp. 192–197.
3. Cui J., Forssberg E., Mechanical recycling of waste electric and electronic equipment: a review, *J. Hazard. Mater.* 99 (3) (2003) 243–263.
4. Das A. et al.: A novel flowsheet for the recovery of metal values from waste printed circuit boards. *Resources, Conservation and Recycling* 53 (2009) 464–469.
5. Hilliard H. E., Dunning B. W., Kramer D. A., Soboroff D. M.: Hydrometallurgical treatment of electronic scrap to recover gold and silver. Bureau of Mines Report of Investigations, (1985), RI 8940.
6. Huang K. et al.: Recycling of waste printed circuit boards: A review of current technologies and treatment status in China. *Journal of Hazardous Materials* 164 (2009) 399–408.
7. Jadhav U.U., Hocheng H.: A review of recovery of metals from industrial waste. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*, Vol. 54 Issue 2, (2012).
8. Kornacki W., Recykling płytek drukowanych, II Krajowa Konferencja Naukowo-techniczna „Ekologia w elektronice”, Warszawa, 5-6.12.2002.
9. Kozłowski J., Czyżyk H., Mazurek T., „Przerób złomu elektronicznego i elektrycznego metoda rozdrabniania i separacji grawitacyjnej” Materiały I Krajowej Konferencji Naukowo-Technicznej „Ekologia w Elektronice”, październik, 2000 Warszawa.
10. Kozłowski J., Mikłasz W., Lewandowski D., Czyżyk H.: Research on hazardous waste – management part I. *Archives of Waste Management and Environmental Protection*, vol. 15 issue 2 (2013).
11. Lister T.E. et al.: Recovery of critical and value metals from mobile electronics enabled by electrochemical processing. *Hydrometallurgy* 149 (2014) 228–237.
12. Morf L.S., Tremp J., Gloor R., et al., Metals, non-metals and PCB in electrical and electronic waste – Actual levels in Switzerland, *Waste Manage.* 27 (10) (2007) 1306–1316.
13. Petter P.M.H. et al.: Evaluation of gold and silver leaching from printed circuit board of cellphones. *Waste Management* 34 (2014) 475–482.

14. Alguacil F.J., Caravaca C., Cobo A., et al., The extraction of gold(I) from cyanide solutions by the phosphine oxide Cyanex 921, *Hydrometallurgy* 35 (1) (1994) 41–52.
15. Alguacil F.J., Caravaca C., Mochon J., et al., Solvent extraction of Au(CN)₂-1 with mixtures of the amine Primene JMT and the phosphine oxide Cyanex 923, *Hydrometallurgy* 44 (3) (1997) 359–369.
16. Alguacil F.J., Hernandez A., Luis A., Study of the KAu (CN)₂-amine amberlite LA-2 extraction equilibrium system, *Hydrometallurgy* 24 (2) (1990) 157–166.
17. Alguacil F.J., Navarro P., Non-dispersive solvent extraction of Cu(II) by LIX 973N from ammoniacal/ammonium carbonate aqueous solutions, *Hydrometallurgy* 65 (1) (2002) 77–82.
18. Alwaeli M.: Demontaż, odzysk oraz recykling wybranych odpadów sprzętu elektrycznego i elektronicznego, ISSN 1733-4381, Vol. 10 (2008), p-85-94.
19. Awadalla F.T., Ritcey G.M., Recovery of gold from thiourea thiocyanate or thiosulfate solutions by reduction-precipitation with a stabilized form of sodium borohydride, *Sep. Sci.Technol.* 26 (9) (1991) 1207–1228.
20. Bachiller D., Torre M., Rendueles M., et al., Cyanide recovery by ion exchange from gold ore waste effluents containing copper, *Miner. Eng.* 17 (6) (2004) 767–774.
21. Barbieri L., Giovanardi R, Lancellotti I, Michelazzi M., A new environmentally friendly process for the recovery of gold from electronic waste, – *Environ. Chem Lett* (2010),8: 171-178, Springer
22. Behnamfard A. et al.: Process development for recovery of copper and precious metals from waste printed circuit boards with emphasize on palladium and gold leaching and precipitation. *Waste Management* 33 (2013) 2354–2363.
23. Belfer S., Binman S., Gold recovery from cyanide solutions with a new fibrous polymer adsorbent, *Adsorption* 2 (3) (1996) 237–243.
24. Bhat V. et al.: Development of an integrated model to recover precious metals from electronic scrap – A novel strategy for e-waste management. *Procedia – Social and Behavioral Sciences* 37 (2012) 397 – 406
25. Breuer P.L., Jeffrey M.I., Copper catalysed oxidation of thiosulfate by oxygen in gold leach solutions, *Miner. Eng.* 16 (1) (2003) 21–30.

26. Biegańska J., Szmigiel D.: Odpady elektroniczne w demontażu ręcznym i automatycznym. *Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska*, vol. 12 nr 3 (2010).
27. Breuer P.L., Jeffrey M.I., The reduction of copper(II) and the oxidation of thiosulfate and oxysulfur anions in gold leaching solutions, *Hydrometallurgy* 70 (1–3) (2003) 163–173.
28. Cui Jirang, Zhang Lifeng: Metallurgical recovery of metals from electronic waste. *Journal of Hazardous Materials* 158 (2008) 228–256.
29. Hagelüken, C.: Improving metal returns and eco-efficiency in electronics recycling – a holistic approach for interface optimisation between pre-processing and integrated metals smelting and refining, *Proceedings of the 2006 IEEE International Symposium on Electronics & the Environment*, 8-11 May 2006, San Fransisco, 218-223
30. Szczepaniak W., Zabłocka-Malicka M., Nowoczesne rozwiązania utylizacji odpadów elektronicznych, X Sympozjum – Podstawy proekologiczne u progu XXI wieku, Sułów k/Milicza, 27.09.2008.
31. Szewczyk R., Szałatkiewicz J., Budny E., Missala T., Winiarski W., Identyfikacja wybranych parametrów plazmotronowego reaktora plazmowego, *Pomiary Automatyka Robotyka* nr 11/2012.
32. Wang X., Thermodynamic equilibrium calculations on Au/Ag lixiviant systems relevant to gold extraction from complex ores, in: R.Woods, P.E. Richardson (Eds.), *Proceedings of the 3rd International Symposium on Electrochemistry in Mineral and Metal Processing*, pp. 452–477.
33. Willner J., Fornalczyk A.: Złom elektroniczny, jako źródło metali szlachetnych. *Przemysł Chemiczny* 2012, 91, 4, (2012), 517-522.
34. Breuer P.L., Jeffrey M.I., Thiosulfate leaching kinetics of gold in the presence of copper and ammonia, *Miner. Eng.* 13 (10) (2000) 1071–1081.
35. Choo W.L., Jeffrey M.I., An electrochemical study of copper cementation of gold(I) thiosulfate, *Hydrometallurgy* 71 (3–4) (2004) 351–362.
36. Andrea M, Keith S. Leaching and electrochemical recovery of copper, lead and tin from scrap printed circuit boards. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2002, 77: 449-457.
37. Liu JY, Duan N, Yang HY, et al. Study on the metals dissolving from waste printed circuit boards by using nitric acid as leaching liquor. *Environmental Pollution and Control*, 2010, (12): 35-38.

38. Fleming C.A., Hydrometallurgy of precious metals recovery, *Hydrometallurgy* 30 (1–3) (1992) 127–162.
39. Kamberović Ž., Korać M., Ranitović M.: Hydrometallurgical process for extraction of metals from electronic waste-part ii: development of the processes for the recovery of copper from printed circuit boards (PCB). *Metalurgija-MJoM* Vol 17 (3) (2011) p. 139-149.
40. Kang H.-Y., Schoenung J.M.: Electronic waste recycling: A review of U.S. infrastructure and technology options. *Resources, Conservation and Recycling* 45 (2005) 368–400.
41. Kuźma Z. Chełmirski B. Metody odzysku złota z odpadów w mikroelektronice. Naukowo Produkcyjne Centrum Półprzewodników. <http://rcin.org.pl>.
42. Zhong Y. et al.: Kinetics of tetrabromobisphenol A (TBBPA) reactions with H_2SO_4 , HNO_3 and HCl: Implication for hydrometallurgy of electronic wastes. *Journal of Hazardous Materials* 270 (2014) 196–201.
43. Zhao J., Wu Z., Chen J., Extraction of gold from thiosulfate solutions with alkyl phosphorus esters, *Hydrometallurgy* 46 (3) (1997) 363–372.
44. Zhang Y. et al.: Current status on leaching precious metals from waste printed circuit boards. *Procedia Environmental Sciences* 16 (2012) 560 – 568.
45. Zhang J. et al.: Dual lixiviant leaching process for extraction and recovery of gold from ores at room temperature. *Hydrometallurgy* 144–145 (2014) 114–123.
46. Quinet P., Proost J., Lierde A. Van, Recovery of precious metals from electronic scrap by hydrometallurgical processing routes, *Miner. Metall. Process.* 22 (1) (2005) 17–22.
47. Chmielewski A.G., Urbanski T.S. , Migdal W., Separation technologies for metals recovery from industrial wastes, *Hydrometallurgy* 45 (3) (1997) 333–344.
48. Zhou P., Zheng Z., Tie J., Technological process for extracting gold, silver and palladium from electronic industry waste, Chinese Patent, CN1603432A (C22B 11/00) (2005).
49. WO 2006/013568 A2
50. Morin D., Lips A., Pinches T., et al., BioMinE – Integrated project for the development of biotechnology for metal-bearing materials in Europe, *Hydrometallurgy* 83 (1–4) (2006) 69–76.

51. Ilyas S., Anwar M.A., Niazi S.B., et al., Biorecovery of metals from electronic scrap by moderately thermophilic acidophilic bacteria, *Hydrometallurgy* 88 (1–4) (2007) 180–188.
52. Ishikawa S., Suyama K., Arihara K., et al., Uptake and recovery of gold ions from electroplating wastes using eggshell membrane, *Bioresour. Technol.* 81 (3) (2002) 201–206.
53. Akthar M.N., Sastry K.S., Mohan P.M., Biosorption of silver ions by processed *Aspergillus niger* biomass, *J. Biotechnol. Lett.* 17 (5) (1995) 551–556.
54. Chassary P., Vincent T., Sanchez Marcano J., et al., Palladium and platinum recovery from bicomponent mixtures using chitosan derivatives, *Hydrometallurgy* 76 (1–2) (2005) 131–147.
55. Cordery J., Wills A.J., Atkinson K., et al., Extraction and recovery of silver from low-grade liquors using microalgae, *Miner. Eng.* 7 (8) (1994) 1003–1015.
56. de Vargas I., Macaskie L.E., Guibal E., Biosorption of palladium and platinum by sulfate-reducing bacteria, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79 (1) (2004) 49–56.
57. Guibal E., Vincent T., Mendoza R.N., Synthesis and characterization of a thiourea derivative of chitosan for platinum recovery, *J. Appl. Polym. Sci.* 75 (1) (1999) 119–134.
58. Guibal E., Von Offenbergs Sweeney N., Vincent T., et al., Sulfur derivatives of chitosan for palladium sorption, *React. Funct. Polym.* 50 (2) (2002) 149–163.
59. Maruyama T., Matsushita, Shimada Y., et al., Proteins and protein-rich biomass as environmentally friendly adsorbents selective for precious metal ions, *Environ. Sci. Technol.* 41 (4) (2007) 1359–1364, Feb 15.
60. Khoo K.M., Ting Y.P., Biosorption of gold by immobilized fungal biomass, *Biochem. Eng. J.* 8 (1) (2001) 51–59.
61. Kim Y.H., Nakano Y., Adsorption mechanism of palladium by redox within condensed-tannin gel, *Water Res.* 39 (7) (2005) 1324–1330.
62. Kuyucak N., Volesky B., Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions, *J. Biotechnol. Lett.* 10 (2) (1988) 137–142.
63. Ma H.-w., Liao X.-p., Liu X., et al., Recovery of platinum(IV) and palladium (II) by bayberry tannin immobilized collagen fiber membrane from water solution, *J. Membr. Sci.* 278 (1–2) (2006) 373–380.

64. Pethkar A.V., Kulkarni S.K., Paknikar K.M., Comparative studies on metal biosorption by two strains of *Cladosporium cladosporioides*, *Bioresour. Technol.* 80 (3) (2001) 211–215.
65. Pethkar A.V., Paknikar K.M., Recovery of gold from solutions using *Cladosporium cladosporioides* biomass beads, *J. Biotechnol.* 63 (2) (1998) 121–136.
66. Savvaidis I., Recovery of gold from thiourea solutions using microorganisms, *BioMetals* 11 (1998) 145–151.
67. Rohwerder T., Gehrke T., Kinzler K., et al., Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (3) (2003) 239–248.
68. Romero – Gonz´alez M.E., Williams C.J., Gardiner P.H.E., et al., Spectroscopic studies of the biosorption of gold(III) by dealginated seaweed waste, *Environ. Sci. Technol.* 37 (18) (2003) 4163–4169.
69. Ilyas S. , Lee J-c: Bioleaching of metals from electronic scrap in a stirred tank reactor. *Hydrometallurgy* 149 (2014) 50–62.
70. Pant D. et al.: Chemical and biological extraction of metals present in E waste: A hybrid technology. *Waste Management* 32 (2012) 979–990.
71. Park Y.J., Fray D.J.: Recovery of high purity precious metals from printed circuit boards. *J. Hazard. Mater.* 2009, 164, 1152–1158.
72. Sheng P.P., Etsell T.H.: Recovery of gold from computer circuit board scrap using aqua regia. *Waste Manag. Res.* 2007, 25, 380–383.
73. Kogan V.: Process for the Recovery of Precious Metals from Electronic Scrap by Hydrometallurgical Technique. *Int. Patent WO/2006/013568*, 9 February 2006.
74. Veit H.M., Bernardes A.M., Ferreira J.Z., Ten´orio J.A., de Fraga Malfatti C.: Recovery of copper from printed circuit boards scraps by mechanical processing and electrometallurgy. *J. Hazard. Mater.* 2006, 137, 1704–1709.
75. Mecucci A., Scott K.: Leaching and electrochemical recovery of copper, lead and tin from scrap printed circuit boards. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2002, 77, 449–457.
76. Stechman M.A., Schroeder R.J., Miśkiewicz J.M. Spos´ob odzyskiwania metali szlachetnych z odpadów elektronicznych zgłoszenie patentowe nr P.414760.

77. Stechman M. i inni: Chemiczne i elektrochemiczne metody odzyskiwania metali szlachetnych ze złomu elektronicznego. Praca niepublikowana IChN nr ewid. 4535 i 4554.

Rozdział 12

SYNTEZA, WŁAŚCIWOŚCI I PERSPEKTYWY ZASTOSOWAŃ HYDROKSYLOWYCH POCHODNYCH KUKURBITURILI

Adam Buczkowski¹, Grzegorz Schroeder²

¹ Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej,
Zakład Chemii Biofizycznej, Pomorska 165, 90-236 Łódź

² Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Umultowska
89b, 61-614 Poznań

1. WSTĘP

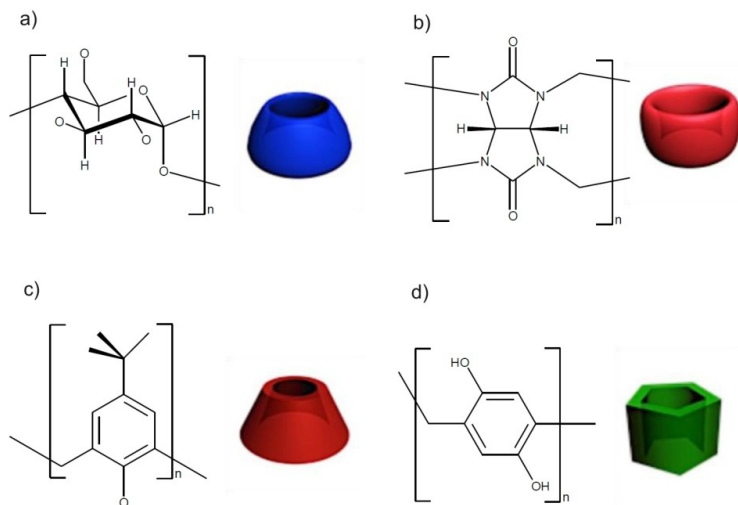
Kompleksy gość–gospodarz stanowią ważną i w ostatnich latach intensywnie badaną grupę związków chemicznych. Właściwości fizyko-chemiczne i architekturę tych układów można projektować i modyfikować, poprzez dobór odpowiednich substratów.

Samorzutnie tworzone są struktury chemiczne na ponadcząsteczkowym (łac. *supra* – ‘nad, ponad’) poziomie organizacji budowy materii. Podjednostki w strukturze supramolekularnej utrzymywane są poprzez oddziaływania o charakterze niekowalencyjnym, obejmujące m.in. oddziaływania elektrostatyczne, wiązania wodorowe, siły van der Waalsa (w tym oddziaływanie dyspersyjne Londona), oddziaływania pomiędzy układami posiadającymi zdelokalizowane elektrony π (π - π -*stackingowe*), oddziaływania i efekty hydrofobowe oraz wiązania topologiczne (wynikające z mechanicznego zaplecenie wzajemnego pojednostek lub ich trwałego unieruchomienia wymuszonego ze względu na trójwymiarową strukturę podjednostek).

Oddziaływania te są często słabsze w porównaniu z typowymi wiązaniami kowalencyjnymi [1, 2].

Większa cząsteczka, posiadająca wyraźną lukę lub wnękę, zdolna do tworzenia połączeń z mniejszymi cząsteczkami lub jonami wnijkającymi do jej środka nazywana jest często receptorem molekularnym lub gospodarzem. Cząsteczka liganda, którym może być prosty jon, para jonowa lub bardziej złożona, lecz mniejsza w porównaniu z gospodarzem, cząsteczka określana jest wówczas, jako cząsteczka gościa. [1, 2]. Szczególną grupę receptorów supramolekularnych stanowią związki makrocykliczne, czyli cykliczne makromolekuły zdolne do supramolekularnego wiązania (inkludowania) w swych wnękach (jamach) mniejszych cząsteczek ligandów. Inkluzja supramolekularna liganda w makrocząsteczce receptora często wspomagana jest efektami: chelatowym, makrocyklicznym i hydrofobowym.

Oligomery makrocykliczne – związki zbudowane z powtarzających się jednostek (merów) zamkniętych w większą makrocykliczną strukturę, obejmując wiele typów różnych struktur różniących się charakterem hydrofilowo-hydrofobowym ścian makrocyklu oraz rozmiarem i kształtem wnęki. Różnorodność ta pozwala dobrać (zaprojektować) rodzaj makrocyklicznego receptora do pełnionej przez niego funkcji nano-nośnika, nano-reaktora, lub nano-zmiatacza ligandów o znaczeniu przemysłowym, biologicznym, farmaceutycznym lub biomedycznym. Do badanych współcześnie związków makrocyklicznych należą m.in. cyklodekstryny, kukurbituryle, kaliksareny i pillarareny (Rysunek 1). W odróżnieniu od występujących naturalnie w przyrodzie (natywnych) toroidalnych struktur makrocyklicznych zbudowanych z reszt glukozy – cyklodekstryn, kukurbituryle, kaliksareny i pillarareny otrzymywane są na drodze syntezy chemicznej. Nazwy nadawane przedstawicielom poszczególnych rodzin struktur makrocyklicznych często tworzone są od charakterystycznego kształtu nowootrzymywanych makrocykli: „dyniowatego” kształtu cyklicznych oligomerów glikolurilu (kukurbituryle), „kielichowatego” kształtu cyklicznych oligomerów fenyloformaldehydowych (kaliksareny), „kolumnowego” kształtu cyklicznych oligomerów hydrochinonu (pillarareny). Wśród makrocykli możemy wyróżnić asymetrycznie zbudowane struktury o różnym rozmiarze obu wejść do wnęki (cyklodesktryny, kaliksareny) oraz symetryczne struktury o jednakowych wejściach do wnęki (pillarareny i kukurbituryle). Kukurbituryle odróżnia od pozostałych trzech wymienionych rodzin makrocyklicznych związków organicznych (cyklodesktryn, kaliksarenów i pillararenów) obecność w jednostce powielanej w strukturze dwóch heteroatomów (azotu i tlenu).



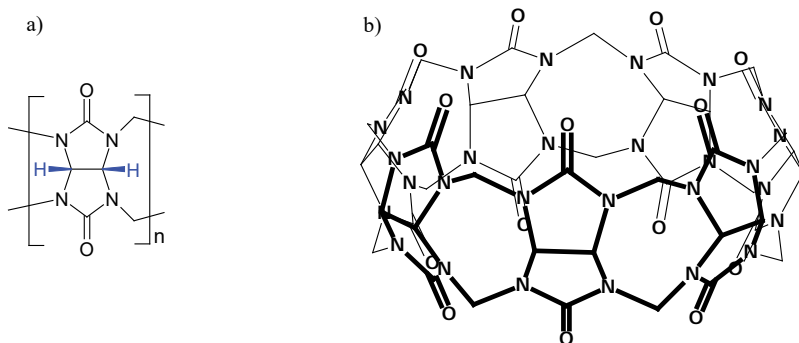
Rysunek 1. Struktura molekularna merów oraz kształt wybranych supramolekularnych receptorów makrocyklicznych: a) cyklodekstryn $n = 6-8$; b) kukurbiturili $n = 5-8, 10, 13-15$; c) kaliksarenów $n = 4-6$, d) pillararenów $n = 5-15$.

2. OGÓLNA BUDOWA

Kukurbiturile (ang. *cucurbiturils*) to grupa makrocyklicznych cząsteczek zbudowanych z reszt glikolurilowych (ang. *glycoluril*). Poszczególne reszty glikolurilowe w cząsteczkach kukurbiturili połączone są ze sobą poprzez grupy metylenowe (Rysunek 2). Zbudowane tak makrocykle kukurbiturili różniące się jedynie liczbą reszt glikolurilowych w pierścieniu nazywa się homologami. Przedstawiciele szeregu homologicznego kukurbiturili oznacza się symbolami $CB[n]$, $Q[n]$ lub Q_n , gdzie n oznacza liczbę ogniów glikolurilowych wbudowanych w makrocykl cząsteczki danego homologu kukurbiturilu. Współcześnie najpopularniejszymi, dostępnymi komercyjnie przedstawicielami kukurbiturili, stanowiącymi modelowe układy do badań nad właściwościami tej rodziny oligomerów, są kukurbiturile pięcio – (Q5), sześćo – (Q6), siedmio – (Q7) i ośmioczłonowe (Q8). Granice wzrostu pierścienia kukurbiturilu nie są znane [3]. Największy wykryty (w śladowych ilościach) kukurbituril miał pierścień 16-członowy (Q16) [3].

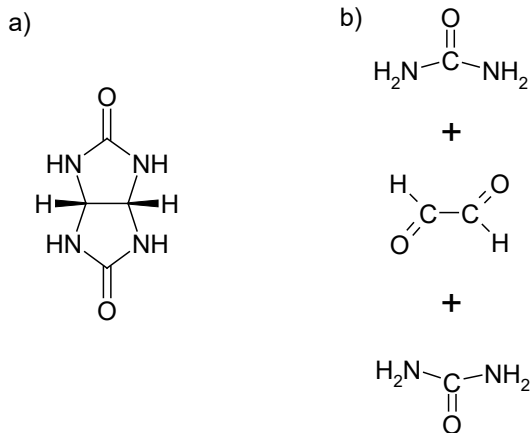
Charakterystyczną cechą tej grupy związków jest wysoce symetryczny „dyniowaty” kształt spłaszczonej sfery [3] z wewnętrznym wgłębieniem –

wnęką (jamą), do której prowadzą dwa identyczne wejścia (tzw. portale) o dipolarnym charakterze zbudowane z karbonylowych atomów tlenu. We wnęce makrocząsteczki kukurbiturilu mogą być zamykane mniejsze cząsteczki ligandów, co prowadzi do utworzenia supramolekularnego połączenia typu gość (cząsteczka liganda) – gospodarz (makrocząsteczka kukurbiturilu). Kukurbiturile są zatem, obok cyklodekstryn, eterów koronowych, kaliksarenów, cyklofanów i pillararenów, kolejną grupą makrocyklicznych receptorów supramolekularnych.



Rysunek 2. Ogólny wzór rodziny podstawowych (niemodyfikowanych) kukurbiturili:
 a) jednostka powielana w strukturze makrocyklu z zaznaczonymi na niebiesko reaktywnymi „równikowymi” atomami wodoru,
 b) makrocykl Q7 zawierający siedem reszt glikolurilu.

Podstawową jednostkę powielaną w strukturze niepodstawionych kukurbiturili – glikoluril (Rysunek 3) można formalnie rozpatrywać, jako układ zawierający dwie reszty wywodzące się z cząsteczki mocznika spięte resztą dialdehydy – glioksalu (etanodialu, aldehydu szczawiowego, diformylu). Cząsteczka glikolurilu zbudowana jest z dwóch połączonych pierścieni pięciocłonowych, przy czym atomy wodoru położone w części wspólnej dwóch pięciocłonowych pierścieni glikolurilu zachowują geometrię *cis* względem tych pierścieni [3]. W cząsteczce kukurbiturilu atomy wodoru części wspólnej dwóch pięciocłonowych pierścieni meru (glikolurilu) zlokalizowane są na zewnątrz klatki kukurbiturilu i jako położone w najszerszej, tzw. „równikowej” części makromolekuły, często nazywa się je również „równikowymi” atomami wodoru (Rysunek 2a) kukurbiturili (ang. *the “equatorial” C–H position of cucurbituril compounds*).



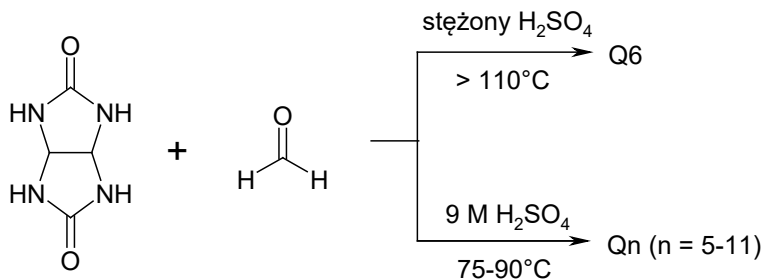
Rysunek 3. Struktura cząsteczek:

a) glikolurilu,

b) mocznika i glioksalu, których reszty formalnie można wyróżnić w strukturze glikolurilu.

3. SYNTEZA PODSTAWOWYCH (NIEPODSTAWIONYCH) KUKURBITURILI I ICH POCHODNYCH

Makrocykle podstawowych (niemodyfikowanych) kukurbiturili można otrzymać z glikolurilu (ang. *glycoluril*), czyli acetylenodimocznika (ang. *acetylenediurea*) oraz aldehydu mrówkowego (formaldehydu) w warunkach kwaśnych (Rysunek 4). Szczegółowy mechanizm syntezy kukurbiturili z glikolurilu i formaldehydu w środowisku stężonego kwasu mineralnego nie jest w pełni poznany. Silnie zakwaszone środowisko jest niezbędne do protonowania karbonylowych atomów tlenu glikolurilu, co umożliwia jego kondensację [3]. Postuluje się, że najpierw powstaje mieszanina oligomerycznych liniowych produktów przejściowych, które następnie cykliczują tworząc kukurbiturile. Względna zawartość poszczególnych homologów kukurbiturili zależy od temperatury i składu mieszaniny reakcyjnej (rodzaju kwasu i stężenia odczynników) [4]. Reakcja glikolurilu z formaldehydem w 9 M kwasie siarkowym w temperaturze 75–90°C prowadzona przez 24 godziny prowadzi do otrzymania mieszaniny homologów kukurbiturili: 10–15% Q5, 50–60% Q6, 20–25% Q7 oraz 10–15% Q8 [4]. Skład produktów powstałych w środowisku 9 M kwasu solnego lub 6 M HBF_4 jest podobny. Natomiast reakcja syntezy prowadzona w temperaturze powyżej 110°C prowadzi do utworzenia znacznych ilości homologu sześciocłonowego Q6.



Rysunek 4. Wpływ warunków na skład mieszaniny poreakcyjnej podczas syntezy podstawowych (niepodstawionych) homologów kukurbiturili. [4]

Historycznie jako pierwszy został syntezowany kukurbituril sześcioczłonowy przez R. Behrenda, E. Meyera i F. Rusche w roku 1905 [5]. Behrendowi nie udało się jednak poprawnie określić budowy glikolurilowych polimerów [6], znanych wówczas pod nazwą polimerów Behrenda. W 1981 roku W. Freeman, W. Mock i współautorzy [7] opublikowali wyniki badań spektroskopowych (m. in. NMR) oraz rentgenograficznych struktury sześcioczłonowego kompleksu makrocyklicznego poliglikolurilu Behrenda z jonami wapnia (CB[6] lub Q6). By podkreślić podobieństwo architektury zbadanego makrocyklu do owoców roślin z rodziny dyniowatych (ang. *Cucurbitaceae*) obejmującej: tykwy (ang. *gourd*) i dynie (ang. *pumpkin*) autorzy [7] nadali badanemu związkowi nazwę kukurbituril (ang. *cucurbituril*). Nazwa ta została następnie przyjęta dla całej rodziny strukturalnie podobnych związków i jest obecnie szeroko stosowana.

Zmieniając temperaturę prowadzonej syntezy Kim i współautorzy otrzymali w 2000 roku homologi niepodstawionych kukurbiturili o innej niż sześć liczbie reszt glikolurilowych w pierścieniu ($n = 5, 7, 8$) [4, 8]. W 2002 roku Day i współautorzy [9] wydzielili kukurbituril Q10, którego makrocykl był wystarczająco duży, by enkapsulować mniejszy makrocykl Q5. W powstałym supramolekularnym kompleksie Q5@Q10 oba pierścienie (niewspółosiowe w fazie krystalicznej) mogły w roztworze wirować niezależnie od siebie [9], co do pewnego stopnia przypomina działanie mechanicznego układu żyroskopu. Kukurbituril Q14 jest już tak duży, że przyjmuje złożony kształt, w którym fragment makrocyklu jest złożony (ang. *twist*) do wnętrza struktury makrocząsteczki [10]. By oznaczyć tę dodatkową własność strukturalną makrocyklu symbol cząsteczki poprzedza się dodatkową literą: tQ14. Podobnie zbudowane są makrocykle tQ13 i tQ15 [11].

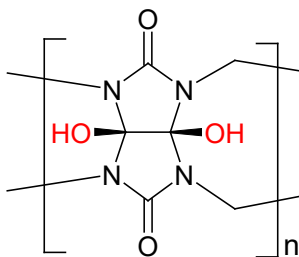
Chemia kukurbiturili rozwijała się wolniej w porównaniu z chemią innych układów makrocyklicznych, takich jak etery koronowe i cyklodekstryny. Jedną z trudności, jakie napotkali uczeni pracujący z kukurbiturilami była niewielka rozpuszczalność tych związków w większości powszechnie stosowanych rozpuszczalników (w tym organicznych), z wyjątkiem silnie zakwaszonych roztworów wodnych. Z tego powodu dużą część badań z udziałem tych związków przeprowadzono w środowisku mieszaniny wody i kwasu mrówkowego (1:1). Stwierdzono, że rozpuszczalność kukurbiturili wzrasta w wodnych roztworach soli metali alkalicznych [3], prawdopodobnie wskutek koordynowania jonów metalu przez karbonylowe atomy tlenu ułożone przy krawędziach (tzw. portalach) makrocyklu. Kolejnym utrudnieniem, które napotkali badacze próbując rozwijać chemię kukurbiturili były trudności przy próbie funkcjonalizacji podstawowego układu makrocyklicznego. [4] Próba otrzymania hydroksylowych pochodnych kukurbiturili poprzez utleniania klatek kukurbiturili odczynnikiem Fentona (H_2O_2 , $FeSO_4$) okazała się nieskuteczna ze względu na strącanie kukurbiturili przez jony $Fe(II)$ [12]. Zdolność kukurbiturili do wiązania kationów metali poważnie ogranicza lub często wręcz uniemożliwia wykorzystanie klasycznych metod chemii organicznej do stechiometrycznej aktywacji „równikowego” wiązania C-H i jego podstawienia innymi grupami funkcyjnymi [13]. Dopiero w roku 1992 po długiej, 12-miesięcznej syntezie w środowisku wrzącego kwasu azotowego, udało się otrzymać metylową pochodną kukurbiturilu $Q5(CH_3)_{10}$ wychodząc z formaldehydu i dimetyloglikolurilu [14]. Do roku 2001 jedynym znanym podstawionym kukurbiturilem był układ, w którym „równikowe” atomy wodoru zostały zastąpione grupami metylowymi $Me_{2n}Q_n$ [3]. Technika polimeracji podstawionych prekursorów glikolurilowych pozwoliła otrzymać inne alkilo- i arylołopodstawione kukurbiturile [15] oraz pochodne kukurbiturilu $Q5$ zawierające reszty kwasu cyklopentanokarboksylowego [16]. W 2003 r. zsyntezowano kukurbiturile $Q6$ podstawione grupami hydroksylowymi [17]. Można zauważyć, że po 2003 r. rozwój chemii kukurbiturili wyraźnie przyspieszył.

4. METODY SYNTEZY HYDROKSYLOWYCH POCHODNYCH KUKURBITURILI

Funkcjonalizacja kukurbiturili jest utrudniona ze względu na niską rozpuszczalność tych związków w wodzie i wysoką trwałość niepodstawionych (podstawowych) makrocykli kukurbiturili. Wprowadzenie do tych makrocząsteczek grup hydroksylowych jest jednak podejmowane, gdyż otrzymane hydroksylowe pochodne stanowią dogodny punkt wyjścia do dalszej

derywatywacji (w tym immobilizacji na powierzchni). Hydroksylowe pochodne kukurbiturili wykazują również lepszą rozpuszczalność w wodzie w porównaniu z podstawowymi (niesfunkcjonalizowanymi) układami. Otrzymanie hydroksylowych pochodnych kukurbiturili było ważnym osiągnięciem stymulującym rozwój badań nad tą grupą receptorów supramolekularnych.

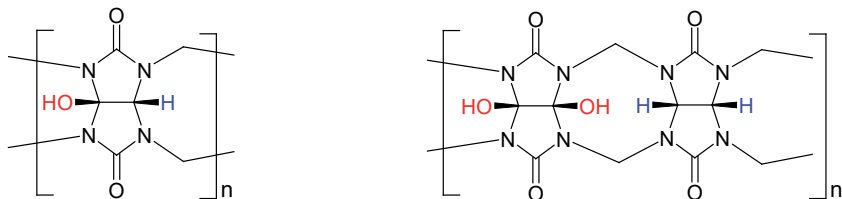
Hydroksylowe pochodne kukurbiturili $Q_n(OH)_x$ ($1 \leq x \leq 2n$) otrzymano utleniając podstawowy układ kukurbiturilu Q_n w wyniku czego jeden ($x=1$), kilka ($1 < x < 2n$) lub wszystkie ($x=2n$) „równikowe” atomy wodoru przy atomach węgla merów spinających pięcioczłonowe pierścienie reszt glikolurilowych zostają podstawione grupami hydroksylowymi. W zależności od liczby wprowadzonych do makrocyklu kukurbiturilu grup hydroksylowych możemy wyróżnić pochodne niecałkowicie podstawione: mono-, di-, tri-,... aż do pochodnych $(2n-1)$ -hydroksylowych. Zwyczajowo całkowicie utleniony homolog $Q_n(OH)_{2n}$ określa się jako pochodną perhydroksylową (Rysunek 5).



Rysunek 5. Struktura meru perhydroksylowego kukurbiturilu $Q_n(OH)_{2n}$.

Podczas częściowego utleniania substratów (niepodstawionych kukurbiturili) możliwe jest otrzymanie układów podstawionych różną ilością grup hydroksylowych. W przypadku niecałkowicie podstawionych ($1 \leq x < 2n$) pochodnych o tej samej liczbie grup hydroksylowych w makrocyklu możliwe są produkty izomeryczne, wyróżniane ze względu na położenie podstawników hydroksylowych w makrocyklu (izomeria konstytucyjna podstawienia) [18, 19], w szczególności izomery: (i) w którym każdy mer makrocyklu zawiera tylko jedną grupę hydroksylową (Rysunek 6) lub (ii), w którym makrocykl zbudowany jest naprzemiennie z meru podstawionego dwiema grupami hydroksylowymi i z meru niepodstawionego (Rysunek 6). Możliwe są oczywiście poza wymienionymi także inne schematy uporządkowania grup hydroksylowych

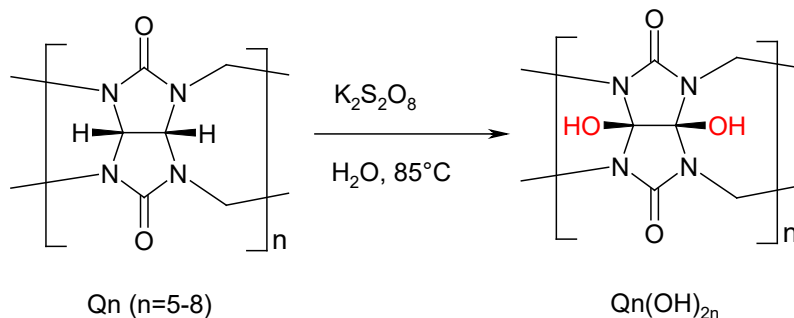
w podstawionych grupami hydroksylowymi kukurbiturilach. W literaturze przedmiotu brak jest jednak doniesień o kukurbiturilach funkcyjalizowanych grupami hydroksylowymi przy metylenowych atomach węgla, poprzez które mery glikolurilu łączą się ze sobą w makrocykliczną strukturę.



Rysunek 6. Przykłady izomerii konstytucyjnej podstawienia dla polihydroksylowych pochodnych kukurbiturili.

Zespół Kima [17] zaproponował ogólną procedurę perhydroksylowania kukurbiturili Q5–Q8, w której substraty – niepodstawiony kukurbituril Q_n oraz utleniacz– nadsiarczan potasu $K_2S_2O_8$ zmieszane przy nadmiarze molowym utleniacza $K_2S_2O_8$ do kukurbiturilu równym 14.4/1 ogrzewa się w środowisku wodnym w temperaturze $85^\circ C$ przez 6 godzin [17] lub 12 godzin [18, 19]. W krótszym (6 godzinnym) wariantcie syntezy mieszaninę reakcyjną należy odgazować azotem przed ogrzaniem, a samą reakcję prowadzić w atmosferze gazu ochronnego – azotu. Po zakończeniu syntezy mieszaninę należy ochłodzić do temperatury pokojowej, odsączyć w celu usunięcia osadu – trudnorozpuszczalnego w wodzie, niepodstawionego substratu, a z otrzymanego przesączu (po ewentualnym zateżeniu przez odparowanie pod zmniejszonym ciśnieniem) wydzielić produkt utleniania. W wariantcie 6-godzinnym [17, 20] działa się na zateżony przesącz parami acetonu, co prowadzi do wykrystalizowania białego produktu – mieszaniny produktów zawierającej również perhydroksylowy kukurbituril oraz związaną z nim sól K_2SO_4 z wydajnością zależną od liczby członów glikolurilowych w makrocyklu: 42% dla $Q5(OH)_{10}$, 39% [20] – 45% [17] dla $Q6(OH)_{12}$, 5% dla $Q7(OH)_{14}$ i 4% dla $Q8(OH)_{16}$. W wariantcie 12-godzinnym [18, 19] do niezateżonego przesączu (po oddzieleniu substratu) dodaje się tetrahydrofuran w stosunku objętościowym 1:1 w celu wydzielenia i odsączenia soli tlenowych kwasów zawierających siarkę (nadsiarczanu potasu $K_2S_2O_8$ i siarczan potasu K_2SO_4). Następnie na otrzymany tak przesącz działa się powoli parami metanolu, które dyfundując do roztworu wywołują krystalizację perhydroksylowego kukurbiturilu z wydajnością

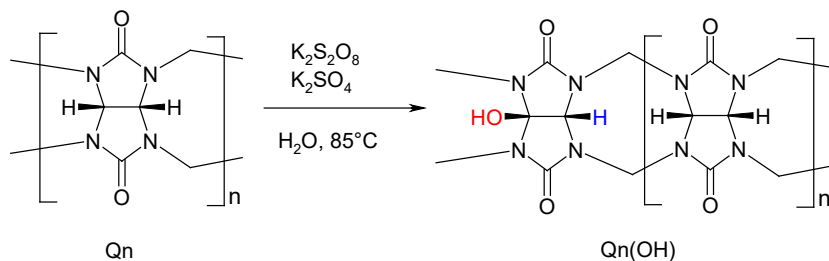
odpowiednio: 45% dla Q5(OH)₁₀, 55% dla Q6(OH)₁₂, 40% dla Q7(OH)₁₄ i 45% dla Q8(OH)₁₆.



Rysunek 7. Schemat zaproponowanej przez Kima i współautorów [17-19] metody syntezy perhydroksylowych pochodnych kukurbiturili. Nadmiar molowy utleniacza $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ do kukurbiturilu wynosi 14,4/1.

Wysoki nadmiar molowy 14,4/1 utleniacza $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ do kukurbiturilu zwiększa wydajność syntezy. Przy równomolowej mieszaniu kukurbiturilu i utleniacza $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (2,5 ml wody, 85°C, 6 godzin) otrzymuje się z wydajnością 10% mieszaninę pochodnych od monohydroksylowej do pentahydroksylowej [21].

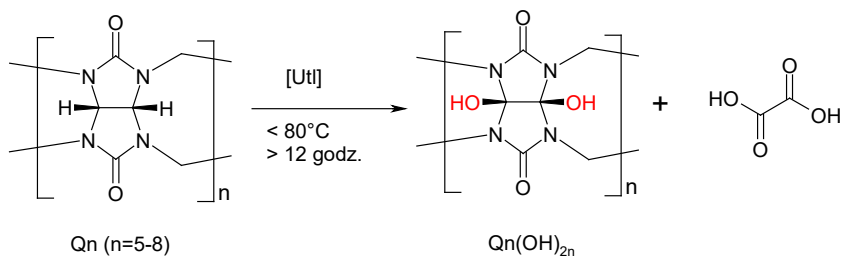
Wprowadzenie tylko jednej grupy hydroksylowej do klatki kukurbiturilu jest pożądane, ponieważ może umożliwić lepszą kontrolę nad reakcjami sprzężania tych związków z innymi układami makromolekularnymi oraz z powierzchnią. Zmniejszając ilość utleniacza wprowadzonego do mieszaniny reakcyjnej można otrzymać mieszaninę częściowo podstawionych hydroksykukurbiturili, z której chromatograficznie można wydzielić produkt monohydroksylowany [22]. W tym celu na jeden równoważnik kukurbiturilu dodaje się 0,8 równoważnika $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ i 1,7 równoważnika K_2SO_4 . Reakcję prowadzi się przez 12 godzin w środowisku wodnym w podwyższonej temperaturze (85°C) w atmosferze azotu, jako gazu obojętnego. Po odfiltrowaniu osadu, powoli usuwa się rozpuszczalnik z przesączu i z otrzymanej w ten sposób białej mieszaniny ekstrahuje hydroksylowy kukurbituril stężonym kwasem solnym i strąca dodając metanol. Następnie można wydzielić chromatograficznie monohydroksylową pochodną kukurbiturilu. Metoda ta pozwala otrzymać monohydroksylową pochodną siedmioczłonowego kukurbiturilu Q7(OH) z wydajnością 27% [22].



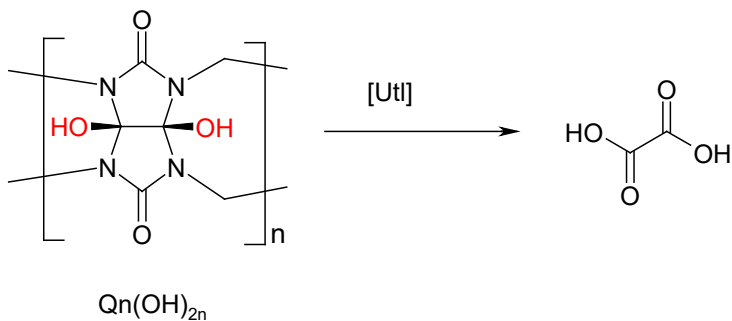
Rysunek 8. Schemat syntezy monohydroksylowych pochodnych kukurbiturili [22]. Na 0,8 równoważnika $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ przypada 1,7 równoważnika K_2SO_4 .

Dodając do mieszaniny reakcyjnej oprócz kukurbiturili (1 równoważnik) i utleniacza ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 6 równoważników) także sól K_2SO_4 (6 równoważników) można podobnie stonować właściwości utleniające układu tak, by po ogrzewaniu w temperaturze 85°C przez 12 godzin wodnej mieszaniny, otrzymywać częściowo utlenione produkty, pochodne hydroksylowe kukurbiturili z kilkoma grupami hydroksylowymi (od 4 do 7 grup hydroksylowych w przypadku kukurbiturili Q7) [23]. Po odsączeniu nieprzereagowanego substratu, rozpuszczalnik odparowuje się, pozostałość ekstrahuje DMSO i następnie strąca dodając metanol [23].

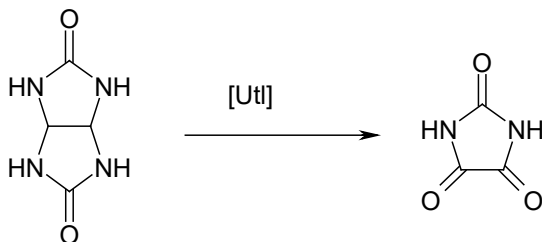
Podczas wydłużonego (ponad 12-godzinnego) utleniania podstawowych homologów kukurbiturili Q5–8 używając nadsiarczanów (potasu, sodu lub amonu) powstaje oprócz hydroksylowych pochodnych także produkt uboczny – kwas szczawiowy (Rysunek 9) [24]. Kwas szczawiowy powstaje także podczas dalszego utleniania już otrzymanych perhydroksylowych kukurbiturili Q5–8 (Rysunek 10) [24]. Utlenianie glikolurilu w analogicznych warunkach nie prowadzi jednak do kwasu szczawiowego, lecz powstaje wówczas inny produkt – imidazolidynyl-2,4,5-trion (Rysunek 11) [24], co wskazuje, że wbudowanie jednostek glikolurilu w strukturę makrocykliczną kukurbiturili istotnie zmienia właściwości chemiczne



Rysunek 9. Schemat uwzględniający produkt uboczny – kwas szczawiowy, który powstaje, jako produkt uboczny podczas syntezy perhydroksylowych pochodnych kukurbiturili. Powstawaniu tego produktu ubocznego sprzyja zbyt niska temperatura syntezy i zbyt długi czas działania czynnika utleniającego. [24]



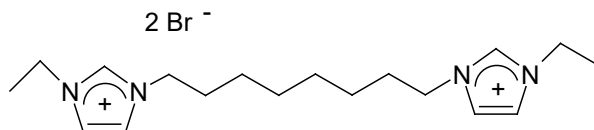
Rysunek 10. Schemat utleniania perhydroksylowej pochodnej kukurbiturilu do kwasu szczawiowego [24].



Rysunek 11. Schemat utleniania glikolurilu [24].

Mechanizm utleniania kukurbiturili nie został do końca poznany. Mogą brać w nim udział rodniki hydroksylowe utworzone przez wprowadzony do mieszaniny reakcyjnej utleniacz (np. $K_2S_2O_8$) [17]. Reakcja utleniania wolnorodnikowego niepodstawionych homologów, zdaniem Schermana i współautorów [21] nie pozwala na stechiometryczne podstawianie „równikowych” atomów wodoru podstawowych kukurbiturili grupami hydroksylowymi.

Schermana i współautorzy [21] zaproponował procedurę kontrolowanego utleniania niemodyfikowanych kukurbiturili do monohydroksypochodnej, wykorzystującą sól bromkową pochodnej bisalkiloimidazolu – związku, w którym dwie reszty alkiloimidazolu spięte są łańcuchem oktylowym (ang. *octyl linker*) (Rysunek 12). Sól tę można zaklasyfikować do grupy cieczy jonowych. Dwukation pochodnej bisalkiloimidazolu jest wiązany przez substrat (niemodyfikowany kukurbituril Q6) wpływając na wzrost rozpuszczalności makrocycyłu w środowisku wodnym i zmieniając skład mieszaniny otrzymywanych produktów. W syntezie tej jako czynnik utleniający wykorzystano nadsiaroczan amonu $(NH_4)_2S_2O_8$, gdyż kation amonu wykazuje mniejsze powinowactwo do kukurbiturilu w porównaniu z jonami H^+ , Na^+ i K^+ , co ułatwia analizę widm MS. Prowadząc syntezę przez 12 godzin w temperaturze $85^\circ C$ otrzymuje się mieszaninę hydroksylowych pochodnych z zainkludowanym dikationem pochodnej bisalkiloimidazolu. Ilość użytego utleniacza $(NH_4)_2S_2O_8$ wpływa na skład mieszaniny produktów utlenienia. Reakcja do przeprowadzenia której zostaje wzięty równoważnik kukurbiturilu z zainkludowaną pochodną bisimidazolu Q6 z odpowiednio [21]: (i) 0,5 równoważnikiem $(NH_4)_2S_2O_8$ nie przebiega w stopniu umożliwiającym wydzielenie produktu, (ii) z 1 równoważnikiem $(NH_4)_2S_2O_8$ otrzymuje się przede wszystkim pochodne monohydroksylową i dihydroksylową oraz niewielką ilość trihydroksylowej, (iii) z 2,5 równoważnika $(NH_4)_2S_2O_8$ otrzymuje się mieszaninę pochodnych od mono – do tetrahydroksylowych.

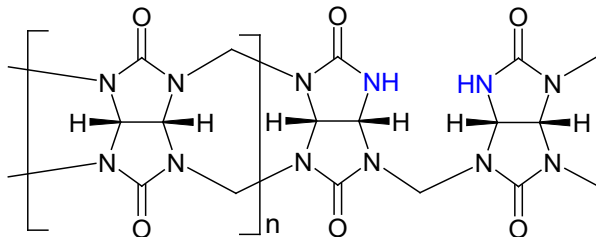


Rysunek 12. Bromek pochodnej bisetyloimidazolu [21].

Pochodne jedno- i dwuhydroksylowe z zainkludowanym dikationem bisalkilimidazolowym wydziela się następnie chromatograficznie w odwróconym układzie faz. Po rozdziale ze względu na umiarkowaną stałą wiązania użytej pochodnej bisimidazolu ($K = 4,7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) można ją wyprzeć z kompleksów Q6(OH) i Q6(OH)₂, destylując pod chłodnicą zwrotną w dichlorometanie jako rozpuszczalniku wobec heksafluorofosforanu amonu NH₄PF₆. Niestety w metodzie tej po syntezie pozostaje około 50% nieprzereagowanego substratu (niepodstawionego kukurbiturilu), natomiast całkowita wydajność wynosi około 12%. [21]

Metoda utleniania nadsiarczaniem amonu (1 równoważnik) w temperaturze 85°C homologów kukurbiturili (1 równoważnik) z zainkludowaną pochodną bisalkilimidazolu (1 równoważnik) została z sukcesem wykorzystana do otrzymania mieszaniny hydroksylowych pochodnych odpowiednio dla Q7(OH)_x i Q8(OH)_x [13]. Stopień przemiany homologu w pochodną hydroksylową maleje wraz ze wzrostem wielkości pierścienia makrocyklu. Ponieważ pochodna bisimidazolu zainkludowana w utlenianych kukurbiturilach daje sygnał w spektroskopii UV, możliwe było śledzenie względnej zawartości produktu (hydroksylowany kukurbituril) i nieprzereagowanego substratu (niepodstawiony kukurbituril) w funkcji czasu. Kolejno pobierane próbki z mieszaniny reakcyjnej zamrażano w ciekłym azocie i następnie po powolnym rozmrożeniu i ogrzaniu do temperatury pokojowej poddawano dalszej analizie ESI MS w celu wyznaczenia zawartości poszczególnych pochodnych w zależności od ilości wprowadzonych do makrocyklu grup hydroksylowych. W mieszaninie poreakcyjnej zawsze dominował nieprzereagowany substrat (35% Q6, 56% Q7 lub 72% Q8), nawet po 24 godzinach, pomimo stałego zasilania środowiska reakcji w rodniki hydroksylowe. Wraz ze wzrostem stopnia podstawienia „równikowych” atomów wodoru danego kukurbiturilu na grupy hydroksylowe malała zawartość tego produktu w mieszaninie. Sugeruje to, że reakcja utleniania kukurbiturili ma charakter wieloetapowy, w którym poszczególne etapy częściowo nakładają się na siebie, np. Qn(OH)₂ jest utleniany do Qn(OH)₃, zanim cały dostępny Q7(OH) przereaguje do Qn(OH)₂. Homolog o najwyższym wykrytym stopniu podstawienia w warunkach syntezy zależał od wielkości pierścienia i był to odpowiednio: Q6(OH)₅, Q7(OH)₄ oraz Q8(OH)₃. [13] Wyniki obliczeń DFT wskazują [13], że podstawienie równikowego protonu klatki Q7 grupą hydroksylową powoduje, że spośród 13 pozostałych możliwych do podstawienia równikowych pozycji najkorzystniejsze energetycznie jest podstawienie w pozycji sąsiedniej w tym samym merze. Wyniki analizy ESI MS produktów utleniania homologów Q7 i Q8 sugerują, że w mieszaninie poreakcyjnej obecne

są częściowo zdegradowane makrocykle kukurbiturili, w których rozerwaniu uległo jedno z wiązań łączących glikolurilowe mery (Rysunek 13) [13].



Rysunek 13. Możliwa struktura częściowo zdegradowanego kukurbiturilu *deg-Q7* ($n=5$) i *deg-Q8* ($n=6$) [13].

Reakcja utleniania 1 mM kukurbiturilu Q7 z wolną wnęką (nieobsadzoną dwukationowym ligandem) ma wyższą wydajność i bardziej złożony skład mieszaniny produktów w porównaniu z kukurbiturilem Q7 z zainkludowanym pochodną bisimidazolu. Powtarzając utlenianie Q7 z różnymi cząsteczkami dwukationowych ligandów zainkludowanymi w kukurbiturilu stwierdzono modelujący wpływ liganda na skład mieszaniny produktów utlenienia, co można tłumaczyć wpływem elipsoidalnej deformacji klatki kukurbiturilu (spowodowanej przez zainkludowanie dużych objętościowo ligandów) na energię wiązania C-H makrocząsteczki kukurbiturilu. [13]

Bardelang, Ouari i współpracownicy wprowadzili grupy hydroksylowe do podstawowych (niemodyfikowanych) homologów kukurbiturili Q6, Q7 i Q8 stosując technikę fotolizy w środowisku wodnym 0,5-1 mM nadtlenu wodoru naświetlanego światłem UV ($\lambda=254$ nm) w celu wygenerowania rodników hydroksylowych [12]. By poprawić rozpuszczalność badane wodne zawiesiny kukurbiturili Q6 i Q8 zakwaszono stężonym kwasem solnym (doprowadzając mieszaninę do stężenia 5 M względem HCl). Metoda ta pozwala otrzymać mieszaninę mono-, di- i tripodstawionych grupami hydroksylowymi homologów z wydajnością 5–37% [25]. Obliczenia DFT [12] wskazują, że energia potrzebna do usunięcia równikowego atomu wodoru i utworzenia centrum rodnikowego w makrocyklu kukurbiturilu wzrasta wraz ze wzrostem wielkości pierścienia. Na widmie ESI MS próbki mieszaniny reakcyjnej wzbogaconej o nitronowe pułapki spinowe można zaobserwować pik spulapkowanego spinowo kukurbiturilu Q7, co potwierdza możliwość utworzenia rodnika przez makrocykl kukurbiturilu

[12]. Zaletą metody Bardelanga i Ouariego jest otrzymywanie pochodnych hydroksylowych bez zanieczyszczeń w postaci kationów metali.

Metoda fotolizy w środowisku nadtlenu wodoru została wykorzystana również do wprowadzenia grup hydroksylowych do symetrycznej alkiowej pochodnej kukurbiturilu Q6 – oktametylokukurbit[6]urilu (OMeQ6) [26], zbudowanej z dwóch dimerów glikolurilu podstawionych grupami metylowymi w pozycjach „równikowych” i spiętych następnie poprzez dwa niepodstawione mery glikolurilu [27]. Naświetlając światłem UV ($\lambda=254$ nm) przez 12 godzin mieszaninę zawierającą 0,1 mM oktametylokukurbit[6]urilu i 0,3 mM H_2O_2 w środowisku zakwaszonym 10 M HCl, uzyskano mieszaninę poreakcyjną, zawierającą głównie niepodstawiony substrat OMeQ6 (25%) oraz mono – (26%) i dihydroksylowe (26%) pochodne. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość rozpuszczano w 88% kwasie mrówkowym i następnie rozdzielano chromatograficznie produkty i nieprzereagowany substrat.

Należy zauważyć, że pomimo zaproponowania w literaturze kilku metod otrzymywania hydroksylowanych kukurbiturili, tak podstawione związki są wciąż niedostępne komercyjnie, co może wynikać z niskich wydajności obecnie znanych metod syntezy hydroksylowych kukurbiturili jak i stosunkowo wysokiej ceny i niskiego stopnia czystości (nawet do 20% wody i zanieczyszczeń kwasowych) podstawowych (niemodyfikowanych) homologów używanych, jako wyjściowe substraty. Brak jest również doniesień o próbach wykorzystania techniki polimeracji podstawionych prekursorów glikolurilowych do syntezy hydroksylowych pochodnych kukurbiturili. Trudności z funkcjonalizacją klatki podstawowych (niemodyfikowanych) kukurbiturili dobitnie świadczą o dużej trwałości chemicznej tych receptorów molekularnych.

5. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE HYDROKSYLOWYCH POCHODNYCH KUKURBITURILI

Literatura dotycząca właściwości fizykochemicznych hydroksylowych pochodnych kukurbiturili jest mniej bogata w porównaniu z ich niepodstawionymi, dostępnymi komercyjnie odpowiednikami. Ze względu na dużą trwałość i sztywność klatki kukurbiturilu, podstawienie grupami hydroksylowymi części równikowej makrocząsteczki nie zmienia wymiarów i geometrii portali i wnęki makrocyklu [17, 28].

Hydroksylowe pochodne kukurbiturili rozpuszczają się w wodzie lepiej niż ich niepodstawione homologu. Przykładowo rozpuszczalność w wodzie niepodstawionego kukurbiturilu Q6 jest niewielka i wynosi według różnych

autorów (18 ± 3) μM [6, 29, 30]. Nowsze oszacowanie rozpuszczalności tego związku w wodzie $S < 50 \mu\text{M}$ jest ostrożniejsze [31] i świadczy o pewnej trudności w jednoznacznym stwierdzeniu stężenia przy którym wykazujący lekkie, białawe zmętnienie roztwór mikroheterogeniczny niepodstawionego kukurbiturilu Q6 przechodzi w roztwór rzeczywisty. Rozpuszczalność perhydroksylowych pochodnych kukurbiturili różni się u różnych autorów. W wodzie w temperaturze 20°C kukurbituril Q5(OH)_{10} rozpuszcza się lepiej ($10 - 15 \text{ mM}$) w porównaniu z kukurbiturilem Q6(OH)_{12} ($2 - 3 \text{ mM}$) [32]. Wyznaczona spektroskopowo wartość rozpuszczalności w czystej wodzie perhydroksylowej pochodnej Q6(OH)_{12} zostaje osiągnięta po 3 godzinach intensywnego wytrząsania mieszaniny wody i krystalicznego związku i wynosi $128,4 \text{ mM}$ (20°C) [33]. Podstawienie „równikowych” atomów wodoru kukurbiturilu Q6 dwunastoma grupami hydroksylowymi powoduje więc (jeśli przyjmiemy tę drugą wartość) ponad 7 100-krotny wzrost rozpuszczalności tego trudno rozpuszczalnego receptora supramolekularnego w wodzie w temperaturze pokojowej. Wraz ze wzrostem temperatury rozpuszczalność w wodzie perhydroksylowej pochodnej wzrasta i w temperaturze 80°C wynosi $370,3 \text{ mM}$ [33]. Obserwowany kierunek zmian wskazuje, że proces rozpuszczania Q6(OH)_{12} w wodzie jest endotermiczny [33].

Ponadto kukurbiturile hydroksylowe można rozpuścić w rozpuszczalnikach niepolarnych [17-19]: dimetylosulfotlenku (DMSO) i w umiarkowanym stopniu w dimetyloformamidzie (DMF). Perhydroksylowy kukurbituril Q6 rozpuszcza się w DMSO lepiej niż w wodzie [34]. Proces rozpuszczania perhydroksylowego kukurbiturilu Q6(OH)_{12} w środowisku wodnym w temperaturze 20°C jest endotermiczny [33]. Rozpuszczalność tego kukurbiturilu zależy od obecnych w roztworze kwasów lub zasad. Ich wprowadzenie do roztworu powoduje, że rozpuszczalność kukurbiturilu (względem czystej wody) [33]: (i) wzrasta w rozcieńczonych roztworach kwasu solnego (329 mM w $4,6\% \text{ HCl}$) i kwasu mrówkowego ($217,2 \text{ mM}$ w $4,6\% \text{ HCOOH}$), lecz maleje (nieznacznie) w rozcieńczonym roztworze kwasu octowego (114 mM w $6\% \text{ CH}_3\text{COOH}$), (ii) wzrasta (nieznacznie) w rozcieńczonym roztworze amoniaku ($142,9 \text{ mM}$ w $3,5\% \text{ NH}_3$) i wyraźnie maleje w rozcieńczonym roztworze wodorotlenku potasu ($1,1 \text{ mM}$ w $5,6\% \text{ KOH}$). [33]

Wyniki badań spektroskopowych $^1\text{H NMR}$ [21] wskazują, że w wyniku podstawienia klatki kukurbiturilu grupą hydroksylową następuje (nieznaczna) zmiana symetrii i gęstości elektronowej w pobliżu miejsca podstawienia. Proton grupy metylenowej łączącej glikolurilowe mery położony bliżej miejsca podstawienia ulega odślanianiu (obniżenie gęstości elektronowej), natomiast drugi proton tej grupy ulega przesłanianiu (wzrost gęstości elektronowej).

Wymiary wnęki i portali monohydroksylowej pochodnej kukurbiturilu Q6(OH) są zbliżone do homologu niepodstawionego. Ponieważ sieci krystaliczne pochodnej monohydroksylowej i homologu niepodstawionego Q6 są izostrukuralne, więc wzrost rozpuszczalności w wodzie pochodnej monohydroksylowej jest mniejszy niż w przypadku pochodnej perhydroksylowej.

6. PERSPEKTYWY ZASTOSOWAŃ HYDROKSYLOWYCH POCHODNYCH KUKURBITURILI

W wielu ośrodkach naukowych prowadzone są prace nad biomedycznym zastosowaniem kukurbiturili jako nano-transporterów toksycznych leków [35], w tym onkologicznych [36, 37]. Stosunkowo dobrą, lepszą niż w przypadku układów niepodstawionych, rozpuszczalność hydroksylowych kukurbiturili i ich zdolność do supramolekularnego wiązania kationowych ligandów można wykorzystać w przemyśle do oczyszczania wody z barwników, jonów metali ciężkich i izotopów radioaktywnych, a także innych cząsteczek zanieczyszczeń, w tym odpowiedzialnych za nieprzyjemną woń. [18, 19]

Obliczenia DFT [38] wskazują na silniejsze wiązania kationu uranylu UO_2^{2+} przez niemodyfikowany kukurbituril Q5 w porównaniu z jego perhydroksylowym odpowiednikiem, choć także w tym drugim przypadku proces wiązania był korzystny energetycznie. Cząsteczki perhydroksylowego kukurbiturilu Q6 mogą znaleźć zastosowanie, jako składniki czynne do usuwania jonów uranu (VI) ze środowiska wodnego. Wykorzystano w tym celu płatki tlenku grafenu na powierzchni których związane w charakterze receptora supramolekularnego jonów uranu (VI) perhydroksylowy kukurbituril Q6 [34]. Otrzymany adsorbent usuwał do 90% jonów U(VI) w 5 minut, a jego miejsca aktywne ulegały wysyceniu po 20 minutach w roztworze o pH=5. W tych warunkach proces adsorpcji zachodził, jako monowarstwowa chemisorpcja i miał charakter endotermiczny. Wraz ze wzrostem pH roztworu od 2 do 6,5 wzrastała maksymalna ilość adsorbowanych przez badany układ jonów uranu (VI). W silnie zakwaszonym środowisku oddziaływanie kationowego liganda (UO_2^{2+}) z protonowanym kukurbiturilem jest utrudnione ze względu na odpychanie elektrostatyczne. Wzrost pH powoduje pojawienie się innych kationowych form specyjalnych uranu $(UO_2)_2(OH)_2^{2+}$, $(UO_2)_3(OH)_5^+$ i $(UO_2)_4(OH)_7^+$ które łatwiej oddziałują z rosnącą populacją nieprotonowanych cząsteczek receptora. Po osiągnięciu maksimum adsorpcji jonów przy pH około 7, dalszy wzrost pH powoduje zmniejszenie adsorpcji jonów, ponieważ wśród form specyjalnych uranu zaczynają przeważać aniony

$(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{4-}$ i $(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_2^{2-}$. Niewielka rozpuszczalność perhydroksylowanej pochodnej kukurbiturilu Q6 w wodzie umożliwiła szybkie sedimentowanie (zakończony po 24 godzinach) kompozytu ze związanymi jonami uranu (VI) i tym samym wydzielenie go z oczyszczanego roztworu. [34]

Hydroksylowe pochodne kukurbiturili mogą znaleźć zastosowanie jako składniki faz chromatograficznych i mikroekstrakcyjnych. Perhydroksylowe makrocykle kukurbiturilu $\text{Q6}(\text{OH})_{12}$ zostały chemicznie związane na powierzchni silikazelu i użyte następnie jako faza stacjonarna do chromatograficznego rozdzielania i oznaczania wybranych alkaloidów [39]. Podobnie perhydroksylowe makroczaściczki kukurbiturilu $\text{Q6}(\text{OH})_{12}$ zostały immobilizowane kowalencyjnie na powierzchni włókien krzemionkowych poprzez zakończone grupami hydroksylowymi poli(dimetylosiloksan) i wykorzystane następnie do mikroekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (naftalenu, acenaftenu, fluorenu, fenantrenu, antracenu, fluorantenu, pirenu) z różnych próbek, w tym pobranych z wód rzecznych [40]. Uzyskany materiał był odporny na działanie wysokich temperatur oraz zachowywał zdolność do ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych nawet po wcześniejszym poddaniu go działaniu rozpuszczalników organicznych (chlorek metylenu, metanol, aceton, acetonitryl, 1M HCl, 1M NaOH) przez 48 godzin. Zawierający perhydroksylowy kukurbituril $\text{Q6}(\text{OH})_{12}$ materiał miał kilkukrotnie (4–10) wyższą wydajność ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w porównaniu z komercyjnie dostępnym włóknem poli(dimetylosiloksanowym) [40]. Efekt ten jest interesujący, ponieważ rozmiar badanych cząsteczek wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych był zbyt duży, by umożliwić ich enkapsulację we wnęce makrocyklu. Wyniki obliczeń kwantowo chemicznych [40] wskazują, że cząsteczki badanych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych są wiązane z zewnętrzną częścią klatek perhydroksylowego kukurbiturilu poprzez oddziaływania $\text{C-H}\cdots\pi$ i w mniejszym stopniu poprzez $\pi\cdots\pi$. Wyznaczone eksperymentalnie powinowactwo sorpcyjne węglowodorów aromatycznych do modyfikowanego perhydroksylowym kukurbiturilem $\text{Q6}(\text{OH})_{12}$ materiału wzrastało wraz ze wzrostem liczby skondensowanych pierścieni aromatycznych liganda. [40]

Perhydroksylowy kukurbituril $\text{Q8}(\text{OH})_{12}$ został związany chemicznie poprzez warstwę krzemionki z posiadającymi właściwościami magnetyczne cząstkami Fe_3O_4 . Tak otrzymane magnetyczne nano-cząstki modyfikowane na powierzchni resztami kukurbiturilu $\text{Q8}(\text{OH})_{12}$ zostały wykorzystane do wykrywania ważnych biologicznie, choć występujących w śladowych ilościach w roślinach hormonów – cytokin [41], odpowiedzialnych za kontrolę i rozwój roślin. Cząstki nośnika $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ ze związanym kukurbiturilem wydajnie

adsorbowały cytokiny i umożliwiały łatwe wydzielenie ze środowiska reakcji poprzez poddanie działaniu zewnętrznego pola magnetycznego.

Ważną zaletą hydroksylowych pochodnych kukurbiturili jest ich nietoksyczność w stosunku do komórek zwierzęcych i ludzkich, co otwiera przed tymi związkami perspektywy zastosowań biochemicznych i biomedycznych. Badania *in vitro* [20] przeżywalności komórek linii A549 (ludzkie komórki raka płuc) oraz komórek linii HeLa (komórki raka szyjki macicy) po dodaniu perhydroksylowego kukurbiturilu $Q6(OH)_{12}$ w stężeniu 2,5 mM nie wykazały żadnego efektu toksycznego. Po 24 godzinach inkubacji morfologia i przeżywalność komórek HeLa poddanych działaniu perhydroksylowego kukurbiturilu $Q6(OH)_{12}$ ($84\% \pm 4\%$) była zbliżona do przeżywalności tych komórek w próbie kontrolnej, nie zawierającej $Q6(OH)_{12}$ ($86\% \pm 1\%$). Podobnie nie zaobserwowano wpływu na morfologię i przeżywalność komórek A549 poddanych działaniu perhydroksylowego kukurbiturilu Q6 ($94\% \pm 1\%$) w stosunku do kontroli ($93\% \pm 1\%$). [20]

Dodanie perhydroksylowego kukurbiturilu $Q6(OH)_{12}$ do mieszaniny zawierającej węglowodór alifatyczny i pozyskanych z piasku zanieczyszczonego ropą naftową bakterii szczepów *Pseudomonas* i *Escherichia* zdolnych rozkładać składniki ropy naftowej wskazuje, że [20]: (i) w środowisku słonym (3% NaCl) po 96 godzinach inkubacji pozostawało mniej ($52\% \pm 5\%$) heksadekanu niż w próbie kontrolnej bez kukurbiturilu ($62\% \pm 3\%$), (ii) w środowisku słonym (3% NaCl) po 120 godzinach inkubacji pozostawało mniej ($30\% \pm 3\%$) tetradekanu niż w próbie kontrolnej bez kukurbiturilu ($49\% \pm 7\%$), (iii) nie stwierdzono wpływu kukurbiturilu na procent degradacji oktadekanu przez badane szczepy bakterii. Wpływ kukurbiturilu obserwowano natomiast w mieszaninie zawierającej wszystkie trzy badane węglowodory. W środowisku słonym zawierającym mieszaninę węglowodorów i bakterie pozostawało odpowiednio o 13% (tetradekan), 15% (heksadekan) i 8% (oktadekan) mniej węglowodoru niż w próbkach kontrolnych nie zawierających kukurbiturilu. [20]

Hydroksylowe kukurbiturile mogą także znaleźć zastosowanie w kosmetyce do stabilizowania zapachów lub w papiernictwie przy produkcji perfumowanego papieru. Po wbudowaniu cząsteczek kukurbiturilu do polimerowej matrycy można otrzymać membrany wiążące kationy amoniowe, w tym ważne biologicznie ligandy jak neuroprzekaznik – acetylocholina. Układy takie po naniesieniu na powierzchnię elektrod mogłyby w przyszłości znaleźć zastosowanie, jako czułe sensory wykrywające metabolity w płynach ustrojowych pacjentów. [18, 19]

PODSUMOWANIE

Hydroksylowane kukurbituryle stanowią doskonały punkt wyjścia do dalszej derywatacji [42], a więc także dostosowania tych makrocząsteczek do przyszłych projektowanych funkcji przemysłowych i biomedycznych. W literaturze dominują dwie podstawowe techniki wprowadzania grup hydroksylowych do klatek podstawowych (niemodyfikowanych) homologów kukurbiturili. Metoda bezpośredniego utleniania z wykorzystaniem nadsiarcezanów (potasu, sodu lub amonu) pozwalająca otrzymywać mieszaninę wszystkich możliwych hydroksylowych pochodnych w zależności od doboru przeciwjonu utleniacza, jego stężenia i temperatury reakcji oraz obecności lub braku cząsteczki liganda we wnętrzu utlenianego makrocyklu, szczególnie użyteczna w przypadku utleniania homologu Q6 do formy perhydroksylowanej. Drugą powszechnie stosowaną metodą jest kontrolowane fotochemiczne utlenianie światłem UV wobec nadtlenu wodoru, w wyniku której otrzymujemy mieszaninę głównie mono – i dihydroksylowych pochodnych także w przypadku makrocykli o większych rozmiarach (Q7, Q8) oraz w przypadku alkilowych pochodnych kukurbiturili, które są bardziej wrażliwe na utleniające działanie jonów nadsiarcezanowych w porównaniu z homologami niepodstawionymi. Wadą obecnie dostępnych metod jest stosunkowo niski, niestechiometryczny stopień przereagowania substratów, zwłaszcza wyższych niemodyfikowanych homologów Q7 i Q8, co ogranicza prace nad praktycznym, zwłaszcza biomedycznym, wykorzystaniem tych niezwyklej receptorów supramolekularnych.

Podziękowania

Praca została wykonana w ramach stażu w Zakładzie Chemii Supramolekularnej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu sfinansowanego ze środków Grantu dla Młodych Naukowców Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w roku 2017.

LITERATURA

1. Dodziuk H. Wstęp do chemii supramolekularnej. Warszawa: Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego, 2008.
2. Steed JW, Atwood JL. Supramolecular Chemistry. Second ed. Chippingham: John Wiley & Sons, 2009.

- Day A, Arnold AP, Blanch RJ, Snushall B. Controlling factors in the synthesis of cucurbituril and its homologues. *Journal of Organic Chemistry* 2001;66:8094-8100.
- Lee JW, Samal S, Selvapalam N, Kim H-J, Kim K. Cucurbituril homologues and derivatives: new opportunities in supramolecular chemistry. *Accounts of Chemical Research* 2003;36:621-630.
- Behrend R, Meyer E, Rusche F. Ueber condensationsproducte aus glycoluril und formaldehyd. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 1905;339:1-37.
- Lagona J, Mukhopadhyay P, Chakrabarti S, Isaac L. The cucurbit[n]uril family. *Angewandte Chemie* 2005;44:4844-4870.
- Freeman WA, Mock WL, Shih N-Y. Cucurbituril. *Journal of the American Chemical Society* 1981;103:7367-7368.
- Kim J, Jung I-S, Kim S-Y, Lee E, Kang J-K, Sakamoto S, Yamaguchi K, Kim K. New cucurbituril homologues: syntheses, isolation, characterization and X-ray crystal structures of cucurbit[n]uril (n=5, 7, and 8). *Journal of the American Chemical Society* 2000;122:540-541.
- Day AI, Blanch RJ, Arnold AP, Lorenzo S, Lewis GR, Dance I. A cucurbituril-based gyroscane: a new supramolecular form. *Angewandte Chemie International Edition* 2002;41:275-277.
- Cheng X-J, Liang L-L, Chen K, Ji N-N, Xiao X, Zhang J-X, Zhang Y-Q, Xue S-F, Zhu Q-J, Ni X-L, Tao Z. Twisted Cucurbit[14]uril. *Angewandte Chemie International Edition* 2013;52:7252–7255.
- Li Q, Qiu S-C, Zhang J, Chen K, Huang Y, Xiao X, Zhang Y, Li F, Zhang Y-Q, Xue S-F, Zhu Q-J, Tao Z, Lindoy LF, Wei G. Twisted cucurbit[n]urils. *Organic Letters* 2016;18:4020–4023.
- Ayhan MM, Karoui H, Hardy M, Rockenbauer A, Charles L, Rosas R, Udachin K, Tordo P, Bardelang D, Ouari O. Comprehensive synthesis of monohydroxy-cucurbit[n]urils (n = 5, 6, 7, 8): high purity and high conversions. *Journal of the American Chemical Society* 2015;137:10238–10245.
- McCune JA, Rosta E, Scherman OA. Modulating the oxidation of cucurbit[n]urils. *Organic & Biomolecular Chemistry* 2017;15:998–1005.
- Flinn A, Hough GC, Stoddart JF, Williams DJ. Decamethylcucurbit[5]uril. *Angewandte Chemie International Edition* 1992;31:1475–1477.

15. Cong H, Ni XL, Xiao X, Huang Y, Zhu Q-J, Xue S-F, Tao Z, Lindoy LF, Wei G. Synthesis and separation of cucurbit[n]urils and their derivatives. *Organic & Biomolecular Chemistry* 2016;14:4335–4364.
16. Kumar CP, Wu F, Woodward CE, Day AI. The influence of equatorial substitution and K^+ ion concentration: an encapsulation study of CH_4 , CH_3F , CH_3Cl , CH_2F_2 and CF_4 , in Q[5], CyP5Q[5] and a CyP5Q[5]-carboxylate derivative. *Supramolecular Chemistry* 2014;26:670–676.
17. Jon SY, Selvapalam N, Oh DH, Kang J-K, Kim S-Y, Jeon YJ, Lee JW, Kim K. Facile synthesis of cucurbit[n]uril derivatives via direct functionalization: expanding utilization of cucurbit[n]uril. *Journal of the American Chemical Society* 2003;125:10186–10187.
18. Kim K-M, Jon SY, Selvapalam N, Oh DH, inventors. Hydroxycucurbituril derivatives, their preparation methods and uses. US Patent No. 7,388,099 B2, 2008.
19. Kim K-M, Jon S-Y, Selvapalam N, OH D-H, inventors. Hydroxycucurbituril derivatives, their preparation methods and uses. Europe Patent No. EP 1 463 732 B1, 2014.
20. Pasumarthi R, Kumar V, Chandrasekharan S, Ganguly A, Banerjee M, Mutnuri S. Biodegradation of aliphatic hydrocarbons in the presence of hydroxy cucurbit[6]uril. *Marine Pollution Bulletin* 2014;88:148–154.
21. Zhao N, Lloyd GO, Scherman OA. Monofunctionalised cucurbit[6]uril synthesis using imidazolium host–guest complexation. *Chemical Communications* 2012;48:3070–3072.
22. Ahn Y, Jang Y, Selvapalam N, Yun G, Kim K. Supramolecular velcro for reversible underwater adhesion. *Angewandte Chemie International Edition* 2013;52:3140–3144.
23. Hwang I, Baek K, Jung M, Kim Y, Park KM, Lee D-W, Selvapalam N, Kim K. Noncovalent immobilization of proteins on a solid surface by cucurbit[7]uril-ferrocenemethylammonium pair, a potential replacement of biotin-avidin pair. *Journal of the American Chemical Society* 2007;129:4170–4171.
24. Lu H, Shi D, Zhang Q, Yang D, Li J. Oxidation of cucurbituril and its analogues. *Chinese Journal of Organic Chemistry* 2015;35:467–471.
25. Ayhan MM, Karoui H, Hardy M, Rockenbauer A, Charles L, Rosas R, Udachin K, Tordo P, Bardelang D, Ouari O. Correction to “Comprehensive synthesis of monohydroxy–cucurbit[n]urils ($n = 5$,

- 6, 7, 8): high purity and high conversions". *Journal of the American Chemical Society* 2016;138:2060–2060.
26. Shen F-F, Chen K, Zhang Y-Q, Zhu Q-J, Tao Z, Cong H. Mono – and dihydroxylated symmetrical octamethylcucurbiturils and allylated derivatives. *Organic Letters* 2016;18:5544–5547.
 27. Zhou J-J, Yu X, Zhao Y-C, Xiao X, Zhang Y-Q, Zhu Q-J, Xue S-F, Zhang Q-J, Liu J-X, Tao Z. Synthesis of a symmetrical octamethyl-substituted cucurbituril with a dimethyl-substituted glycoluril dimer. *Tetrahedron* 2014;70:800-804.
 28. Kim K, Selvapalam N, Ko YH, Park KM, Kim D, Kim J. Functionalized cucurbiturils and their applications. *Chemical Society Reviews* 2007;36:267–279.
 29. Buschmann H-J, Cleve E, Jansen K, Wego A, Schollmeyer E. The determination of complex stabilities between different cyclodextrins and dibenzo-18-crown-6, cucurbit[6]uril, decamethylcucurbit[5]uril, cucurbit[5]uril, p-tert-butylcalix[4]arene and p-tert-butylcalix[6]arene in aqueous solutions using a spectrophotometric method. *Materials Science and Engineering C* 2001;14:35-39.
 30. Masson E, Ling X, Joseph R, Kyeremeh-Mensah L, Lu X. Cucurbituril chemistry: a tale of supramolecular success. *RSC Advances* 2012;2:1213–1247.
 31. Walker S, Oun R, McInnes FJ, Wheate NJ. The potential of cucurbit[n]urils in drug delivery. *Israel Journal of Chemistry* 2011;51:616 – 624.
 32. Lewin V, Rivollier J, Coudert S, Buisson D-A, Baumann D, Rousseau B, Legrand F-X, Kouřilová H, Berthault P, Dognon J-P, Heck M-P, Huber G. Synthesis of cucurbit[6]uril derivatives and insights into their solubility in water. *European Journal of Organic Chemistry* 2013;2013:3857–3865.
 33. Zhou L, Zou C, Wang M, Li L. Solubility of hydroxyl cucurbit[6]uril in different binary solvents. *Journal of Chemical & Engineering Data* 2014;59:2879–2884.
 34. Shao L, Zhong J, Ren Y, Tang H, Wang X. Perhydroxy-CB[6] decorated graphene oxide composite for uranium(VI) removal. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 2017;311:627–635.
 35. Shchepotina EG, Pashkina EA, Yakushenko EV, Kozlov VA. Cucurbiturils as containers for medicinal compounds. *Nanotechnologies in Russia* 2011;6:773–779.

36. Wang L, Li L-l, Fan Y-s, Wang H. Host-guest supramolecular nanosystems for cancer diagnostics and therapeutics. *Advanced Materials* 2013;25:3888-3898.
37. Premkumar T, Lee Y, Geckeler KE. Macrocycles as a tool: A facile and one-pot synthesis of silver nanoparticles using cucurbituril designed for cancer therapeutics. *Chemistry – A European Journal* 2010;16:11563–11566.
38. Sundararajan M. Designing novel nanomaterials through functionalization of carbon nanotubes with supramolecules for application in nuclear waste management. *Separation Science and Technology* 2013;48:2391–2396.
39. Liu S-M, Xu L, Wu C-T, Feng Y-Q. Preparation and characterization of perhydroxyl-cucurbit[6]uril bonded silica stationary phase for hydrophilic-interaction chromatography. *Talanta* 2004;64:929–934.
40. Dong N, Li T, Luo Y, Shao L, Tao Z, Zhu C. A solid-phase microextraction coating of sol-gel-derived perhydroxycucurbit[6]uril and its application on to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbon. *Journal of Chromatography A* 2016;1470:9-18.
41. Zhang Q, Li G, Xiao X, Zhan S, Cao Y. Efficient and selective enrichment of ultratrace cytokinins in plant samples by magnetic perhydroxy-cucurbit[8]uril microspheres. *Analytical Chemistry* 2016;88:4055–4062.
42. Gao RH, Chen LX, Chen K, Tao Z, Xiao X. Development of hydroxylated cucurbit[n]urils, their derivatives and potential applications. *Coordination Chemistry Reviews* 2017;348:1–24.

Rozdział 13

STRATEGIE ŻYCIOWE GLONÓW PLANKTONOWYCH JAKO WSKAŹNIK DLA RÓŻNEGO TYPU STAWÓW Z DOMINACJĄ ELODEIDÓW

Sandra Żurek, Ewa Treska, Beata Messyasz

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Hydrobiologii, ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

WSTĘP

Stawy pełnią w środowisku szereg ważnych funkcji. Na szczególną uwagę zasługują one na obszarach o niewielkiej liczbie jezior, ponieważ zwiększają lokalną retencję wody. Mają one pozytywny wpływ na lokalną retencję wody i poprawiają mikroklimat. Są ostojami bioróżnorodności i korytarzami ekologicznymi dla wielu gatunków roślin i zwierząt, w tym rzadkich i zagrożonych, a także chronionych (Kuczyńska-Kippen 2009). Dzieje się tak dzięki temu, że wprowadzają one pewne zróżnicowanie warunków środowiskowych w monotonnym, zazwyczaj rolniczym krajobrazie. Z tego też powodu stają się bardzo ważnym elementem środowiska, łączącym inne obszary podmokłe, jako korytarze ekologiczne, umożliwiające swobodną migrację wielu organizmom. Strefy ekotonalne, które wokół nich się tworzą, mogą być idealnym siedliskiem dla rzadkich, stenotopowych gatunków roślin czy zwierząt. Niedoceniane są jednak walory estetyczne stawów. Urozmaicają one krajobraz, mogą również pełnić funkcję rekreacyjną, co jest szczególnie ważne w krajobrazie rolniczym z dominacją pól uprawnych. Stawy śródpolne kumulują w swoich wodach i osadach różne substancje (także toksyczne), chroniąc w ten sposób inne ekosystemy wodne i lądowe przed ich dopływem. Jest to bardzo istotne ze względu na to, iż wiele jezior w naszym kraju znajduje

się w niezadawalającym stanie ekologicznym i wymaga rekultywacji. Bardzo ważna jest także strefa roślinności wokół tych drobnych zbiorników, ponieważ tworzy ona barierę biogeochemiczną i zapobiega z kolei nadmiernemu spływowi biogenów i innych substancji, często toksycznych, z pól uprawnych czy innych otaczających je terenów. Wskazane jest, aby utrzymywać możliwie najszersze pasy naturalnej roślinności wokół tych zbiorników, które mają na nie korzystny wpływ. Żyzność niewielkich stawów, zwłaszcza śródpolnych jest już na tyle wysoka, że ciągłe zwiększanie jej przez dopływ pierwiastków biogennych, doprowadziłoby do zupełnej degradacji i zaniku tych zbiorników. W odróżnieniu od jezior, które są znacznie większe od omawianych stawów, stosunek powierzchni zlewni do powierzchni zbiornika charakteryzuje się ogromną dysproporcją. Stąd wynika bardzo duży i niekorzystny wpływ zlewni na małe zbiorniki wodne (Kajak 1998, Kuczyńska-Kippen 2009).

W ostatnim czasie poświęca się coraz większą uwagę drobnym zbiornikom wodnym na terenach rolniczych i zyskują one coraz większe znaczenie dla wspólnoty Unii Europejskiej. Przejawem tego jest stworzenie specjalnego Pakietu 2. „Ochrona gleb i wód” w ramach Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020. Oferuje on dofinansowanie dla rolników, którzy stosują się do zaleceń wyżej wymienionego pakietu. Polegają one na stosowaniu praktyk agrotechnicznych (m.in. międzyplonów) przeciwdziałających wodnej erozji glebowej oraz zanieczyszczeniu wód składnikami wypłukiwanymi z gleb. Kolejnym działaniem propagującym tworzenie tzw. oczek śródpolnych jest również program Unijny „Zazielenianie”. Mowa w nim o obszarach proekologicznych (EFA), za tworzenie których rolnicy otrzymują dopłaty bezpośrednie. Na tych przykładach widać dobrze, że zwraca się coraz większą uwagę na obecność zbiorników wodnych w krajobrazie rolniczym, szczególnie z otaczającym je pasem roślinności (<http://www.arimr.gov.pl>).

Drobne zbiorniki wodne to niewielkie, płytkie stawy, których wielkość zwykle nie przekracza kilku hektarów. Mogą być pochodzenia sztucznego (wykopane przez człowieka) lub naturalnego (np. starorzecza), co ma wpływ na ich funkcjonowanie. Szczególne znaczenie do ich funkcjonowania ma wpływ otaczającej je zlewni, która dostarcza materii organicznej i związków biogennych (Kuczyńska-Kippen 2009). Ze względu na niewielką powierzchnię i głębokość tych zbiorników, cechuje je znaczna podatność na wahania poziomu wody. Obniżenie poziomu wód powodowane jest przez czynniki naturalne (np. ocieplenie klimatu) oraz antropogeniczne – niepoprawnie lub nadmiernie prowadzona melioracja, zwłaszcza na obszarach wodno-błotnych. Stan wód w stawach na obszarach starorzeczy może być podwyższony poprzez dopływ wód rzecznych podczas powodzi lub po ulewnych deszczach (Mikulski 1982).

Drobne zbiorniki wodne nie cieszą się aż tak dużym zainteresowaniem wśród badaczy, jak jeziora. Możliwe, że dzieje się tak z prostych przyczyn ekonomicznych i gospodarczych, ponieważ jeziora są traktowane przede wszystkim jako źródło wody pitnej dla ludzi i zwierząt oraz do celów przemysłowych. Wykorzystuje się je także do nawodnień, użytkowania rybackiego oraz do celów rekreacyjnych. Są to bardzo ważne aspekty i nie wolno ich pomijać, ale drobne zbiorniki wodne również pełnią ważną rolę w środowisku i życiu człowieka.

Liczne badania hydrobiologiczne (Asaeda i in. 2001, van Donk i van de Bund 2002, Fukuhara i in. 2003) wykazały znaczny wpływ roślinności wodnej na zbiorowiska fitoplanktonu występujące w stawach i pokazały, że większe zróżnicowanie w strukturze makrofitów stwarza lepsze warunki bytowania dla przebywających wśród nich organizmów. Z drugiej strony roślinność wodna może przyczynić się do hamowania rozwoju glonów, np. przez ograniczenie dostępu światła, zużywanie N, P i tlenu, czy wydzielanie substancji allelopatycznych (Reynolds 1984, 2006, Lee 2008). Czynniki takie jak światło i powierzchnia zajmowana przez makrofity mają istotny wpływ na zróżnicowanie zbiorowisk glonów, będących odzwierciedleniem warunków fizycznych, chemicznych i biologicznych, które panują w danym ekosystemie. Pomimo, iż cechą charakterystyczną zbiorowisk fitoplanktonu drobnych zbiorników wodnych jest duża różnorodność gatunkowa, to dominują w nim przede wszystkim okrzemki. Struktura gatunkowa i ilościowa zbiorowiska fitoplanktonu zmienia się w zależności od pory roku ze względu na wymywanie przez turbulencję wody gatunków peryfitopnych (osiadłych) i bentosowych (przydennych), czy też przez różne tempo wyjadania przez zooplankton (Bucka i Wilk-Woźniak 2002, Messyasz 2006, van den Hoek i in. 1994). Dlatego też w toni wodnej niewielkich zbiorników łatwo znaleźć również gatunki będące typowymi dla zbiorowisk epifitów, najczęściej są to właśnie okrzemki.

Glony jako organizmy mikroskopijne szybko reagują na zmiany w swoim siedlisku, jak np. zmiana poziomu lustra wody, turbulencja wody, warunki świetlne (Reynolds 1984, 2006, Wetzel 2001), co bardzo szybko jest zauważalne w strukturze zbiorowisk fitoplanktonu. Przeprowadzone badania miały na celu wskazanie zależności między stopniem przerośnięcia kolumny wody roślinnością, różnicującym ilość światła docierającego pod powierzchnię wody a strukturą gatunkową i ilościową glonów planktonowych w ujęciu zróżnicowania ich strategii życiowych. W ramach niniejszej pracy przeprowadzono badania zlokalizowane na 4 niewielkich zbiornikach wodnych w okolicy wsi Żabno i Przyborów, niedaleko Nowej Soli (woj. lubuskie). Zbiorowiska fitoplanktonu zasiedlające otwartą toń wodną oraz płyty roślinności zanurzonej badano pod

względem pochodzenia stawu (naturalne bądź sztuczne). Wzięto pod uwagę strukturę taksonomiczną glonów, liczebność komórek, biomasę, strukturę gatunków dominujących, zróżnicowanie pod względem sposób odżywiania oraz zdolności ruchu, strukturę ekologiczną okrzemek a także obliczono wskaźniki różnorodności zbiorowisk fitoplanktonu Shannona-Weavera i Evenness. Celem badań było wykazanie czy istnieją zależności pomiędzy zbiorowiskami glonów a genealogią zbiorników, oraz czy są istotne różnice w obrębie stanowisk poboru prób, tj. między otwartą tonią wodną a płatami roślinności zanurzonej (elodeidy).

METODY BADAŃ

Materiał do badań fykologicznych pobierano w lipcu 2011 roku. Próby zostały pobrane z 4 stawów w okolicy miejscowości Nowa Sól – 4 próby z dwóch stawów w miejscowości Żabno, 6 prób z 2 stawów w miejscowości Przyborów. Pobór prób przeprowadzono w obrębie toni wodnej oraz płatów roślinności zanurzonej (*Ceratophyllum* sp., *Ranunculus* sp., *Myriophyllum* sp.).

Próby o objętości 200 ml do badań struktury taksonomicznej, ilościowej i biomasy fitoplanktonu każdorazowo pobierano z powierzchniowej warstwy wody i utrwalano bezpośrednio po pobraniu płynem Lugola. W laboratorium próby sedymentowano do określonych objętości (10 ml). Analizę jakościową i ilościową fitoplanktonu wykonano na mikroskopie Olympus z wykorzystaniem powiększenia uzyskanego przy obiektywach: x20, x40. Przy określaniu składu taksonomicznego wykorzystano aktualne klucze fykologiczne obejmujące poszczególne grupy glonów. Aktualne nazwy taksonów przyjęto według bazy *AlgaeBase* (Guiry i Guiry 2017) Analiza ilościowa została wykonana w komorze Fuchs-Rosenthala o objętości 1,25 ml próby. Liczebność zbiorowisk fitoplanktonu podano w l. kom./ml. Na jej podstawie, dla wszystkich taksonów wyznaczona została również frekwencja, czyli częstość występowania w badanych stanowiskach.

Biomasę glonów uzyskano na podstawie iloczynu liczebności poszczególnych taksonów z ich objętością. Kształt poszczególnych gatunków przyporządkowano do figury geometrycznej i na tej podstawie obliczono objętość konkretnego taksonu (Starmach 1989, Lee 2008). Koncentracja biomasy fitoplanktonu została podana w mg/l. Na jej podstawie obliczono wskaźnik różnorodności biologicznej Shannona-Weavera oraz Evenness (Kawecka i Eloranta 1994).

Wyznaczono także gatunki dominujące na danym stanowisku pod względem liczebności oraz biomasy. W próbach, gdzie liczebność danego gatunku

stanowiła poniżej 10% całkowitej liczby komórek, za taksony dominujące przyjęto gatunki, które w danej próbie odznaczały się największą liczebnością.

TEREN BADAŃ

Badane stawy znajdują się niedaleko dwóch niewielkich wsi – Nowe Żabno oraz Przyborów (rys. 1). Administracyjnie należą one do gminy Nowa Sól w powiecie nowosolskim, województwo lubuskie. Według podziału fizyczno-geograficznego Polski, miejscowości te znajdują się na terenie prowincji Niżu Środkowoeuropejskiego i podprowincji Nizin Środkowopolskich, w makroregionie Wału Trzebnickiego, gdzie zajmują mezoregion Wzgórz Dalkowskich (Kondracki 2000). Sieć wodna tych terenów należy do zlewni rzeki Odry. Analizowane zbiorniki wodne znajdują się w niewielkim oddaleniu od tej rzeki i nie są jedynymi na tym obszarze. W pobliżu Przyborowa występuje kilka podobnych zbiorników zarówno o charakterze starorzeczy jak i sztucznych.

Wspomniane wcześniej Wzgórz Dalkowskie, wraz z Wzgórzami Żarskimi i Trzebnickimi, wyznaczają południową granicę Niziny Wielkopolskiej. Jest to region, który uchodzi w Polsce za najbardziej ubogi w wodę, z powodu stosunkowo małych sum opadów atmosferycznych. Średnie roczne sumy opadów w południowej części Niziny Wielkopolskiej wynoszą od 550 mm do ponad 600 mm (Woś 1994).

Dwa z badanych stawów znajdują się w pobliżu wsi Nowe Żabno. Jeden z nich (Żabno I) jest starorzeczem, czyli zbiornikiem naturalnym i cechuje się największą powierzchnią (1,9 ha) spośród wszystkich badanych stawów. Jego głębokość wynosi 2 metry. Odnotowano na nim płyty rogatka sztywnego (*Ceratophyllum demersum*). Drugi zbiornik (Żabno II) o powierzchni zaledwie 0,27 ha i głębokości 2,5 m jest pochodzenia antropogenicznego. Część jego powierzchni pokryta jest przez jaskra krążkolistnego (*Ranunculus circinatus*). Dwa kolejne stawy znajdują się niedaleko wsi Przyborów. Zbiornik oznaczony jako Przyborów I również jest zbiornikiem sztucznym o powierzchni 0,9 ha i głębokości 1,5 m. Na jego powierzchni zaobserwowano płyty wywłócznika okółkowego (*Myriophyllum verticillatum*). Staw Przyborów II jest pochodzenia naturalnego. Jego głębokość to 0,5 m, a wielkość to 0,55 ha. Pokrywają go płyty *Ceratophyllum demersum*, tak samo jak staw Żabno I.



Rysunek 1. Zdjęcia satelitarne badanych stawów: A – Żabno I, B – Żabno II, C – Przyborów I, D – Przyborów II (źródło: <http://geoportal.gov.pl>).

WYNIKI

CHARAKTERYSTYKA FIZYCZNO-CHEMICZNA

Badane zbiorniki wodne charakteryzowały się niewielkimi rozmiarami, od 0,27 ha (Żabno II) do 1,9 ha (Żabno I) oraz niedużą głębokością mieszczącą się w przedziale od 0,5 m (Przyborów II) do 2,5 m (Żabno II) (tab. 1). Dwa z nich, Żabno I i Przyborów II, to stawy pochodzenia naturalnego, starorzecza. Żabno

II oraz Przyborów I są natomiast zbiornikami sztucznymi, stworzonymi przez człowieka. W każdym z badanych stawów zaobserwowano widzialność równą z głębokością zbiornika. Najniższe stężenie tlenu rozpuszczonego (52,9%) odnotowano na stanowisku zlokalizowanym w toni wodnej zbiornika Żabno II, a najwyższe, prawie trzykrotnie przewyższające najniższą wartość (141,2%), w stawie Przyborów II, również w toni wodnej. Na 5 stanowiskach badawczych wartość procentowa tlenu rozpuszczonego osiągnęła poziom powyżej 100%. Zmierzone wartości przewodnictwa elektrolitycznego wahały się od 284 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na stanowisku z roślinnością w stawie Żabno II do 786 $\mu\text{S}/\text{cm}$ w toni wodnej zbiornika Przyborów I. Temperatura wody na badanych stanowiskach niewiele różniła się od siebie w poszczególnych próbach. Mieściła się ona w przedziale od 21,1°C (Przyborów II – toń wodna) do 22,4°C (Żabno II – elodeidy). Odczyn pH na badanych stanowiskach posiadał wartości od 7,72 w toni wodnej zbiornika Żabno II do 8,96 w płacie roślinności stawu Przyborów II. Zaobserwowano tendencję do występowania nieco wyższych wartości pH wśród elodeidów w stosunku do toni wodnej.

Tabela 1. Charakterystyka wybranych parametrów fizyczno-chemicznych stawów Żabno i Przyborów w obrębie stanowisk poboru prób.

Staw	Stanowisko	Pochodzenie	Powierzchnia [ha]	Głębokość [m]	SD [m]	O ₂ [%]	Kondukcja [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	Temp. [°C]	pH
Żabno I	toń wodna	naturalne	1,90	2	2	70,7	655	21,9	7,74
Żabno I	elodeidy	naturalne	1,90	2	2	74,9	663	22,0	7,82
Żabno II	toń wodna	sztuczne	0,27	2,5	2,5	52,9	294	21,8	7,72
Żabno II	elodeidy	sztuczne	0,27	2,5	2,5	123,7	284	22,4	7,89
Przyborów I	toń wodna	sztuczne	0,90	1,5	1,5	102,6	786	21,2	8,00
Przyborów I	elodeidy	sztuczne	0,90	1,5	1,5	103,7	766	21,3	8,20
Przyborów II	toń wodna	naturalne	0,55	0,5	0,5	126,0	494	21,1	8,85
Przyborów II	elodeidy	naturalne	0,55	0,5	0,5	141,2	482	21,5	8,96

STRUKTURA GATUNKÓW DOMINUJĄCYCH W ZBIOROWISKACH FITOPLANKTONU

Dominujące gatunki w strukturze fitoplanktonu w każdym ze stanowisk zostały wyróżnione pod względem liczebności komórek. Za gatunki dominujące uznano 3 z nich, które osiągnęły najwyższy udział procentowy w ogólnej liczbie komórek w danej próbie.

Analizując strukturę dominantów w toni wodnej zbiornika Żabno I pod względem liczebności komórek zaobserwowano, że kształtuje się ona w następujący sposób: *Catena viridis* (12,9% ogólnej liczby komórek w próbie), *Kirchneriella contorta* var. *elegans* (12,9%), *Cryptomonas erosa* (11,1%), *Crucigenia tetrapedia* (6,5%) (tab. 2). Skład gatunkowy dominantów w próbie pobranej z płatu *Ceratophyllum* sp. w tym samym zbiorniku był podobny, mianowicie: *Cryptomonas ovata* (11,3%), *Catena viridis* (9,3%), *Kirchneriella contorta* var. *elegans* (9,3%), *Crucigenia tetrapedia* (8,7%). Natomiast w stawie Żabno II dominowały zupełnie inne gatunki glonów. W próbie Żabno II – toń największą liczebność osiągnął gatunek *Glenodiniopsis steinii* na poziomie aż 26,1%, towarzyszyły mu *Cryptomonas obovata* (5,4%) i *Trachelomonas volvocinopsis* (4,6%). Gatunki dominujące na stanowisku Żabno II – *Ranunculus* to *Tribonema vulgare* (7,2%), *Radiococcus polycoccus* (6,4%), *Cosmarium formosulum* (4,8%), *Elakatothrix gelatinosa* (4,8%), *Sphaerocystis planctonica* (4,8%). W próbie Przyborów IA – toń dominowały dwa gatunki kryptofitów: *Rhodomonas lacustris* var. *nannoplanctica* (23,3%) i *Trachelomonas volvocina* (13,0%) oraz zielenica *Catena viridis* (10,4). Stanowisko Przyborów IB – toń charakteryzowało się dominacją 4 gatunków: *Cryptomonas erosa* (9,2%), *Cocconeis placentula* (7,2%), *Dinobryon divergens* (5,9%), *Kephyrion rubri-claustri* (5,9%). Z kolei w próbie z tego samego stawu pobranej z płatu *Myriophyllum* sp. odnotowano zdecydowaną dominację *Rhodomonas lacustris* var. *nannoplanctica* (21,2%), a także *Achnanthydium minutissimum* (16,2%) oraz *Catena viridis* (8,4%). Na stanowisku Przyborów II – *Ceratophyllum* dominowały 3 gatunki okrzemek: *Cocconeis placentula* (38,5%), *Cocconeis pediculus* (13,7%) oraz *Achnanthydium minutissimum* (6,8%). Największą liczebnością w próbie Przyborów IIA – toń wyróżniała się zielenica *Kirchneriella contorta* var. *elegans* (37,1%). Towarzyszyły jej *Catena viridis* (27,9%) i *Monoraphidium contortum* (11,2%). Kryptofit *Rhodomonas lacustris* var. *nannoplanctica* był zdecydowanym dominantem w całkowitej liczebności komórek w próbie Przyborów IIB – toń, osiągnął liczebność na poziomie 42,9%. Na tym stanowisku znacznie zaznaczyły swoją

obecność również *Chrysochromulina parva* (8,1%), *Cryptomonas erosa* (8,1%), *Kirchneriella contorta* var. *elegans* (7,8%).

Stwierdzono, że w próbach Żabno II – toń, Przyborów IA – toń, Przyborów I – Myriophyllum, Przyborów II – Ceratophyllum, Przyborów IIA – toń oraz Przyborów IIB – toń, pod względem liczby komórek fitoplanktonu, wyraźnie dominował tylko jeden gatunek, przewyższając nawet kilkukrotnie wartości procentowe pozostałych gatunków współdominujących. Na pozostałych stanowiskach, amplitudy liczebności komórek glonów poszczególnych gatunków dominujących nie były aż tak duże.

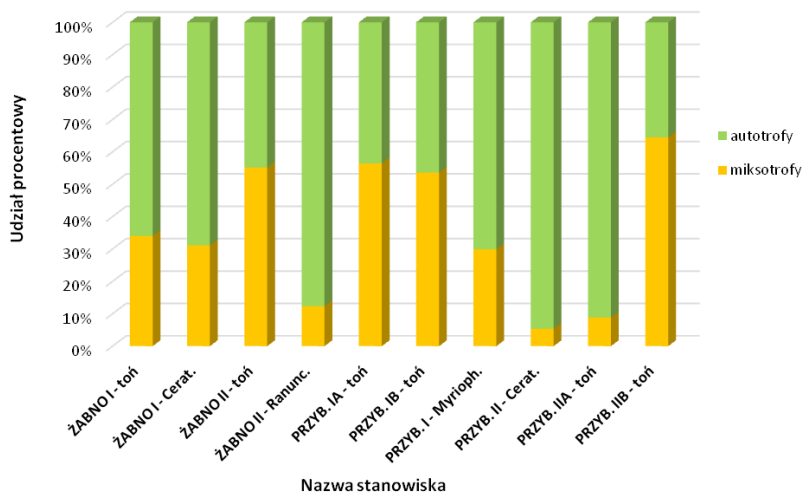
Tabela 2. Struktura gatunków dominujących w poszczególnych próbach ze stawów Żabno i Przyborów pod względem liczby komórek.

Nazwa stanowiska	Gatunki dominujące wg liczby komórek [%]
ŻABNO I – toń	<i>Catena viridis</i> Chodat (12,9)
	<i>Kirchneriella contorta</i> var. <i>elegans</i> (Playfair) Komárek (12,9)
	<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg (11,1)
	<i>Crucigenia tetrapedia</i> (Kirchner) Kuntze (6,5)
ŻABNO I – Ceratophyllum sp.	<i>Cryptomonas ovata</i> Ehrenberg (11,3)
	<i>Catena viridis</i> Chodat (9,3)
	<i>Kirchneriella contorta</i> var. <i>elegans</i> (Playfair) Komárek (9,3)
ŻABNO II – toń	<i>Crucigenia tetrapedia</i> (Kirchner) Kuntze (8,7)
	<i>Glenodiniopsis steinii</i> Wołoszynska (26,1)
	<i>Cryptomonas obovata</i> Czosnowski (5,4)
ŻABNO II – Ranunculus sp.	<i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Svirenko (4,6)
	<i>Tribonema vulgare</i> Pascher (7,2)
	<i>Radiococcus polycoccus</i> (Korshikov) I.Kostikov, T.Darienko, A.Lukesová & L.Hoffmann (6,4)
	<i>Cosmarium formosulum</i> Hoff (4,8)
	<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille (4,8)
	<i>Sphaerocystis planctonica</i> (Korshikov) Bourrelly (4,8)

Nazwa stanowiska	Gatunki dominujące wg liczby komórek [%]
PRZYBORÓW IA – toń	<i>Rhodomonas lacustris</i> var. <i>nannoplanctica</i> (Skuja) Javornicky (23,3)
	<i>Trachelomonas volvocina</i> (Ehrenberg) Ehrenberg (13,0)
	<i>Catena viridis</i> Chodat (10,4)
PRZYBORÓW IB – toń	<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg (9,2)
	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg (7,2)
	<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof (5,9)
PRZYBORÓW I – <i>Myriophyllum</i> sp.	<i>Kephyrion rubri-claustri</i> Conrad (5,9)
	<i>Rhodomonas lacustris</i> var. <i>nannoplanctica</i> (Skuja) Javornicky (21,2)
	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki (16,2)
PRZYBORÓW II – <i>Ceratophyllum</i> sp.	<i>Catena viridis</i> Chodat (8,4)
	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg (38,5)
	<i>Cocconeis pediculus</i> Ehrenberg (13,7)
PRZYBORÓW IIA – toń	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki (6,8)
	<i>Kirchneriella contorta</i> var. <i>elegans</i> (Playfair) Komárek (37,1)
	<i>Catena viridis</i> Chodat (27,9)
PRZYBORÓW IIB – toń	<i>Monoraphidium contortum</i> (Thuret) Komárková-Legnerová (11,2)
	<i>Rhodomonas lacustris</i> var. <i>nannoplanctica</i> (Skuja) Javornicky (42,9)
	<i>Chrysochromulina parva</i> Lackey (8,1)
	<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg (8,1)
	<i>Kirchneriella contorta</i> var. <i>elegans</i> (Playfair) Komárek (7,8)

STRUKTURA ZBIOROWISK FITOPLANKTONU POD WZGLĘDEM SPOSOBU ODŻYWIANIA

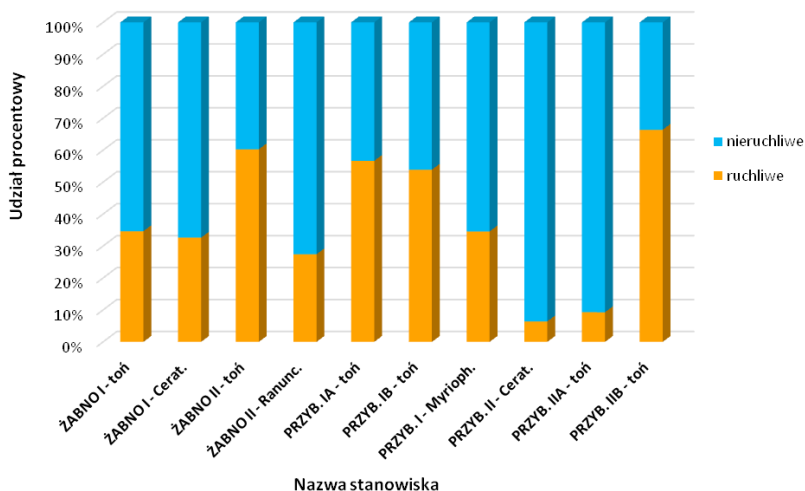
Analizując strukturę ilościową zbiorowisk glonów pod względem sposobu odżywiania, stwierdzono, że na stanowiskach pokrytych płatami roślinności zanurzonej dominowały formy autotroficzne fitoplanktonu nad miksotroficznymi. Rozkład procentowy w każdej z tych prób kształtował się następująco: Żabno I – Ceratophyllum 68,8% autotrofów, Żabno II – Ranunculus 87,7%, Przyborów I – Myriophyllum 70% oraz Przyborów II – Ceratophyllum 94,6% (rys. 2). W próbach pobranych z toni wodnej każdego ze stawów struktura dominantów pod względem sposobu odżywiania nie wykazała wyraźnych zależności. Mogłoby się wydawać, że przeciwnie do stanowisk z roślinnością będą tu dominowały formy miksotroficzne, jednakże udział procentowy liczby komórek autotroficznych osiągnął wyższe wartości w niektórych próbach. Mianowicie, na stanowiskach Żabno I – toń (66% form autotroficznych fitoplanktonu) oraz Przyborów IIA – toń (91,2%) odnotowano znaczną dominację autotrofów. W pozostałych próbach dominowały formy miksotroficzne, a rozkład procentowy ich dominacji wyglądał następująco: 55,1% w Żabno II – toń, 56,5% w Przyborów IA – toń, 53,6% w Przyborów IB – toń, 64,5% w Przyborów IIB – toń.



Rysunek 2. Procentowe zróżnicowanie zbiorowisk fitoplanktonu ze względu na sposób odżywiania w całkowitej liczbie komórek w badanych stawach Żabno i Przyborów.

STRUKTURA ZBIOROWISK FITOPLANKTONU POD WZGLĘDEM ZDOLNOŚCI RUCHU

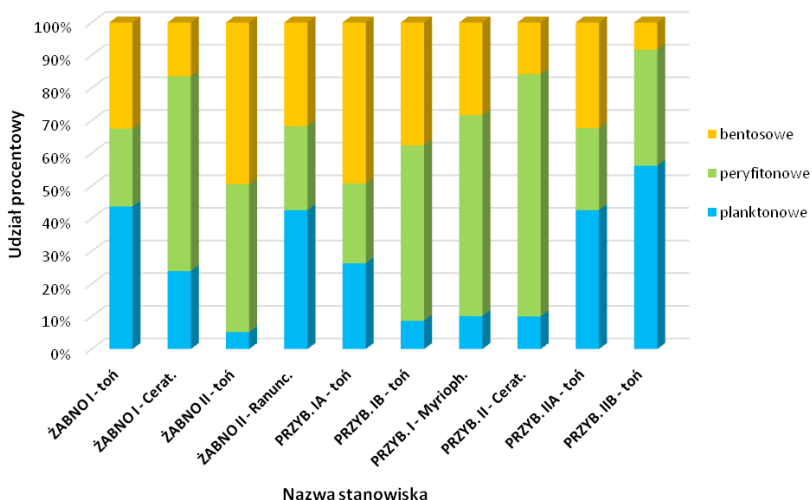
Pod względem zdolności ruchu wyróżnia się wśród grup fitoplanktonu formy ruchliwe i nie posiadające zdolności ruchu (nieruchliwe). Formy posiadające zdolność ruchu dominowały na następujących stanowiskach: Żabno II – toń (60,3% ogólnej liczby komórek w danej próbie), Przyborów IA – toń (56,7%), Przyborów IB – toń (53,9%), Przyborów IIB – toń (66,4%) (rys. 3). W pozostałych próbach dominowały formy nieruchliwe a struktura ich udziału procentowego w ogólnej liczbie komórek przedstawiała się następująco: 65,4% na stanowiskach Żabno I – toń oraz Przyborów I – Myriophyllum, 67,4% w Żabno I – Ceratophyllum, 72,6% w Żabno II – Ranunculus, 93,6% w Przyborów II – Ceratophyllum i 90,7% w próbie Przyborów IIA – toń. Na stanowiskach zlokalizowanych w obrębie płątów elodeidów zaobserwowano dominację form nieruchliwych glonów. Roślinność zanurzona jest dobrym siedliskiem dla glonów osiadłych, toteż występuje tam mniej form ruchliwych. W większości prób pobranych z otwartej toni wodnej (oprócz Żabno I – toń i Przyborów IIA – toń) wyraźnie dominowały formy ruchliwe fitoplanktonu.



Rysunek 3. Procentowe zróżnicowanie zbiorowisk fitoplanktonu pod względem zdolności ruchu w całkowitej liczbie komórek w badanych stawach Żabno i Przyborów.

STRUKTURA FORM EKOLOGICZNYCH OKRZEMEK

Poddając analizie strukturę form ekologicznych okrzemek wg Luc Denys'a zauważono, że w 4 próbach dominowały formy planktonowe, również w 4 formy peryfitonowe, a tylko w 2 próbach – formy bentosowe (rys. 4). Stanowiska z przewagą okrzemek peryfitonowych to głównie stanowiska zlokalizowane w obrębie roślinności zanurzonej, czyli Żabno I – Ceratophyllum (59,6% ogólnej liczby komórek okrzemek w próbie), Przyborów I – Myriophyllum (61,5%), Przyborów II – Ceratophyllum (74,2%), a także jedno z toni wodnej, Przyborów IB – toń (53,7%). Okrzemki planktonowe dominowały w trzech próbach pochodzących z otwartej toni wodnej: Żabno I – toń (43,7%), Przyborów IIA – toń (42,5%), Przyborów IIB – toń (56,1%) oraz w jednej próbie pobranej z płatu roślinności Żabno II – Ranunculus (42,5%). Natomiast na stanowiskach Żabno II – toń oraz Przyborów IA – toń przewagą wykazały się formy bentosowe okrzemek, na poziomie odpowiednio 49,5% i 49,3%.

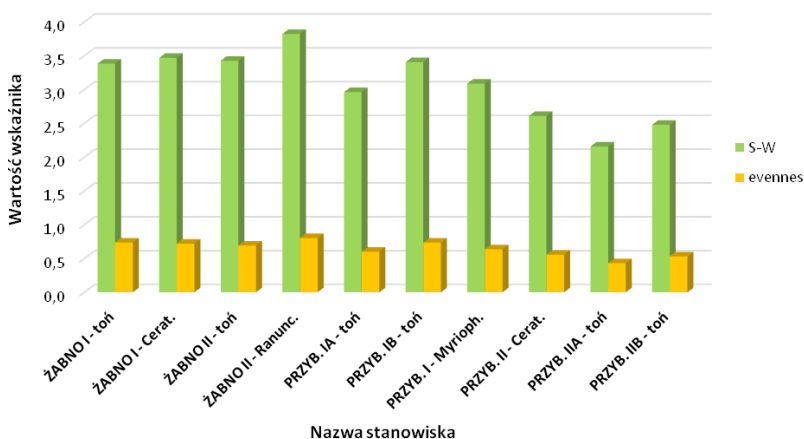


Rysunek 4. Procentowe zróżnicowanie zbiorowisk okrzemek pod względem form ekologicznych wg Luc Denys'a w całkowitej liczbie komórek w badanych stawach Żabno i Przyborów.

WSKAŹNIKI RÓŻNORODNOŚCI ZBIOROWISK FITOPLANKTONU

Najwyższą wartość wskaźnika różnorodności Shannona-Weavera odnotowano w próbie Żabno II – Ranunculus (3,82), w której liczba taksonów była jedną z najniższych – 116 (rys. 5). Z kolei najniższa wartość tego wskaźnika wystąpiła w próbie Przyborów IIA – toń (2,16), odznaczającej się najwyższą liczbą taksonów glonów (150) wśród badanych stanowisk. W stawach Żabno I i Żabno II wartości wskaźnika Shannona-Weavera były stosunkowo wysokie, bliskie 3,5 i więcej. W stawie Przyborów I wartości te oscylowały w granicach 3.

Analizując ten wskaźnik pod kątem zależności otwarta toń wodna – roślinność, zaobserwowano, że oprócz zbiornika Przyborów I, w pozostałych stawach występują wyższe wartości wskaźnika bioróżnorodności w obrębie płatów roślinności zanurzonej niż w toni wodnej.



Rysunek 5. Wartości wskaźników różnorodności zbiorowisk fitoplanktonu Shannona-Wienera i evennes w badanych stawach Żabno i Przyborów.

DYSKUSJA

Stawy to zbiorniki wody słodkiej o niewielkiej głębokości i powierzchni, naturalne lub sztuczne. Światło dociera w nich do dna na całej powierzchni, co umożliwia rozwój roślin zanurzonych, zakorzenionych w dnie zbiornika. Od jezior odróżnia je nie tylko wielkość, ale także brak pionowego zróżnicowania

warunków termicznych i morfologii dna. W ciepłej porze roku, temperatura w całej masie wody jest niemalże jednakowa. W ciągu dnia woda bardzo szybko się nagrzewa, a nocą ulega równie szybkiemu oziębieniu. Dobowe amplitudy temperatury osiągają więc wartość nawet kilku stopni Celsjusza. Powoduje to ciągłe mieszanie się wód w stawach, które są zbiornikami polimiktycznymi, bez trwałego uwarstwienia termicznego, przyczynia się do tego również wpływ wiatru. Mikulski (1982) uważa jednak, że wiatr ma mniejszy wpływ na kształtowanie się zbiorowisk fitoplanktonu w tak płytkich zbiornikach gdyż turbulencje wody mają charakter ciągły. Zmienność dotyczy bardziej zawartości substancji odżywczych w wodach tych drobnych zbiorników, głównie azotu i fosforu. Dostają się one do stawów przede wszystkim w okresie jesienno-letnim z pól uprawnych, podczas ulewnych deszczy oraz z pozostałych obszarów zlewni. Dodatkowo, przy wysokiej temperaturze otoczenia wzrasta parowanie wody w zbiorniku, co razem z dopływem biogenów skutkuje wzrostem trofii. Składniki mineralne i biogeny również ulegają mieszaniu razem z całą masą wody. Dzięki temu, wody w stawach charakteryzują się wysoką żyznością. Wymienione wyżej cechy wskazują na wysoką zmienność warunków fizyczno-chemicznych w stawach, co znajduje odzwierciedlenie w zasiedlających je glonach. Muszą one charakteryzować się szerokim zakresem tolerancji ekologicznej na wiele czynników (gatunki eurytopowe, ubikwistyczne). Ogólnie rzecz biorąc, stawy cechują się morfologicznym uproszczeniem w porównaniu do jezior. Można w nich wyróżnić jedynie brzegi, dno i wypełniającą je wodę (Starmach i in. 1978, Kawecka i Eloranta 1994, Scheffer 2001, Bucka i Wilk-Woźniak 2007, Bajkiewicz-Grabowska i Mikulski 2011). Nie mniej jednak zbiorowiska fitoplanktonu występujące w stawach są podobne do zbiorowisk glonów w jeziorach pod względem składu gatunkowego (Kałużowska 1975).

Ze względu na charakterystyczną zmienność panującą w stawach oraz wysoki stan trofii, może się w nich rozwijać bogaty plankton roślinny, charakteryzujący się dużą zmiennością struktury jakościowej jak i ilościowej. Zmienność zbiorowisk fitoplanktonu w drobnych zbiornikach wodnych powodowana jest przez kilka czynników. Główne z nich to: działanie wiatru, wahania poziomu wody, dostępność światła i wahania temperatury wody, zużywanie substancji pokarmowych, wyjadanie przez zwierzęta, allelopatyczne oddziaływanie makrofitów zanurzonych (Starmach i in. 1978, Starmach 1989, Wetzel 2001). W tak płytkich zbiornikach jak badane stawy, dzięki dużej dostępności światła, fitoplankton może rozwijać się w całym słupie wody. Jeśli dodatkowo staw jest bogaty w substancje biogenne (N, P, Si, Fe), przekłada się to na wysoką aktywność fotosyntetyczną fitoplanktonu, który może osiągać znaczne wartości biomasy. Jednakże, zbyt intensywny wpływ nasłonecznienia

może działać hamująco na przeprowadzaną przez glony fotosyntezę, redukując jego ilość (Kawecka i Eloranta 1994, Kajak 1998).

Pochodzenie zbiornika, naturalne bądź sztuczne, może mieć istotny wpływ na jego funkcjonowanie (Kuczyńska-Kippen 2009). Jednakże z analizy wyników badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy wynika, iż pomiędzy strukturą jakościową i ilościową zbiorowisk fitoplanktonu a pochodzeniem stawu nie stwierdzono wyraźnych zależności. Zaobserwowano natomiast, że na rozwój zbiorowisk glonów znaczny wpływ ma siedlisko, w którym się one rozwijają. I tak, pomiędzy strukturą fitoplanktonu zasiedlającego otwartą toń wodną a strukturą glonów zasiedlających płyty roślinności zanurzonej, stwierdzono istotne różnice.

W jeziorach, w sezonie letnim, dominującymi grupami taksonomicznymi w strukturze fitoplanktonu są okrzemki, zielenice i sinice (Mikulski 1985, Starmach 1989, Podbielkowski 1996). Badania prowadzone w 2009 roku na 54 drobnych zbiornikach wodnych w Wielkopolsce wykazały, że najczęściej taksonów odnotowano wśród zielenic, okrzemek, sinic i euglenin (Kuczyńska Kippen 2009). Podobne wyniki uzyskał Krasznai i in. (2010). W badanych stawach z okolic Nowej Soli (Żabno i Przyborów) układ dominujących grup taksonomicznych był identyczny. Najliczniejszą grupą były również zielenice, wśród których odnotowano 155 gatunków. Były one grupą dominującą na 4 badanych stanowiskach (Żabno I – toń, Żabno I – *Ceratophyllum*, Żabno II – *Ranunculus*, Przyborów IIA – toń), zarówno w toni wodnej jak i w płatach roślinności zanurzonej. Taksony, które osiągnęły najwyższą liczebność wśród zielenic to w kolejności od najliczniejszego: *Kirchneriella contorta* var. *elegans* (Playfair) Komárek, *Catena viridis* Chodat, *Monoraphidium contortum* (Thuret) Komárková-Legnerová, *Crucigenia tetrapedia* (Kirchner) Kuntze, *Desmodesmus communis* (E.Hegewald) E.Hegewald. Wykazały się one wysoką frekwencją na poziomie powyżej 60%, a dwa z nich, tj. *Desmodesmus communis* oraz *Monoraphidium contortum*, odnotowano na wszystkich badanych stanowiskach. Są to gatunki, których komórki są niewielkie, od kilku do maksymalnie 40 µm w przypadku wąskich i wydłużonych komórek *Monoraphidium contortum* (Starmach 1989). Zaliczyć je można do grupy glonów kosmopolitycznych, w większości często występujących w planktonie wód słodkich.

W porównaniu do jezior, sinice w drobnych zbiornikach wodnych osiągają mniejszą liczebność, najliczniejsze są natomiast zielenice oraz okrzemki (Kuczyńska-Kippen 2009). Podobny układ struktury ilościowej z małym udziałem sinic w zbiorowiskach fitoplanktonu stwierdzono w stawach Przyborów i Żabno. Odnotowano w nich łącznie 35 gatunków sinic, z czego najliczniejsze

były kolejno *Planktolyngbya limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg, *Chroococcus minimus* (Keissler) Lemmermann, *Limnothrix redekei* (Goor) Meffert, a także *Dolichospermum flos-aquae* (Brébisson ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek oraz *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault. Ostatni z wymienionych taksonów sinic jest gatunkiem holoplanktonowym, czyli stanowi stały składnik planktonu. Jednakże w badanych stawach, wystąpił on jedynie na dwóch stanowiskach. Według Buckiej i Wilk-Woźniak (2002), większość sinic charakteryzuje się strategią życiową typu S, czyli „stress tolerators”. Są to gatunki szczególnie odporne na stres środowiskowy, przejawiający się wyczerpywaniem składników pokarmowych, przy zachowaniu odpowiedniej ilości światła.

W płytkich zbiornikach wodnych, roślinność wodna rozwija się znacznie liczniej niż w głębokich jeziorach, w których zazwyczaj ograniczona jest do stosunkowo wąskiego pasa wokół jego brzegów. W drobnych stawach, roślinność zanurzona może porastać całe dno. W porównaniu do jezior, gdzie makrofity występują w charakterystycznym układzie strefowym od brzegu do środka jeziora, w drobnych zbiornikach wodnych roślinność tworzy układ mozaikowy. Płaty makrofitów rozwijają się losowo na dnie stawów (Starmach 1989). Rośliny zanurzone w wodzie tworzą doskonałe siedlisko do rozwoju glonów peryfitonowych, zapewniając im ogromną powierzchnię do kolonizacji. W zależności od ich składu gatunkowego, rozprzestrzenienia, stopnia pokrycia dna zbiornika, różnie kształtują się zbiorowiska zasiedlających je glonów (Kuczyńska-Kippen 2009). Wśród płatów roślin zanurzonych, mogą występować lokalne zmiany zawartości substancji odżywczych w wodzie, zawartości tlenu, bądź też jej odczynu. Prowadzi to do zwiększenia różnorodności i ilości zasiedlających je glonów (Kawecka i Eloranta 1994). Jednakże w badanych stawach stwierdzono większe liczebności komórek glonów w otwartej toni wodnej niż na stanowiskach z roślinnością zanurzoną. Może to być spowodowane większą dostępnością światła w otwartej toni, ponieważ rośliny przy masowym rozwoju powodują zacienienie, które ogranicza aktywność fotosyntetyczną glonów. W wolnej od zacienienia toni wodnej, komórki fitoplanktonu mają ułatwioną możliwość namnażania się oraz pobierania pierwiastków biogenych (Starmach i in. 1978, Kawecka i Eloranta 1994). Z drugiej jednak strony, makrofity mogą hamować rozwój glonów poprzez wydzielanie substancji allelopatycznych, a także konkurencyjne zużywanie substancji odżywczych i tlenu oraz tworzenie zacienienia (Celewicz-Gołdyn i in. 2009, Kuczyńska-Kippen 2009, Reynolds 2006).

Wśród glonów epifitycznych zdecydowanie dominują okrzemki (Kawecka-Eloranta 1994, Kuczyńska-Kippen 2009). Taką samą tendencję zaobserwowano

również w 3 badanych stawach, gdzie wśród płatów roślinności zanurzonej wystąpiła większa liczebność komórek okrzemek niż w otwartej toni wodnej. Na stanowisku Przyborów II – *Ceratophyllum* całkowicie zdominowały one inne grupy taksonomiczne glonów. Okrzemki mają zdolność wytwarzania galaretowatych stylików, którymi przyczepiają się do podwodnych części roślin. Są także odporne na okresowy niedobór światła oraz mają zdolność dzielenia się w świetle jak i w ciemności, toteż mogą rozwijać się pośród roślin zanurzonych w wodzie, tworząc zacienienie. Na częstsze występowanie okrzemek osiadłych może mieć także wpływ ich ciężar właściwy, który jest stosunkowo wysoki, zdecydowanie wyższy niż innych grup glonów, co znacznie utrudnia im unoszenie się w wolnej toni wodnej (Starmach i in. 1978, Kawecka i Eloranta 1994). W badanych stawach Żabno i Przyborów odnotowano łącznie 121 taksonów okrzemek. Wśród nich, największą liczebnością wykazały się następujące gatunki: *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Achnantheidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki, *Cocconeis pediculus* Ehrenberg, *Cyclotella meneghiniana* Kützing oraz *Navicula cincta* (Ehrenberg) Ralfs. Dwa pierwsze z wymienionych taksonów wystąpiły na wszystkich badanych stanowiskach. Pozostałe gatunki również osiągnęły wysoką frekwencję, powyżej 60%. Okrzemki te charakteryzują się niewielkimi wymiarami komórek (Starmach 1989). Większość okrzemek to gatunki kosmopolityczne, czyli takie, które zasięgiem geograficznym obejmują cały świat. Ponadto, *Cyclotella meneghiniana* Kützing charakteryzuje się strategią życiową typu R („ruderals”), co oznacza, że wyróżnia się krótkotrwałością życia, szybkim rozwojem i wczesną reprodukcją. Poza tym, jest bardziej tolerancyjna na mieszanie się wody niż inne gatunki, ponieważ posiada zdolność wyłapywania światła (Bucka i Wilk-Woźniak 2002). Wydaje się więc być dobrze przystosowana do warunków panujących w drobnych zbiornikach wodnych.

Porównując warunki do rozwoju i zasiedlenia, jakie stwarzają glonom makrofity *Ceratophyllum demersum* L. i *Myriophyllum verticillatum* L., warto wspomnieć o ich właściwościach allelopatycznych. Scheffer (2001) uważa, że substancje wydzielane przez wywłócznika mogą oddziaływać pozytywnie na wzrost biomasy glonów, zwłaszcza we wczesnych fazach rozwoju tej rośliny. Inne badania, o których wspomina Scheffer wykazały, że obecność *Myriophyllum* sp. w zbiorniku wodnym może ograniczać rozwój sinic, ale nie ma większego wpływu na zielenice, czy okrzemki. Nieco inaczej twierdzi Hilt i in. (2006), ponieważ z przeprowadzonego przez nich eksperymentu wynika, że wywłócznik ma negatywny wpływ nie tylko na sinice, ale także na okrzemki, a na zielenice wpływa pozytywnie. Podobnie jest z rogatką sztywnym, który wydziela do wody allelopatyczne substancje hamujące wzrost sinic, co prowadzi

do zwiększonego rozwoju zielenic i w efekcie do ich dominacji (Scheffer 2001). Przedstawione fakty mogą wyjaśniać tak małą liczebność sinic, zwłaszcza w tych stawach, na których odnotowano obecność *Ceratophyllum demersum*. Badania Celewicz-Goldyn i in. (2009) dowodzą jednak, że związki wydzielane przez rogatka sztywnego negatywnie wpływają na rozwój okrzemek. Mogłoby to tłumaczyć stosunkowo niską liczebność okrzemek na stanowisku Żabno I – *Ceratophyllum*.

Ważnym czynnikiem mającym wpływ na porostanie roślin zanurzonych w wodzie przez glony, jest ich struktura architektoniczna. Pędy rogatka sztywnego są większe i masywniejsze niż u wywłócznika okółkowego, czy jaskra krążkolistnego, których liście są architektonicznie delikatniejsze i tworzą zdecydowanie mniejszą powierzchnię do zasiedlenia przez fitoplankton, a zwłaszcza okrzemki peryfitonowe. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy wskazują na opisane wyżej zależności.

Kryptofity to organizmy obdarzone zdolnością ruchu, ze względu na obecność dwóch wici nierównej długości z przodu ciała. Niektóre z nich mają zdolność rozwoju w słabych warunkach świetlnych oraz dzięki organom umożliwiającym poruszanie, mogą odbywać wędrówki dobowe do miejsc lepiej oświetlonych lub o wyższym stężeniu substancji pokarmowych (Kawecka i Eloranta 1994, Bucka i Wilk-Woźniak 2002, Knapp i in. 2003). Wśród badanych stanowisk, pod względem liczebności komórek, na jednym z nich odnotowano dominację kryptofitów (Przyborów IIB – toń). Zaznaczyły one także dość licznie swoją obecność w 5 innych próbach (Żabno I – toń, Żabno I – *Ceratophyllum*, Przyborów IA – toń, Przyborów IB – toń, Przyborów I – *Myriophyllum*), na stanowiskach zlokalizowanych pośród roślin zanurzonych oraz w otwartej toni wodnej. Kryptofity, jak wspomniano, dobrze radzą sobie z zacienieniem, toteż mogą swobodnie rozwijać się w płatach roślinności, choć wydawać by się mogło, że mają tam gorsze warunki do swobodnego poruszania się. We wszystkich przeanalizowanych próbach wykryto 9 gatunków kryptofitów, z czego 3 taksony wykazały się 100% frekwencją, w tym dwa dominujące pod względem liczebności komórek: *Cryptomonas erosa* Ehrenberg i *Cryptomonas ovata* Ehrenberg. Najwyższa liczba komórek odnotowanych wśród tej grupy taksonomicznej glonów należała do gatunku *Rhodomonas lacustris* var. *nannoplanctica* (Skuja) Javornicky, z frekwencją 80%. Większość z nich to gatunki ubikwistyczne (eurytopowe), o szerokim zakresie tolerancji dla czynników środowiskowych (Bucka i Wilk-Woźniak 2002).

Tylko na jednym ze stanowisk odnotowano znaczny udział bruzdnic wśród ogólnej liczby komórek glonów, mianowicie było to Żabno II – toń. Taksonem,

który wyraźnie dominował w tej próbie, a także wykazał się najwyższą liczebnością komórek spośród wszystkich stanowisk był *Glenodiniopsis steinii* Woloszyńska. Dinofity, podobnie jak kryptofity, posiadają 2 wici (zlokalizowane w bruzdach pancerzyka), które umożliwiają im aktywne poruszanie się. Są to w większości organizmy morskie, tylko nieliczne z nich żyją w wodzie słodkiej (Bucka i Wilk-Woźniak 2002). Badania wykazały, że największy wpływ na liczebność bruzdnic ma temperatura i wartość ChZT (chemiczne zapotrzebowanie tlenu). Taksony odnotowane w próbach pobranych do badań w ramach niniejszej pracy znalazły się w grupie gatunków o szerokim spektrum tolerancji wobec warunków środowiskowych (m. in. wspomniany już *Glenodiniopsis steinii* Woloszyńska, a także *Peridiniopsis elpatiewskyi* (Ostenfeld) Bourrelly, *Peridinium cinctum* (O.F.Müller) Ehrenberg, czy *Peridiniopsis cunningtonii* Lemmermann).

Eugleniny, dzięki posiadanej wici należą do grupy organizmów posiadających zdolność aktywnego ruchu. Są to głównie organizmy słodkowodne, preferujące niewielkie zbiorniki, bogate w substancje organiczne, z których korzystają, przyczyniając się do przyspieszenia procesu samooczyszczania się wód (Podbielkowski i Tomaszewicz 1996). Eugleny najobficiej zaznaczyły swoją obecność w ogólnej liczbie komórek fitoplanktonu na stanowisku Przyborów IA – toń. Taksonami dominującymi spośród wszystkich pobranych prób ze stawów Żabno i Przyborów były *Trachelomonas volvocina* (Ehrenberg) Ehrenberg oraz *Trachelomonas volvocinopsis* Svirenko. Pierwszy z wymienionych gatunków wystąpił na wszystkich badanych stanowiskach, drugi natomiast wykazał się frekwencją na poziomie 90%. Niemalże wszystkie gatunki euglenin odnotowane w badanych stawach to gatunki kosmopolityczne, o szerokim zakresie tolerancji wobec różnych czynników środowiskowych. Kilka z nich, np. *Lepocinclis acus* (O.F.Müller) Marin & Melkonian, preferuje małe zbiorniki wodne, toteż ich obecność w badanych stawach nie jest zaskakująca.

Najliczniejszym gatunkiem spośród złotowiciowców, który osiągnął 100% frekwencję na badanych stanowiskach była *Chrysochromulina parva* Lackey. Ta grupa glonów wyraźnie zaznaczyła swoją obecność wśród ogólnej liczby komórek fitoplanktonu tylko w jednej próbie (Przyborów IB – toń). Złotowiciowce są pospolitą grupą glonów, masowo pojawiają się zazwyczaj w chłodnych porach roku (wiosną lub jesienią), więc nie odnotowano ich wiele w badanych stawach z okolic Żabna i Przyborowa.

Różnowiciowce są bardzo różnorodną pod względem form grupą glonów. Mogą przybierać formy jednokomórkowe, kolonijne lub nitkowate, prowadzić osiadły lub wolny tryb życia. Występują zazwyczaj w wodach o niewielkim

stopniu zanieczyszczenia, choć niektóre gatunki z rodzajów *Ophiocytium* czy *Tribonema* tolerują nawet wysokie zanieczyszczenie wody oraz małe ilości tlenu (Podbielkowski i Tomaszewicz 1996). W badanych zbiornikach wodnych, to właśnie do tych rodzin należą taksony dominujące pod względem ogólnej liczby komórek spośród wszystkich analizowanych stanowisk, czyli *Ophiocytium capitatum* Wolle oraz *Tribonema vulgare* Pascher. Pierwszy z wymienionych gatunków wykazał się 90% frekwencją w badanych próbach, drugi natomiast wystąpił tylko w 30% stanowisk. Złotowiciowce występują zarówno w wodach zasolonych jak i słodkich, gdzie ustępują jednak innym grupom glonów (okrzemkom, zielenicom i bruzdnicom), nie wysuwając się na pierwszy plan w zbiorowiskach fitoplanktonu. Podobną zależność zaobserwowano również w badanych stawach, co tłumaczy niską liczebność złotowiciowców w poddanych analizie próbach.

W strukturze biomasy glonów można zaobserwować, że spośród czterech badanych stawów, w trzech odnotowano wyższe wartości biomasy w otwartej toni wodnej niż pośród roślin zanurzonych. Analizując biomasę okrzemek, jest ona wyższa na stanowiskach z roślinnością niż w toni wodnej. W jednej z prób (Żabno II – toń), pod względem biomasy dominują wyraźnie bruzdnice. Ogólnie rzecz biorąc, można zauważyć, że jeżeli jakaś grupa taksonomiczna wyraźnie zaznaczyła swój udział w danej próbie znaczną liczebnością komórek, to uwidacznia się ona również w biomacie. Efekt ten jest potęgowany przez wielkość komórek glonów. W ten sposób, duże wartości biomasy osiągnęły okrzemki, bruzdnice, czy kryptofity, których znaczne ilości wystąpiły w poszczególnych próbach (Starmach 1989, Kawecka i Eloranta 1994).

Pod względem sposobu odżywiania, glony wydają się być dobrze przystosowane do różnorodnych warunków panujących w zbiornikach wodnych, zwłaszcza tych niewielkich, jak te poddane badaniom w ramach niniejszej pracy. Większość z nich przeprowadza fotosyntezę i można je zaliczyć do producentów (autotrofów), jednakże są też takie, które są heterotrofami, więc pełnią rolę konsumentów. Można wyróżnić wśród glonów także formy mikсотroficzne, które w zależności od panujących warunków środowiskowych, mogą przechodzić z fototrofizmu do heterotrofizmu i na odwrót. Należą do nich dinofity, kryptofity, złotowiciowce, eugleniny i niektóre zielenice (Kawecka i Eloranta 1994, Kajak 1998). Badane zbiorowiska fitoplanktonu w obrębie poszczególnych stanowisk poddano analizie pod względem struktury sposobów odżywiania. Zaobserwowano, że we wszystkich zbiornikach, więcej form autotroficznych występuje w płatach roślin zanurzonych niż w otwartej toni wodnej. Taki układ spowodowany jest tym, że okrzemki dominujące pośród roślin są formami autotroficznymi, a np. kryptofity odżywiają się rozpuszczoną

materią organiczną, która jest wymywana do toni wodnej i dlatego jest tam więcej miksotrofów (Knapp i in. 2003).

Wśród glonów możemy wyróżnić formy obdarzone zdolnością ruchu (ruchliwe), a także biernie unoszące się w toni wodnej i osiadłe (nieruchliwe) (Reynolds 1984, 2006). Formy ruchliwe można wyróżnić spośród następujących grup taksonomicznych glonów: bruzdnice, kryptofity, złotowiciowce, eugleniny, sinice oraz niektóre zielenice (Starmach 1989). Analiza struktury zbiorowisk fitoplanktonu pod względem zdolności ruchu w badanych zbiornikach wodnych Żabno i Przyborów wykazała, że w otwartej toni wodnej więcej było form ruchliwych glonów niż w płatach roślinności zanurzonej. Powodem takiego układu jest fakt, iż w toni wodnej jest więcej wolnej przestrzeni, w której swobodnie mogą się poruszać np. kryptofity, czy bruzdnice odbywające dobowe wędrówki w kierunku pokarmu (zazwyczaj na dno zbiornika), czy inne glony posiadające zdolność ruchu. W toni wodnej występowała także znaczna ilość form nieruchliwych, które mogły się tam dostać z powodu intensywnego falowania wody w stawach, dzięki któremu zostały one oderwane od organów zanurzonych roślin bądź z dna zbiornika (Kawecka i Eloranta 1994, Knapp i in. 2003, Reynolds 2006).

Van Dam i in. (1994) wyróżnił wśród okrzemek formy planktonowe, peryfitonowe oraz bentosowe. Udział każdej z wymienionych form został przeanalizowany wśród ogólnej liczby komórek okrzemek w poszczególnych zbiornikach wodnych z okolic Przyborowa i Żabna. W większości stawów (3 z 4) zaobserwowano dominację form peryfitonowych okrzemek wśród roślinności zanurzonej, w porównaniu do otwartej toni wodnej. Odnotowano także duży udział form bentosowych okrzemek, które mogły dostać się do toni wodnej bądź występowały wśród płatów zanurzonych roślin z powodu intensywnego mieszania się wód w zbiornikach. Również niewielka głębokość badanych stawów ułatwia dostanie się organizmów bentosowych do otwartej toni, nawet przy niewielkim falowaniu. Organizmy, które znalazły się przypadkowo w „mało odpowiednim” dla siebie siedlisku, tworzą tak zwany tychoplankton (Kadłubowska 1975, Starmach i in. 1978, Kawecka i Eloranta 1994, Bajkiewicz-Grabowska i Mikulski 2011).

Obliczone dla każdej z badanych prób wskaźniki różnorodności gatunkowej Shannona-Weavera oraz evenness (Kawecka i Eloranta 1994, Lampert i Sommer 1996) wskazują na wysoki stopień różnorodności badanych zbiorników wodnych. Wartości tych wskaźników są porównywalne z otrzymanymi przez zespół Kuczyńskiej-Kippen (2009) na 54 badanych drobnych zbiornikach wodnych Wielkopolski. W stawach badanych w ramach niniejszej pracy odnotowano

wyższe wartości wskaźników różnorodności wśród płatów roślin zanurzonych niż w otwartej toni wodnej. Na taki układ, wpływ miała obecność większej ilości gatunków sporadycznych, notowanych tylko na jednym stanowisku. Celewicz-Gołdyn i in. (2009) dowodzi, że wśród płatów *Ceratophyllum demersum*, odnotowane zostały wyższe wartości omawianych wskaźników niż na pozostałych stanowiskach. Jak już wcześniej wspomniano, ogromna zmienność warunków panujących w niewielkich zbiornikach wodnych, a także obecność roślin zanurzonych pozytywnie wpływa na różnorodność gatunkową glonów, zwiększając ją (Starmach i in. 1978, Kawecka i Eloranta 1994, Kuczyńska-Kippen 2009, Krasznai i in. 2010).

Niektóre z gatunków występujących w badanych stawach, zaliczane są do taksonów rzadkich, bądź zagrożonych. Są to: *Cymbella cistula* (Ehrenberg) O.Kirchner, *Cymbella helvetica* Kützing, *Elakatothrix gelatinosa* Wille, *Fragilariforma virescens* (Ralfs) D.M. Williams & Round, *Glenodiniopsis steinii* Wołoszyska, *Lepocinclis spirogyroides* Marin & Melkonian, *Stauroneis phoenicenteron* (Nitzsch) Ehrenberg. Poza jednym taksonem bruzdnicy i eugleniny, przeważają wśród nich okrzemki. Świadczą one o dużym znaczeniu tych zbiorników w zwiększaniu lokalnej różnorodności biologicznej. Jeden z tych gatunków, *Fragilariforma virescens* (Ralfs) D.M. Williams & Round, zasługuje na szczególną uwagę, ponieważ jest gatunkiem uważanym za wymierający (Kuczyńska-Kippen 2009).

PODSUMOWANIE

Analizując strukturę jakościową i ilościową fitoplanktonu, nie stwierdzono wyraźnych różnic między badanymi zbiornikami ze względu na ich pochodzenie. Różnice takie wyodrębniono jedynie w ujęciu stanowisk w stawach, tj. pomiędzy stanowiskiem z roślinnością zanurzoną i otwartą tonią wodną.

Łącznie we wszystkich próbach oznaczono 379 taksonów glonów, w obrębie których największe bogactwo gatunkowe odnotowano dla zielenic, okrzemek, sinic oraz euglenin.

W każdym z badanych stawów odnotowano wyższe liczebności komórek fitoplanktonu w otwartej toni wodnej niż w stanowiskach z roślinnością zanurzoną. Ponadto we wszystkich próbach pobranych z płatów roślinności, oprócz Żabno II – Ranunculus, wystąpiła wyższa liczebność okrzemek w porównaniu z tonią wodną. Na stanowisku Przyborów II – *Ceratophyllum* dominowały one na poziomie aż 88%. W 4 próbach (Żabno I – toń, Żabno I – *Ceratophyllum*, Żabno II – Ranunculus, Przyborów IIA – toń) zaobserwowano

wyraźną dominację zielenic, niezależnie od stanowiska. W próbie Przyborów IIB – toń dominowały wyraźnie kryptofity, które zaznaczyły swoją obecność również w stawach Żabno I oraz Przyborów I. Bruzdnice osiągnęły znaczną liczebność tylko w próbie Żabno II – toń, podobnie eugleniny w Przyborów IA – toń, w porównaniu z innymi próbami. Na stanowisku Przyborów IB – toń licznie występowały złotowiciowce, które w innych próbach występowały sporadycznie.

Analizując biomasę glonów zaobserwowano, że jest ona wyższa w próbach pobranych z otwartej toni wodnej niż z płatów roślinności zanurzonej. Inaczej było jednak na stanowisku Przyborów II – *Ceratophyllum*, gdzie odnotowano znacznie wyższą biomasę w roślinach niż w toni wodnej, lecz może to być spowodowane wyraźną dominacją okrzemek w tej próbie, które osiągają wysokie wartości biomasy, ze względu na duże rozmiary komórek. Na stanowiskach z roślinnością zanurzoną, w porównaniu do toni wodnej, wystąpiły wyższe wartości biomasy okrzemek (oprócz stawu Żabno II, gdzie więcej ich było w toni wodnej). Mogło to być spowodowane strukturą architektoniczną zasiedlanych roślin. Pod względem biomasy, znaczny swój udział w próbach Żabno II – toń (absolutna dominacja), Przyborów IB – toń oraz Żabno I – toń, zaznaczyły bruzdnice. Różnowiciowce osiągnęły stosunkowo dużą biomasę tylko w jednej próbie – Żabno II – *Ranunculus*. Wyraźny udział w biomacie glonów w stawach Żabno I i Przyborów I oraz na stanowisku Przyborów IIB – toń, miały kryptofity, które należą do form miksotroficznych.

Taksony dominujące w poszczególnych próbach pod względem liczby komórek to w większości gatunki małe, o niewielkich wymiarach, jak np. *Catena viridis* Chodat czy *Kirchneriella contorta* var. *elegans* (Playfair) Komárek. Wśród dominantów pod względem biomasy najczęściej wystąpiło taksonów, które charakteryzują się dużymi rozmiarami komórek, przez co wystarczy ich kilka w próbie, aby osiągnąć znaczny udział w ogólnej strukturze biomasy fitoplanktonu. Były to np. *Ceratium hirundinella* (O.F. Müller) Dujardin czy *Cymatopleura solea* (Brébisson) W. Smith. Ogólna struktura taksonów dominujących kształtowała się w różny sposób, od wyraźnej dominacji jednego gatunku i kilku towarzyszących do kilku współdominujących, bez wyraźnej przewagi któregoś z nich.

Analizując badane próby pod względem struktury sposobów odżywiania, odnotowano większy udział form autotroficznych glonów w płatach roślinności zanurzonej niż w otwartej toni wodnej. Powodem takiego rozkładu jest dominacja autotroficznych okrzemek peryfitonowych na tych stanowiskach.

Natomiast w toni wodnej więcej jest kryptofitów, które znajdują tam większe ilości preferowanej do odżywiania materii organicznej.

Pod względem zdolności ruchu, w toni wodnej więcej wystąpiło form ruchliwych fitoplanktonu niż w płatach roślinności zanurzonej. W otwartej toni wodnej jest więcej wolnej przestrzeni, w której mogą się poruszać glony ze zdolnością ruchu np. migracje dobowe. Również zaobserwowano znaczny udział form nieruchliwych w toni wodnej, co mogło być spowodowane falowaniem wody w zbiorniku i utrzymywania ich jako zawiesiny w powierzchniowej warstwie wody.

Biorąc pod uwagę formy ekologiczne okrzemek wg Luc Denys'a, wśród płatów roślinności zanurzonej dominowały formy peryfitonowe okrzemek, w porównaniu do toni wodnej. Inaczej było jednak w stawie Żabno II, gdzie więcej okrzemek peryfitonowych znalazło się w otwartej toni wodnej. Mogło to być spowodowane małą głębokością zbiornika i łatwością mieszania się jego wód pomiędzy strefą litoralu i otwartej toni wodnej, podobnie jak w przypadku dużych ilości form bentosowych okrzemek w toni wodnej innych stawów.

Na stanowiskach z roślinnością zanurzoną (oprócz stawu Przyborów I) odnotowano wyższe wartości wskaźnika różnorodności Shannora-Weavera niż w toni wodnej, ponieważ wśród roślin występowało więcej gatunków sporadycznych, co znacznie zwiększało różnorodność zbiorowisk glonów planktonowych.

LITERATURA

1. Asaeda T., Trung V. K., Manatunge J., van Bon T. 2001. modeling macrophyte – nutrient – phytoplankton interactions in shallow eutrophic lakes and the evaluation of environmental impacts. *Ecological engineering*, 16: 341-357.
2. Bajkiewicz-Grabowska E., Mikulski Z. 2011 *Hydrologia ogólna*. PWN, Warszawa: 79-90.
3. Bucka H., Wilk-Woźniak E. 2002. Monografia. Gatunki kosmopolityczne i ubikwistyczne wśród glonów pro – i eukariotycznych występujących w zbiornikach wodnych Polski południowej. *Instytut Ochrony Przyrody PAN, Zakład Biologii wód im. K. Starmacha PAN*, Kraków:1-219.
4. Bucka H., Wilk-Woźniak E. 2007. Glony pro – i eukariotyczne zbiorowisk fitoplanktonu w zbiornikach wodnych Polski południowej. *Instytut Ochrony Przyrody PAN, Zakład Biologii wód im. K. Starmacha PAN*, Kraków: 7-302.

5. Celewicz-Góldyn S., Joniak T., Kuczyńska-Kippen N., Messyasz B., Nagengast B., Stefaniak K. 2009. Funkcjonowanie zbiorowisk planktonu w zróżnicowanych siedliskowo drobnych zbiornikach wodnych Wielkopolski. Wydawnictwo-Drukarnia BONAMI, Poznań, ss. 504.
6. Fukuhara H., Kawakami A., Shimogaito T. 2003. Characteristics of nutrient dynamics in Lake Sagate, Japa, a shallow sand dune lake. *Hydrobiologia*, 506: 93-99.
7. Guiry M.D., Guiry G.M. 2017. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication [online]. National University of Ireland, Galway. Dostęp: <http://www.algaebase.org> [20.10.2017].
8. <http://www.arimr.gov.pl>
9. http://www.arimr.gov.pl/fileadmin/pliki/PB_2015/P_WZSO/16_3_2015/PRSK_2015/PRSK_2015_wprowadzenie_16_03_2015.pdf
10. http://www.arimr.gov.pl/fileadmin/pliki/PB_2015/P_WZSO/16_3_2015/PRSK_2015/PRSK_2015_Pak2_16_03_2015.pdf
11. http://www.arimr.gov.pl/fileadmin/pliki/PB_2015/P_WZSO/24_06_2015/Zazielenianie_broszura_24_06_2015.pdf
12. Kadłubowska J.Z. 1975. *Zarys algologii*. PWN, Warszawa: 9-475.
13. Kajak Z. 1998. *Hydrobiologia-limnologia. Ekosystemy wód śródlądowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, ss. 355.
14. Kawecka B., Eloranta P.V. 1994. *Zarys ekologii glonów wód słodkich i środowisk lądowych*. PWN, Warszawa: 5-198.
15. Knapp C.W., deNoyelles F., Graham D.W., Bering S. 2003. Physical and chemical conditions surrounding the diurnal vertical migrations of *Cryptomonas* spp. (Cryptophyceae) in a seasonally stratified reservoir (USA). *Journal of Phycology*. 39: 855-861.
16. Kondracki J. 2000. *Geografia regionalna Polski*, PWN.
17. Kuczyńska-Kippen N. 2009. Funkcjonowanie zbiorowisk planktonu w zróżnicowanych siedliskowo drobnych zbiornikach wodnych Wielkopolski. BONAMI Wydawnictwo-Drukarnia, Poznań: 5-504.
18. Lampert W., Sommer U. 1996. *Ekologia wód śródlądowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, ss. 389.
19. Lee R. E. 2008. *Phycology*. Cambridge University Press, ss. 547.

20. Messyasz B. 2006. *Chlorophyta* – plants connected with diverse water reservoirs. biodiversity: Research and conservation, 3-4: 352-356.
21. Mikulski J.St. 1982. Biologia wód śródlądowych. PWN, Warszawa.
22. Podbielkowski Z. 1996. Glony. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa, ss. 215.
23. Podbielkowski Z., Tomaszewicz H. 1996. Zarys hydrobotaniki. PWN, Warszawa: 424-448.
24. Reynolds C. S. 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge university Press, Cambridge, pp 5-569.
25. Reynolds C.S. 2006. The ecology of phytoplankton. Cambridge University Press, ss. 535.
26. Scheffer M. 2001. Ecology od Shallow Lakes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 1-313.
27. Starmach K. 1989. Plankton roślinny wód słodkich. Metody badania I klucze do oznaczania gatunków występujących w wodach Europy Środkowej. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa – Kraków: 7-60.
28. Starmach K., Wróbel S., Pasternak K. 1978. Hydrobiologia: limnologia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa: 59-61, 385-409, 425-445.
29. Van Dam H., Merten A., Sinkeldam J. 1994. A coded checklist and ecological indicators values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 28(1): 117-133.
30. van Donk E., van de Bund W. J. 2002. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto – and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany*, 72: 261-274.
31. Van den Hoek, C. Jahns, H.M., Mann, D.G. 1995. *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge University Press, First edition, pp. 623.
32. Wetzel R. G. 2001. *Limnology. Lake and river Ecosystems*. Third Edition. Oxford Academic Press, pp 5-1006.
33. Woś A. 1994. *Klimat Niziny Wielkopolskiej*. Wydawnictwo naukowe UAM, Poznań:10-16, 92-121.



ISBN 978-83-62108-37-4