

UNIWERSYTET ŚLĄSKI w KATOWICACH
WYDZIAŁ NAUK PRZYRODNICZYCH
INSTYTUT NAUK O ZIEMI w SOSNOWCU

Marta Składowska

**METODY REMEDIACJI *IN SITU* Z WYKORZYSTANIEM NATURALNYCH
WŁAŚCIWOŚCI SKAŁ ORAZ ORGANIZMÓW ŻYWYCH**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Promotor:

Prof. dr hab. Leszek Marynowski

Opiekun przemysłowy:

dr Leszek Majgier

SOSNOWIEC 2023

Podziękowania

Składam serdeczne podziękowania Promotorowi niniejszej pracy Prof. dr hab. Leszkowi Marynowskiemu za opiekę, cenne wskazówki i rady oraz życzliwość.

Bardzo serdecznie dziękuję wszystkim osobom, których pomoc przyczyniła się do usprawnienia realizacji niniejszej rozprawy. Szczególne podziękowania składam dla dr Leszka Majgiera za dyskusje nie tylko naukowe, motywację do pracy oraz pomoc w pracach terenowych.

Szczególnie serdeczne podziękowania składam swoim najbliższym za nieocenione wsparcie jakim obdarzali mnie na każdym etapie realizacji pracy i mojej córce, za cierpliwość i wyrozumiałość.

Spis treści

1. Wprowadzenie	7
2. Przegląd literatury	9
2.1. Akty prawne dotyczące oceny stopnia zanieczyszczenia gleby	9
2.2. Związki ropopochodne	14
2.3. Metale ciężkie	16
2.4. Technologie i metody remediacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi i metalami ciężkimi	19
2.4.1 Bioremediacja	21
2.4.2 Fitoremediacja	23
2.4.3 Wspomagana fitostabilizacja	25
3. Cel i zakres pracy	28
4. Materiały i metody	31
4.1. Charakterystyka terenu badań	32
4.1.1. Poletko badawcze zanieczyszczone związkami ropopochodnymi	32
4.1.2. Poletko badawcze zanieczyszczone metalami ciężkimi	33
4.2. Metodyka poboru próbek gleby	34
4.3. Materiał roślinny wykorzystany w doświadczeniach	37
4.4. Charakterystyka biopreparatu zastosowanego do bioremediacji	39
4.5. Charakterystyka wykorzystanych dodatków stabilizujących	39
4.6. Doświadczenie polowe – bioremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi	41
4.7. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu łąki kwietnej	43
4.8. Doświadczenie wazonowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu morwy białej <i>Morus alba</i>	45
4.9. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych metalami ciężkimi	47
4.10. Wspomagana fitostabilizacja z użyciem dodatków doglebowych	49
4.11. Metody analiz laboratoryjnych	50
4.11.1. Oznaczanie zanieczyszczeń organicznych w materiale glebowym	50
4.11.2. Oznaczanie całkowitej zawartości pierwiastków w materiale glebowym	53
4.11.3. Oznaczanie odczynu w materiale glebowym	55
4.11.4. Oznaczanie składu granulometrycznego	55
4.11.5. Oznaczanie współczynnika filtracji gleb i gruntów (wodoprzepuszczalność) metodą spadków hydraulicznych	57
4.11.6. Zakres pomiarowy stosowanych metod badawczych	59
4.12. Metody statystyczne	60
5. Wyniki badań	60

5.1. Skład granulometryczny badanych gleb	60
5.2. Doświadczenie polowe – bioremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi	65
5.3. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu łąki kwietnej	68
5.4. Doświadczenie wazonowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu morwy białej <i>Morus alba</i>	71
5.5. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych metalami ciężkimi	74
5.6. Wspomagana fitostabilizacja z użyciem dodatków doglebowych	82
6. Dyskusja wyników	90
6.1. Związki ropopochodne	90
6.2. Metale ciężkie	94
7. Wdrożenie usługi remediacyjnej – procedura postępowania	100
7.1. Metoda in situ – fitoremediacja	101
7.1.1. Gleba zanieczyszczona metalami ciężkimi	101
7.1.2. Gleba zanieczyszczona substancjami ropopochodnymi	104
7.2. Metoda in situ – bioremediacja	106
8. Wnioski	108
9. Literatura	113

Spis tabel

Tabela 1. Dopuszczalne wartości stężeń wybranych substancji w glebie lub ziemi określone dla głębokości 0,0 – 0,25 m p.p.t., z podziałem na grupy gruntów.....	12
Tabela 2. Dopuszczalne wartości stężeń wybranych substancji w glebie lub ziemi określone dla głębokości poniżej 0,25 m p.p.t., z podziałem na grupy gruntów oraz uwzględnieniem wodoprzepuszczalności gleby i ziemi	13
Tabela 3. Stężenia metali ciężkich w zastosowanym dodatku doglebowym w postaci drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego z Kopalni Węgla Brunatnego Sieniawa.....	41
Tabela 4. Wykaz zastosowanych metod badawczych wraz z ich zakresem pomiarowym	59
Tabela 5. Podział gleb i utworów mineralnych na grupy i podgrupy granulometryczne według wagowej procentowej zawartości frakcji piaskowej, pyłowej i ilowej w częściach ziemistych (PTG, 2008).....	60
Tabela 6. Wyniki analizy granulometrycznej gleb z poszczególnych miejsc poboru	62
Tabela 7. Wyniki eksperymentu polegającego na bioremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi.....	66
Tabela 8. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby pobranych z głębokości 0-0,25 m p.p.t. z terenów przemysłowych (marzec 2018 r.)	68
Tabela 9. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby pobranych z głębokości 0-0,25 m p.p.t. z sekcji nr 1 obsianej mieszanką nasion tworzącą „łąki kwietne” w czasie trwania procesu fitoremediacji.....	69
Tabela 10. Stężenia substancji ropopochodnych w kontrolnych próbkach gleby niepoddanych procesowi fitoremediacji pobranych z głębokości 0-0,25 m p.p.t. z terenów przemysłowych	70
Tabela 11. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi w czasie trwania doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem morwy białej <i>Morus alba</i> - węglowodory C ₁₂ - C ₃₅	74
Tabela 12. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi w czasie trwania doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem morwy białej <i>Morus alba</i> - węglowodory C ₆ - C ₁₂	74
Tabela 13. Wyniki badań powierzchniowej warstwy gleby w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. po 12 miesiącach doświadczenia.....	76
Tabela 14. Wyniki badań powierzchniowej warstwy gleby w zakresie głębokościowym 0-0,25 m p.p.t. po 12-tu i 24 miesiącach doświadczenia	78
Tabela 15. Wyniki badań gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi po 24 miesiącach (2 okresach wegetacyjnych) doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem dodatków doglebowych i sadzonek rokitnika zwyczajnego.....	84

Spis rysunków

Rysunek 1. Schemat wybranych metod remediacji zanieczyszczonych gleb w zależności od miejsca przeprowadzania procesu oczyszczania.	20
Rysunek 2. Schemat przeprowadzonych badań	31
Rysunek 3. Przybliżona lokalizacja poletka badawczego zanieczyszczonego węglowodorami ropopochodnymi, wykorzystanego w ramach fitoremediacji.....	32
Rysunek 4. Przybliżona lokalizacja poletka badawczego zanieczyszczonego metalami ciężkimi, wykorzystanego w ramach fitoremediacji.....	33
Rysunek 5. Ogólny widok poletka zanieczyszczonego metalami ciężkimi wykorzystanego do procesu fitoremediacji.....	34
Rysunek 6. Pobieranie próbek gruntu przy pomocy wiertnicy mechanicznej metodą obrotową „na sucho”.....	35
Rysunek 7. Próbkę gleby pobrane do badań laboratoryjnych zabezpieczone na czas transportu w odpowiednich pojemnikach.....	36
Rysunek 8. Wiercenie otworów badawczych przy pomocy wiertnicy mechanicznej metodą obrotową „na sucho” na terenie poletka badawczego zanieczyszczonego substancjami ropopochodnymi.....	42
Rysunek 9. Proces napowietrzania otworów aplikacyjnych po iniekcji biopreparatu na terenie poletka zanieczyszczonego substancjami ropopochodnymi	43
Rysunek 10. Widok „łąki kwietnej” w trakcie trwania procesu fitoremediacji na terenie poletka badawczego zanieczyszczonego związkami ropopochodnymi	45
Rysunek 11. Sadzonki morwy białej wykorzystane w doświadczeniu wazonowym w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi.....	46
Rysunek 12. Sadzonki rokinika zwyczajnego wykorzystane w doświadczeniu polowym w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi	48
Rysunek 13. Sadzonki śnieguliczki białej wykorzystane w doświadczeniu polowym w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi	48
Rysunek 14. Diagram podziału utworów mineralnych na grupy i podgrupy granulometryczne (PTG, 2008).....	61
Rysunek 15. Wykres uziarnienia próbki gleby pobranej z poletka 1 – sekcji 2 (fitoremediacja - łąki kwietne).....	63
Rysunek 16. Wykres uziarnienia próbki gleby pobranej z poletka 2 – sekcji 2 (fitoremediacja – śnieguliczka biała).....	64
Rysunek 17. Wykres uziarnienia próbki gleby wykorzystanej w doświadczeniu stabilizacji wspomaganiej z użyciem wapna dolomitowego	65
Rysunek 18. Wykres zmian stężeń sumy węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ w procesie bioremediacji skażonej gleby	67
Rysunek 19. Stopień redukcji zawartości węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ w próbkach gleby w procesie	68
Rysunek 20. Zmiany stężeń substancji ropopochodnych w glebach z sekcji nr 2	71
Rysunek 21. Stopień redukcji zawartości węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z użyciem morwy białej	72
Rysunek 22. Wykres zmian stężeń sumy węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ w procesie fitoremediacji przy użyciu morwy białej.....	73
Rysunek 23. Wykres zmian stężeń sumy węglowodorów C ₆ -C ₁₂ w procesie fitoremediacji przy użyciu morwy białej.....	73

Rysunek 24. Stopień redukcji zawartości metali ciężkich w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z użyciem wierzby wiciowej po 12-tu miesiącach trwania doświadczenia polowego	77
Rysunek 25. Stopień redukcji zawartości metali ciężkich w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z wykorzystaniem rokitnika zwyczajnego po 12-tu i 24 miesiącach trwania doświadczenia polowego .	79
Rysunek 26. Stopień redukcji zawartości metali ciężkich w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z wykorzystaniem śnieguliczki białej po 12-tu i 24 miesiącach trwania doświadczenia polowego	80
Rysunek 27. Wykres zmian stężeń metali ciężkich zawartych w glebie w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. w 12-miesięcznym procesie fitoremediacji przy zastosowaniu wierzby wiciowej....	81
Rysunek 28. Wykres zmian stężeń metali ciężkich zawartych w glebie w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. w procesie fitoremediacji przy zastosowaniu rokitnika zwyczajnego	81
Rysunek 29. Wykres zmian stężeń metali ciężkich zawartych w glebie w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. w procesie fitoremediacji przy zastosowaniu śnieguliczki białej	82
Rysunek 30. Zmiany odczynu pH w trakcie doświadczenia wazonowego wspomaganą remediacją przy zastosowaniu dodatków doglebowych	83
Rysunek 31. Zmiany stężeń metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym po wprowadzeniu poszczególnych dodatków stabilizujących	85
Rysunek 32. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci wapna	86
Rysunek 33. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci sorbentu mineralnego na bazie montmorylonitu.....	87
Rysunek 34. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci węgla brunatnego .	87
Rysunek 35. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci mączki bazaltowej	88
Rysunek 36. Wykres stopnia redukcji stężeń metali ciężkich zawartych w próbkach gleby obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w procesie fitostabilizacji wspomaganą poszczególnymi dodatkami glebowymi	89

1. WPROWADZENIE

Postępująca degradacja środowiska przyrodniczego spowodowana jest przede wszystkim silną antropopresją, zwłaszcza na terenach zurbanizowanych i zindustrializowanych. Człowiek wywiera coraz silniejszą presję na środowisko, pozostawiając wiele śladów swojej działalności. Szczególnie narażona na niekorzystne oddziaływanie działalności przemysłowej człowieka jest powierzchnia ziemi. Zgodnie z definicją zawartą w Ustawie z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska (Dz. U. 2022, poz. 2556 t.j.), powierzchnia ziemi rozumiana jako ukształtowanie terenu, glebę, ziemię i wody gruntowe, z tym, że:

- „gleba” oznacza górną warstwę litosfery, złożoną z części mineralnych, materii organicznej, wody glebowej, powietrza glebowego i organizmów, obejmującą wierzchnią warstwę gleby i podglebie,
- „ziemia” oznacza górną warstwę litosfery, znajdującą się poniżej gleby, do głębokości oddziaływania człowieka,
- „wody gruntowe” oznaczają wody podziemne w rozumieniu przepisów ustawy z dnia 18 lipca 2001 r. – Prawo wodne, które znajdują się w strefie nasycenia i pozostają w bezpośredniej styczności z gruntem lub podglebiem.

Skażenie powierzchni ziemi przejawia się w postaci zanieczyszczenia pierwiastkami i związkami chemicznymi powszechnie uważanymi za szkodliwe lub niebezpieczne dla zdrowia lub życia ludzi, a także środowiska przyrodniczego. Wciąż narastające zanieczyszczenie gleby ropą naftową i jej pochodnymi spowodowane jest głównie nadmierną eksploatacją złóż naftowych oraz awariami podczas wydobywania, magazynowania czy transportu tych substancji (Alexander, 1999). Substancje ropopochodne obfitują w węglowodory o działaniu mutagennym i kancerogennym, a ich szkodliwy wpływ na organizmy żywe, w których związki te się kumulują, obserwowany jest nawet po wielu latach (Atlas, 1995).

Prawodawstwo polskie w zakresie ochrony środowiska daje wiele narzędzi instytucjom administracji państwowej do podejmowania czynności bezpośrednio związanych z jakością środowiska gruntowo-wodnego. Na mocy aktualnych aktów prawnych nakładane są liczne obowiązki na przedsiębiorców korzystających ze środowiska, zwłaszcza tych którzy poprzez swoją działalność potencjalnie mogą znacząco na nie oddziaływać. Realizacja celów i zamiarów postawionych w aktualnych przepisach związana jest bezpośrednio z koniecznością wykonywania badań fizykochemicznych środowiska gruntowo-wodnego, w szczególności na zawartość pierwiastków i związków organicznych związanych z substancjami powodującymi ryzyko.

Na terenach, w obrębie których zidentyfikowano zanieczyszczenie powierzchni ziemi, władający powierzchnią ziemi, zgodnie z art. 101 h. ustawy z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony

środowiska (Dz. U. 2022, poz. 2556 t.j.) jest obowiązany do przeprowadzenia remediacji, czyli podjęcia wszelkich czynności rozumianych jako poddanie zanieczyszczonej gleby działaniom mającym na celu usunięcie lub zmniejszenie ilości substancji powodujących ryzyko lub ograniczenie rozprzestrzeniania, tak, aby tereny zanieczyszczone przestały stwarzać zagrożenie dla zdrowia ludzi lub stanu środowiska, jeżeli takie zostało stwierdzone. Głównym celem remediacji zanieczyszczonej gleby jest całkowite usunięcie zanieczyszczeń, a w przypadku, gdyby było to niewykonalne, ograniczenie ryzyka ich negatywnego wpływu na środowisko (Stuczyński i in., 2004).

Podczas planowania prac remediacyjnych powinno się uwzględnić przyszłe przeznaczenie i zagospodarowanie terenu zanieczyszczonego, zwłaszcza, jeżeli planowane jest wykorzystywanie takiego terenu kwalifikującego go do grupy gruntów I (m.in. tereny mieszkaniowe i usługowe) zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016. poz. 1395) oraz rachunek ekonomiczny prowadzonych działań. Uwzględnia się również rodzaj zanieczyszczenia i jego charakterystykę jakościową, jak też ilościową, lokalne warunki geologiczne i hydrogeologiczne mające wpływ na migrację zanieczyszczeń w środowisku, wszelkie drogi i czynniki narażenia mające wpływ na zdrowie człowieka, a także możliwości techniczne i technologiczne wykonania remediacji na danym terenie oraz zakładany czas, w którym planuje się osiągnąć pożądany efekt (zwykle metody długotrwałe są znacznie tańsze od metod przynoszących efekty w relatywnie krótkim okresie czasu). Mechanizm fitoremediacji, zwanej zieloną technologią, polega głównie na zastosowaniu aktywności roślin do procesów usuwania, translokacji, stabilizacji i/lub degradacji zanieczyszczeń w glebie (Pilon-Smits, 2005). Rośliny pobierają związki toksyczne z gleby poprzez roztwór glebowy (Mani i Kumar, 2014). Rozpuszczalne formy metali ciężkich stanowią istotne zagrożenie dla środowiska gruntowo-wodnego poprzez łatwą migrację w środowisku (Kabata-Pendias i Pendias, 2001; Karczewska, 2008). W następstwie oddziaływania roślin posiadających zdolność degradacji metali ciężkich na środowisko glebowe, biodostępne formy metali mogą przechodzić w formy trudniej dostępne (Berti i in., 1998; Sas-Nowosielska i in., 2008; Vamerali i in., 2010). Wiązanie zanieczyszczeń w glebie opiera się na procesie pobierania i akumulacji w korzeniach, adsorpcji na powierzchni korzeni lub przekształcenia w związki słabo i trudno rozpuszczalne w ryzosferze (Ali i in., 2013; Mani i Kumar, 2014; Ruttens i in., 2006).

Przeprowadzone przez wielu autorów badania wykazały, że fitotoksyczność próbek gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi malała w miarę postępującego procesu fitoremediacji, a próbki gleby charakteryzowały się mniejszą toksycznością, w porównaniu z próbkami poddanymi jedynie samooczyszczaniu (Małachowska-Jutcz i in. 2012; Olson i Fletcher, 1999; Shahriari i in., 2006; Wang i in. 2008). Wykorzystanie roślin do procesu oczyszczania lub unieruchamiania zanieczyszczeń w glebie sprzyja dodatkowo stabilizacji podłoża i hamowaniu procesu erozji, a tym samym ogranicza powierzchniowe rozprzestrzenianie się zanieczyszczonej gleby (Wójcik, 2000;

Vamerali i in., 2010). Dowodzi to istotnego wpływu roślin na proces oczyszczania gleby z produktów ropopochodnych i metali ciężkich.

Badania nad efektywnością procesu fitoremediacji w oczyszczaniu gleb mają duże znaczenie, ze względu na eliminowanie środków chemicznych z procesów oczyszczania, które pomimo pewnych pozytywnych właściwości prowadzą do nieodwracalnych zmian w środowisku glebowym, przekształcają kierunki zachodzenia procesów glebotwórczych lub całkiem je hamują oraz zmniejszają aktywność mikroflory i mikrofauny glebowej. Dodatkowo eliminacja środków chemicznych z procesów oczyszczania gleb, przy jednoczesnym powszechniejszym wykorzystaniu właściwości roślin spowoduje spadek kosztów prowadzenia prac remediacyjnych, zwłaszcza metodą *in situ*. Szacuje się, że fitoremediacja jest dziesięciokrotnie tańsza od fizykochemicznych metod remediacji gleby. Zastąpienie tradycyjnych technik fizykochemicznych fitoremediacją, może ograniczyć koszty nawet o 50-80% (van Epps, 2006). Metody remediacji *in situ* mają duże znaczenie na terenach, z których usunięcie zanieczyszczonego gruntu może być problematyczne technicznie lub nieuzasadnione ekonomicznie.

2. PRZEGLĄD LITERATURY

2.1. Akty prawne dotyczące oceny stopnia zanieczyszczenia gleby

Aktualne prawodawstwo polskie w zakresie ochrony środowiska umożliwia instytucjom administracji państwowej podejmowanie czynności bezpośrednio związanych z jakością środowiska gruntowo-wodnego. Ponadto na jego mocy nakładane są liczne obowiązki z tym związane, na jednostki administracji centralnej, samorządu terytorialnego, ale przede wszystkim na przedsiębiorców korzystających ze środowiska, a zwłaszcza tych którzy poprzez swoją działalność mogą na nie oddziaływać. Większość obecnie obowiązujących przepisów bezpośrednio wynika z członkostwa Polski w Unii Europejskiej i jej prawodawstwa, które w silnym stopniu kładzie nacisk na aspekty związane z ochroną środowiska, w tym szczególnie powierzchni ziemi i jej elementów. Unia Europejska nakłada na kraje członkowskie obowiązek zapobiegania procesom degradacji środowiska naturalnego, w tym gleby.

Do najważniejszych polskich przepisów prawnych, obejmujących swym zakresem aspekty związane z powierzchnią ziemi, jej stanem i ochroną należą:

- Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. *Prawo ochrony środowiska* (Dz. U. 2022, poz. 2556 t.j.),
- Ustawa z dnia 13 kwietnia 2007 r. *o zapobieganiu szkodom w środowisku i ich naprawie* (Dz. U. 2020, poz. 2187 t.j.),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. *w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi* (Dz. U. 2016, poz. 1395),

- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie rejestru historycznych zanieczyszczeń powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1397),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 22 lipca 2019 r. w sprawie kryteriów oceny wystąpienia szkody w środowisku (Dz. U. 2019, poz. 1383),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie działań naprawczych (Dz. U. 2016, poz. 1396),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie rejestru szkód w środowisku (Dz. U. 2016, poz. 1398).

Zanieczyszczenia powierzchni ziemi związane są w dużej mierze z terenami przemysłowymi, na których prowadzona była lub nadal jest intensywna działalność produkcyjna opierająca się m. in. na wykorzystywaniu substancji powodujących ryzyko, które są rozumiane jako substancje stwarzające zagrożenie, należące co najmniej do jednej klasy zagrożenia wymienionych w częściach 2-5 załącznika nr I do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin. Substancje powodujące ryzyko, dla których określono dopuszczalne zawartości w gruncie to pierwiastki lub związki chemiczne, których ponadnormatywna zawartość w glebie i ziemi może powodować negatywne skutki dla zdrowia lub życia ludzi oraz stanu środowiska gruntowo-wodnego. Zgodnie z Załącznikiem 1 Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi do tych substancji zaliczamy:

- Metale i metaloidy – arsen, bar, chrom, cyna, cynk, kadm, kobalt, miedź, molibden, nikiel, ołów, rtęć;
- Węglowodory ropopochodne – benzyny i oleje (suma węglowodorów C₆-C₁₂, składników frakcji benzyn oraz suma węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju);
- Węglowodory aromatyczne – BTEX;
- Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne – WWA;
- Węglowodory chlorowane – np. PCB, chlorofenole, chlorobenzeny;
- Środki ochrony roślin – pestycydy;
- Zanieczyszczenia nieorganiczne – cyjanki;
- Pozostałe – np. fenole, ftalany, krezole.

Najczęściej identyfikowane zanieczyszczenia w glebie to przede wszystkim metale ciężkie i węglowodory (zarówno alifatyczne jak i aromatyczne).

Każda szczegółowa identyfikacja terenu zanieczyszczonego, powinna być poparta badaniami laboratoryjnymi wykonywanymi wyłącznie w laboratorium akredytowanym. Szczegółową procedurę

postępowania od etapu planowania badań, poprzez wykonywanie badań terenowych, na badaniach laboratoryjnych kończąc określa Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi, dostosowane do przepisów UE. Poszczególne etapy identyfikacji terenów zanieczyszczonych:

- Etap I – ustalenie działalności mogącej być przyczyną zanieczyszczenia na danym terenie obecnie lub w przeszłości;
- Etap II – ustalenie listy substancji powodujących ryzyko, których występowanie w glebie lub w ziemi jest spodziewane;
- Etap III – zebranie oraz analiza dostępnych i aktualnych źródeł informacji oraz badań istotnych dla oceny zagrożenia zanieczyszczeniem gleby lub ziemi substancjami powodującymi ryzyko z listy ustalonej w etapie II;
- Etap IV – zebranie informacji koniecznych do wykonania badań wstępnych oraz wykonanie badań wstępnych;
- Etap V – w przypadku stwierdzenia w gruncie ponadnormatywnych zawartości substancji powodujących ryzyko - przeprowadzenie badań szczegółowych, które mogą zostać wykorzystane do opracowania projektu planu remediacji, a następnie do jej wykonania.

W Rozporządzeniu Ministra Środowiska w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016 poz. 1395) dopuszczalne zawartości substancji zawartych w glebie określa się dla czterech grup gruntów, wydzielonych w oparciu o sposób ich użytkowania zgodny z ewidencją gruntów i budynków (Prawo geodezyjne i kartograficzne). Jeżeli dla danego terenu opracowano miejscowy plan zagospodarowania przestrzennego, dopuszczalne zawartości określa się dla czterech grup gruntów wydzielonych w oparciu o sposób ich użytkowania, ponieważ MPZP jest dokumentem nadrzędnym w stosunku do rejestru ewidencji gruntów. Tym sposobem zgodnie z zapisami ww. rozporządzenia wyróżnia się cztery grupy gruntów:

- grupa I – tereny mieszkaniowe, w tym inne tereny zabudowane, zurbanizowane tereny niezabudowane, grunty rolne zabudowane, tereny rekreacyjno-wypoczynkowe;
- grupa II – tereny rolnicze i tereny ogródków działkowych, sady, łąki, pastwiska;
- grupa III – lasy, w tym grunty zadrzewione i zakrzewione, nieużytki, tereny zieleni objęte formami ochrony przyrody;
- grupa IV – tereny przemysłowe, w tym tereny obiektów produkcyjnych, składów i magazynów, obszary i tereny górnicze, tereny dróg, tereny infrastruktury technicznej.

Dla każdej grupy gruntów określono dopuszczalne wartości stężeń substancji zawartych w glebie, z uwzględnieniem głębokości oraz dla głębszych warstw gruntu - przepuszczalności. Przykładowe wartości standardów jakości gleb dla wybranych metali ciężkich przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Dopuszczalne wartości stężeń wybranych substancji w glebie lub ziemi określone dla głębokości 0,0 – 0,25 m p.p.t., z podziałem na grupy gruntów

Parametr	Jednostka	Dopuszczalne zawartości substancji powodujących ryzyko z podziałem na grupy i podgrupy gruntów					
		I	II			III	IV
			II-1	II-2	II-3		
Arsen	mg·kg ⁻¹ s.m.	25	10	20	50	50	100
Bar	mg·kg ⁻¹ s.m.	400	200	400	600	1000	1500
Chrom	mg·kg ⁻¹ s.m.	200	150	300	500	500	1000
Cyna	mg·kg ⁻¹ s.m.	20	10	20	40	100	350
Cynk	mg·kg ⁻¹ s.m.	500	300	500	1000	1000	2000
Kadm	mg·kg ⁻¹ s.m.	2	2	3	5	10	15
Kobalt	mg·kg ⁻¹ s.m.	50	20	30	50	100	200
Miedź	mg·kg ⁻¹ s.m.	200	100	150	300	300	600
Molibden	mg·kg ⁻¹ s.m.	50	10	25	50	100	250
Nikiel	mg·kg ⁻¹ s.m.	150	100	150	300	300	500
Ołów	mg·kg ⁻¹ s.m.	200	100	250	500	500	600
Rtęć	mg·kg ⁻¹ s.m.	5	2	4	5	10	30
Suma węglowodorów C ₆ -C ₁₂ , składników frakcji benzyn	mg·kg ⁻¹ s.m.	1	1			50	500
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	30	50			300	3000

W przypadku badania gleb z zakresu głębokościowego poniżej 0,25 m w celu porównania stężeń substancji określonych w gruncie ze wartościami granicznymi określonymi z ww. rozporządzenia, poza indywidualnym podziałem na grupy gruntów uwzględnia się także wodoprzepuszczalność gruntu określoną współczynnikiem filtracji.

Tabela 2. Dopuszczalne wartości stężeń wybranych substancji w glebie lub ziemi określone dla głębokości poniżej 0,25 m p.p.t., z podziałem na grupy gruntów oraz uwzględnieniem wodoprzepuszczalności gleby i ziemi

Parametr	Jednostka	Dopuszczalne zawartości substancji powodujących ryzyko z podziałem na grupy i podgrupy gruntów			
		I, II, III		IV	
		Wodoprzepuszczalność		Wodoprzepuszczalność	
		wyższa lub równa 1×10^{-7} m/s	niższa niż 1×10^{-7} m/s	wyższa lub równa 1×10^{-7} m/s	niższa niż 1×10^{-7} m/s
Arsen	mg·kg ⁻¹ s.m.	20	50	25	100
Bar	mg·kg ⁻¹ s.m.	300	600	300	3000
Chrom	mg·kg ⁻¹ s.m.	300	500	300	800
Cyna	mg·kg ⁻¹ s.m.	30	50	40	300
Cynk	mg·kg ⁻¹ s.m.	300	500	300	3000
Kadm	mg·kg ⁻¹ s.m.	3	5	6	20
Kobalt	mg·kg ⁻¹ s.m.	30	60	50	300
Miedź	mg·kg ⁻¹ s.m.	150	300	200	1000
Molibden	mg·kg ⁻¹ s.m.	25	50	30	200
Nikiel	mg·kg ⁻¹ s.m.	100	200	100	500
Ołów	mg·kg ⁻¹ s.m.	100	300	200	1000
Rtęć	mg·kg ⁻¹ s.m.	3	5	4	50
Suma węglowodorów C ₆ -C ₁₂ , składników frakcji benzyn	mg·kg ⁻¹ s.m.	50	500	50	750
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	1000	3000	1000	3000

Należy także podkreślić, że polskie standardy prawne nie biorą pod uwagę większości właściwości gleby. Obowiązujące regulacje prawne, pomimo licznych nowelizacji wciąż odnoszą się do całkowitej zawartości metali ciężkich w glebie, nie uwzględniając związków w jakich występują one w środowisku, co ma duże znaczenie w określeniu ich rzeczywistej mobilności. W związku z powyższym, wyniki badań uzyskane w niniejszej pracy dotyczą całkowitej zawartości metali ciężkich glebie, zgodnie z obowiązującymi regulacjami prawnymi.

2.2 Związki ropopochodne

Substancje ropopochodne stanowią poszczególne frakcje powstające w wyniku destylacji ropy naftowej, będącej złożoną mieszaniną nasyconych i nienasyconych węglowodorów alifatycznych, jedno- i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, związków heterocyklicznych zawierających jeden lub kilka atomów tlenu, azotu lub siarki oraz śladowe ilości jonów metali ciężkich, takich jak ołów, cyna, arsen, rtęć, german, antymon, tal, wanad, żelazo (Thapa i in., 2012; Logeshwaran i in., 2018).

Frakcję pierwszą destylacji ropy naftowej stanowi gaz rafineryjny, który jest mieszaniną gazowych węglowodorów (alkanów) zawierających w cząsteczce od jednego do czterech atomów węgla.

Drugą frakcją jest eter naftowy, zbudowany z węglowodorów o łańcuchach zawierających nie więcej niż siedem atomów węgla. Eter naftowy zwany benzyną lekką jest stosowany jako benzyna apteczna, rozpuszczalnik ekstrakcyjny, a także jako paliwo lotnicze.

Trzecią frakcją stanowi benzyna ciężka, która zawiera węglowodory o łańcuchach zbudowanych z sześciu do dziewięciu atomów węgla. Na drodze procesów reformingu, oczyszczania i uszlachetniania benzyny ciężkiej uzyskuje się z niej benzyny samochodowe wysoko- i niskooktanowe. Kolejną frakcją jest benzyna ciężka ligroina zwana też benzyną lakową, którą stosuje się do lakierów, olejów, farb itp. Ostatnią frakcją ropy naftowej jest nafta, w skład której wchodzi węglowodory zabudowane z łańcuchów zawierających od dziesięciu do szesnastu atomów węgla. Pozostałość po destylacji atmosferycznej po odpowiedniej obróbce stanowi szereg olejów naftowych i produktów przemysłowych takich jak tłuszcze i oleje smarne ($C_{18} - C_{20}$), oleje napędowe, oleje gazowe oraz olej parafinowy ($C_{21} - C_{40}$) (Rakowska, 2012).

Na skutek wydobywania, transportu i przeróbki ropy naftowej, bardzo często dochodzi do zanieczyszczenia środowiska gruntowo-wodnego, co stanowi poważny problem nie tylko w Polsce, ale i na całym świecie. Substancje ropopochodne zanieczyszczające środowisko glebowe powodują w nim zmiany fizyczne, chemiczne i biologiczne (Khan i in., 2013; Logeshwaran i in., 2018; Masakorala i in., 2014). Węglowodory adsorbowane są zarówno na mineralnych jak i na organicznych cząstkach gleby, na skutek czego powstają kompleksy charakteryzujące się różną siłą i trwałością wiązania. W efekcie, biodostępność węglowodorów zostaje ograniczona, a ich rozkład jest często mocno utrudniony (Kołwzan, 2008).

Lekkie frakcje ropy naftowej (węglowodory od C_3 - C_{11}) działają toksycznie na organizmy glebowe i rośliny, są bardzo reaktywne, łatwo przemieszczają się w ziemi i ulatniają do atmosfery. Węglowodory C_{12} - C_{42} są mniej szkodliwe dla organizmów glebowych, jednak ich nagromadzenie w dużej ilości uniemożliwia w glebie prawidłowy rozwój życia biologicznego oraz prowadzi do

obniżenia wymiany powietrznej wynikającej z wypełnienia porów glebowych substancjami ropopochodnymi (Izdebska-Mucha, 2005).

Węglowodory wielopierścieniowe są mało ruchliwe w glebie, jednak frakcje smoliste i asfaltowe są najbardziej trwałe, a skutki ich oddziaływania utrzymują się najdłużej.

Przepracowane oleje silnikowe, ze względu na ich zanieczyszczenie spowodowane pracą silnika (produkty rozkładu termicznego i mechanicznego oleju silnikowego) stanowią szczególne zagrożenie dla środowiska gruntowo-wodnego. Substancje te są trudno biodegradowalne, posiadają właściwości kancerogenne i hamują wzrost i rozwój niektórych roślin (Małuszyński i Małuszyńska, 2009).

Związki ropopochodne zanieczyszczające środowisko glebowe mogą być w nim rozproszone w postaci substancji pływających po powierzchni roztworu glebowego jako węglowodory rozpuszczone w wodzie, w formie zanieczyszczenia zaadsorbowanego na cząstkach gleby, a także jako gazy (Małachowska-Jutsz i in., 1997).

Na rozmiar skażenia gleby związkami ropopochodnymi decydujący wpływ ma stan fizyczny gleby, jej struktura, tekstura oraz wilgotność (Masakorala i in., 2014; Przedwojski i in., 1980; Schwitzguébel, 2017). Istotne znaczenie ma także wielkość zanieczyszczonego terenu, głębokość, do której przenikają produkty ropopochodne oraz ich skład chemiczny (Wyszkowska i in., 2002). Większość węglowodorów aromatycznych występujących w ropie naftowej i jej pochodnych ze względu na toksyczne i kancerogenne działanie, stanowią zagrożenie dla zdrowia i życia organizmów żywych (Boldrin i in. 1993; Kasai i in., 2005).

W przypadku skażenia gleby związkami ropopochodnymi największym zmianom ulegają jej właściwości wodne w układzie powietrze-wodna. Przepuszczalność gleb względem ropy naftowej i jej pochodnych jest proporcjonalna do zawartości wody w glebie. Stopień zanieczyszczenia gleby zależy także od lepkości związków ropopochodnych. Stwierdzono, że ropa naftowa porusza się czterokrotnie wolniej niż olej opałowy charakteryzujący się mniejszą lepkością, w środowisku glebowym w którym dominują osady piaszczyste (Przedwojski i in., 1980). Wypełnienie porów glebowych przez produkty ropopochodne zmniejsza retencję wodną oraz utrudnia przesiąkanie i podsiąkanie wody (Siuta, 2003), co skutkuje zmniejszeniem pojemności kapilarnej gleby i tym samym ilości wody, która jest dostępna dla roślin (Przedwojski i in., 1980). Substancje ropopochodne dość istotnie wpływają na naturalną aktywność biologiczną gleb, co udowodniono licznymi badaniami (Boszczyk-Maleszak i in., 2000; Kucharski i Jastrzębska, 2001; Masakorala i in., 2014; Megharaj i in., 2011; Nowak i in., 1998). W większości przypadków wykazują one działanie toksyczne hamując wyraźnie rozwój mikroorganizmów i związaną z nim aktywność enzymatyczną gleb. Istotne jest, że nieduże zanieczyszczenie gleby substancjami ropopochodnymi może stymulować aktywność enzymatyczną gleby (Kucharski i Jastrzębska, 2006), jednak w większych stężeniach pochodzące z ropy naftowej oleiste składniki pokrywają cienką warstwą cząstki gleby i szczątki roślin, hamując w ten sposób

prawidłowy przebieg procesów życiowych oraz zaburzając procesy mikrobiologiczne w glebie (Schwitzguébel, 2017; Steliga, 2000).

Zanieczyszczenia gleb substancjami ropopochodnymi, wywierają niekorzystny wpływ na właściwości gleby, zaburzając jej właściwości chemiczne, powietrzno-wodne oraz strukturę gleby czego konsekwencje są wyraźnie odczuwalne w rolnictwie (Baran S., 2000; Masakorała i in., 2014). W efekcie gleba traci swoją aktywność biologiczną i nie odzyskuje jej nawet po upływie kilku bądź kilkunastu lat, o czym świadczą liczne prace naukowe (Kołwzan 2002, 2003; Kucharski i Jastrzębska 2001; Pilon-Smits, 2005; Siuta 2003).

Wraz z koncentracją węglowodorów w glebie, zmienia się jej odczyn pH, dochodzi do niedoborów dostępnych form azotu i fosforu oraz wzrasta poziom węgla organicznego w środowisku (Kołwzan, 2008; Lang i in., 2016). Zanieczyszczenia związkami ropopochodnymi mogą migrować w głąb profilu glebowego, a także przedostawać się do wód gruntowych pod wpływem sił grawitacji. Wszystkie te zmiany powodują zaburzenie równowagi biologicznej środowiska gruntowo-wodnego (Logeshwaran i in., 2018). Zanieczyszczenia środowiska substancjami ropopochodnymi jest powszechne i stanowi poważny problem ekologiczny. Przykładowo, zanieczyszczenie węglowodorami wód, gruntów, a w konsekwencji produktów spożywczych stwarza niebezpieczeństwo dla zdrowia ludzi i zwierząt, z uwagi na to, że większość związków ropopochodnych wykazuje działanie toksyczne, mutagenne i kancerogenne na organizmy żywe (Logeshwaran i in., 2018; Rakowska 2012).

2.3. Metale ciężkie

Metale śladowe, ze względu na powszechność występowania, są jednym z najczęściej badanych zanieczyszczeń środowiska naturalnego. Metale są naturalnymi składnikami środowiska będącymi w stałym obiegu pomiędzy systemami powietrze-woda-gleba (Kabata-Pendias, 1993).

Naturalnym źródłem pierwiastków śladowych w glebach jest skała macierzysta, materiał biologiczny i opad atmosferyczny. Rosnące zanieczyszczenie środowiska metalami śladowymi jest najczęściej wynikiem działań antropogenicznych, jak przemysł hutniczy, górnictwo, rolnictwo czy utylizacja odpadów (Ali i in., 2013; Kabata-Pendias, 1993; Mahar i in., 2016; Vamerali i in., 2010). Udowodniono, że metale ciężkie pochodzące ze źródeł antropogenicznych cechują się znacznie większą rozpuszczalnością niż metale pochodzenia litogenicznego, głównie ze względu na związki chemiczne, z jakich są uwalniane do środowiska naturalnego (Kabata-Pendias i Pendias, 1993; Ross, 1994).

Głównym czynnikiem determinującym rozpuszczalność metali ciężkich w glebie jest jej odczyn. Rozpuszczalność metali ciężkich wzrasta wraz z obniżeniem wartości pH gleby. W zakresie odczynu obojętnego i alkalicznego rozpuszczalność metali ciężkich jest niska. W glebach o kwaśnym

odczyńnie dochodzi do rozpuszczania tlenków metali i uwalniania ich z minerałów pierwotnych i wtórnych. Ruchliwość metali w środowisku kwaśnym maleje zgodnie z szeregiem: kadm > cynk > nikiel > mangan > miedź > ołów > rtęć (Karczewska, 2002). Kadm jako metal ciężki charakteryzujący się największą ruchliwością i rozpuszczalnością podlega mobilizacji już przy wartości pH=6,5.

Istotnym czynnikiem warunkującym retencję jonów metali ciężkich w glebie i ich migrację do roztworu glebowego jest pojemność sorpcyjna gleby. Zawartość i rodzaj minerałów ilastych, próchnicy i uwodnionych tlenków glinu i żelaza wpływają na wielkość pojemności sorpcyjnej gleby (Alloway, 1995; Karczewska, 2002; 2008). Czynnikiem wpływającym na proces rozpuszczania metali ciężkich są także warunki oksydacyjno-redukcyjne czy zawartość materii organicznej (Karczewska, 2002).

Zanieczyszczenie gleb metalami ciężkimi ze względu na liczne źródła antropogeniczne, jest coraz bardziej powszechne, a ich zaleganie w glebie może być niezwykle długotrwałe, okres trwania ołowiu w klimacie umiarkowanym szacuje się nawet na około 10 000 lat (Ociepa-Kubicka i Ociepa, 2012). Metale ciężkie, w przeciwieństwie do substancji ropopochodnych, nie ulegają rozkładowi pod wpływem mikroorganizmów glebowych, co przy dużych koncentracjach prowadzi do nieodwracalnych zmian w glebie (Alloway, 1995).

Do metali ciężkich zalicza się metale o gęstości powyżej 5 g/cm. W literaturze obok terminu metale ciężkie często pojawia się także określenie metale śladowe, włączając do tej grupy pierwiastków również pierwiastki lżejsze takie jak np. glin (2,6 g/cm³). Część z nich charakteryzuje się właściwościami toksycznymi, negatywnie oddziałującymi na organizmy żywe. Metale ciężkie kumulują się w organizmach żywych, z czasem ograniczając ich podstawowe funkcje życiowe (Kabata-Pendias i Pendias, 1999; Mani i Kumar, 2014). Formy rozpuszczalne metali ciężkich są szczególnie szkodliwe, ponieważ łatwo przedostają się do organizmów żywych i są wchłaniane przez rośliny, zwierzęta i ludzi. Rozpuszczalne formy metali ciężkich posiadają szczególną łatwość migracji w środowisku przez co stanowią duże zagrożenie dla wód powierzchniowych i podziemnych, skąd poprzez roztwór glebowy są pobierane przez rośliny. Metale ciężkie są wchłaniane do organizmu przez skórę, drogi oddechowe lub pokarmowe wraz ze spożywanymi produktami roślinnymi i zwierzęcymi. Metale ciężkie są niebezpieczne dla zdrowia, ponieważ zakłócają pracę wielu układów w organizmach żywych. Zagrożenie metalami ciężkimi wynika z ich migracji w łańcuchu troficznym gleba-roślina-zwierzę-człowiek oraz ich akumulacji w ostatnim ogniwie, jakim jest organizm człowieka. W organizmach żywych narażonych na działanie metali ciężkich mogą wystąpić zmiany, wywołujące szereg zespołów chorobowych. Długotrwała ekspozycja na metale ciężkie może powodować wystąpienie choroby nowotworowej, uszkodzenia organów wewnętrznych lub zmiany w ich prawidłowym funkcjonowaniu (Ali i in., 2013; Mahar i in., 2016; Mani i Kumar, 2014; Ociepa-Kubicka i Ociepa, 2012; Vamerali i in., 2010).

Pod względem zapotrzebowania biochemicznego organizmów żywych, część metali ciężkich jest im niezbędna do prawidłowego rozwoju i przebiegu procesów metabolicznych (miedź, żelazo, mangan, cyna, cynk, kobalt, chrom, selen, wanad oraz magnez). Jednak takie metale jak kadm, ołów czy rtęć niezależnie od ilości w jakiej występują są zawsze szkodliwe dla organizmów żywych (Kabata-Pendias i Pendias, 1999; Mahar i in., 2016; Vamerali i in., 2010).

Metale ciężkie ze względu na biodostępność można podzielić na 1) nietoksyczne, jak np. żelazo, 2) toksyczne w zależności od stężenia i dostępne w formach rozpuszczalnych, np. kadm, miedź, nikiel, ołów, platyna, złoto, rtęć, cynk i cyna oraz 3) toksyczne i niedostępne w formie rozpuszczalnej, np. wanad, wolfram, tytan czy osm (Kabata-Pendias i Pendias, 1999). Do najmniejbezpiecznych dla zdrowia organizmów żywych należy zaliczyć kadm, który charakteryzuje się dużą zdolnością migracji z gleb do wód podziemnych. Ponadnormatywne stężenia w glebie takich metali jak miedź, cynk i arsen zagrażają organizmom żywym, roślinom i mikroflorze glebowej, co zostało potwierdzone m.in. badaniami Kabaty-Pendias i Pendias (1993), Swędzińskiej i Sawickiej (2010).

Metale ciężkie mogą powodować w organizmach żywych ostre zatrucia i choroby przewlekłe. Za ostre zatrucia odpowiada najczęściej arsen, cynk, kadm, miedź i rtęć. Przewlekłe stany chorobowe może wywoływać arsen, cynk, kadm, chrom, miedź, rtęć, ołów, cyna, kobalt, nikiel, mangan, selen, żelazo i glin. Długotrwałe narażenie na działanie metali ciężkich może powodować określone skutki zdrowotne. W zależności od czasu ekspozycji organizmu na metale ciężkie i ich stężeń mogą one wywołać bardzo niebezpieczne zmiany mutagenne lub uszkodzenia ośrodkowego systemu nerwowego. Udowodniono korelacje pomiędzy stężeniami metali ciężkich w spożywanych pokarmach czy wdychanym powietrzu a umieralnością ludzi i zwierząt na nowotwory (Mani i Kumar, 2014; Ociepa-Kubicka i Ociepa, 2012). Metale ciężkie kumulują się w organach poszczególnych układów i po osiągnięciu w organizmie dawki progowej wykazują oddziaływanie kancerogenne, np. uszkodzenia nerek przez kadm i arsen, nowotwór płuc i żołądka spowodowane kadmem i kobaltem czy zmiany w funkcjonowaniu układu krwionośnego wywołane związkami ołowiu (Chmielnicka, 1999; Mani i Kumar, 2014). Do najbardziej toksycznych metali ciężkich należą ołów, rtęć i kadm.

Ołów oddziałując na ludzi i zwierzęta wywołuje niedokrwistość, zaburzenia funkcji nerek, wątroby i ośrodkowego oraz obwodowego układu nerwowego. Szczególnie wrażliwe na działanie tego metalu są organizmy w stadium rozwoju - płody, noworodki, dzieci, a także kobiety w ciąży, palacze tytoniu, osoby z niedoborami żywieniowymi i niedoborem żelaza (Pawlas, 2014). Ołów powoduje także zaburzenia w układzie rozrodczym i metabolizowaniu wapnia, na skutek czego jego nadmiar w organizmie jest przyczyną deformacji kości (Ociepa-Kubicka i Ociepa, 2012).

Rtęć i jego związki należą do najbardziej toksycznych, które kumulują się w nerkach, wątrobie i w układzie nerwowym, głównie w mózgu powodując nieodwracalne zmiany (Langauer-Lewowicka, 2014).

Kadm jest metalem ciężkim charakteryzującym się działaniem rakotwórczym, embriotoksycznym i teratogennym (Ociepa-Kubicka i Ociepa, 2012). Metal ten niekorzystnie wpływa na układ kostny, poprzez zaburzenie metabolizmu wapnia i fosforu obniża gęstość kości czego następstwem jest podwyższone ryzyko złamań (Langauer-Lewowicka, 2014). Kadm toksycznie oddziałuje na układ moczowy powodując uszkodzenia kanalików nerkowych i kamice nerkową, układ oddechowy wywołując dysfunkcje pęcherzyków płucnych, błony śluzowej, a nawet niewydolność oddechową oraz na układ krwionośny (Pawlas, 2014).

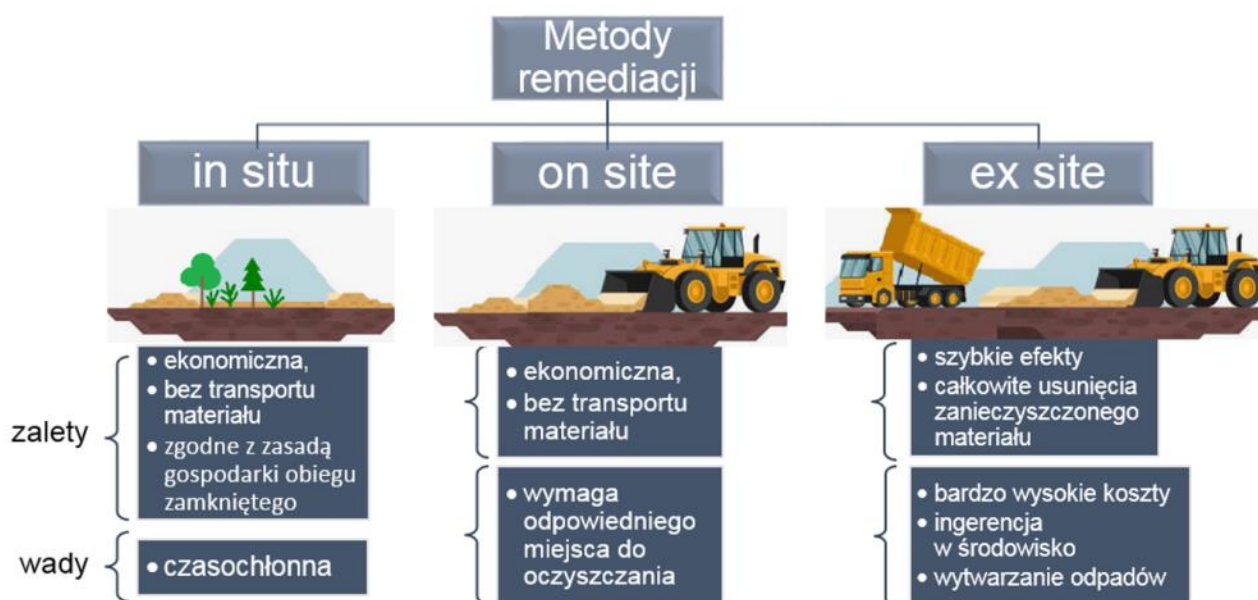
Niedobór pierwiastków śladowych w glebie również może powodować niekorzystne skutki w rozwoju roślinności. Z kolei ich ponadnormatywna zawartość działa fitotoksycznie na rośliny w niej żyjące, jednak na ogół rośliny charakteryzują się większą tolerancją w stosunku do podwyższonych ilości metali ciężkich niż na ich niedobór, co jest związane z mechanizmem unieruchamiania nadmiaru metali ciężkich w błonach komórkowych roślin lub wewnątrz ich komórek (Ernst, 1996; Vamerali i in., 2010). Rośliny mogą zarówno akumulować, jak i ograniczać dostępność metali ciężkich w glebie. Mogą również wpływać na właściwości fizykochemiczne gleby poprzez tworzenie organicznych związków ograniczających przenikanie metali ciężkich do gleby. Rośliny adaptując się do warunków środowiska wykształciły szereg różnorodnych mechanizmów tolerancji i odporności na podwyższoną zawartość metali ciężkich w glebach, co dało początek wykorzystaniu ich w technologii fitoremediacji. Intensywność procesu pobierania, akumulacji i transportu jonów metali przez rośliny jest zależna od wielu czynników takich jak sam gatunek rośliny, rodzaj gleby, w której roślina żyje i jej właściwości, klimat czy warunki wodne (Mani i Kumar, 2014; Pilon-Smits, 2005; Sheoran i in. 2016; Vamerali i in., 2010).

Problem oczyszczenia gleby z zanieczyszczenia w postaci metali ciężkich jest złożony ze względu na ich trwały charakter i powszechne występowanie.

2.4. Technologie i metody remediacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi i metalami ciężkimi

Najczęściej polecaną techniką pozwalającą na sprawną realizację procesu remediacji *in situ* są metody biologiczne. Należą do nich bioremediacja i fitoremediacja. Bioremediacja jest procesem opartym na zdolnościach niektórych grup drobnoustrojów i mikroorganizmów glebowych do rozkładu substancji sklasyfikowanych jako zanieczyszczenia. Metody te są głównie stosowane dla zanieczyszczeń związkami ropopochodnymi (Khan i in., 2013; Megharaj i in., 2011; Mrozik i in., 2005; Thapa i in., 2012; Yousaf i in., 2010a, 2010b). Fitoremediacja opiera się na wykorzystaniu roślin i ich odpowiedzi fizjologicznych jako środków zaradczych na problem zanieczyszczenia gleb. Metody te, ze względu na charakter stosowanych organizmów, uważane są za nieinwazyjne

i naturalne, a także dzięki możliwości samodzielnego działania w środowisku są ekonomiczne i łatwo dostępne (Ali i in., 2013; Mani i Kumar, 2014; Megharaj i in., 2011; Pilon-Smits, 2005; Pulford i in., 2002; Ruttens i in., 2006). Ze względu na miejsce przeprowadzania procesu oczyszczania zanieczyszczonej gleby, metody remediacji dzieli się na *in situ*, *on site* i *ex site*. Remediacja *in situ* polega na przeprowadzeniu metod oczyszczania w miejscu występowania zanieczyszczenia gleby. Z kolei remediacja metodą *ex site* polega na wydobyciu zanieczyszczonej warstwy gleby z miejsca występowania i przetransportowaniu jej do innego miejsca w celu oczyszczenia lub utylizacji. Metody remediacji *on site* to połączenie metody *in situ* oraz *ex site* polegające na wydobyciu zanieczyszczonej gleby i poddaniu jej oczyszczeniu w miejscu wydobycia, bez wywiezienia zanieczyszczonej gleby poza obszar występowania zanieczyszczenia (Rysunek 1). Każda z wymienionych metod charakteryzuje się określonymi zaletami i wadami, a także ograniczeniami w zastosowaniu.



Rysunek 1. Schemat wybranych metod remediacji zanieczyszczonych gleb w zależności od miejsca przeprowadzania procesu oczyszczania.

W zależności od rodzaju zidentyfikowanego w glebie zanieczyszczenia oraz od zastosowanego czynnika remediacyjnego wśród metod remediacyjnych można wyróżnić fitoremediację jako technikę wykorzystującą rośliny, bioremediację polegającą na zastosowaniu właściwości m.in. mikroorganizmów glebowych, a także metody chemiczne takie jak:

- utlenianie i redukcja związków zanieczyszczających gleby do ich nierozpuszczalnych form na skutek czego następuje ich czasowe unieruchomienie, ponieważ przy zmianie warunków redoks mogą one być ponownie zmobilizowane;

- chelatowanie poprzez wykorzystanie materii humusowej oraz minerałów ilastych do sorbowania metali ciężkich zawartych w glebie;
- chemiczne strącanie metali ciężkich w postaci siarczków poprzez wykorzystanie gazowego siarkowodoru lub alkalicznego roztworu siarczku sodu; strącone metale pozostają w glebie, a przy odpowiednich warunkach tlenowych mogą zostać utlenione do siarczanów i ponownie zmobilizowane.

Wśród metod remediacyjnych wyróżnia się także metody mechaniczne polegające na przemywaniu i wymywaniu substancji powodujących ryzyko z zanieczyszczonej gleby oraz izolację fizyczną polegającą na wykorzystaniu barier cementowych, bentonitowych czy stalowych zapobiegających rozprzestrzenianiu się zanieczyszczeń w glebie (Baran, 2000; Pilon-Smits, 2005; Tyczkowski, 1993; Zadroga i Olańczuk-Neyman, 2001).

2.4.1 Bioremediacja

Badania naukowe nad wykorzystaniem organizmów żywych do procesów oczyszczania gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi i metalami ciężkimi są w ostatnich latach stosunkowo powszechnie prowadzone (Debiec-Andrzejewska i in., 2019; Glick, 2010; Mahbub i in., 2017; Mani i Kumar, 2014; Naguib i in., 2018; Pacwa-Płociniczak i in., 2018; Płociniczak i in., 2020).

Techniki bioremediacyjne wykorzystują naturalny potencjał mikroorganizmów do degradacji głównie zanieczyszczeń organicznych. Mikroorganizmy posiadają zdolność do rozkładu niemal wszystkich naturalnych związków organicznych występujących w przyrodzie oraz ich syntetycznych pochodnych (Masakorala i in., 2014; Megharaj i in., 2011; Mrozik i in., 2005; Schwitzguébel, 2017).

W zależności od rodzaju zidentyfikowanego w glebie zanieczyszczenia, jego stężenia i wielu czynników naturalnych, wśród metod bioremediacyjnych można wyróżnić bioremediację naturalną, biostymulację i bioaugmentację. Każda z tych metod opiera się na procesie wykorzystującym właściwości mikroorganizmów do obniżenia stężenia zidentyfikowanego zanieczyszczenia występującego w glebie do bezpiecznego poziomu w akceptowalnych ramach czasowych. Bioremediacja naturalna polega na biodegradacji skażenia przy wykorzystaniu autochtonicznych mikroorganizmów jedynie naturalnie występujących w skażonej glebie. Biostymulacja przewiduje intensyfikowanie rozwoju naturalnej mikroflory glebowej poprzez zaaplikowanie do środowiska glebowego związków odżywczych czy mechanizmów napowietrzania w celu zaktywowania i przyspieszenia procesu biodegradacji zanieczyszczeń w glebie. Bioaugmentacja w przeciwieństwie do bioremediacji naturalnej i biostymulacji polega na wprowadzeniu do zanieczyszczonej gleby biopreparatów zawierających mikroorganizmy charakteryzujące się dużym potencjałem

biodegradacyjnym i odpornością na wysokie stężenia substancji zanieczyszczających oraz niekorzystne warunki glebowe.

Udowodniono, że efektywność procesu bioremediacji gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi zależy od tempa rozkładu tych zanieczyszczeń przez mikroorganizmy glebowe, na które ma wpływ stężenie węglowodorów i ich budowa chemiczna, toksyczność w stosunku do mikroflory glebowej, parametry fizyko-chemiczne gleby (odczyn, temperatura, zawartość materii organicznej, wilgotność) oraz dostępność węglowodorów dla komórek mikroorganizmów (Klimiuk i Łebkowska, 2003; Mani i Kumar, 2014; Schwitzguébel, 2017). Występowanie związków ropopochodnych w glebie, zwłaszcza w bardzo dużym stężeniu, silnie oddziałuje na bytujące w niej mikroorganizmy, powodując usuwanie mikroorganizmów wrażliwych, a promując wzrost komórek wykazujących oporność i zdolność rozkładu węglowodorów. Związki te, mimo toksycznego charakteru, są dodatkowym źródłem węgla, co prowadzi do wzrostu liczebności szczepów zdolnych do ich degradacji (Masakorala i in., 2014; Siciliano i in., 2001; Tardif i in., 2016).

Mikroorganizmy mogą wykorzystywać związki ropopochodne jako jedyne źródło węgla i energii lub je metabolizować (Mrozik i in., 2005; Thapa i in., 2012). Jak podają Klimiuk i Łebkowska (2003), minimalna liczebność mikroorganizmów w glebie skażonej produktami ropopochodnymi konieczna dla efektywnej bioremediacji wynosi ponad 10^5 komórek/g suchej masy gleby.

Seo i in., (2009); Khan i in., (2013) oraz Lang i in., (2016) udowodnili, że do rozkładu związków ropopochodnych zdolne są bakterie zaliczane do rodzajów *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Sarcina*, *Serratia*, *Sphingomonas*, *Vibrio* oraz *Xanthomonas*. Szczepy te mogą degradować węglowodory ropopochodne wieloetapowymi, skomplikowanymi procesami metabolicznymi.

Wpływ stosowanych w biopreparatach bakterii endoficznych m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, na rozkład węglowodorów został poparty licznymi badaniami naukowymi. Szczepy te z uwagi na zdolność rozkładu związków ropopochodnych stosuje się jako bioszczepionki stosowane także do fitoremediacji wspomaganiej (Compant i in., 2005; Khan i in., 2013; Sun i in., 2014). Badania wykazały, że szczepy tych bakterii mają zdolność do wieloetapowego metabolizowania węglowodorów ropopochodnych. Bakterie endoficzne zwiększają efektywność fitoremediacji zanieczyszczeń organicznych poprzez kooperację z roślinami (Khan i in., 2013; Yousaf i in., 2010a, 2010b). Zdolność bakterii endoficznych do rozkładu węglowodorów może być spowodowana przystosowaniem bakterii do rozkładu metabolitów roślinnych często posiadających strukturę pierścieniową (van Beilen i in., 2006; van Bogaert i in., 2011).

Biosurfaktanty to związki powierzchniowo czynne wytwarzane przez mikroorganizmy takie jak bakterie, drożdże czy grzyby w procesach syntezy mikrobiologicznej. Dzięki swej budowie redukują napięcie powierzchniowe roztworów wodnych i napięcia międzyfazowego, zwiększają rozpuszczalność i biodostępność nierozpuszczalnych związków organicznych (Bednarski i Fiedurek 2007). Biosurfaktanty za sprawą niskiej toksyczności i łatwości wytwarzania mają bardzo szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, a nawet w medycynie. W procesach bioremediacji stosowane są zarówno do usuwania zanieczyszczeń w postaci związków ropopochodnych, jak i metali ciężkich zawartych w glebach i wodach (Mani i Kumar, 2014; Michocka i Cieszyńska, 2011).

2.4.2 Fitoremediacja

Technologia fitoremediacji skupia się na zastosowaniu roślin do procesów usuwania, przenoszenia, stabilizacji i degradacji zanieczyszczeń zidentyfikowanych w glebie, powietrzu lub wodzie. Fitoremediacja znalazła zastosowanie między innymi w oczyszczaniu zdegradowanych terenów poprzemysłowych z zanieczyszczeń organicznych i metali ciężkich (Ali i in., 2013; Baran, 2000; Glick, 2010; Pilon-Smits, 2005). Największe sukcesy przy oczyszczaniu tych terenów odnosi rodzaj fitoremediacji zwany fitoekstrakcją, polegający na wykorzystaniu naturalnych lub wspomaganych zdolności roślin do pobierania i akumulacji zanieczyszczeń w naziemnych częściach roślin (Jadia i Fulekar, 2009; Mahar i in., 2016; Vamerali i in., 2010). Proces fitoekstrakcji często wspomaga się poprzez dodatki glebowe w postaci materii organicznej lub minerałów ilastych, posiadające właściwości chelatujące, wykazujące zdolność do chemicznego wiązania się z innymi substancjami w celu zwiększenia biodostępności zanieczyszczeń występujących w glebie (Grobela i in., 2013; Vamerali i in., 2010).

Rośliny za pomocą systemu korzeniowego pobierają zanieczyszczenia z gleby i przemieszczają do części nadziemnych, które są następnie zbierane i utylizowane. Metoda ta wykorzystuje przede wszystkim rośliny jednoroczne, odporne na działanie substancji zanieczyszczających, a ich coroczna uprawa pozwala na uzyskanie dużej biomasy zawierającej unieruchomione zanieczyszczenia pobrane przez roślinę posiadającą zdolność biokoncentracji zanieczyszczeń. Miarą zdolności rośliny do pobierania i transportu zanieczyszczeń do pędów naziemnych jest współczynnik biokoncentracji będący stosunkiem zawartości zanieczyszczeń w pędach rośliny do stężenia zanieczyszczeń występujący w glebie (McGrath i Zhao, 2003; Vamerali i in., 2010).

Związki pobrane przez roślinę z gleby są nie tylko przez nią gromadzone, ale także mogą one ulegać biodegradacji wewnątrz tkanek, neutralizacji (fitodegradacja), a nawet wydaleniu poza system roślinny w procesie fitowolatyżacji polegającej na przeprowadzeniu zanieczyszczeń w stan lotny

(Mahar i in., 2016; Mani i Kumar, 2014; Nanda Kumar i in., 1995). Naturalna zdolność roślin do akumulacji substancji toksycznych w swoich tkankach przy jednoczesnym braku ich negatywnego wpływu na organizm rośliny jest podstawą fitoremediacji (Ali i in., 2013; Baran, 2000; Ghosh i Singh, 2005; Pilon-Smits, 2005; Schwitzguébel, 2017).

Technologia fitoremediacji obarczona jest zagrożeniem mało efektywnego działania procesu oczyszczania gleby w środowisku zanieczyszczonym substancjami o wysokim poziomie toksyczności, skrajnie wysokich stężeniach czy złych parametrach środowiskowych. Organizmy żywe wykorzystywane w bio- i fitoremediacji mają określony zakres tolerancji na niekorzystne warunki, które mogą prowadzić do dezaktywowania organizmu wykorzystywanego w procesie remediacji.

Wang i in. (2008) udowodnili, że degradacja węglowodorów ropopochodnych w glebie obsadzonej takimi gatunkami traw jak: proso różgowe *Panicum*, manieczka indyjska *Eleusine indica* (L.) Gaerth i kostrzewa trzcinowa *Festuca arundinacea*, była stymulowana przez korzenie roślin, co powodowało także natlenianie gleby. Penetracja gleby przez system korzeniowy poprawia stosunki powietrzno-wodne, a wydzieliny korzeniowe stanowią substancję odżywczą dla drobnoustrojów glebowych.

Wielu autorów swoimi badaniami dowiodło istotnego wpływu roślin na proces oczyszczania gleby z produktów ropopochodnych (Corgie i in., 2003; Małachowska-Jutcz i in., 2012; Wang i in., 2008). Rośliny wpływają na szybkość rozkładu zanieczyszczeń w glebie, w związku ze specyficznym oddziaływaniem systemu korzeniowego roślin na drobnoustroje glebowe (Małachowska-Jutcz i in., 2012; Schwitzguébel, 2017).

Rośliny charakteryzujące się dużą tolerancją na wysokie stężenia substancji ropopochodnych i zdolnością do wzrostu na zanieczyszczonych glebach zwane są naftofitami. Niektóre z nich, jak wiechlina łąkowa *Poa pratensis*, życica trwała *Lolium perenne* czy babka zwyczajna *Plantago major* tolerują odpowiednio zanieczyszczenia związkami ropopochodnymi występującymi w glebie w stężeniach rzędu 112-320 g/kg, 132-166 g/kg, do 470 g/kg (Małachowska-Jutcz i in., 2012). Znanych jest także wiele prac z użyciem naftofitów takich jak koniczyna biała *Trifolium repens* czy kostrzewa trzcinowa *Festuca arundinacea* (Kluk i Steliga, 2016; Mahar i in., 2016; Shahriari i in., 2006; Vamerali i in., 2010), których zastosowanie zostało wykorzystane również w niniejszej pracy.

Morwa biała *Morus alba* to roślina, którą zdecydowanie można wykorzystać do fitoremediacji silnie skażonych gleb. Prace dotyczące wykorzystania morwy do degradacji związków ropopochodnych zanieczyszczających glebę prowadził między innymi Rentz i in. (2005) potwierdzając zdolność rośliny do degradacji węglowodorów. Z kolei Nikolova (2015) swoimi badaniami udowodniła, że metale ciężkie gromadzone w naziemnej części rośliny nie wpływają znacząco na wzrost i rozwój gatunku *Morus alba* L. Badania nad wykorzystywaniem morwy białej *Morus alba* do remediacji zanieczyszczonych gleb prowadziło wielu badaczy (Ashfagh i in., 2009; Olson i Fletcher 1999; Prince i in., 2000; Wang, 2002; Wang i in., 2003).

Udowodniono, że w skażonej glebie rośliny rozwijają głęboki i gęsty system korzeniowy, a szybki i silny wzrost morwy powoduje pionową migrację znacznych ilości wody pobieranej z gleby, co z kolei zmniejsza ryzyko wypłukiwania metali ciężkich z wód gruntowych.

Badania naukowe prowadzone przez Koev i Dimitrova (1994) potwierdziły zdolności śnieguliczki białej *Symphoricarpos albus* do akumulacji metali ciężkich jak ołów, cynk, kadm i miedź. Z kolei Kałużny i in. (2016) udowodnili pochłanianie przez śnieguliczkę zawartego w dużej ilości w glebie cynku i ołowiu.

Wykorzystanie rokitnika zwyczajnego *Hippophae rhamnoides* do procesu fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi zostało poparte badaniami potwierdzającymi zdolność rośliny do transportowania z gleby metali ciężkich poprzez ich akumulację w materii organicznej rokitnika i malejącą koncentrację tych związków w pozostałych frakcjach gleby (Bogatu i in., 2007).

Zastosowana do procesu fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi wierzba wiciowa *Salix viminalis* jest zaliczana do hiperakumulatorów metali ciężkich (Mahar i in., 2016). Istotną zaletą wierzby wiciowej jest jej duża tolerancja środowiskowa i siedliskowa. Dodatkowo wierzba *Salix viminalis* wykorzystywana jest do celów energetycznych. Wielu badaczy potwierdziło w doświadczeniach wazonowych i polowych, duże zdolności wierzby do pobierania cynku i kadmu z podłoża oraz akumulacji tych związków w częściach nadziemnych (Baran i in. 2001; Boyter i in. 2009; Meers i in., 2007; Pulford i in. 2002; Rosselli i in. 2003; Vervaeke i in. 2003). Niektóre doświadczenia wskazują, także na duże możliwości akumulacji miedzi w częściach nadziemnych wierzby (Kuzovkina i Quigley 2004; Pulford i in. 2002). Jednocześnie, cytowane badania potwierdzają zdolność wierzby do fitostabilizacji miedzi i ołowiu pobieranych z gleby.

2.4.3 Wspomagana fitostabilizacja

Fitostabilizacja zanieczyszczonych gleb polega na zastosowaniu czynnika remediacyjnego w postaci roślin, które tworzą zwartą pokrywę, wiążą korzeniami wierzchnią warstwę gleby ograniczając w ten sposób rozprzestrzenianie zanieczyszczeń poprzez ograniczenie erozji gleby i wymywania substancji zanieczyszczających (Mahar i in., 2016; Pilon-Smits, 2005; Vamerali i in., 2010). Fitostabilizacja wspomagana uwzględnia dodatkowo zastosowanie odpowiednich dodatków do gleby, które unieruchamiają zanieczyszczenia, a często także poprawiają warunki rozwoju roślin. W następstwie biologicznych i chemicznych procesów zachodzącym w glebie, zanieczyszczenia są w niej zatrzymywane głównie poprzez wytrącenie w formie związków trudno rozpuszczalnych. W celu ograniczenia mobilności metali ciężkich i ich stabilizacji w środowisku, stosuje się dodatki doglebowe o różnej formie i składzie (Cunningham i in., 1995; Flathman i Lanza, 1998; Kumpiene, 2010; Mani i Kumar, 2014; Schnoor, 2000; Vamerali i in., 2010).

Wspomagana fitostabilizacja to proces fizycznej stabilizacji gruntu i chemicznego unieruchomienia zanieczyszczeń polegający na zastosowaniu roślin i dodatków glebowych. W procesie fitostabilizacji dochodzi do strącania lub immobilizacji nieorganicznych zanieczyszczeń w glebie, na powierzchni korzeni lub w tkankach roślin wykorzystanych jako czynnik remediacyjny. Rośliny usuwają stosunkowo niewiele zanieczyszczeń, jednak ważny jest ich wzrost na zanieczyszczonej glebie, ograniczając erozję gleby i rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń (Wang i in., 2009). O mobilności metali ciężkich w glebie decydują formy w jakich występują oraz sposób ich reagowania z organicznymi i nieorganicznymi składnikami gleb, czyli ich biodostępność.

Proces immobilizacji zanieczyszczeń w glebie, prowadzony w warunkach *in situ* opiera się na zatrzymaniu zanieczyszczeń w zasięgu miejsca ich występowania poprzez sorpcję, wymianę jonową, procesy redoks, tworzenie stabilnych kompleksów z ligandami organicznymi oraz ich wytrącanie (Azubuike i in., 2016; Grobelak i in., 2013; Vamerali i in., 2010).

Głównym celem stabilizacji pierwiastków śladowych w glebie nie jest ich usunięcie, a ograniczenie szkodliwości i ich wtórnej dyspersji z gleb. Metoda ta, wykorzystywana jest głównie w sytuacji, kiedy przeprowadzenie ekstrakcji jest niemożliwe lub niepożądane. Zastosowanie preparatów doglebowych posiadających określone właściwości polega na ograniczeniu aktywności substancji zanieczyszczających zidentyfikowanych w glebie. W celu ograniczenia mobilności zanieczyszczeń i zmniejszeniu ich migracji w środowisku stosuje się substancje o charakterze organicznym lub mineralnym, np. osady ściekowe, torf, ziemia krzemkowa, porowate związki mineralne, nawozy zawierające związki fosforu i wapnia, wapno, popioły ze spalania węgla, a także polimery, nawozy organiczno-mineralne i wiele innych (Cao i in., 2009; Ociepa i in., 2011; Raicevic i in., 2005; Wang i in., 2009; Vamerali i in., 2010).

Najlepsze efekty w procesie fitostabilizacji wspomaganiej metali ciężkich w glebach uzyskano stosując czynnik remediacyjny w postaci różnych gatunków traw np. kostrzewa czerwona *Festuca rubra*, życica trwała *Lolium perenne*, mietlica pospolita *Agrostis capillaris* i inne (Gucwa-Przepióra i in., 2007; Kucharski i in., 2005).

W eksperymencie wazonowym zastosowano cztery typy dodatków doglebowych, których zadaniem było ograniczenie mobilności metali ciężkich w środowisku glebowym: wapna dolomitowego, sorbentu mineralnego na bazie montmorylonitu, drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego i mączki bazaltowej. Dobór preparatów doglebowych miał na celu uzyskanie korzyści środowiskowej polegającej na immobilizacji zanieczyszczeń zidentyfikowanych w glebie oraz poniesienie niskich kosztów materiałowych, tak by projektowanie metod remediacji *in situ* miało zrównoważony charakter. Czynnikiem remediacyjnym zastosowanym w doświadczeniu wspomaganiej fitostabilizacji były sadzonki rokitnika zwyczajnego, rośliny charakteryzującej się rozbudowanym systemem korzeniowym i małymi wymaganiami ekologicznymi pod względem składników odżywczych oraz wilgotności gleby (Surmiński, 2008).

Jednym z głównych zabiegów ograniczających ruchliwość metali jest odkwaszenie gleb przez wapnowanie. Na przestrzeni lat udowodniono mechanizmy związane z immobilizacją metali ciężkich w glebach poprzez zastosowanie związków wapnia polegające na zwiększeniu ujemnych ładunków cząstek gleby, powstawaniu związków hydroksylowych o właściwościach sorpcyjnych, strącanie metali w postaci wodorotlenków lub węglanów czy wiązanie metali ciężkich poprzez wzrost aktywności mikrobiologicznej (Bolan i in., 2003; Hamon i in., 2002; Ruttens i in., 2010).

Montmorylonit jest wysoce reaktywnym minerałem ilastym należącym do grupy glinokrzemianów warstwowych składających się z pakietów trójwarstwowych o strukturze charakteryzującej się występowaniem spolaryzowanych wiązań kowalencyjnych oraz wiązań jonowych. Montmorylonit w warunkach naturalnych występuje jako składnik bentonitu wapniowego. Bentonity mają duże zdolności sorpcyjne, które wynikają ze znacznej powierzchni właściwej oraz tendencji do absorpcji wody w przestrzeniach międzywarstwowych (Kurlito i in., 2015).

Wielu autorów prowadziło badania nad właściwościami minerałów ilastych w kontekście immobilizacji metali ciężkich takich jak As, Pb, Cd, Cu, Zn, Ni i Mn (Abollino i in., 2008; Garcia-Sanchez i in., 1999; Gupta i Bhattacharyya, 2008; Lothenbach i in., 1997; Panuccio i in., 2009; Vamerali i in., 2010). Badania nad sorpcją zanieczyszczeń przez minerały ilaste wykazały pozytywny wpływ bentonitu na immobilizację arsenu w zanieczyszczonej glebie (Garcia-Sanchez i in., 2002).

Wpływ węgla brunatnego wprowadzanego do gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi badali m.in. Ociepa i in. (2011) wykazując, że obniża on stężenia biodostępnych form kadmu i cynku zawartych w glebie. Udowodniono, że dodatek w postaci węgla brunatnego w istotny sposób minimalizuje pobieranie kadmu, ołowiu i cynku przez rośliny (Maciejewska, 1998; Maciejewska i Kwiatkowska, 2003). Węgiel brunatny składa się z szeregu związków chemicznych, do których należą między innymi kwasy huminowe, humaty, fulwony oraz bituminy, z czego kwasy huminowe odgrywają istotną rolę w procesie remediacji gleb. Dodatkowo węgiel poprzez swoją chemiczną budowę posiada silne właściwości sorpcyjne. Typowy szereg powinowactwa kationów na węglu aktywnym na drodze doświadczalnej wyznaczył Sorbak (2010). Dodatkowo obecność węgla brunatnego w zanieczyszczonej glebie wzbogaca ją o materię organiczną, której niedoborem bardzo często charakteryzują się silnie zanieczyszczone gleby, a tym samym wzmaga rozwój obecnych w niej mikroorganizmów, w tym bakterii i ich zdolność do bioremediacji (Kumpiene, 2010; Sejakova i in., 2009).

Mączka bazaltowa stanowiąca produkt uboczny powstający podczas obróbki mechanicznej surowców skalnych z uwagi na nietoksyczne właściwości i niemożność przedawkowania jest szeroko wykorzystywana w rolnictwie jako nawóz mineralny. Skład mączki bazaltowej i jej wykorzystanie w procesach rekultywacyjnych badali m.in. Gałka i in. (2011), Maliszewski (2021) oraz Zagożdżon (2008).

3. CEL I ZAKRES PRACY

Firma GBA POLSKA Sp. z o.o. (dawniej JARS S.A.) świadczy usługi w zakresie doradztwa i pomocy w realizacji obowiązków wynikających z przepisów ochrony środowiska. GBA POLSKA Sp. z o.o. oferuje szeroki wachlarz usług z zakresu ochrony środowiska, proponując wykonanie akredytowanych badań laboratoryjnych oraz pomiarów, zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami. Obok silnego zaplecza laboratoryjnego specjalizuje się także w przygotowaniu dokumentacji środowiskowych. Świadczy usługi skierowane do zakładów przemysłowych ze wszystkich branż, biur projektowych, jednostek samorządowych oraz wielu innych podmiotów. Jedną z kategorii dokumentacji i ekspertyz wykonywanych w Dziale Środowiska Przemysłowego są *oceny jakości środowiska gruntowo-wodnego oraz projekty planu remediacji*. Sukces gospodarczy we współczesnym świecie to połączenie wyspecjalizowanej wiedzy, opracowywanie ofert dostosowanych do indywidualnych potrzeb klientów oraz zastosowanie odpowiednich technologii, pozwalających na uzyskanie lepszej jakości usług. Usługa wykonywania remediacji, bezpośrednio na zanieczyszczonym terenie opracowana na podstawie programu Doktorat Wdrożeniowy *Metody remediacji in situ z wykorzystaniem naturalnych właściwości skał oraz organizmów żywych*, uzupełniła portfolio firmy i umożliwiła kompleksowe podejściu do problemu zanieczyszczenia środowiska gruntowo-wodnego, którego końcowym efektem jest oczyszczone środowisko gruntowe.

Wypracowanie na drodze doświadczałnej lepszych lub zoptymalizowanie obecnie stosowanych metod remediacji *in situ* zanieczyszczonej gleby, z wykorzystaniem naturalnych właściwości skał i organizmów żywych oraz wdrożenie ich w firmie GBA POLSKA Sp. z o.o. w ramach świadczonych usług, umożliwiło firmie wejście na nowy rynek usług remediacyjnych oraz wpłynęło na wzmocnienie pozycji konkurencyjnej firmy na rynku. Unikatowe całościowe podejście do problemu zanieczyszczenia gruntów skutkuje zadowoleniem klientów z kompleksowej usługi poprzez ograniczenie do minimum czasu na rozwiązanie problemu i zredukowanie liczby decyzji, które ciążyłyby na kliencie w kontekście procedury remediacyjnej, co z kolei skutkuje zwiększeniem poziomu lojalności klientów. Wymierną wartością dodaną przedsiębiorstwa jest niewątpliwie zysk ekonomiczny generowany przez pozyskane dodatkowe zlecenia na wykonanie remediacji *in situ* zanieczyszczonych terenów oraz zwiększenie kompetencji pracowników firmy w dziedzinie metod remediacji gleb.

Świadczenie klientom kompleksowej usługi polegającej na zbadaniu terenu potencjalnie zanieczyszczonego, identyfikacji występujących tam zanieczyszczeń oraz doboru spersonalizowanej, najodpowiedniejszej pod kątem występujących tam wskaźników zanieczyszczeń i ekonomicznie korzystnej metody remediacji zanieczyszczonego gruntu, w celu przywrócenia zdegradowanego terenu do ponownego zagospodarowania, podniosło także potencjał przedsiębiorstwa w kontekście działalności prośrodowiskowej wpisującej się nowatorskie technologie ochrony środowiska.

Generalnym celem pracy było zwrócenie uwagi na problem skażenia gleb substancjami ropopochodnymi oraz metalami ciężkimi i przedstawienie rezultatów własnych badań nad procesem remediacji gleb zanieczyszczonych tymi związkami, głównie poprzez fitoremediację, dokonanych zgodnie z wytycznymi Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz.U.2016, poz.1395).

Problemem badawczym podjętym na potrzeby niniejszej pracy było wskazanie gatunków roślin i dodatków doglebowych, mających realny wpływ na efektywny proces remediacji zanieczyszczonych gleb, ze szczególnym uwzględnieniem metali ciężkich i substancji ropopochodnych.

W tym samym obszarze prowadzono badania zmierzające do najlepszego doboru materiałów naturalnych (wykorzystanie właściwości chemicznych skał i zawartych w nich minerałów), stosowanych także w procesie fitostabilizacji do przygotowania zanieczyszczonej gleby przed wprowadzeniem odpowiednich gatunków roślin. Na podstawie prac badawczych, łączących badania terenowe i laboratoryjne określono, które gatunki roślin, szczególnie rodzimych dla flory Polski, posiadają najlepsze właściwości remediacyjne oraz wykorzystując naturalne właściwości skał określono, które z nich znacząco wpływają na likwidację lub unieruchomienie zanieczyszczeń. Wykorzystanie rodzimych gatunków roślin ma istotne znaczenie dla zachowania równowagi w lokalnych ekosystemach, gdyż w chwili obecnej najczęściej wykorzystywanymi gatunkami w fitoremediacji są gatunki obce dla flory Polski, często również stanowiące gatunki inwazyjne. Dużą uwagę prace badawcze poświęcają wykorzystaniu naturalnych właściwości skał, które wprowadzone w formie domieszek na tereny zanieczyszczone, będą miały za zadanie unieruchomienie zanieczyszczeń w glebie lub przekształcenie ich w związki mniej szkodliwe i niemobilne. W badaniach skupiono się na zwiększonej efektywności działania oczyszczającego roślin, także poprzez zmianę właściwości gleby, korzystnie wpływającą na przebieg procesu oczyszczania. Prace badawcze nad udoskonaleniem metod wspomagania samooczyszczania się gruntu prowadzono zarówno w warunkach laboratoryjnych, z wykorzystaniem przygotowanych w tym celu poletek doświadczalnych, jak też w warunkach „poligonowych”, na przykładzie faktycznych terenów zanieczyszczonych różnymi substancjami.

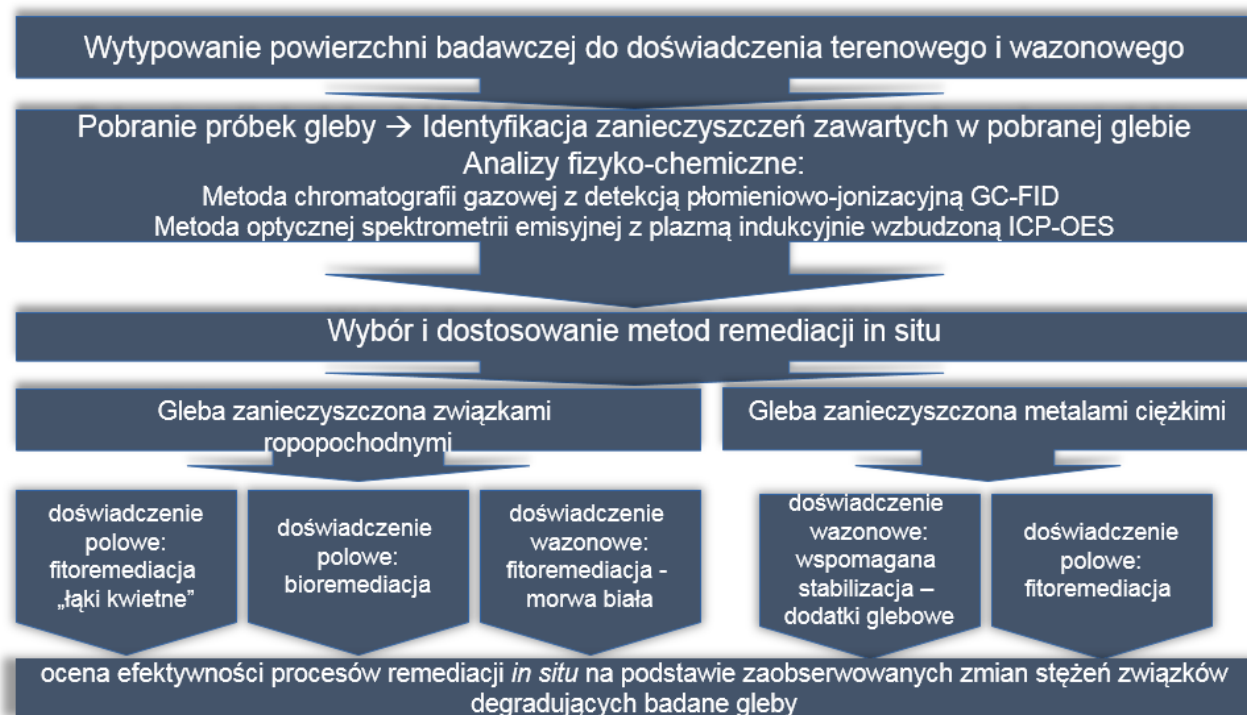
Głównym celem pracy było wypracowanie na drodze doświadczalnej lepszych lub zoptymalizowanie obecnie stosowanych metod remediacji *in situ* zanieczyszczonej gleby, z wykorzystaniem naturalnych właściwości skał i organizmów żywych, głównie roślin. Nowatorskim podejściem było wykorzystanie gotowej, dostępnej na rynku mieszanki nasion kwiatów i traw tworzących tzw. łąki kwietne do oczyszczenia gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi. Współczesne podejście do ochrony środowiska kładzie szczególny nacisk na wykorzystanie naturalnych zdolności organizmów w celach prośrodowiskowych, między innymi takich jak oczyszczanie komponentów środowiska z substancji powodujących ryzyko. Wykorzystanie roślin,

bakterii oraz skał, wpisuje się w proekologiczną strategię oczyszczania skażonych i zdegradowanych gleb (Europejski Zielony Ład UE).

Zakres pracy obejmował:

- zebranie oraz analizę informacji dotyczących zagadnienia remediacji *in situ* gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi oraz metalami ciężkimi w literaturze polskiej i światowej,
- wytypowanie powierzchni badawczej do doświadczenia terenowego,
- wytypowanie terenu zanieczyszczonego w celu pobrania gleby do eksperymentu laboratoryjnego na poletkach badawczych,
- laboratoryjne analizy fizykochemiczne materiału glebowego poddawanego procesom remediacyjnym,
- wybór gatunków roślin do wykorzystania w procesie fitoremediacji gleby zawierającej wysokie stężenia substancji ropopochodnych i metali ciężkich,
- wybór biopreparatu do zastosowania w bioremediacji gleby skażonej substancjami ropopochodnymi,
- wybór oraz opracowanie doboru dawek dodatków doglebowych do zastosowania w celu fitostabilizacji metali ciężkich w glebie,
- określenie zmian stężeń substancji ropopochodnych i metali ciężkich w glebach poddanych procesom remediacji *in situ*,
- ocena efektywności procesów remediacji *in situ* prowadzonych w warunkach poligonowych oraz laboratoryjnych, na podstawie zaobserwowanych zmian stężeń związków degradujących badane gleby przy wykorzystaniu laboratoryjnych metod fizykochemicznych.

Bezpośrednie obserwacje i badania terenowe prowadzono w latach 2018-2022. Badania wykonano w laboratoriach badawczych GBA POLSKA Sp. z o.o. (dawniej JARS S.A.). Na Rysunku 2 przedstawiono schemat przeprowadzonych w pracy badań.



Rysunek 2. Schemat przeprowadzonych badań

4. MATERIAŁY I METODY

Metodyka badań przyjęta do realizacji rozprawy oparta jest na Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi, dostosowanym do przepisów UE.

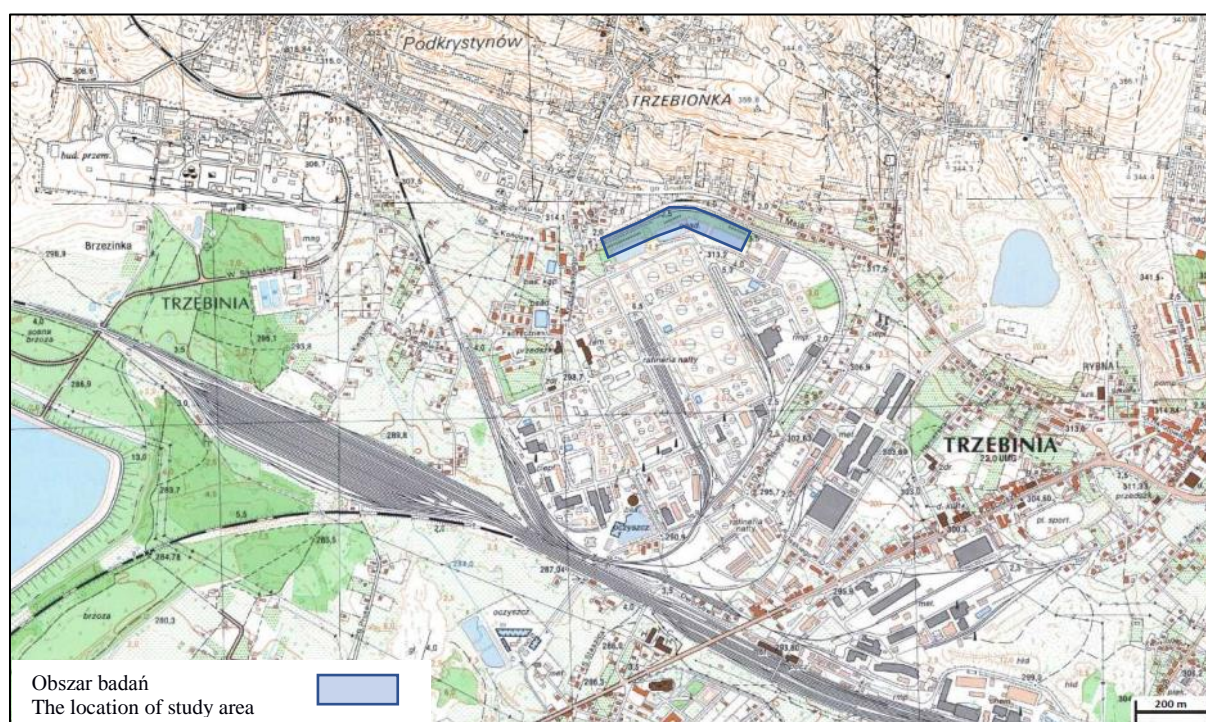
Metodami, które znalazły zastosowanie podczas przygotowywania rozprawy były identyfikacja zanieczyszczonego terenu badań, analizy fizykochemiczne pobranych próbek materiału glebowego, wybór i dostosowanie metod remediacji *in situ* w zależności od zidentyfikowanych zanieczyszczeń oraz analiza i ocena skuteczności zastosowanej metody, a w końcowym etapie zaimplementowanie jej do praktycznego wykorzystania na terenach zanieczyszczonych w ramach usług świadczonych przez firmę GBA POLSKA Sp. z o.o. (dawniej JARS S.A.) w celu spełnienia wymogów środowiskowych stawianych przedsiębiorcom i innym podmiotom.

W początkowym etapie prac wytypowano powierzchnię badawczą w rzeczywistym terenie potencjalnie zanieczyszczonym. Wytypowanie poletek badawczych i określenie występowania zanieczyszczenia (metale ciężkie i związki ropopochodne) dało podstawę do rozpoczęcia obserwacji i badań nad wypracowaniem lepszych lub zoptymalizowaniem obecnie stosowanych sposobów remediacji terenów zanieczyszczonych *in situ* z wykorzystaniem naturalnych właściwości skał i organizmów żywych, głównie roślin.

4.1. Charakterystyka terenu badań

4.1.1. Poletko badawcze zanieczyszczone związkami ropopochodnymi

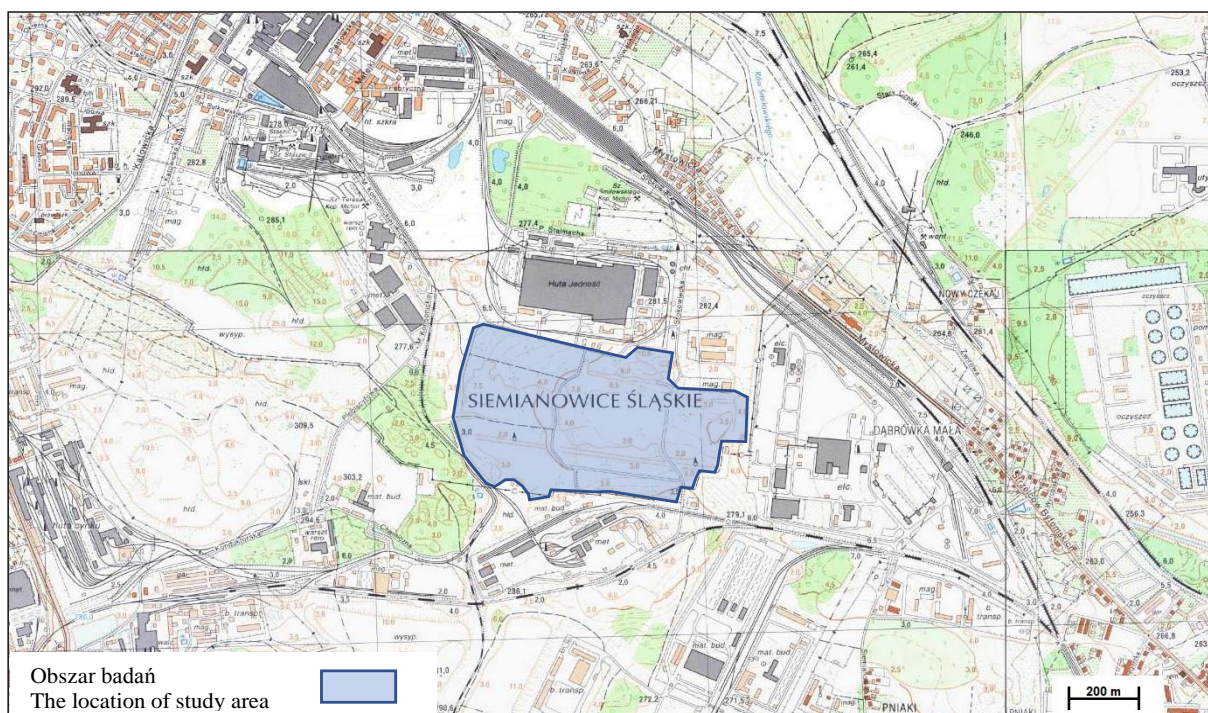
W pierwszej kolejności wytypowano obszar badań zanieczyszczony substancjami ropopochodnymi, który zlokalizowany jest w Trzebini, w powiecie chrzanowskim, w województwie małopolskim, na terenie przemysłowym związanym z działalnością rafinerii. Tereny przemysłowe pomimo z reguły dużej dewastacji środowiska naturalnego mogą być polem różnorodnych dobrych praktyk przy założeniu, że zostaną one odpowiednio zrekultywowane i przekształcone z obszarów silnie zdegradowanych na tereny użytkowe i wykorzystywane społecznie (Światała-Trybek i Światała-Mastalerz, 2018). Na przedmiotowym terenie wytypowano fragment o powierzchni ok. 400 m², który podzielono na 2 sekcje o powierzchni ok. 200 m² każda. Z wyznaczonych sekcji badawczych pobrane zostały próbki materiału glebowego do badań laboratoryjnych.



Rysunek 3. Przybliżona lokalizacja poletka badawczego zanieczyszczonego węglowodorami ropopochodnymi, wykorzystanego w ramach fitoremediacji

4.1.2. Poletko badawcze zanieczyszczone metalami ciężkimi

Na drugie poletko doświadczalne został wybrany fragment terenu w obrębie byłej Huty Jedność, w Siemianowicach Śląskich, w województwie śląskim. Teren ten w większości swojej powierzchni stanowi nieruchomość niezabudowaną. Obszar badań objęty jest zapisami miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego. Zgodnie z planem teren przedmiotowego obszaru badań oznaczony jako PP, stanowią tereny przemysłowe z podstawowym przeznaczeniem gruntów pod zakłady produkcyjne, rzemieślnicze, bazy, składy i magazyny (Rysunek 4).



Rysunek 4. Przybliżona lokalizacja poletka badawczego zanieczyszczonego metalami ciężkimi, wykorzystanego w ramach fitoremediacji

Zgodnie z założeniami w obrębie poletka o powierzchni ok. 300 m² wytypowano 4 sekcje badawcze do poboru próbek powierzchniowych gleby o powierzchni ok. 70 m² każda (Rysunek 5).

Podczas prac terenowych, dla jak najlepszej reprezentatywności wyników i symulacji warunków występujących naturalnie stosowano wszystkie procedury określone w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1395). Terenowe prace badawcze rozpoczęto po ustąpieniu pokrywy śnieżnej i rozmarznięciu powierzchniowej warstwy gruntu wiosną 2019 r.



Rysunek 5. Ogólny widok poletka zanieczyszczonego metalami ciężkimi wykorzystanego do procesu fitoremediacji

4.2. Metodyka poboru próbek gleby

Zgodnie z zapisami Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. *w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi* (Dz. U. 2016, poz. 1395), w obrębie każdej wytypowanej powierzchniowej sekcji badawczej pobrano 15 pojedynczych próbek gleby w celu uzyskania w wyniku zmieszania 1 próbki zbiorczej dla każdej z sekcji powierzchniowej w interwale głębokości 0,0 - 0,25 m p.p.t. Próbki powierzchniowe z obrębu sekcji badawczych pobrane zostały ręcznie przy zastosowaniu metody regularnej siatki kwadratów. W obrębie sekcji badawczych wykonano 3 odwierty do głębokości 3 m przy pomocy samojezdnej wiertnicy mechanicznej systemem obrotowym na sucho (Rysunek 6).



Rysunek 6. Pobieranie próbek gruntu przy pomocy wiertnicy mechanicznej metodą obrotową „na sucho”

Materiał badawczy stanowiły próbki gleby (Rysunek 7) pobranej zgodnie z zapisami Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1395), w następujących interwałach głębokościowych:

- w interwale głębokości 0,0 - 0,25 m p.p.t. (w obrębie każdej sekcji zostało pobranych 15 pojedynczych próbek gleby w celu uzyskania w wyniku zmieszania 1 próbki zbiorczej dla każdej z sekcji),
- w interwale głębokościowym 0,25 – 1 m p.p.t.,
- w interwale głębokościowym 1 – 3 m p.p.t.



Rysunek 7. Próbkki gleby pobrane do badań laboratoryjnych zabezpieczone na czas transportu w odpowiednich pojemnikach

Następnie próbki gleby w warunkach chłodniczych, w temperaturze 4°C przetransportowane zostały do akredytowanego laboratorium badawczego. Po wysuszeniu materiału glebowego i naważeniu próbek, w zależności od miejsca pobrania próbek gleby (poletko nr 1 lub poletko nr 2) próbki gleby poddano analizie laboratoryjnej w zakresie poszczególnych parametrów.

Glebę pobraną z poletka nr 1 zanieczyszczonego związkami ropopochodnymi dostarczono do laboratorium, gdzie wykonano oznaczenia w zakresie sumy węglowodorów C₆-C₁₂ (składników frakcji benzyn) i sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ (składników frakcji oleju).

Próbki gleby z poletka nr 2 zanieczyszczonego metalami ciężkimi analizowano pod kątem zawartości metali ciężkich: As, Ba, Cr, Sn, Zn, Cd, Co, Cu, Mo, Ni, Pb, Hg.

Dodatkowo we wszystkich próbkach gleby oznaczono jej odczyn oraz skład granulometryczny. W próbkach gleby pobranych z zakresu głębokościowego poniżej 0,25 m p.p.t. oznaczono także wodoprzepuszczalność gruntu określoną współczynnikiem filtracji.

4.3. Materiał roślinny wykorzystany w doświadczeniach

W doświadczeniach polowych i doświadczeniu wazonowym wykorzystano rośliny, które zaliczane są do naftofitów oraz hiperakumulatorów metali ciężkich.

Do procesu fitoremediacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi wykorzystano mieszankę nasion służącą tworzeniu tzw. „łąk kwietnych” z gatunków rodzimych występujących w Polsce w proporcjach 75% kwiaty i 25% trawy. Tworzą ją rośliny o rozbudowanych systemach korzeniowych, pobierających wodę z głębszych warstw gleby, odpornych na suszę i trudne warunki siedliskowe. Pełny skład gatunkowy mieszanki nasion wieloletnich i jednorocznych łąki kwietnej kształtował się następująco:

- kwiaty (75%) - babka lancetowata *Plantago lanceolata*, babka średnia *Plantago media*, bniec biały *Silene latifolia* ssp. *alba*, chaber bławatek *Centaurea cyanus*, chaber driakiewnik *Centaurea scabiosa*, cieciora pstra *Securigera varia*, driakiew żółta *Scabiosa ochroleuca*, dziewanna drobnokwiatowa *Verbascum thapsus*, dziewanna pospolita *Verbascum nigrum*, dzwonek okrągłolistny *Campanula rotundifolia*, farbownik lekarski *Anchusa officinalis*, goździk kartuzek *Dianthus carthusianorum*, goździk kropkowany *Dianthus deltoides*, jaskier bulwkowy *Ranunculus bulbosus*, kąkol polny *Agrostemma githago*, komonica zwyczajna *Lotus corniculatus*, koniczyna czerwona *Trifolium pratense*, koniczyna biała *Trifolium repens*, krwawnik pospolity *Achillea millefolium*, krwiściąg mniejszy *Sanquisorba minor*, lebidka pospolita *Origanum vulgare*, lepnica rozdęta *Silene vulgaris*, Inica pospolita *Linaria vulgaris*, lucerna nerkowata *Medicago lupulina*, macierzanka zwyczajna *Thymus pulegioides*, mak polny *Papaver rhoes*, marchew zwyczajna *Daucus carota*, nagietek polny *Calendula arvensis*, nawłóć pospolita *Solidago virgaurea*, ostróżeczka polna *Consolida regalis*, pasternak zwyczajny *Pastinaca sativa*, przelot pospolity *Anthyllis vulneraria*, przetacznik kłosowy *Veronica spicata*, przytulia właściwa *Galium verum*, pylenieć pospolity *Berteroa incana*, rumian barwierski *Athemis tinctoria*, rumian polny *Anthemis arvensis*, rzepik pospolity *Agrimonia eupatoria*, smółka pospolita *Viscaria vulgaris*, szalwia łąkowa *Salvia pratensis*, szalwia okrągowa *Salvia verticillata*, szalwia omszona *Salvia nemorosa*, ślázówka turyngska *Lavatera thuringiaca*, świerzbnica polna *Knautia arvensis*, traganek szerokolistny *Astragalus glycyphyllos*, zawciąg pospolity wydłużony *Armeria elongata*, złocięń polny *Glebionis segetum*, złocięń zwyczajny *Leucanthemum vulgare*, żmijowiec zwyczajny *Echium vulgare*,
- trawy (25%) - kostrzewa czerwona *Festuca rubra*, kostrzewa owcza *Festuca ovina*, mietlica pospolita *Agrostis capillaris*, stokłosa prosta *Bromus erectus*, tomka wonna *Anthoxanthum odoratum*, wiechlina cebulkowata *Poa bulbosa*, wiechlina łąkowa *Poa pratensis*, wiechlina spłaszczona *Poa compressa*, życica trwała *Lolium perenne*.

W ramach badań nad procesem fitoremediacji gleb, w których zidentyfikowano zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi, w doświadczeniu wazonowym wykorzystano gatunek rośliny morwa biała *Morus alba*, która ma niewielkie wymagania glebowe, jest odporna na susze i dość tolerancyjna na zasolenie ziemi.

W ramach fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi prowadzono obserwacje w kierunku przydatności wierzby wiciowej *Salix viminalis*, zwanej wierzbą energetyczną. Jest to gatunek, który bardzo dobrze toleruje znacznie podwyższoną zawartość metali ciężkich w glebach, może być wykorzystywany do fitoremediacji terenów zanieczyszczonych. Wierzba wiciowa posiada bardzo dobrze rozbudowany system korzeniowy, intensywnie wytwarzający korzenie boczne, dzięki czemu wierzba może być sadzona w niekorzystnych warunkach terenowych jak skarpy czy stoki (Szczukowski i in., 2000; Szczukowski i Budny, 2003; Szczukowski i in., 2004; Zabrocki i Ignacek, 2007). Wierzba wiciowa jest to gatunek szybkorosnący, tworzący krzewy dochodzące do 6 m wysokości.

Dodatkowo obserwacje prowadzone w warunkach terenowych rozszerzono o dwa gatunki roślin naczyniowych zdolnych do remediowania gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, które wyróżniają się zróżnicowanymi wymaganiami siedliskowymi dzięki czemu spektrum zastosowania fitoremediacji jest szersze. Stosowane gatunki to rokitnik zwyczajny *Hippophae rhamnoides* i śnieguliczka biała *Symphoricarpos albus*, które często są wykorzystywane jako krzewy ozdobne lub naturalne żywopłoty.

Sadzonki rokitnika zwyczajnego zostały użyte także w doświadczeniu wazonowym fitoremediacji wspomaganiej, w którym zastosowano cztery rodzaje dodatków doglebowych w celu stabilizacji metali ciężkich w zanieczyszczonej glebie.

Rokitnik zwyczajny jest krzewem osiągającym wysokość do około 3 m, który porasta na glebach różnego rodzaju, od piaszczystych po zaglinione. Roślina ta ma dosyć niskie wymagania ekologiczne pod względem składników odżywczych oraz wilgotności gleby, natomiast preferuje dużo światła oraz zasadowy odczyn gleby. Roślina stanowi gatunek rodzimy, chociaż w Polsce naturalne jego stanowiska występują wyłącznie na wybrzeżu Morza Bałtyckiego. Często stosowana jako gatunek ozdobny, a ze względu na specyficzny system korzeniowy doskonale nadaje się do umacniania skarp. W stanie dzikim rokitnik zwyczajny objęty jest częściową ochroną gatunkową na mocy Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin (Dz. U. 2014, poz. 1409). Rokitnik ma bardzo dobrze rozwinięty system korzeniowy, rozmieszczony tuż pod powierzchnią gleby. Główna masa korzeni zalega na głębokości 50 cm w obrębie projekcji korony — 2–3 m od pnia. Charakterystyczną cechą rokitnika jest tworzenie korzeniowych odrostów. Dodatkowo zastosowanie tej rośliny może powodować wzrost różnorodności biologicznej okolicy, w której jest stosowany oraz poprawę warunków estetycznych. Roślina nie jest

gatunkiem inwazyjnym, toteż nie zachodzi niebezpieczeństwo jej niepożądanego rozrostu w sposób niekontrolowany (Surmiński, 2008).

4.4. Charakterystyka biopreparatu zastosowanego do bioremediacji

Wybór biopreparatu zawierającego bakterie endoficzne m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens* oraz enzymy i biosurfaktanty, wykorzystanego do procesu bioremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi został poparty licznymi badaniami naukowymi (Bednarski i Fiedurek 2007; Khan i in., 2013; Lang i in., 2016; Seo i in., 2009). Do procesu bioremediacji skażonej gleby zastosowano komercyjnie dostępny enzymatyczny preparat mikrobiologiczny firmy Cleanbacter Instytut Technologii Mikrobiologicznych Sp. z o.o. W procesie bioremediacji zastosowano bakterie tlenowe m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens* oraz enzymy i biosurfaktanty, jednakże dokładny skład gatunkowy szczepów jest tajemnicą handlową firmy produkującej preparat. Zawiesina szczepów bakterii w bioroztworze miała stężenie 10^6 do 10^8 jtk/ml.

4.5. Charakterystyka wykorzystanych dodatków stabilizujących

W eksperymencie wazonowym przeprowadzonym w warunkach laboratoryjnych zastosowano cztery typy dodatków glebowych mających za zadanie ograniczenie mobilności metali ciężkich w środowisku glebowym: sorbent mineralny na bazie montmorylonitu, mączkę bazaltową, wapno oraz węgiel brunatny.

Sorbent mineralny stanowił mielony bentonit wapniowy o nazwie Bentonit SND firmy Zębic, który charakteryzował się poniższymi parametrami:

- zawartość montmorylonitu - min. 80%
- zawartość wody - max. 14%
- odczyn zawiesiny 7-10
- zawartość ziaren na sicie 0,056 mm - max. 20%

Dodatek glebowy w postaci wapna stanowiło wapno dolomitowe ogrodnicze pochodzenia naturalnego firmy Rolimpex, które charakteryzowało się parametrami:

- zawartość CaO+MgO – 45-50%
- zawartość MgO – 15-20%
- zawartość CaO – 28-31%
- uziarnienie – 0-2 mm.

Mączka bazaltowa stanowiąca produkt uboczny powstający podczas obróbki mechanicznej surowców skalnych z uwagi na nietoksyczne właściwości i niemożność przedawkowania jest szeroko wykorzystywana w rolnictwie jako nawóz mineralny. Skład mączki bazaltowej i jej przydatność w celach rekultywacyjnych badali m.in. Gałka i in. (2011), Maliszewski (2021) oraz Zagożdżon (2008). W doświadczeniu wykorzystano naturalną mączkę bazaltową firmy NB Minerals o odczynie 9,1 oraz uproszczonym składzie chemicznym:

- krzemionka SiO_2 – 46,6%
- tlenek glinu Al_2O_3 – 14,3%
- tlenek żelaza Fe_2O_3 – 11,4%
- tlenek wapnia CaO – 9,21%
- tlenek sodu Na_2O – 3,1%
- tlenek magnezu MgO – 7,9%
- tlenek potasu K_2O – 0,823%
- tlenek tytanu TiO_2 – 1,95%
- tlenek fosforu P_2O_5 – 0,48%
- tlenek manganu Mn_2O_3 – 0,266%.

Wykorzystane w doświadczeniu dodatki doglebowe, zgodnie z informacjami producentów spełniały wymagane normy oraz posiadały zgodę Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi na dopuszczenie do obrotu i stosowania w rolnictwie.

Zawartość metali ciężkich w zastosowanej mączce bazaltowej spełniała wymagania prawne stawiane nawozom naturalnym, a ich stężenia nie przekraczały wartości dopuszczalnych:

- arsen As – poniżej $8,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
- kadm Cd – poniżej $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
- ołów Pb – poniżej $10,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
- rtęć Hg – poniżej $0,011 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Polskie węgle brunatne należą do węgla ksylicowego-ziemistych. Duża część, szczególnie odpadowych węgla ziemistych, może być z powodzeniem wykorzystywana jako źródło materii organicznej dla gleb. Skład pierwiastkowy organicznej substancji węgla brunatnego jest zróżnicowany, a sama zawartość węgla organicznego może sięgać 80%. Zawartość azotu w organicznej substancji węgla brunatnego najczęściej wynosi 0,8% - 1,4%, a zawartość siarki wynosi przeciętnie 1 - 4% (Maciejewska, 1998). W doświadczeniu wykorzystano węgiel brunatny z Kopalni Węgla Brunatnego Sieniawa, o wartości opałowej 15MJ/kg, który przesiano przez sito o oczkach 2 mm. W celu wyeliminowania możliwości migracji dodatkowego ładunku zanieczyszczeń z zastosowanej drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego do badanej gleby, wykonano oznaczenie zawartości metali ciężkich w dodatku doglebowym w postaci węgla brunatnego.

Zawartość metali ciężkich w zastosowanej drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego nie przekraczała wartości dopuszczalnych określonych zapisami Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1395). Stężenia wszystkich oznaczonych metali ciężkich były niskie, większość oznaczanych pierwiastków nie przekroczyła dolnej granicy oznaczalności zastosowanej metody badawczej (Tabela 3). Wprowadzenie do gleby dodatku w postaci węgla brunatnego nie spowodowało pogorszenia jej stanu poprzez wzrost zanieczyszczenia metalami ciężkimi.

Tabela 3. Stężenia metali ciężkich w zastosowanym dodatku doglebowym w postaci drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego z Kopalni Węgla Brunatnego Sieniawa

Badany parametr	Jednostka	Całkowita zawartość metali	Wartość dopuszczalna substancji z podziałem na grupy gruntów ¹⁾ IV grupa
Arsen	mg·kg ⁻¹ s.m.	<5,0	100
Bar	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,10	1500
Chrom	mg·kg ⁻¹ s.m.	0,89 ±0,12	1000
Cyna	mg·kg ⁻¹ s.m.	<5,0	350
Cynk	mg·kg ⁻¹ s.m.	0,155 ±0,02	2000
Kadm	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,05	15
Kobalt	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,20	200
Miedź	mg·kg ⁻¹ s.m.	0,65 ±0,09	600
Molibden	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,40	250
Nikiel	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,40	500
Ołów	mg·kg ⁻¹ s.m.	<1,0	600
Rtęć	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,10	30

Objaśnienia do tabeli:

¹⁾ - wartości dopuszczalne wg rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395) dla gruntów w interwale głębokości 0-0,25 m p.p.t.

4.6. Doświadczenie polowe – bioremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi

Na terenie poletka badawczego nr 1 zanieczyszczonego związkami ropopochodnymi, w obrębie sekcji nr 1 wykonano 3 odwierty badawcze do głębokości 3 m p.p.t., tj. do osiągnięcia poziomu wody gruntowej. W interwale głębokości 0,25-1,0 m p.p.t. w dwóch odwiertach badawczych

zidentyfikowano zanieczyszczenie związkami ropopochodnymi. Badania nad intensyfikacją procesu bioremediacji terenu zanieczyszczonego sumą węglowodorów $C_{12}-C_{35}$ (składnikami frakcji oleju) prowadzono w sąsiedztwie zanieczyszczonych otworów badawczych O1 i O2 (Rysunek 8).



Rysunek 8. Wiercenie otworów badawczych przy pomocy wiertnicy mechanicznej metodą obrotową „na sucho” na terenie poletka badawczego zanieczyszczonego substancjami ropopochodnymi

W ramach eksperymentu, wokół odwiertów O1 i O2 wykonano po 3 otwory aplikacyjne z filtrem \varnothing 80 mm oraz obsypką żwirową do głębokości 3 m p.p.t. Filtr umieszczono w przedziale głębokości 1-3 m p.p.t. Łącznie wykonano 6 otworów aplikacyjnych.

Doświadczenie intensyfikacji oczyszczania zanieczyszczonej gleby prowadzono poprzez zatłoczenie do otworów aplikacyjnych stężonego biopreparatu z zawartością efektywnych bakterii metabolizujących zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi. Do każdego otworu aplikacyjnego zatłoczono ok. 30 l bioroztworu. Po zatłoczeniu preparatu otwory aplikacyjne pozostały otwarte, tak aby mikroorganizmy miały ciągły dostęp do powietrza atmosferycznego.

Doświadczenie polowe z użyciem biopreparatu trwało 24 tygodnie. W ciągu pierwszych czterech tygodni prowadzenia eksperymentu, czterokrotnie wykonano intensywne napowietrzanie otworów aplikacyjnych przy użyciu pompy o wydajności 14 000 l/h. Proces remediacji prowadzony był samoczynnie do końca okresu wegetacyjnego, w którym dobową temperaturę powietrza utrzymywała się na poziomie powyżej 10°C (Rysunek 9).

Podczas eksperymentu zmieniały się warunki aeracji gleby i jej wilgotności. Postęp procesu remediacyjnego weryfikowano za pomocą badań laboratoryjnych próbek gleby pobieranej z głębokości 0,25-1,0 m p.p.t. z dwóch odwiertów referencyjnych OR1 i OR2, które wykonano w sąsiedztwie otworów aplikacyjnych i zanieczyszczonych odwiertów O1 i O2. Próbkę do badań pobierano czterokrotnie, po 2 tygodniach trwania eksperymentu (seria 1), po 4 tygodniach (seria 2), po 6 tygodniach (seria 3) oraz po 24 tygodniach doświadczenia (seria 4).



Rysunek 9. Proces napowietrzania otworów aplikacyjnych po iniekcji biopreparatu na terenie poletka zanieczyszczonego substancjami ropopochodnymi

4.7. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu łąki kwietnej

Na terenie poletka badawczego nr 1 zanieczyszczonego związkami ropopochodnymi, w obrębie sekcji nr 2 pobrano do badań powierzchniowe próbki gleby z interwału głębokości 0,0 - 0,25 m p.p.t. (w obrębie sekcji zostało pobranych 15 pojedynczych próbek gleby w celu uzyskania w wyniku zmieszania 1 próbki zbiorczej). Po zidentyfikowaniu skażenia powierzchni ziemi substancjami ropopochodnymi i określeniu ich wartości w glebie na poletku nr 1, wiosną 2018 r.

w obrębie sekcji nr 2 rozpoczęto prace przygotowawcze do pierwszego wysiewu mieszanek roślinnych tworzących tzw. „łąki kwietne”, polegające na zbiorze biomasy stanowiącej pozostałości listowia drzew i krzewów występujące na zanieczyszczonej powierzchni. Prace wykonano ręcznie poprzez grabienie. Po usunięciu pozostałości listowia, na tej samej powierzchni dokonano pokosu istniejącej roślinności zielnej. Zebraną biomasę zagospodarowano zgodnie z przepisami określającymi gospodarkę odpadami. Po dokonaniu pokosu i zbiorze biomasy wykonano prace przygotowujące glebę do wysiewu polegające na spulchnieniu i napowietrzeniu wierzchniej warstwy gleby, do około 10-15 cm p.p.t., przy pomocy glebogryzarki. Z początkiem kwietnia 2018 r. przystąpiono do wysiewu roślinności, za pomocą której zaplanowano proces fitoremediacji na terenie zanieczyszczonym związkami ropopochodnymi.

Do procesu fitoremediacji wykorzystano mieszanek nasion służącą tworzeniu tzw. „łąk kwietnych” z gatunków rodzimych występujących w Polsce w proporcjach 75% kwiaty i 25% trawy. Tworzą ją rośliny o rozbudowanych systemach korzeniowych, pobierających wodę z głębszych warstw gleby, odpornych na suszę i trudne warunki siedliskowe (Rysunek 10).

Wysiewu dokonano ręcznie, poprzez rozsiewanie nasion równomiernie na całej powierzchni sekcji nr 2 przygotowanej do obsiewu, w ilości ok. 5 g/m². Z początkiem sierpnia 2018 r. dokonano drugiego wysiewu z uwagi na stwierdzenie ubytków w areale łąki kwietnej na powierzchni poddawanej fitoremediacji. Zastosowano takie same mieszanki nasienne, jak w przypadku pierwszego wysiewu. Procesowi fitoremediacji skażonych gleb towarzyszył monitoring ich składu pod względem zawartości substancji ropopochodnych. Po zakończeniu okresu wegetacyjnego, w drugiej połowie listopada 2018 r. z powierzchni badawczych po raz pierwszy pobrane zostały próbki gleby poddanej zabiegom fitoremediacji w celu zbadania skuteczności i tempa zabiegów remediacyjnych prowadzonych przez cały okres wegetacyjny danego roku. Po pierwszym roku prowadzenia fitoremediacji zanieczyszczonych gleb, proces monitorowania zawartości substancji ropopochodnych w glebie był powtarzany w kolejnych latach, analogicznie jak w pierwszym roku przeprowadzania fitoremediacji, tj. próbki powierzchniowe z sekcji były pobierane do badań dwa razy w roku, wiosną i późną jesienią po zakończeniu okresu wegetacyjnego roślin. Gleba niepoddana obsianiu roślinnością wykorzystaną do fitoremediacji stanowiła próbkę kontrolną. Doświadczenie fitoremediacyjne trwało 30 miesięcy, w ciągu których próbki gleby do badań pobrano zostały sześciokrotnie.



Rysunek 10. Widok „łąki kwietnej” w trakcie trwania procesu fitoremediacji na terenie poletka badawczego zanieczyszczonego związkami ropopochodnymi

4.8. Doświadczenie wazonowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu morwy białej *Morus alba*

W ramach badań nad procesem fitoremediacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi, próbki gleby w których zidentyfikowano zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi będące materiałem badawczym pozostałym po badaniach laboratoryjnych wykonywanych w GBA POLSKA Sp. z o.o., zgromadzono i zmieszano wykorzystując do doświadczenia wazonowego przeprowadzonego częściowo w warunkach naturalnych z wykorzystaniem gatunku rośliny morwa biała *Morus alba*, która ma niewielkie wymagania glebowe, jest odporna na susze i dość tolerancyjna na zasolenie ziemi.

W doświadczeniu fitoremediacji gleb skażonych związkami ropopochodnymi z wykorzystaniem morwy białej, zgromadzone próbki gleby pochodzące z różnych lokalizacji, w których zidentyfikowano zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi, zmieszano ze sobą i wypełniono cztery pojemniki o pojemności 130 l każdy. W trzech pojemnikach w październiku 2020 r. zasadzono po dwie sadzonki morwy białej *Morus alba*, o wysokości ok. 150 cm każda (Rysunek 11). Czwarty pojemnik bez sadzonek morwy stanowił próbę kontrolną.

Doświadczenie fitoremediacyjne z wykorzystaniem gatunku rośliny morwa biała *Morus alba* przeprowadzono w pojemnikach w warunkach naturalnych, na zewnątrz budynku. Sadzonki w pojemnikach w przypadku konieczności podlewano wodą, ponieważ w okresie letnim były narażone na przesuszenie. W trakcie doświadczenia z pojemników czterokrotnie pobierano próbki gleby do badań monitorujących proces fitoremediacji (X.2020, IV.2021, X.2021 i III.2022).



Rysunek 11. Sadzonki morwy białej wykorzystane w doświadczeniu wazonowym w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi

4.9. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych metalami ciężkimi

Na terenie poletka badawczego nr 2 zanieczyszczonego metalami ciężkimi, w obrębie sekcji nr 1 wykonano 10 odwiertów badawczych do głębokości 3 m p.p.t. W odwiertach badawczych, w interwale głębokości 0,25-1,0 m p.p.t. zidentyfikowano zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi i w tym zakresie głębokościowym prowadzono proces fitoremediacji.

W ramach prac terenowych w obrębie poletka badawczego nr 2 zanieczyszczonego metalami ciężkimi prowadzono obserwacje w kierunku przydatności trzech gatunków roślin: wierzby wiciowej *Salix viminalis*, rokitnika zwyczajnego *Hippophae rhamnoides* oraz śnieguliczki białej *Symphoricarpos albus*. W obrębie poletka nr 2 wydzielono 4 sekcje o powierzchni ok. 70 m² każda. Wiosną 2018 r. na poletku nr 2 rozpoczęto polowe prace przygotowawcze do nasadzeń polegające na zbiorze biomasy stanowiącej pozostałości listowia drzew i krzewów występujące na zanieczyszczonej powierzchni. Prace wykonano ręcznie poprzez grabienie. Po usunięciu pozostałości listowia, na tej samej powierzchni dokonano pokosu istniejącej roślinności zielnej. Zebraną biomasę zagospodarowano zgodnie z przepisami określającymi gospodarkę odpadami.

W obrębie sekcji nr 1, w odstępach ok. 0,7 m zostało posadzonych 60 sadzonek rokitnika zwyczajnego o wysokości ok. 0,5 m (Rysunek 12). W sekcji nr 2 dokonano nasadzeń 60 sadzonek śnieguliczki białej o wysokości ok. 0,4 m (Rysunek 13), natomiast sekcja nr 3 została obsadzona 100 sztukami sadzonek wierzby wiciowej o wysokości ok. 1 m każda. Kolejna sekcja (nr 4) nie została poddana żadnym nasadzeniom i stanowiła próbę kontrolną dla pozostałych wariantów doświadczenia. Po obsadzeniu poszczególnych sekcji sadzonkami trzech gatunków roślin, w pierwszej fazie wzrostu były one systematycznie podlewane z uwagi na brak opadów atmosferycznych. Doświadczenie terenowe na poletku nr 2 prowadzono przez 24 miesiące (dwa okresy wegetacyjne). Podczas trwania doświadczenia remediacyjnego próbki gleby do badań pobrano trzykrotnie (stan początkowy, po 12 miesiącach i po 24 miesiącach trwania eksperymentu).



Rysunek 12. Sadzonki rokinika zwyczajnego wykorzystane w doświadczeniu polowym w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi



Rysunek 13. Sadzonki śnieguliczki białej wykorzystane w doświadczeniu polowym w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi

4.10. Wspomagana fitostabilizacja z użyciem dodatków doglebowych

Proces uruchamiania lub immobilizacji metali ciężkich w glebie jest w głównej mierze zależny od jej odczynu. Mobilność toksycznych metali zmniejsza się wraz ze wzrostem pH gleby (Siebielec i Chaney, 2012). W glebach kwaśnych metale ciężkie uwalniane są z fazy stałej i przechodzą do roztworu glebowego zagrażając tym samym wodom podziemnym, powierzchniowym i roślinom (Paszko i Gaszczyk, 1996).

Wykorzystując próbki gleby pobranej z poletka nr 2 zanieczyszczonego metalami ciężkimi, która charakteryzowała się odczynem lekko kwaśnym (pH=6,1) przeprowadzono doświadczenie wazonowe w warunkach laboratoryjnych mające na celu ograniczenie transferu metali ciężkich do głębszych partii profilu glebowego oraz wód podziemnych i ich stabilizacji w środowisku glebowym. W eksperymencie wazonowym zastosowano cztery typy dodatków glebowych mających za zadanie ograniczenie mobilności metali ciężkich w środowisku glebowym: bentonit na bazie montmorylonitu, mączka bazaltowa, wapno dolomitowe oraz węgiel brunatny. Czynnikiem remediacyjnym zastosowanym w doświadczeniu wspomaganą fitostabilizacji były sadzonki rokitnika zwyczajnego.

W doświadczeniu wykorzystano ok. 125 kg gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, którą podzielono na pięć równych części i umieszczono w 5 pojemnikach plastikowych o pojemności 130 l każdy. Materiał glebowy pobrany z poletka badawczego i umieszczony w poszczególnych pojemnikach został zmieszany z czterema dodatkami w równych dawkach, dokładnie wymieszany w pojemnikach i nawodniony w celu uzyskania odpowiedniej wilgotności, a następnie w każdym z pojemników posadzono po 2 sadzonki rokitnika zwyczajnego o wysokości ok. 0,5 m. Doświadczenie przeprowadzono w pojemnikach w warunkach naturalnych, na zewnątrz budynku. Sadzonki w pojemnikach w przypadku konieczności podlewano wodą, ponieważ w okresie letnim były narażone na przesuszenie.

Doświadczenie wazonowe prowadzono przez 24 miesiące (dwa okresy wegetacyjne). Podczas trwania doświadczenia remediacyjnego próbki gleby do badań pobrano dwukrotnie (stan początkowy i po 24 miesiącach trwania eksperymentu). Badania wykonano z użyciem gleby stanowiącej próbkę kontrolną oraz gleb z domieszką czterech dodatków. Dodatki doglebowe zostały zaaplikowane w dawkach 5% (% wagowe) każdy. Dla każdej kombinacji wykonano po trzy powtórzenia. Stopień mobilności metali ciężkich w badanej glebie został określony na podstawie zmiany ich koncentracji w środowisku glebowym.

4.11. Metody analiz laboratoryjnych

4.11.1. Oznaczanie zanieczyszczeń organicznych w materiale glebowym

Oznaczenie stężenia związków ropopochodnych w badanych próbkach gleby zostało wykonana zgodnie z procedurą, której celem jest przedstawienie sposobu przygotowania próbek gleby oraz oznaczania w nich poziomu zanieczyszczenia węglowodorami alifatycznymi i aromatycznymi. Procedura jest oparta na technice chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (FID). Próbkę pobiera się ze szczelnie zamkniętych fiolek, w których stosunek objętości fazy ciekłej do objętości powietrza jest ustalony. Równowaga termodynamiczna fazy gazowej z fazą ciekłą utrzymywana jest poprzez stabilizowanie fiolek w układzie termostatowanym (tzw. technika headspace). Analizę fazy gazowej przeprowadza się na chromatografie gazowym z zastosowaniem detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID).

Metoda jest stosowana do oznaczania następujących grup związków:

- węglowodory alifatyczne C₆ - C₁₂ (benzyna)
- węglowodory alifatyczne C₁₂ - C₄₀ (indeks olejowy).

Stosowane wyposażenie

- Chromatograf gazowy HS-GC-FID Shimadzu 2010 Plus z przystawką Headspace
- Kolumna: HP-5 30m x 0,32 mm, film: 0,25 um

ustawienia Headspace:

- ✓ Temp. pieca - 80°C
- ✓ Temp. igła - 150°C
- ✓ Temp. linia transferowa - 150°C
- ✓ Program temperaturowy:
- ✓ Dozownik typu split/splitless: temp. 250 C
- ✓ Piec: start 50°C - 4 min → 30°C/min do 280°C - 5 min.
- ✓ Temperatura detektora FID - 300°C

- Chromatograf gazowy GC-FID Shimadzu 2010 Plus z autosamplerem
- Kolumna: HP-1 15m x 0,53 mm, film: 0,15 um

program temperaturowy:

- ✓ Dozownik typu on-column: temperatura programowana - 60°C → 310°C
- ✓ Piec: 50°C - 2 min → 55°C/min do 300°C – 6 min
- ✓ Temperatura detektora FID - 320°C

- Szkło miarowe
- Waga techniczna
- Wyrząsarka MINI G 1600
- Wirówka laboratoryjna z probówkami PE
- Myjka (łaźnia) ultradźwiękowa

Odczynniki, materiały pomocnicze, wzorce

- Aceton cz.d.a.
- *n*-heksan do HPLC
- Mieszanina soli odwadniającej (MgSO₄, cytrynian sodu, chlorek sodu, wodorocytrynian sodu) w stosunku wagowym 4/1/1/0,5)
- Florisil
- Metanol cz.d.a.
- Wzorzec benzyny (5000 mg/l)
- Wzorzec indeksu oleju mineralnego (10 mg/ml).

Przygotowanie próbek do oznaczania węglowodorów alifatycznych C₆-C₁₂ (benzyna)

Do fiolki 20 ml odważono 5g (z dokładnością ± 0,01g) próbki o wilgotności polowej, a następnie uzupełniono do 10 ml wody demineralizowanej i szczelnie zamknięto.

Przygotowanie próbek do oznaczania węglowodorów alifatycznych C₁₂-C₄₀ (indeks olejowy)

Do próbki wirówkowej typu „Falcon” o poj. 50 ml odważono 10 g (±0,1g) próbki o wilgotności polowej, dodano 5 ml wody demineralizowanej a następnie 10 ml mieszaniny acetonu i heksanu (w stosunku objętości 7/3). Całość zakręcono i lekko wytrząsano w celu przemieszania wszystkich składników, po czym dodano jeszcze ok 6,5 g mieszanki soli odwadniających. Tak przygotowaną próbkę szczelnie zakręcono i umieszczono w wyrząsarce oscylacyjnej poddając ją intensywnemu wytrząsaniu przez 1 minutę. Następnie próbkę odwirowano z prędkością 4 000 obr/min przez 10 minut. Po rozdzieleniu się warstwy gleby i wody od fazy rozpuszczalnikowej pobrano jej 5 ml i umieszczono w próbce wirówkowej typu „Falcon” o poj. 15 ml, następnie dodano 1,5 g Florisilu i szczelnie zakręcono. Całość wytrząsano i odwirowano analogicznie jak w pierwszym etapie. Tak przygotowaną próbkę przeniesiono do szklanej fiolki o poj. 2 ml w celu dalszej analizy. Wykonano jednocześnie próbkę ślepą dodając do próbki wirówkowej typu „Falcon” o poj. 50 ml, 5 ml wody demineralizowanej, a następnie 10 ml mieszaniny acetonu i heksanu (w stosunku objętości 7/3). Dalej wykonano wg instrukcji powyżej.

Przygotowanie roztworów do kalibracji

- węglowodory alifatyczne C₆ - C₁₂ (benzyna)

Do kolb o poj. 100 ml wypełnionych wodą dejonizowaną wprowadzono pod powierzchnię wody za pomocą mikrostrzykawki następujące objętości roztworu wzorca podstawowego benzyny: (10; 50; 200; 1000; 2000) µl, co odpowiada: (0,5; 2,5; 10; 50; 100) mg/l;

- węglowodory alifatyczne C₁₂ - C₄₀ (indeks olejowy)

Do kolbek miarowych o pojemności 10 ml wypełnionych w połowie n-heksanem wprowadzono kolejno za pomocą mikrostrzykawki następujące objętości roztworu wzorca podstawowego: 20, 50, 100, 200, 600, 800, 1000, 2000 µl, co odpowiada stężeniu: 20, 50, 100, 200, 600, 800, 1000, 2000 mg/l.

Obliczenia

- Zawartość benzyny obliczono wg wzoru:

$$X = \left(\frac{a * 10 * d}{m} \right) * p.s.m \frac{mg}{kg}$$

gdzie:

a - wartość stężenia benzyny odczytana z chromatogramu [mg/l]

m - masa próbki wzięta do analizy [g]

d - rozcieńczenie

p.s.m. - przelicznik na suchą masę $\left(\frac{100}{\text{sucha masa}} \right)$

- Zawartość indeksu oleju mineralnego obliczyć wg wzoru:

$$X = \frac{C * d * 100}{SM} - \frac{Co}{Vo} \left[\frac{mg}{kg} s.m. \right]$$

gdzie:

X - olej mineralny [mg·kg⁻¹ s.m.]

C - stężenie oleju mineralnego odczytane z raportu (chromatogramu) [mg/l]

s.m. - procent suchej masy próbki [%]

d - rozcieńczenie

Co - stężenie próbki ślepej odczytane z raportu (chromatogramu) [mg/l]

Vo - objętość próbki ślepej [mg/l]

Wynik przedstawia się w zaokrągleniu do dwóch cyfr znaczących.

4.11.2. Oznaczanie całkowitej zawartości pierwiastków w materiale glebowym

Zawartość metali ciężkich w badanych próbkach gleby została oznaczono zgodnie z procedurą przedstawiającą sposoby przygotowania próbek gleby oraz oznaczania w nich pierwiastków (metali) metodą optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą indukcyjnie wzbudzoną ICP-OES.

Metoda ta jest stosowana do oznaczania pierwiastków (metali) w próbkach gleby. Podstawą metody jest pomiar intensywności promieniowania charakterystycznego emitowanego przez dane pierwiastki wzbudzone w plazmie sprzężonej indukcyjnie. Próbkę dostarcza się do plazmy w postaci aerozolu lub w postaci gazowej w gazie nośnym (generacja wodorków, zimne pary).

Stosowane wyposażenie

- Spektrometr ICP-OES
- Waga analityczna
- Blok mineralizacyjny
- Płyta grzewcza
- Mieszadło magnetyczne
- Mieszadło obrotowe
- Suszarka laboratoryjna

Odczynniki, materiały pomocnicze, wzorce

- Woda demineralizowana
- Kwas azotowy (HNO_3), stężony
- Nadtlenek wodoru H_2O_2
- Kwas solny (HCl), stężony
- Kwas fluorowodorowy HF
- Kwas siarkowy H_2SO_4
- Wodorotlenek sodu NaOH
- Borowodorek sodu NaBH_4
- Jodek potasu KJ
- Kwas askorbinowy
- Nadmanganian (VII) potasu KMnO_4
- nadsiarczan (VI) potasu $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$
- chlorowodorek hydroksyloaminy
- chlorek wapnia CaCl_2
- chloroform
- pięciowodny mleczan wapnia

- Roztwór ekstrakcyjny kwasu chlorowodorowego o stężeniu 0,5 M
- Chlorek sodu NaCl
- Wzorzec podstawowy wielopierwiastkowy 1000 µg/ml – do kalibracji
- Wzorzec podstawowy wielopierwiastkowy 1000 µg/ml – do kontroli
- Wzorzec podstawowy jednopierwiastkowy (As, Hg, Mo, P, Sn) 1000 µg/ml – do kalibracji
- Wzorzec podstawowy jednopierwiastkowy (As, Hg, Mo, P, Sn) 1000 µg/ml – do kontroli

Przygotowanie próbek gleby do analizy bezpośredniej

Próbkę gleby poddano mineralizacji w systemie otwartym w następujący sposób: na wadze analitycznej odważono ($1,0000 \pm 0,0050$) g próbki (wysuszonej do suchej masy), przeniesiono do tuby mineralizacyjnej, a następnie dodano 6 ml stężonego kwasu solnego i 2 ml stężonego kwasu azotowego. Tuby umieszczono w bloku mineralizacyjnym, każdą nakryto szkiełkiem zegarkowym i mineralizowano w temperaturze ok. 120°C przez 2 godziny. Po mineralizacji próbkę ostudzono, przeniesiono ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 ml i uzupełniono wodą demineralizowaną do kreski. Tak przygotowany roztwór poddano analizie na spektrometrze ICP-OES.

Wykonanie kalibracji

Krzywe kalibracyjne wykreślono zgodnie z instrukcją obsługi spektrometru ICP-OES.

Analiza próbek

Próbki przygotowane zgodnie z powyższym opisem poddano analizie zgodnie z instrukcją obsługi spektrometru. W przypadku, gdy stężenie oznaczonego pierwiastka w próbce przekraczało zakres kalibracji, próbkę należało odpowiednio rozcieńczyć.

Przedstawianie wyników badań

Obsługa spektrometru odbywa się za pomocą programu producenta Syngistix. Wszystkie dane wejściowe (wielkości odważek, rozcieńczenia itp.) wprowadza się do sekwencji próbek zgodnie z instrukcją programu, który automatycznie wyraża wyniki oznaczania w odpowiednich jednostkach.

$$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} = \left(\frac{c \cdot v}{m} \right) \cdot f_{\text{rozc}}$$

gdzie:

c – stężenie pierwiastka (odczyt z aparatu), po odjęciu wartości ślepej próby [mg/l]

v – objętość końcowa mineralizatu [ml]

m – masa próbki poddanej mineralizacji [g]

f_{rozc} – współczynnik rozcieńczenia

Wynik przedstawia się w zaokrągleniu do dwóch cyfr znaczących.

4.11.3. Oznaczanie odczynu w materiale glebowym

Oznaczenie odczynu pH w próbkach gleby wykonano metodą potencjometryczną w zakresie 2,0 – 12,0. Zastosowana metoda polega na pomiarze SEM ogniwa. Różnice potencjałów mierzonych pehametrem wyraża funkcja wartości pH badanego roztworu. Oznaczenie odczynu gleby wykonuje się poprzez pomiar pH zawiesiny gleby w wodzie destylowanej i roztworze chlorku potasu o stężeniu 1 mol/l KCl. W ten sposób oznacza się czynną kwasowość gleby. Jest to rodzaj kwasowości pochodzącej od jonów H^+ zawartych w roztworze glebowym.

Stosowane wyposażenie

- pH-metr
- Elektroda szklana i elektroda odniesienia
- Waga analityczna
- Wytrząsarka oscylacyjna
- Termometr

Odczynniki, materiały pomocnicze, wzorce

- woda destylowana
- roztwór chlorku potasu KCl o stężeniu 1 mol/l
- roztwór buforowy pH 4,00 w temperaturze 20°C
- roztwór buforowy pH 7,00 w temperaturze 20°C

Do oznaczeń pH w wodzie dejonizowanej, jak i w mieszaninie gleby i 1 molowego roztworu KCl zachowano stosunek 1:2,5. Tak przygotowane roztwory szczelnie zakręcono i umieszczono w wytrząsarce oscylacyjnej poddając ją intensywnemu wytrząsaniu przez 5 minut. Następnie roztwory pozostawiono na 24 godziny w celu uzyskania równowagi pH, a następnie dokonano oznaczeń pH.

4.11.4. Oznaczanie składu granulometrycznego

Metoda oznaczania składu granulometrycznego próbek gleb/gruntów metodą dyfrakcji laserowej opracowano w oparciu o normę ISO 13320:2009 oraz instrukcję obsługi analizatora wielkości cząstek Mastersizer 3000.

Metoda polega na wyznaczeniu rozkładu wielkości cząstek gleby/gruntu metodą dyfrakcji laserowej sposobem „na mokro”, tzn. w emulsjach i zawiesinach. Cząstki gleby/gruntu znajdujące się w zawiesinie przechodzą przez celę pomiarową, gdzie skanowane przez wiązkę laserową rozpraszają światło pod różnymi kątami. Intensywność światła i kąty załamania rejestrowane są przez

światłoczuły detektor. Rozkład wielkości cząstek w próbce obliczany jest (automatycznie przez analizator) na podstawie odpowiednio przekształconych sygnałów z detektora.

Metodę należy stosować dla gleb/gruntów, które nie rozpuszczają się w wodzie.

Zakres pomiarowy metody: (1 - 99) % w zakresie wielkości cząstek (2 - 2000) μm z uwzględnieniem podziału na frakcje granulometryczne.

W określaniu frakcji granulometrycznych przyjmuje się wymiary cząstek zgodnie z wytycznymi PN-R-04033:1998 *Gleby i twory mineralne -- Podział na frakcje i grupy granulometryczne*.

Stosowane wyposażenie

- analizator wielkości cząstek Mastersizer 3000 z przystawką Hydro LV
- próbnik do gleb
- waga techniczna
- suszarka laboratoryjna
- sito o średnicy oczka 2 mm
- łąźnia ultradźwiękowa
- mieszadło magnetyczne

Odczynniki, materiały pomocnicze, wzorce

- roztwór związku dyspergującego
- woda demineralizowana

Przygotowanie próbki

Okolo 2 kg sypkiej próbki wysuszono w suszarce w temperaturze $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, a następnie pomniejszono próbkę metodą kwartowania do próbki analitycznej o masie minimum 500 g. Uśrednioną próbkę gleby/gruntu zbadano makroskopowo oznaczając rodzaj gruntu zgodnie z wytycznymi normy PN-EN ISO 14688-1:2006. Następnie, używając próbnika, pobrano okolo 50 g badanej próbki do naczynka odpornego termicznie. Próbkę wysuszono w temperaturze $(105 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ do uzyskania stałej masy. Całość wysuszonej próbki zważono, rozdrobniono manualnie w moździerz oraz przesiano przez sito o średnicy oczka 2 mm. Zawartość frakcji >2 mm (w % całej masy wysuszonej próbki) wpisano w uwagach do protokołu badań. Z frakcją, która przeszła przez sito (frakcja < 2 mm) postępowano zgodnie z poniższymi wytycznymi.

Wykonanie oznaczenia w przypadku gruntów niespoistych (sypkich)

Próbkę gruntu oznaczonego jako niespoisty, po dokładnym wymieszaniu, bezpośrednio dozowano do celi pomiarowej analizatora Mastersizer 3000. Zgodnie z zaleceniami producenta aparatu, próbkę należy dodawać do momentu uzyskania wartości obskuracji na poziomie (7-15) %. Przy przekroczeniu

górnjej wartości zalecane jest rozcieńczenie próbki wodą destylowaną bezpośrednio w celi pomiarowej. Dodatkowo, dla rozdrobnienia możliwych konglomeratów, warto użyć opcji ultradźwięków. Przy spełnianiu powyższych warunków uruchomiono pomiar próbki. Minimalna ilość pomiarów dla próbki jednorazowo wprowadzonej do celi pomiarowej wynosiła 3 pomiary.

Wykonanie oznaczenia w przypadku gruntów spoistych

Próbkę gruntu oznaczonego jako spoisty poddano wstępnemu przygotowaniu „na mokro”. W tym celu do pojemnika o pojemności 100 ml wsypano około 2g zhomogenizowanej próbki, dodano 5 ml roztworu dyspergującego oraz 50 ml wody demineralizowanej. Następnie próbkę poddano działaniu ultradźwięków w łaźni ultradźwiękowej przez 15 min.

Po wyjęciu z łaźni, próbkę umieszczono na mieszadle magnetycznym w celu utrzymywania jednorodnej zawiesiny. Następnie stopniowo dozowano próbkę do celi pomiarowej aparatu Mastersizer 3000 za pomocą pipety Pastera. Poziom obskuracji oraz opcję ultradźwięków stosowano jak w punkcie dot. gruntów niespoistych. Przy spełnieniu powyższych warunków uruchomiono pomiar próbki. Minimalna ilość pomiarów dla próbki jednorazowo wprowadzonej do celi pomiarowej wynosiła 3 pomiary.

Przedstawienie wyników

Zawartość określonych frakcji (przedziałów) granulometrycznych odczytano bezpośrednio z oprogramowania analizatora Mastersizer 3000 i przedstawiono w procentach z dokładnością do jednego miejsca po przecinku. Jako wynik końcowy przedstawiono udział procentowy frakcji piasku (2 – 0,05 mm), pyłu (0,05 – 0,002 mm) oraz ilów (<0,002 mm).

4.11.5. Oznaczanie współczynnika filtracji gleb i gruntów (wodoprzepuszczalność) metodą spadków hydraulicznych

Laboratoryjne metoda wyznaczania współczynnika filtracji (wodoprzepuszczalności) metodą spadków hydraulicznych opiera się na normie PN-EN ISO 17892-11:2019-05.

Zakres pomiarowy metody: $1,0 \cdot 10^{-9}$ – $1,0 \cdot 10^{-3}$

Stosowane wyposażenie

- permeametr w postaci pierścienia edometrycznego
- waga techniczna
- termometr
- aparat Proctora

Wykonanie oznaczenia

Próbkę gruntu o nienaruszonej strukturze umieszczono w pierścieniu edometru. Pierścień edometryczny zawierający próbkę umieszczono w odpowiedniej pozycji w aparacie. Zadano na próbce niewielkie naprężenie, nieprzekraczające 3 kPa, aby zapewnić odpowiedni kontakt pomiędzy systemem obciążeniowym i gruntem. Czujnik do pomiaru odkształceń umieszczono we właściwym miejscu i wykonano odczyt początkowy odpowiadający zerowemu odkształceniu. Przeprowadzono odczyt czujników przemieszczenia oraz zmiany objętości na zakończenie etapu konsolidacji. Zadano ciśnienie na wlocie na potrzeby badania przepuszczalności. Badanie przepuszczalności przeprowadzono w warunkach ze stałym gradientem hydraulicznym.

Obliczone wartości przepuszczalności powinny być zgodne w kolejnych czterech krokach czasowych. Jeżeli obserwowany jest trend rosnący lub malejący, należy prowadzić dalsze pomiary aż do uzyskania zgodności.

Przedstawianie wyników badań

Gradient hydrauliczny obliczono zgodnie ze wzorem:

$$i = \left(\frac{\Delta h}{l} \right)$$

gdzie:

i – gradient hydrauliczny

Δh – różnica ciśnienia wody między punktami pomiarowymi [m]

l – odległość między punktami pomiarowymi w kierunku przepływu [m]

Współczynnik filtracji obliczono zgodnie z poniższym wzorem dla każdego z co najmniej czterech kolejnych kroków i na tej podstawie wyliczono jego średnią wartość:

$$k = \frac{v}{i} = \frac{Q}{A \cdot i} = \frac{Q \cdot l}{A \cdot \Delta h}$$

gdzie:

k – współczynnik filtracji [m/s]

v – prędkość przepływu [m/s]

i – gradient hydrauliczny

Q – natężenie przepływu [m³/s]

A – powierzchnia przekroju poprzecznego próbki w kierunku przepływu [m²]

Δh – różnica ciśnienia wody między punktami pomiarowymi [m]

l – odległość między punktami pomiarowymi w kierunku przepływu [m]

Wynik przedstawia się w zaokrągleniu do dwóch cyfr znaczących.

4.11.6. Zakres pomiarowy stosowanych metod badawczych

Zakresem pomiarowym nazywa się przedział pomiędzy najniższym i najwyższym stężeniem analitu, który może zostać oznaczony za pomocą określonej procedury analitycznej z założoną precyzją, dokładnością oraz liniowością. Parametr ten został wyznaczony jako przedział od granicy oznaczalności procedury analitycznej do największego stężenia roztworu wzorcowego. Zakresy pomiarowe dla poszczególnych metod analitycznych stosowanych w niniejszej pracy przedstawiono w Tabeli 4.

Tabela 4. Wykaz zastosowanych metod badawczych wraz z ich zakresem pomiarowym

Lp.	Badany parametr	Jednostka	Zakres	Metoda
1	Arsen	mg·kg ⁻¹ (ppm)	5,00 - 1000	Metoda emisyjnej spektrometrii atomowej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES)
2	Bar	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,10 - 1000	
3	Chrom	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,30 - 1000	
4	Cyna	mg·kg ⁻¹ (ppm)	5,00 - 1000	
5	Cynk	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,50 – 10 000	
6	Kadm	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,05 - 200	
7	Kobalt	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,20 - 200	
8	Miedź	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,40 - 5000	
9	Molibden	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,40 - 100	
10	Nikiel	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,40 - 1000	
11	Ołów	mg·kg ⁻¹ (ppm)	1,00 - 3000	
12	Rtęć	mg·kg ⁻¹ (ppm)	0,10 - 100	Metoda absorpcyjnej spektrometrii atomowej z generowaniem zimnych par (CVAAS)
13	odczyn pH	-	2,0 – 12,0	Metoda potencjometryczna
14	Suma węglowodorów C ₆ -C ₁₂ , składników frakcji benzyn	mg·kg ⁻¹	1,0 – 1000	Metoda chromatografii gazowej z analizą fazy nadpowierzchniowej i detekcją płomieniowo-jonizacyjną (HS-GC-FID)
15	Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników frakcji oleju	mg·kg ⁻¹	20 – 20 000	Metoda chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID)
16	Skład granulometryczny	%	2-2000 μm	Metoda dyfrakcji laserowej
17	Wodoprzepuszczalność	m/s	1,0·10 ⁻⁹ – 1,0·10 ⁻³	Metoda spadków hydraulicznych

4.12. Metody statystyczne

Dane przedstawiane w pracy zostały opracowane statystycznie przy użyciu oprogramowania Microsoft Office Excel 2016. Wszystkie wyniki przedstawione na wykresach i w tabelach są średnimi arytmetycznymi z trzech powtórzeń \pm odchylenie standardowe zarówno dla eksperymentu wazonowego, jak i dla eksperymentu poletkowego.

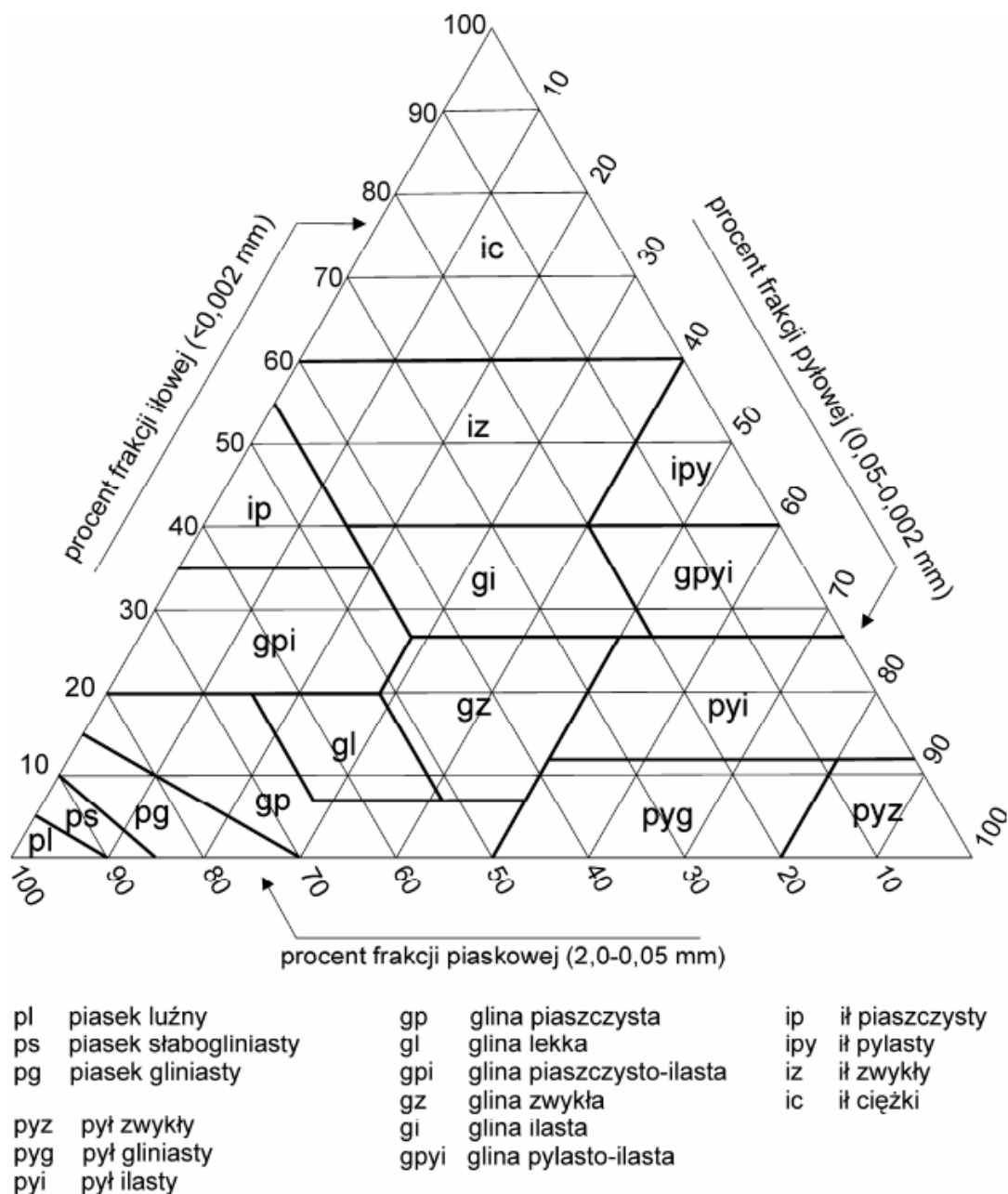
5. WYNIKI BADAŃ

5.1. Skład granulometryczny badanych gleb

W niniejszej pracy przyjęto podział gleb na grupy granulometryczne według wagowej procentowej zawartości frakcji piaskowej, pyłastej i iłowej w częściach ziemistych, zgodny z klasyfikacją Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego (2008).

Tabela 5. Podział gleb i utworów mineralnych na grupy i podgrupy granulometryczne według wagowej procentowej zawartości frakcji piaskowej, pyłowej i iłowej w częściach ziemistych (PTG, 2008).

Grupa granulometryczna	Podgrupa granulometryczna	Symbol	Procentowa zawartość (c) frakcji			
			piasku 2,0 - 0,05 mm średnicy	pyłu 0,05 - 0,002 mm średnicy	iłu poniżej 0,002 mm średnicy	
Piaski	piasek luźny	pl	$c \geq 90$	$(\%py + 2 \times \%i) \leq 10$		
	piasek słabogliniasty	ps	$85 \leq c < 95$	$(\%py + 2 \times \%i) > 10$ $(\%py + 1,5 \times \%i) \leq 15$		
	piasek gliniasty	pg	$70 \leq c < 90$	$(\%py + 1,5 \times \%i) > 15$ $(\%py + 2 \times \%i) \leq 30$		
Gliny	glina piaszczysta	gp	$65 \leq c < 85$	$(\%py + 2 \times \%i) > 30$		
				$c \leq 35$	$c \leq 20$	
				lub		
				$43 \leq c < 65$	$28 \leq c \leq 50$	$c \leq 7$
	glina lekka	gl	$52 \leq c < 65$	$15 < c \leq 41$	$7 < c \leq 20$	
	glina piaszczysto-ilasta	gpi	$45 \leq c < 80$	$c \leq 28$	$20 < c \leq 35$	
	glina zwykła	gz	$23 \leq c < 52$	$28 < c \leq 50$	$7 < c \leq 27$	
glina ilasta	gi	$20 \leq c < 45$	$15 < c < 53$	$27 < c \leq 40$		
glina pylasto-ilasta	gpyi	$c < 20$	$40 < c \leq 73$	$27 < c \leq 40$		
Pyły	pył gliniasty	pyg	$8 \leq c < 50$	$50 < c \leq 80$	$c \leq 12$	
	pył zwykły	pyz	$c < 20$	$c > 80$	$c \leq 12$	
	pył ilasty	pyi	$c < 38$	$50 < c < 88$	$12 < c \leq 27$	
Iły	ił piaszczysty	ip	$45 \leq c < 65$	$c \leq 20$	$35 < c \leq 55$	
	ił pylasty	ipy	$c < 20$	$40 < c < 60$	$40 < c < 60$	
	ił zwykły	iz	$c < 45$	$c \leq 40$	$40 < c \leq 60$	
	ił ciężki	ic	$c < 40$	$c < 40$	$c > 60$	

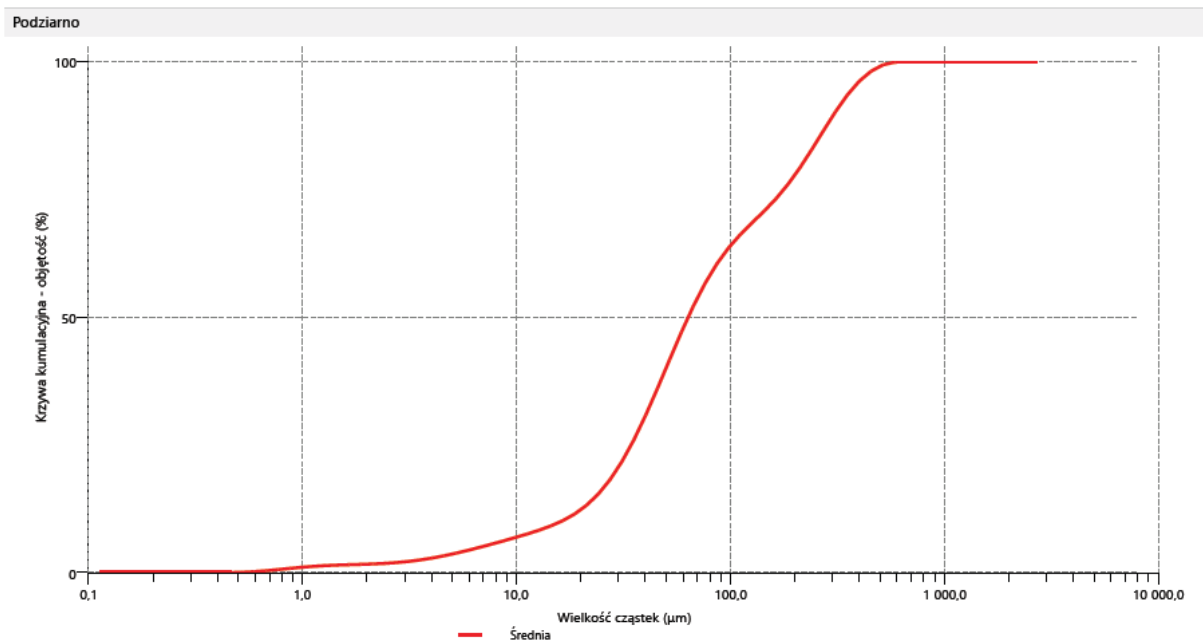


Rysunek 14. Diagram podziału utworów mineralnych na grupy i podgrupy granulometryczne (PTG, 2008).

Gleby pochodzące z poszczególnych poletek zostały poddane analizie granulometrycznej, która pozwoliła je zakwalifikować do odpowiednich podgrup granulometrycznych. Wyniki analizy granulometrycznej metodą dyfrakcji laserowej zamieszczono w Tabeli 6, a wybrane diagramy uziarnienia przedstawiono na Rysunku 15, Rysunku 16, Rysunku 17.

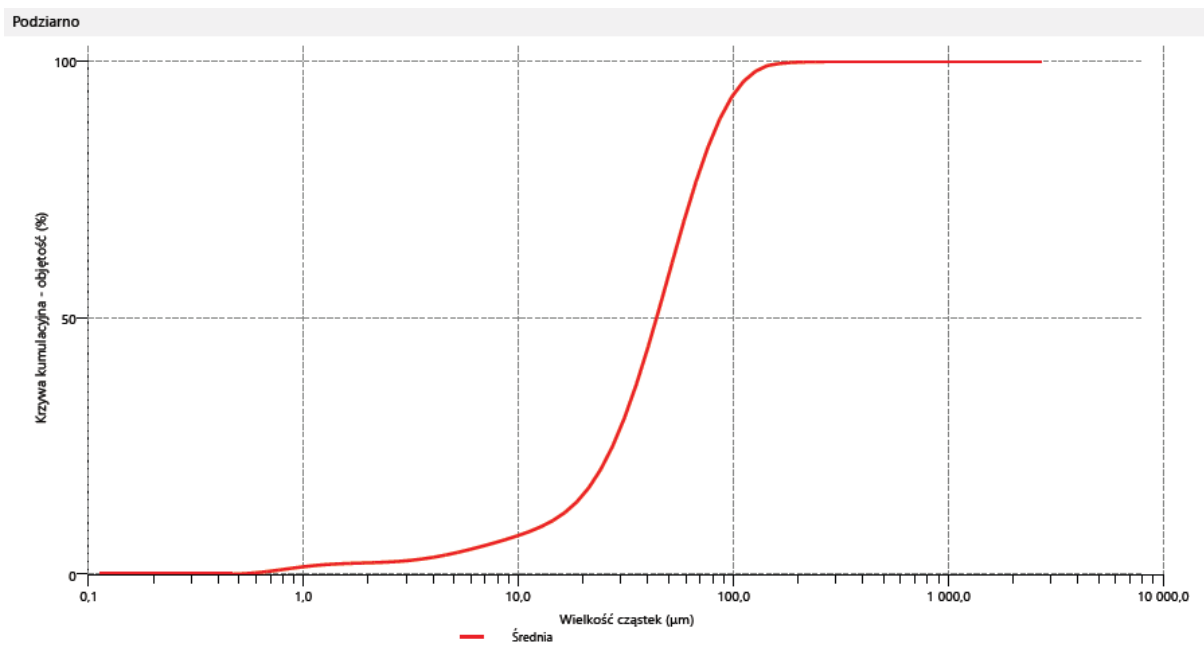
Tabela 6. Wyniki analizy granulometrycznej gleb z poszczególnych miejsc poboru

Lp.	Miejsce pobrania próbki	piasek 2-0,05 mm [%]	pył 0,05-0,002 mm [%]	ił <0,002 mm [%]	Podgrupa
1	poletko 1 – sekcja 1 (bioremediacja – próbka 1)	53,7	38,4	7,9	gлина lekka
2	poletko 1 – sekcja 1 (bioremediacja – próbka 2)	37,1	46,9	16	gлина zwykła
3	poletko 1 – sekcja 2 (fitoremediacja - łąki kwietne)	59,9	38,4	1,7	gлина piaszczysta
4	poletko 2 – sekcja 1 (fitoremediacja – rokitnik zwyczajny)	79,1	15,6	5,3	piasek gliniasty
5	poletko 2 – sekcja 2 (fitoremediacja – śnieguliczka biała)	41,6	56,2	2,2	pył gliniasty
6	poletko 2 – sekcja 3 (fitoremediacja – wierzba wiciowa)	43,2	49,8	7,0	gлина piaszczysta
7	wazon P1 – morwa biała	24,3	44,9	30,8	gлина ilasta
8	wazon P2 – morwa biała	32,0	39,2	28,8	gлина ilasta
9	wazon P3 – morwa biała	48,4	38,2	13,4	gлина zwykła
10	wazon K – morwa biała	37,1	46,9	16	gлина zwykła
11	wazon – dodatki glebowe (wapno dolomitowe)	80,7	18,7	0,6	piasek gliniasty
12	wazon – dodatki glebowe (bentonit)	72,1	18,0	9,9	gлина piaszczysta
13	wazon – dodatki glebowe (węgiel brunatny)	48,4	45,3	6,3	gлина piaszczysta
14	wazon – dodatki glebowe (mączka bazaltowa)	81,3	18,1	0,6	piasek gliniasty
15	wazon – dodatki glebowe (kontrola)	76,6	22,6	0,8	piasek gliniasty



Soil classification	
Fraction	% in
Clay (<2µm)	1.65
Silt (2 - 50µm)	38.43
Very fine sand (50-100µm)	23.94
Fine sand (100-250µm)	20.05
Medium sand (250-500µm)	15.03
Coarse sand (500-1000µm)	0.9
Very coarse sand (1000-2000µm)	0
Total sand (50-2000µm)	59.92

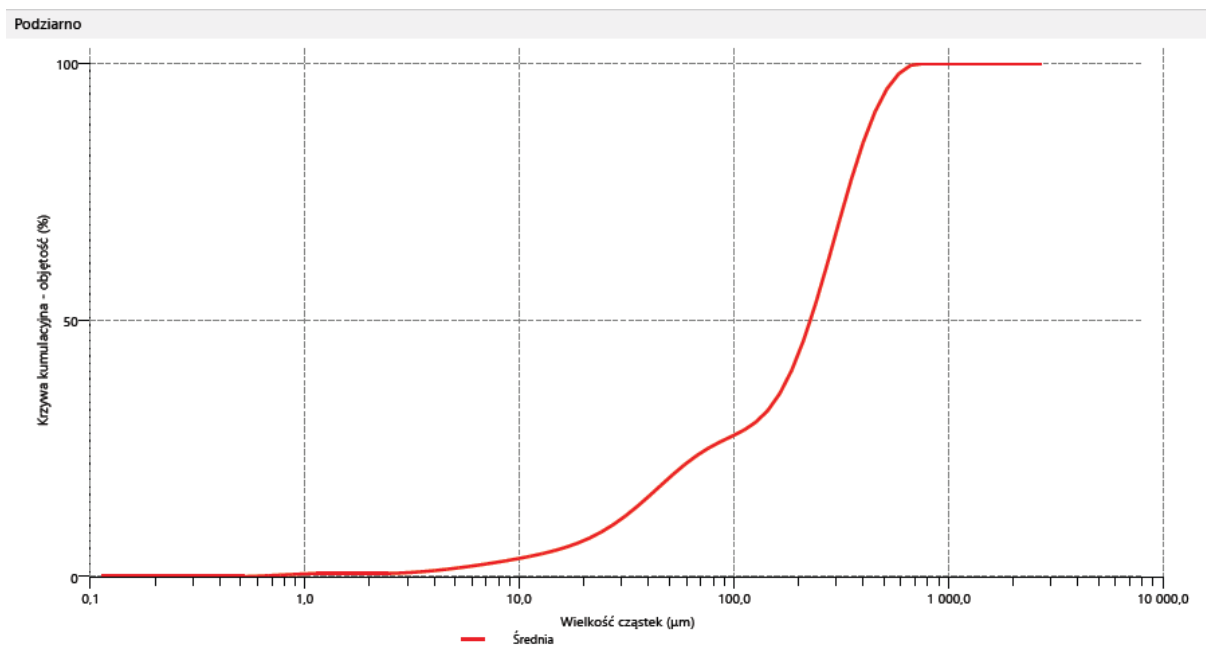
Rysunek 15. Wykres uziarnienia próbki gleby pobranej z poletka 1 – sekcji 2 (fitoremediacja - łąki kwietne)



Soil classification

Fraction	% in
Clay (<2µm)	2.22
Silt (2 - 50µm)	56.18
Very fine sand (50-100µm)	35.1
Fine sand (100-250µm)	6.43
Medium sand (250-500µm)	0.07
Coarse sand (500-1000µm)	0
Very coarse sand (1000-2000µm)	0
Total sand (50-2000µm)	41.6

Rysunek 16. Wykres uziarnienia próbki gleby pobranej z poletka 2 – sekcji 2 (fitoremediacja – śnieguliczka biała)



Soil classification		
Fraction	% in	
Clay (<2µm)	0.6	
Silt (2 - 50µm)	18.69	
Very fine sand (50-100µm)	8.27	
Fine sand (100-250µm)	28.14	
Medium sand (250-500µm)	38.28	
Coarse sand (500-1000µm)	6.01	
Very coarse sand (1000-2000µm)	0	
Total sand (50-2000µm)	80.71	

Rysunek 17. Wykres uziarnienia próbki gleby wykorzystanej w doświadczeniu stabilizacji wspomaganiej z użyciem wapna dolomitowego

5.2. Doświadczenie polowe – bioremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi

Na obszarze sekcji nr 1 prowadzono doświadczenie polegające na zintensyfikowaniu procesu bioremediacji gleby skażonej substancjami ropopochodnymi. Próbki gleby pobrane z sekcji badawczej nr 1, z zakresu głębokościowego 0,25-1,0 m p.p.t. charakteryzowały się wodoprzepuszczalnością określoną współczynnikiem filtracji wynoszącym $1,9 \cdot 10^{-8}$ m/s dla próbki nr 1 oraz $4,9 \cdot 10^{-9}$ m/s dla próbki nr 2. W ramach eksperymentu prowadzono doświadczenie dotyczące różnych sposobów intensyfikacji oczyszczania zanieczyszczonej gleby z zaaplikowanym poprzez otwory aplikacyjne roztworem bakterii metabolizujących zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi. Do procesu bioremediacji skażonej gleby zastosowano komercyjnie dostępny enzymatyczny preparat mikrobiologiczny firmy Cleanbacter Instytut Technologii Mikrobiologicznych Sp. z o.o.

W procesie bioremediacji zastosowano bakterie tlenowe m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens* oraz enzymy i biosurfaktanty, jednakże dokładny skład gatunkowy szczepów jest tajemnicą handlową firmy produkującej preparat. Zawiesina szczepów bakterii w bioroztworze miała stężenie 10^6 do 10^8 jtk/ml. Podczas eksperymentu zmianie ulegały warunki aeracji gleby i jej wilgotności. Postęp procesu weryfikowano za pomocą badań laboratoryjnych. Wyniki badań niniejszego eksperymentu przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Wyniki eksperymentu polegającego na bioremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi

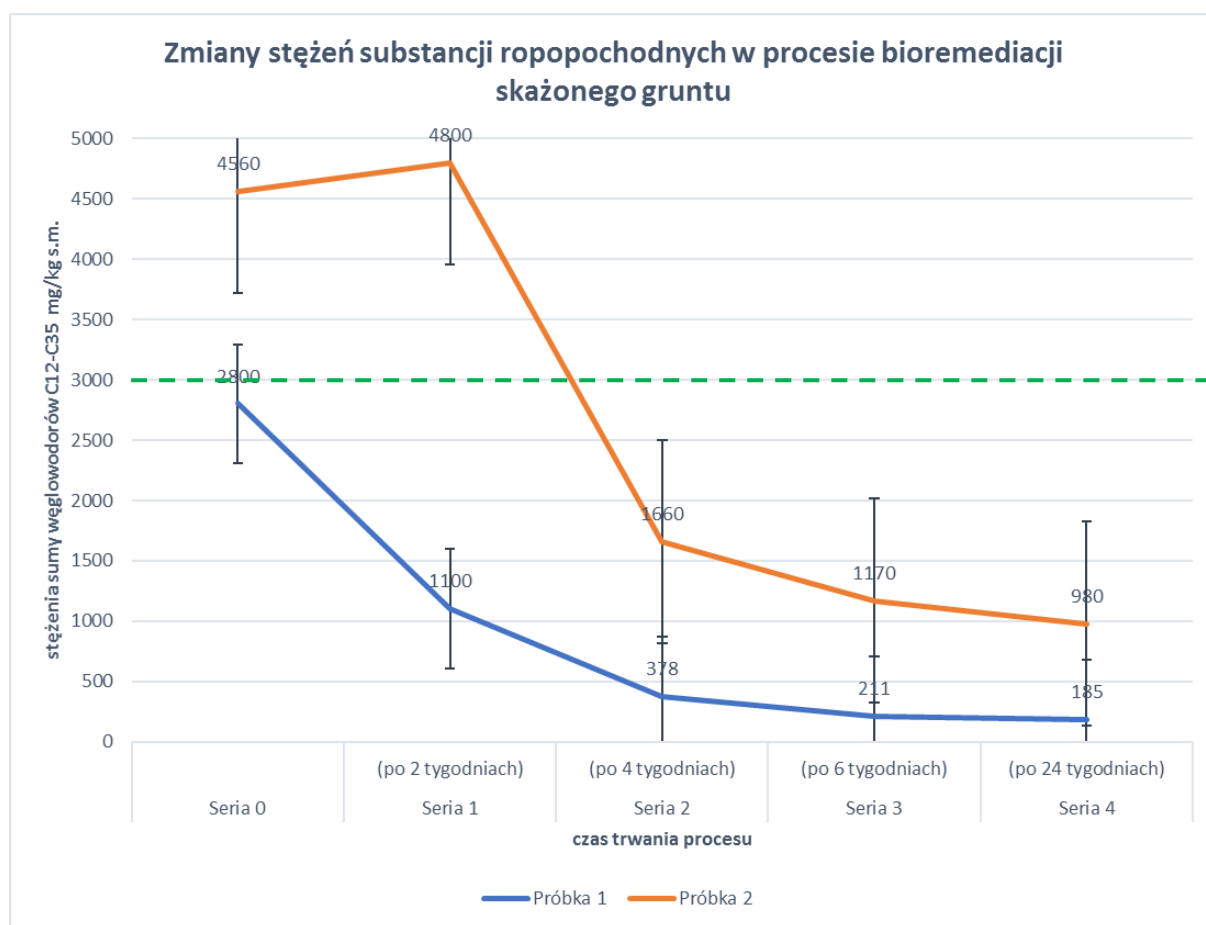
Badany parametr	Jednostka	sekcja nr 1 - próbka 1 0,25-1 m p.p.t.				
		Seria 0	Seria 1 (po 2 tygodniach)	Seria 2 (po 4 tygodniach)	Seria 3 (po 6 tygodniach)	Seria 4 (po 24 tygodniach)
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników frakcji oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	2800 ±300	1100 ±120	378 ±41	211 ±23	185 ±20
Badany parametr	Jednostka	sekcja nr 1 - próbka 2 0,25-1 m p.p.t.				
		Seria 0	Seria 1 (po 2 tygodniach)	Seria 2 (po 4 tygodniach)	Seria 3 (po 6 tygodniach)	Seria 4 (po 24 tygodniach)
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników frakcji oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	4560 ±500	4800 ±520	1660 ±182	1170 ±128	980 ±105

Badania wykazały, że po aplikacji biopreparatu najefektywniej proces przebiegał pomiędzy serią 0, a serią 2 (cztery tygodnie trwania eksperymentu), kiedy gleba była systematycznie napowietrzana. Proces bioremediacji przebiegał skokowo, z wyraźnym wzrostem stężeń węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju, po 2 tygodniach trwania procesu w glebie stanowiącej próbkę nr 2. Po czterech tygodniach, po zaprzestaniu napowietrzania proces wyraźnie zwolnił. W celu intensyfikacji procesu bioremediacji wskazane jest zastosowanie technologii intensywnego napowietrzania. W rezultacie, wskutek większej ilości składników odżywczych, tj. tlenu oraz węglowodorów, występujących jako skażenie, następuje znacznie większy od naturalnego wzrost liczebności bakterii tlenowych i proces samooczyszczania gruntu zachodzi coraz szybciej (Siciliano i in., 2001; Tardif i in., 2016). Im większy zakres napowietrzania gruntów, tym następuje większy stopień redukcji zanieczyszczeń.

Z kolei badania przeprowadzone po 6 miesiącach trwania eksperymentu potwierdziły postęp procesu oczyszczania gleby, jednak proces ten przebiegał bardzo powoli (Rysunek 18).

Jednocześnie zauważono, że w próbce gruntu nr 1, którą stanowiła glina lekka, proces bioremediacji przebiegł szybciej i efektywniej niż w próbce nr 2, która charakteryzowała glina zwykła.

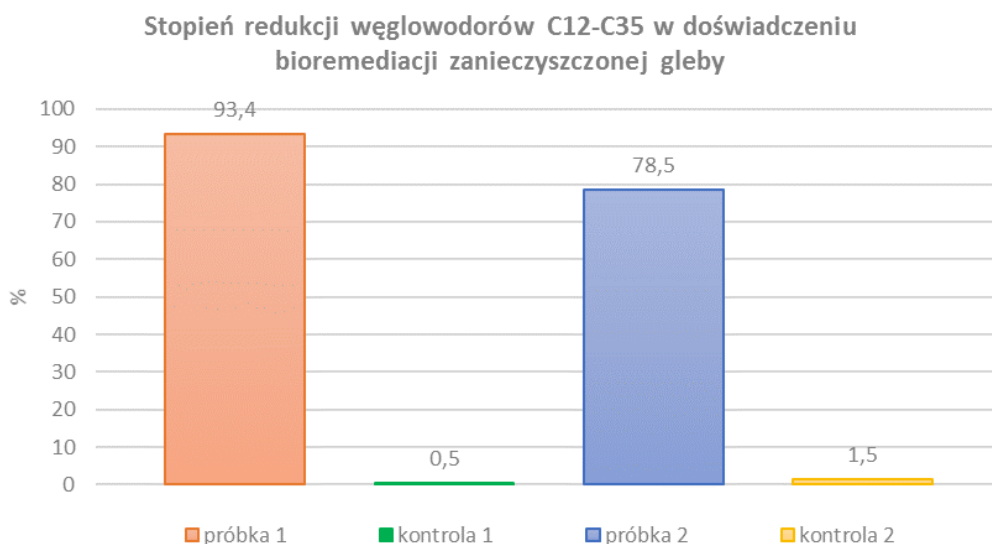
Próbka gleby nr 1 charakteryzowała się ponadnormatywnymi wartościami sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji olejów, w porównaniu do wartości granicznych (3000 mg·kg⁻¹ s.m.) określonych dla gruntów grupy IV w myśl Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1395). W efekcie procesu bioremediacji, stężenia węglowodorów osiągnęły wartości spełniające wymagania stawiane przez wymienione rozporządzenie.



Rysunek 18. Wykres zmian stężeń sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ w procesie bioremediacji skażonej gleby

W trakcie trwania doświadczenia polowego polegającego na bioremediacji gleby zanieczyszczonej węglowodorami C₁₂-C₃₅, składnikami frakcji oleju, nastąpił spadek zawartości tych substancji. Próbki gleby charakteryzowały się redukcją zanieczyszczeń węglowodorami C₁₂-C₃₅ na poziomie od 93,4 % w przypadku próbki nr 1 oraz 78,5 % w przypadku próbki nr 2.

Dla porównania w przypadku próbek kontrolnych, w obrębie których nie zaimplementowano biopreparatu, redukcja stężenia sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ w badanej glebie wyniosła jedynie 0,5% dla próbki nr 1 i 1,5% dla próbki nr 2 (Rysunek 19).



Rysunek 19. Stożenie redukcji zawartości węglowodorów C₁₂-C₃₅ w próbkach gleby w procesie

5.3. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu łąki kwietnej

Wyniki badań laboratoryjnych stanowiące poziom wyjściowy zawartości substancji ropopochodnych w badanym materiale glebowym przedstawiono w Tabeli 8.

Tabela 8. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby pobranych z głąbokości 0-0,25 m p.p.t. z terenów poprzemysłowych (marzec 2018 r.)

Badany parametr	Jednostka	Sekcja nr 2	Wartość dopuszczalna dla IV grupy gruntów ¹⁾
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników frakcji oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	4 840 ±530	3000
Suma węglowodorów C ₆ -C ₁₂ , składników frakcji benzyn	mg·kg ⁻¹ s.m.	146 ±16	500

Objaśnienia do tabeli:

¹⁾ - wartości dopuszczalne wg rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395) określone dla głąbokości 0,0 – 0,25 m p.p.t.

 - przekroczenie w stosunku do wartości granicznej

Próbki powierzchniowe pobrane z sekcji badawczej nr 2, z zakresu głębokościowego 0-0,25 m p.p.t. (Tabela 8) charakteryzowały się zanieczyszczeniem substancjami ropopochodnymi. Na podstawie przeprowadzonych badań laboratoryjnych próbek gleby z zakresu głębokościowego 0,0 - 0,25 m p.p.t., stwierdzono ponadnormatywne wartości sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ składników frakcji olejów w porównaniu do wartości granicznych określonych dla gruntów grupy IV w myśl Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1395). Zawartość sumy węglowodorów C₆-C₁₂, składników frakcji benzyn w badanym materiale glebowym została zidentyfikowana, jednak ich stężenia nie przekraczały dopuszczalnych wartości granicznych określonych w wymienionych przepisach.

Stężenia substancji ropopochodnych zawartych w próbkach gleby pobranych z sekcji nr 2 obsianej mieszanką nasion tworzącą łąki kwietne w 30-miesięcznym okresie trwania badań zamieszczono w Tabeli 9.

Tabela 9. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby pobranych z głębokości 0-0,25 m p.p.t. z sekcji nr 1 obsianej mieszanką nasion tworzącą „łąki kwietne” w czasie trwania procesu fitoremediacji

Badany parametr	Jednostka	III.2018	XI.2018	IV.2019	XI.2019	IV.2020	XI.2020
		gleba stan „0”	sekcja nr 2 - gleba + mieszanka „łąki kwietne”				
		czas [miesiące]					
		0	6	12	18	24	30
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników frakcji oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	4 840 ±530	4 225 ±464	3 906 ±429	2 323 ±255	1 888 ±205	1 162 ±125
Suma węglowodorów C ₆ -C ₁₂ , składników frakcji benzyn	mg·kg ⁻¹ s.m.	146 ±16	115 ±12	92 ±10	15 ±1,6	<1	<1

Po 30-miesięcznym procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi stwierdzono, że zawartość sumy poszczególnych węglowodorów znacząco zmalała w stosunku do wartości początkowej.

Proces fitoremediacji gleby pobranej z sekcji nr 2, obsianej mieszanką nasion tworzącą łąki kwietne:

- wstępnie skażonej 4 840 mg·kg⁻¹ s.m. sumą węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju, spowodował redukcję zanieczyszczeń do wartości 1 162 mg·kg⁻¹ s.m., co stanowi ok. 76%,
- wstępnie skażonej 146 mg·kg⁻¹ s.m. sumą węglowodorów C₆-C₁₂, składników frakcji benzyn, spowodował redukcję zanieczyszczeń do wartości <1 mg·kg⁻¹ s.m., co stanowi ok. 99%.

W ramach weryfikacji przebiegu procesu fitoremediacji gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi przy użyciu mieszanki „łak kwiatnych”, równocześnie prowadzono badania kontrolne gleby niepoddanej obsianiu roślinnością wykorzystaną do fitoremediacji. Wyniki badań przedstawiono w Tabeli 10.

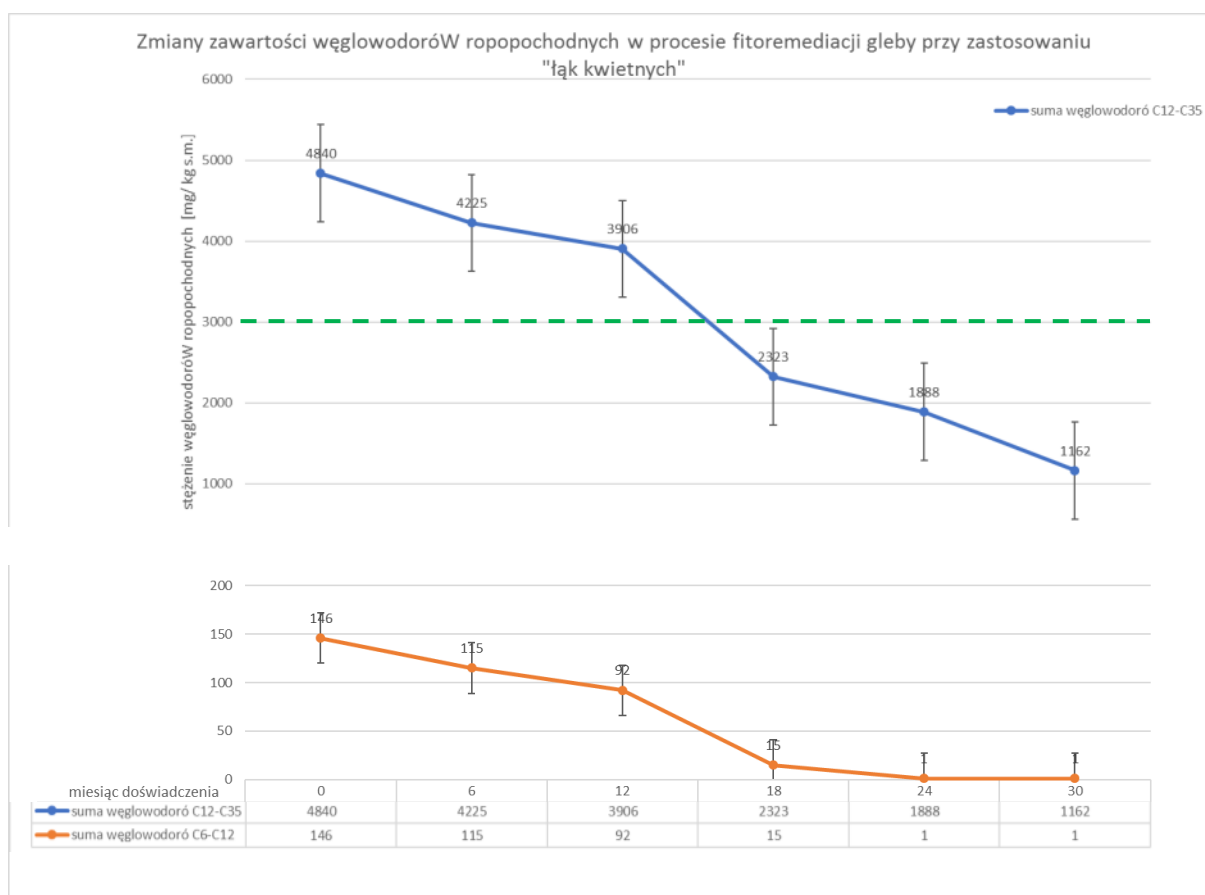
Tabela 10. Stężenia substancji ropopochodnych w kontrolnych próbkach gleby niepoddanych procesowi fitoremediacji pobranych z głębokości 0-0,25 m p.p.t. z terenów poprzemysłowych

Badany parametr	Jednostka	III.2018	XI.2018	IV.2019	XI.2019	IV.2020	XI.2020
		gleba stan „0”	gleba – próbka kontrolna				
		czas [miesiące]					
		0	6	12	18	24	30
Suma węglowodorów C ₁₂ -C ₃₅ , składników frakcji oleju	mg·kg ⁻¹ s.m.	4 840 ±530	4745 ±520	4768 ±524	4520 ±497	4355 ±480	4 202 ±470
Suma węglowodorów C ₆ -C ₁₂ , składników frakcji benzyn	mg·kg ⁻¹ s.m.	146 ±16	140 ±15	112 ±12	86 ± 9,4	53 ±5,8	18 ±1,9

W wyniku samoistnego procesu oczyszczenia się zanieczyszczonej gleby, stężenie zanieczyszczeń w próbce kontrolnej gleby pobranej z sekcji nr 2, niepoddanej fitoremediacji:

- ze stężenia 4 840 mg·kg⁻¹ s.m. sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju, zredukowało się do wartości 4 302 mg·kg⁻¹ s.m., co stanowi ok. 13%,
- ze stężenia 146 mg·kg⁻¹ s.m. sumy węglowodorów C₆-C₁₂, składników frakcji benzyn, zmniejszyło się do wartości 18 mg·kg⁻¹ s.m., co stanowi ok. 88%.

W sekcji nr 2 proces fitoremediacji przebiegał płynnie, z wyraźnym spadkiem stężeń węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju po 12 miesiącach trwania procesu fitoremediacji (Rysunek 20). Tempo redukcji węglowodorów C₆-C₁₂, składników frakcji benzyn było szybsze niż węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju, ponieważ lekkie frakcje ropy naftowej, o małej masie cząsteczkowej mają właściwości lotne i stosunkowo szybko się utleniają, w przeciwieństwie do cięższych frakcji, które przenikają do głębszych warstw gleby.



Rysunek 20. Zmiany stężeń substancji ropopochodnych w glebach z sekcji nr 2

W wyniku fitoremediacji z zastosowaniem mieszanki roślin tworzących łąki kwietne osiągnięto spadek stężenia substancji ropopochodnych zawartych w badanej glebie oraz osiągnięto pozytywny efekt procesu fitoremediacji. Uzyskane stężenia zanieczyszczeń mieszczą się w wartościach dopuszczalnych określonym w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016 poz. 1935) wyznaczonych dla obszarów przemysłowych sklasyfikowanym jako IV grupa gruntów.

5.4. Doświadczenie wazonowe – fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy wykorzystaniu morwy białej *Morus alba*

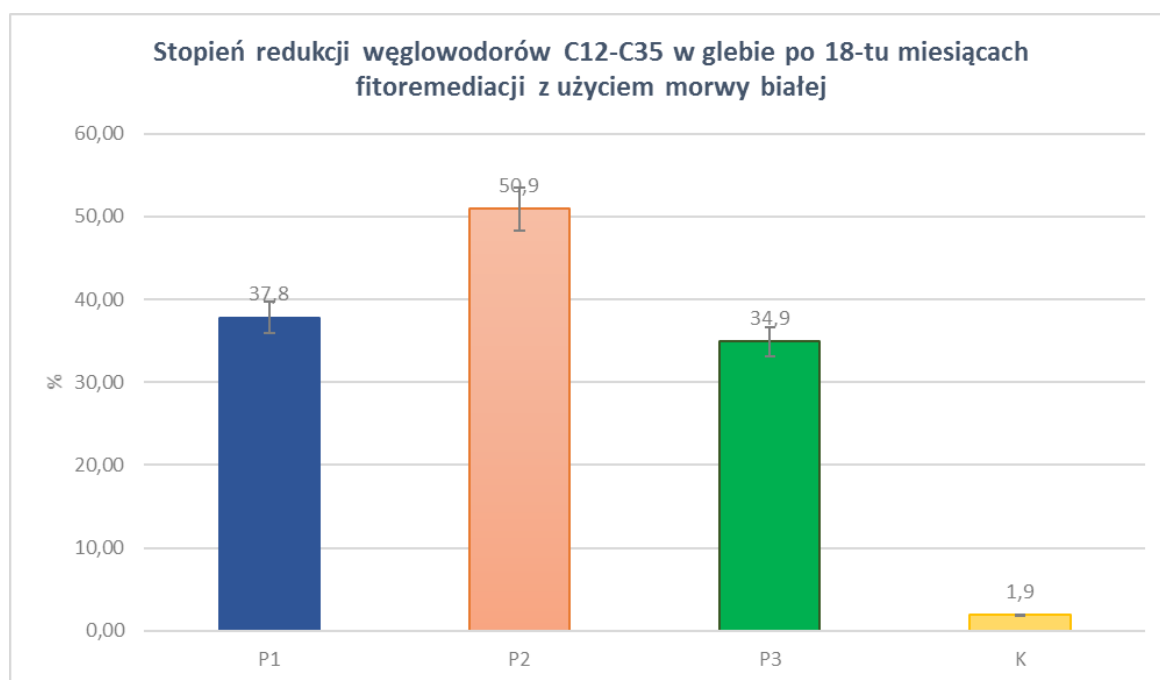
W trakcie trwania doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem morwy białej *Morus alba* w próbkach gleby pobranej z poszczególnych pojemników nastąpił spadek zawartości substancji ropopochodnych. Próbki gleby charakteryzowały się redukcją zanieczyszczeń węglowodorami C₁₂-C₃₅ na poziomie od 34,9 % w przypadku pojemnika nr 3 do 50,9 % w przypadku pojemnika nr 2. W glebie z pojemnika nr 3 stężenia węglowodorów C₁₂-C₃₅ zostały zredukowane o 34,9%. Dla porównania

w przypadku próbki kontrolnej, w której nie użyto sadzonek morwy białej, redukcja stężenia sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ w badanej glebie wyniosła jedynie 1,9% (Rysunek 21).

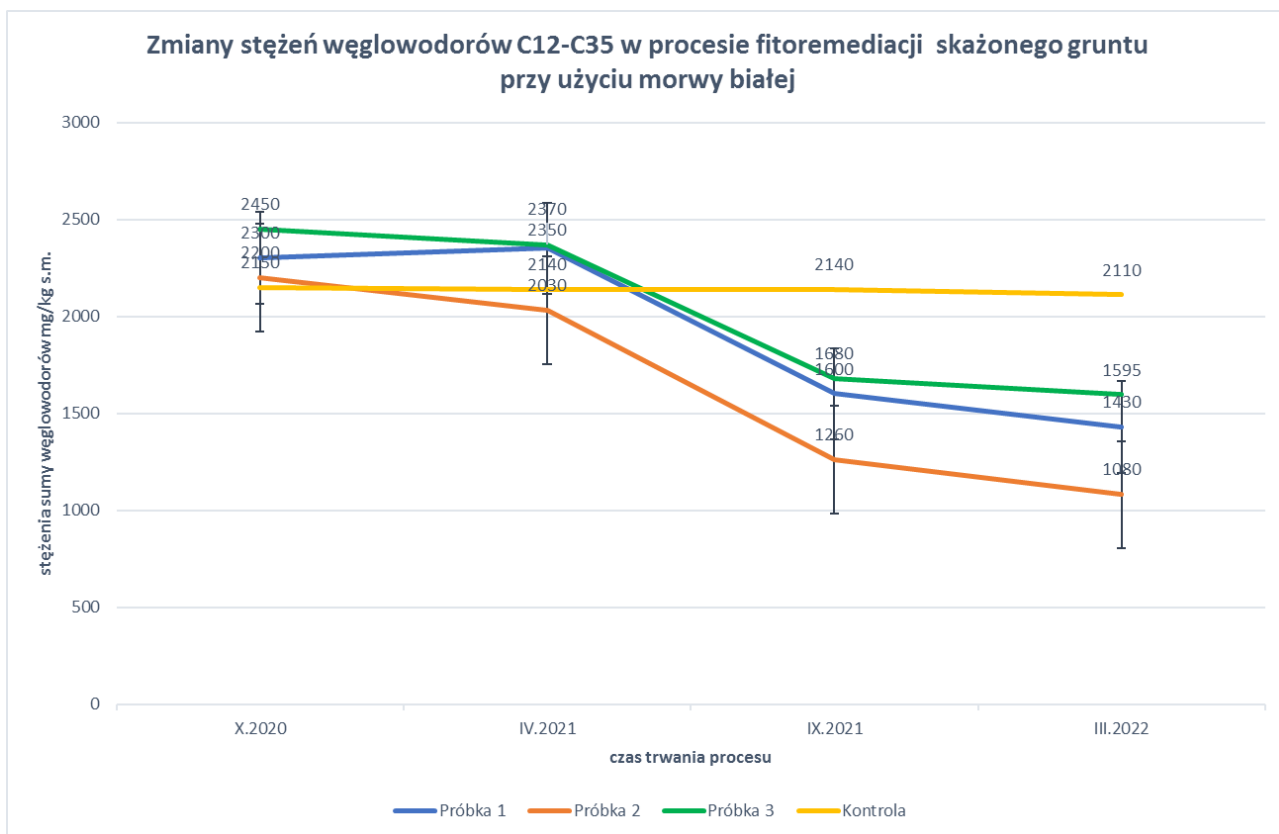
Po 18-miesięcznym procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi, w którym wykorzystano sadzonki morwy białej stwierdzono, że zawartość sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ zmalała w stosunku do wartości początkowej, osiągając dużo niższe stężenia (Tabela 11).

Nieco inaczej kształtował się proces fitoremediacji z użyciem morwy białej w przypadku sumy węglowodorów C₆-C₁₂. W pojemniku nr 1, 2 i próbie kontrolnej stężenia tych substancji zostały zredukowane do poziomu granicy oznaczalności stosowanej metody badawczej (<1 mg·kg⁻¹) już w drugim etapie doświadczenia. W pojemniku nr 3 podobny wynik został uzyskany w etapie 3, po 12 miesiącach trwania doświadczenia (Tabela 12).

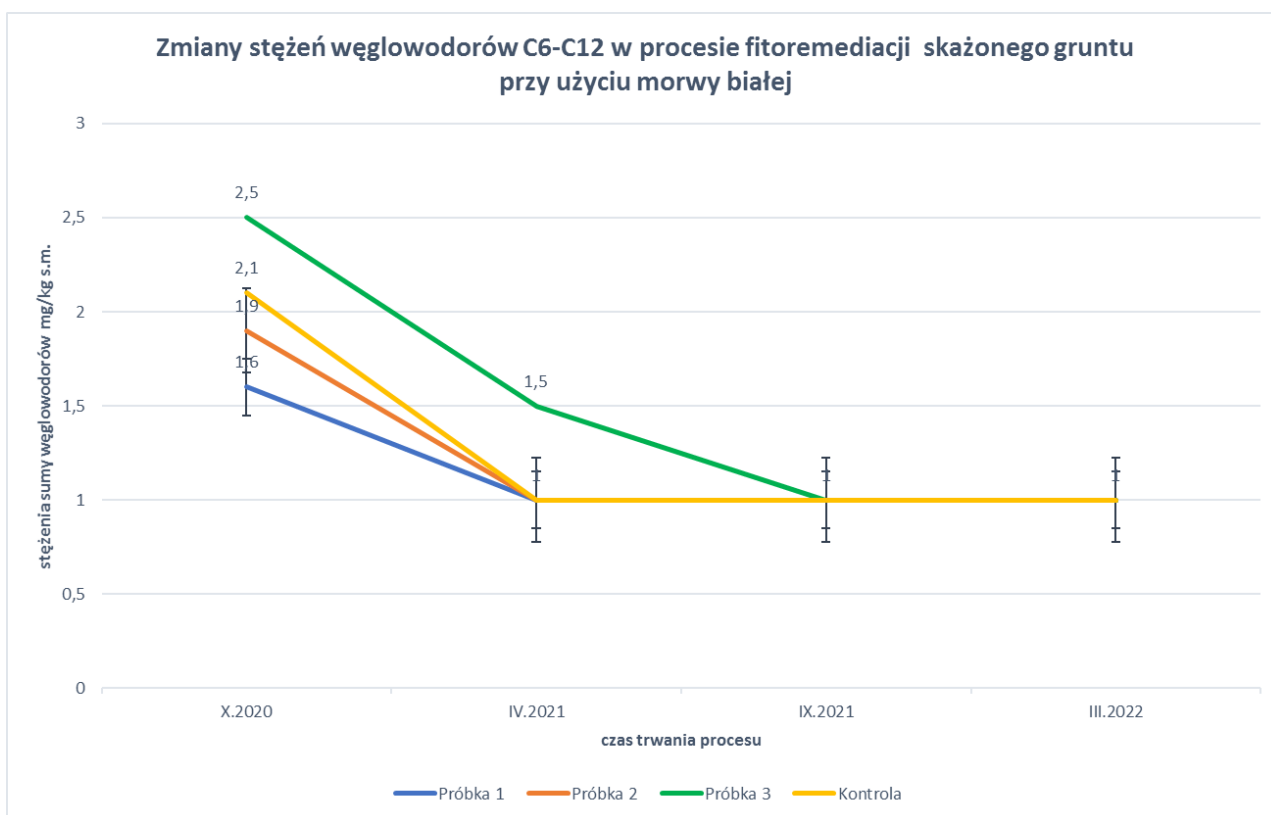
Zmiany stężeń substancji ropopochodnych w czasie 18-miesięcznego procesu remediacji gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi zostały przedstawione w Tabeli 11, Tabeli 12 oraz na Rysunku 22 i Rysunku 23.



Rysunek 21. Stożek redukcji zawartości węglowodorów C₁₂-C₃₅ w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z użyciem morwy białej



Rysunek 22. Wykres zmian stężeń sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅ w procesie fitoremediacji przy użyciu morwy białej



Rysunek 23. Wykres zmian stężeń sumy węglowodorów C₆-C₁₂ w procesie fitoremediacji przy użyciu morwy białej.

Tabela 11. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi w czasie trwania doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem morwy białej *Morus alba* - węglowodory C₁₂ - C₃₅

Suma węglowodorów C12-C35, składników frakcji oleju	Jednostka	Stężenia substancji w poszczególnych etapach procesu fitoremediacji z użyciem morwy białej			
		X.2020 (stan „0”)	IV.2021	IX.2021	III.2022
P1	mg·kg ⁻¹ s.m.	2310 ±250	2350 ±258	1600 ±174	1430 ±156
P2	mg·kg ⁻¹ s.m.	2200 ±240	2030 ±220	1260 ±137	1080 ±118
P3	mg·kg ⁻¹ s.m.	2450 ±269	2370 ±257	1680 ±183	1595 ±174
K	mg·kg ⁻¹ s.m.	2150 ±236	2140 ±235	2140 ±235	2110 ±232

Tabela 12. Stężenia substancji ropopochodnych w próbkach gleby zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi w czasie trwania doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem morwy białej *Morus alba* - węglowodory C₆ - C₁₂

Suma węglowodorów C6-C12, składników frakcji benzyn	Jednostka	Stężenia substancji w poszczególnych etapach procesu fitoremediacji z użyciem morwy białej			
		X.2020 (stan „0”)	IV.2021	IX.2021	III.2022
P1	mg·kg ⁻¹ s.m.	1,6 ±0,18	<1	<1	<1
P2	mg·kg ⁻¹ s.m.	1,9 ±0,2	<1	<1	<1
P3	mg·kg ⁻¹ s.m.	2,5 ±0,28	1,5 ±0,16	<1	<1
K	mg·kg ⁻¹ s.m.	2,1 ±0,23	<1	<1	<1

5.5. Doświadczenie polowe – fitoremediacja gleb skażonych metalami ciężkimi

Próbki gleby pobrane z poletka doświadczalnego nr 2, z poszczególnych sekcji badawczych z zakresu głębokościowego 0,25-1,0 m p.p.t. charakteryzowały się wskaźnikiem wodoprzepuszczalności wynoszącym odpowiednio $4,3 \cdot 10^{-8}$ m/s dla sekcji nr 1; $2,5 \cdot 10^{-10}$ m/s dla sekcji nr 2 oraz $1,8 \cdot 10^{-8}$ m/s dla sekcji nr 3.

Po 12-tu miesiącach trwania doświadczenia polowego polegającego na fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi w interwale głębokości 0,25-1,0 m p.p.t., przy wykorzystaniu trzech gatunków roślin: rokitnika zwyczajnego *Hippophae rhamnoides*, śnieguliczki białej *Symphoricarpos albus* oraz wierzby wiciowej *Salix viminalis*, we wszystkich trzech sekcjach badawczych osiągnięto spadek stężenia metali ciężkich zawartych w badanych glebach. Z uwagi na

stosunkowo krótki czas badań doświadczalnych, pozytywny efekt procesu fitoremediacji przy zastosowaniu śnieguliczki białej nie został w pełni osiągnięty, tzn. stężenia metali ciężkich w badanej glebie charakteryzowały się tendencją spadkową, jednak ponadnormatywne wartości form całkowitych cynku i kadmu nadal nie spełniały jeszcze norm określonych dla IV grupy gruntów zgodnie z zapisami Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395). W przypadku zastosowania rokitnika zwyczajnego w obrębie sekcji nr 1 oraz wierzby wiciowej na obszarze sekcji nr 3 osiągnięto pozytywny efekt fitoremediacji skutkujący zmniejszeniem zawartości metali ciężkich do poziomu spełniającego wymagania stawiane w ww. rozporządzeniu. Stężenia cynku, kadmu i ołowiu w trakcie 12-miesięcznego procesu fitoremediacji z użyciem sadzonek rokitnika zwyczajnego zmniejszyły się o 12,8% (cynk), 11,4% (kadm) i 13,7% (ołów). W przypadku zastosowania sadzonek wierzby wiciowej stężenia cynku, kadmu i ołowiu zmniejszyły się odpowiednio o 16,5%, 22% i 17,7% (Rysunek 24).


Wyniki zawartości form całkowitych metali ciężkich uzyskane po 12-tu miesiącach trwania procesu fitoremediacji w glebie pobranej z poletka doświadczalnego przedstawiono w Tabeli 13.

Tabela 13. Wyniki badań powierzchniowej warstwy gleby w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. po 12 miesiącach doświadczenia

Badany parametr	Jednostka	Stężenia metali ciężkich w próbkach gleby poddanej fitoremediacji (0,25-1,0 m p.p.t.)									Wartość dopuszczalna substancji z podziałem na grupy gruntów ¹⁾ IV grupa wodoprzepuszczalność $1 \cdot 10^{-7}$
		wartości początkowa przed procesem fitoremediacji „stan 0”			wartości końcowe po 12 miesiącach procesu fitoremediacji						
		sekcja 1	sekcja 2	sekcja 3	sekcja 1	sekcja 2	sekcja 3	sekcja 1	sekcja 2	sekcja 3	
			rokitnik zwyczajny	śnieguliczka biała	wierzba wiciowa	kontrola 1	kontrola 2	kontrola 3			
Arsen	mg·kg ⁻¹ s.m.	67	5,7	67	59	5,3	61	65	5,9	68	100
Bar	mg·kg ⁻¹ s.m.	234	81	154	224	74	148	235	80	152	3000
Chrom	mg·kg ⁻¹ s.m.	21	9,4	90	19	8,7	87	20	10,2	90	800
Cyna	mg·kg ⁻¹ s.m.	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	300
Cynk	mg·kg ⁻¹ s.m.	3014	3521	2190	2627	3201	1829	3005	3533	2155	3000
Kadm	mg·kg ⁻¹ s.m.	22	67	25	19,5	62	19,5	22	63	25	20
Kobalt	mg·kg ⁻¹ s.m.	6,6	<0,20	7,1	5,8	<0,20	6,2	6,5	<0,20	7	300
Miedź	mg·kg ⁻¹ s.m.	144	240	101	128	219	89	140	246	100	1000
Molibden	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,40	<0,40	5,8	<0,40	<0,40	4,7	<0,40	<0,40	6,0	200
Nikiel	mg·kg ⁻¹ s.m.	18	37	38	16	35	29	13	35	35	500
Ołów	mg·kg ⁻¹ s.m.	809	754	708	698	708	583	815	760	695	1000
Rtęć	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,10	<0,10	0,40	<0,10	<0,10	0,34	<0,10	<0,10	0,40	50

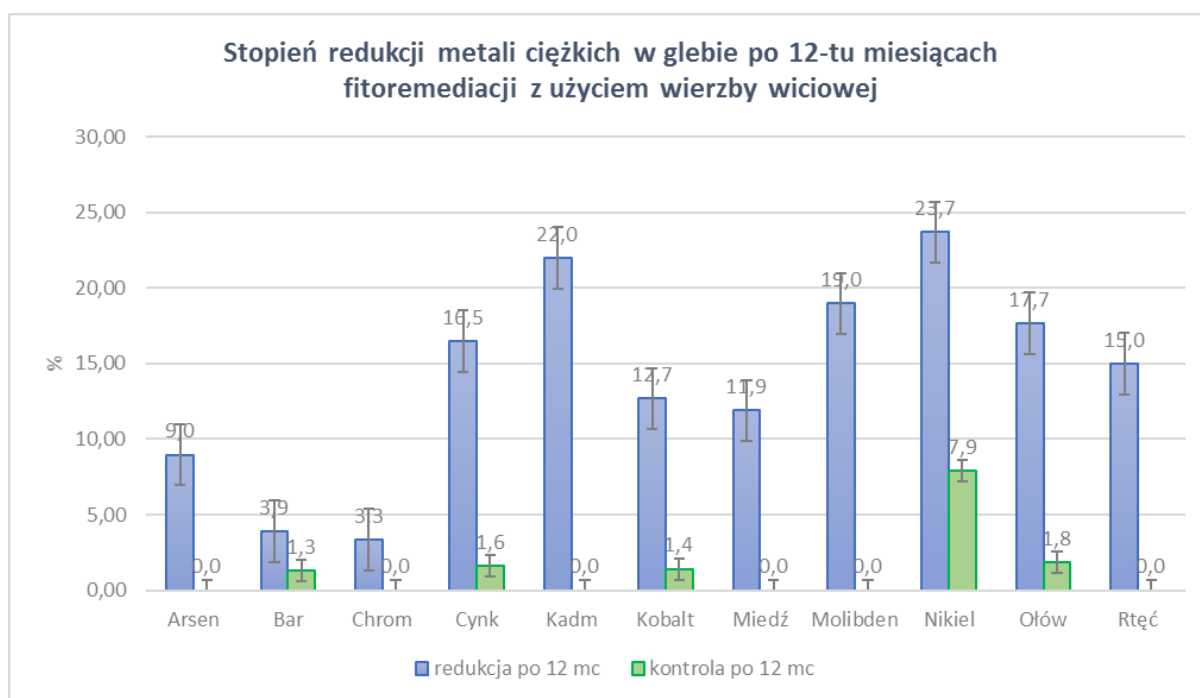
Objaśnienia do tabeli:

¹⁾ – wartości dopuszczalne wg rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395).

 - przekroczenie w stosunku do wartości granicznej

s.m. - sucha masa

< - wartość poniżej dolnej granicy oznaczalności zastosowanej metody pomiarowej



Rysunek 24. Stopień redukcji zawartości metali ciężkich w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z użyciem wierzby wiciowej po 12-tu miesiącach trwania doświadczenia polowego

Po 12-miesięcznym procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, w którym wykorzystano sadzonki rokitnika zwyczajnego i śnieguliczki białej stwierdzono, że remediacja gleby skażonej metalami ciężkimi w przedziale głębokości 0,25-1,0 m p.p.t., charakteryzowała się redukcją zanieczyszczeń na poziomie od 4,3% dla baru do 13,7% w przypadku ołowiu dla sekcji obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym (Rysunek 25) oraz od 5,4% w przypadku niklu do 9,1% dla cynku w sekcji obsadzonej sadzonkami śnieguliczki białej (Rysunek 26). Proces remediacji z zastosowaniem tych dwóch gatunków został przedłużony o kolejne 12 miesięcy.

Badania weryfikacyjne zanieczyszczonego gruntu, przeprowadzone po 24 miesiącach trwania procesu fitoremediacji z użyciem rokitnika zwyczajnego i śnieguliczki białej, wykazały znaczny spadek stężenia całkowitych form metali ciężkich zidentyfikowanych w początkowym etapie doświadczenia na przedmiotowym terenie. Wyniki uzyskane po 12-tu i 24 miesiącach trwania procesu fitoremediacji w glebie zanieczyszczonej metalami ciężkimi pobranej z poletka doświadczalnego przedstawiono w Tabeli 14.

Tabela 14. Wyniki badań powierzchniowej warstwy gleby w zakresie głębokościowym 0-0,25 m p.p.t. po 12-tu i 24 miesiącach doświadczenia

Badany parametr	Jednostka	Stężenia metali ciężkich w próbkach gleby poddanej fitoremediacji (0,25-1,0 m p.p.t.)										Wartość dopuszczalna substancji z podziałem na grupy gruntów ¹⁾ IV grupa wodoprzepuszczalność <math> < 1 \cdot 10^{-7}</math>
		wartości początkowa przed procesem fitoremediacji „stan 0”		wartości końcowe po procesie fitoremediacji (po 12 miesiącach)				wartości końcowe po procesie fitoremediacji (po 24 miesiącach)				
		sekcja 1	sekcja 2	sekcja 1	sekcja 2	sekcja 1	sekcja 2	sekcja 1	sekcja 2	sekcja 1	sekcja 2	
		kontrola 1	kontrola 2	rokitnik zwyczajny	śnieguliczka biała	kontrola 1	kontrola 2	rokitnik zwyczajny	śnieguliczka biała	kontrola 1	kontrola 2	
Arsen	mg·kg ⁻¹ s.m.	67	5,7	59	5,3	65	5,9	56	4,9	68	5,0	100
Bar	mg·kg ⁻¹ s.m.	234	81	224	74	235	80	220	70	230	80	3000
Chrom	mg·kg ⁻¹ s.m.	21	9,4	19	8,7	20	10,2	18	8,5	20	9,0	800
Cyna	mg·kg ⁻¹ s.m.	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	300
Cynk	mg·kg ⁻¹ s.m.	3014	3521	2627	3201	3005	3533	1985	2940	3022	3505	3000
Kadm	mg·kg ⁻¹ s.m.	22	67	19,5	62	22	63	17	58	26	60	20
Kobalt	mg·kg ⁻¹ s.m.	6,6	<0,20	5,8	<0,20	6,5	<0,20	5,2	<0,20	6,0	<0,20	300
Miedź	mg·kg ⁻¹ s.m.	144	240	128	219	140	246	119	210	137	235	1000
Molibden	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	200
Nikiel	mg·kg ⁻¹ s.m.	18	37	16	35	13	35	14	34	15	35	500
Ołów	mg·kg ⁻¹ s.m.	809	754	698	708	815	760	580	597	810	750	1000
Rtęć	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	50

Objaśnienia do tabeli:

¹⁾ - wartości dopuszczalne wg rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395)

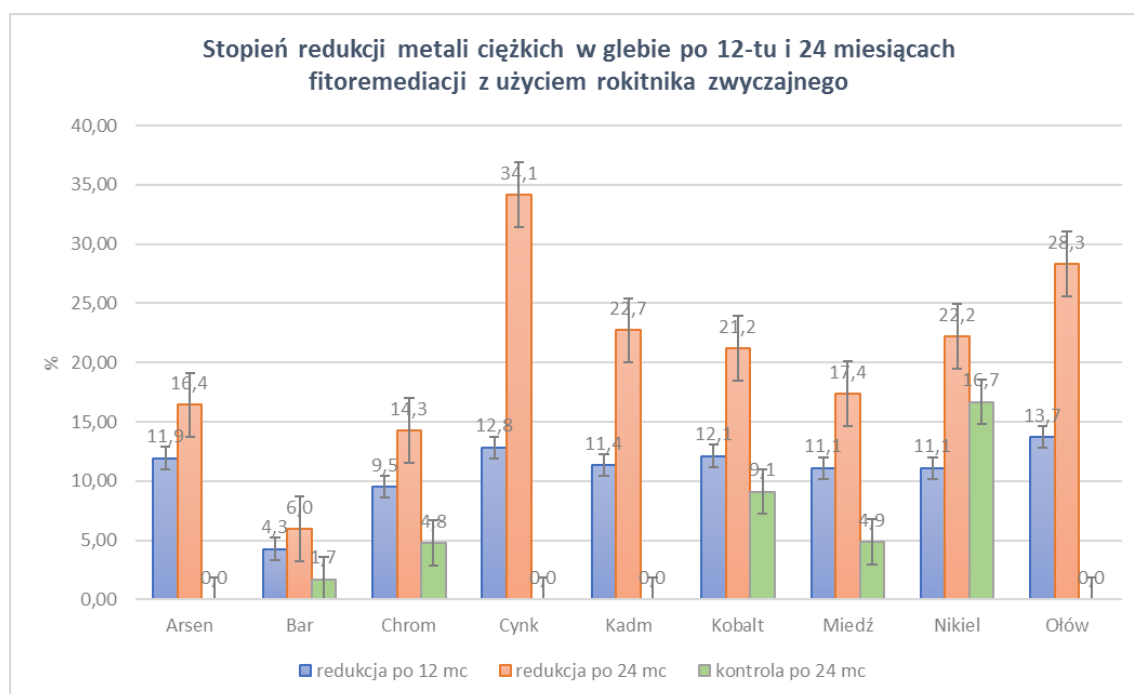
- przekroczenie w stosunku do wartości granicznej

s.m. - sucha masa

< - wartość poniżej dolnej granicy oznaczalności zastosowanej metody pomiarowej

Po 24-miesięcznym procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, w którym wykorzystano sadzonki rokitnika zwyczajnego oraz śnieguliczki białej stwierdzono, że zawartość poszczególnych metali znacząco zmalała w stosunku do wartości początkowej (stan „0”).

Gleba z sekcji obsadzonej rokitnikiem została zremediowana w stopniu kwalifikującym ją jako spełniająca normy wymagane dla IV grupy gruntów zgodnie z zapisami rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395). Badania wykazały, że remediacja gleby skażonej metalami ciężkimi w przedziale 0,25-1,0 m p.p.t., przy użyciu sadzonek rokitnika zwyczajnego charakteryzowała się redukcją zanieczyszczeń w postaci metali ciężkich na poziomie od 6,0% w przypadku baru do 34,1% w przypadku cynku (Rysunek 25).



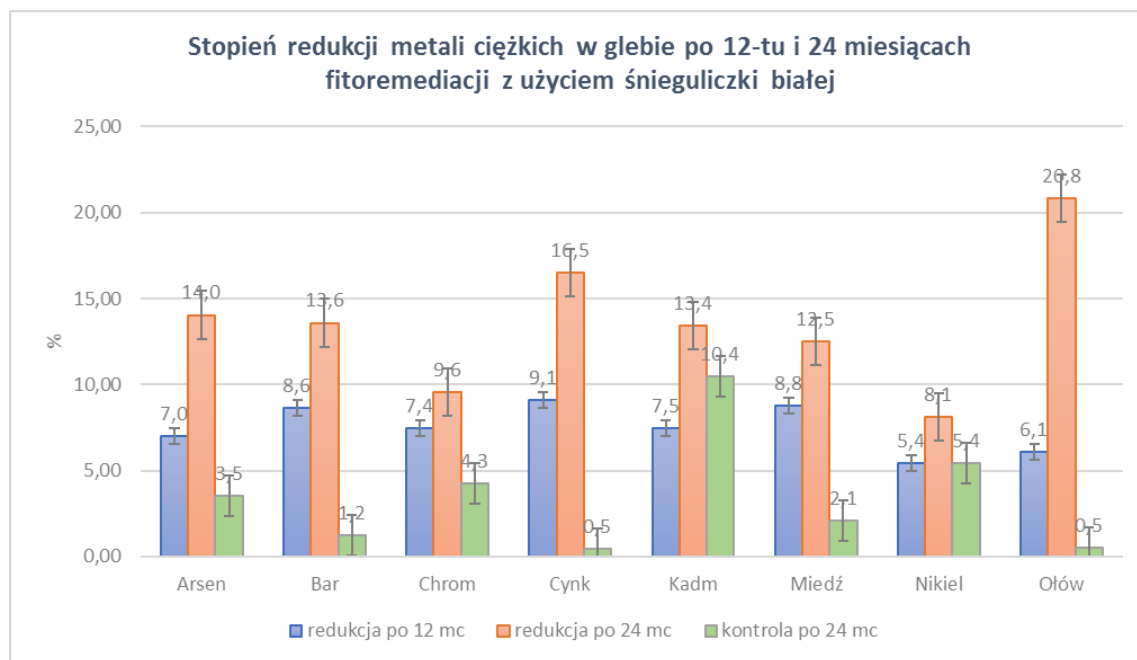
Rysunek 25. Stopień redukcji zawartości metali ciężkich w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z wykorzystaniem rokitnika zwyczajnego po 12-tu i 24 miesiącach trwania doświadczenia polowego

W przypadku procesu remediacji gleby z sekcji nr 2 skażonej metalami ciężkimi, przy użyciu sadzonek śnieguliczki białej efekt remediacji był słabszy niż przy wykorzystaniu sadzonek rokitnika zwyczajnego. Badana gleba charakteryzowała się redukcją zanieczyszczeń na poziomie od 8,1 % w przypadku niklu do 20,8 % w przypadku ołowiu (Rysunek 26).

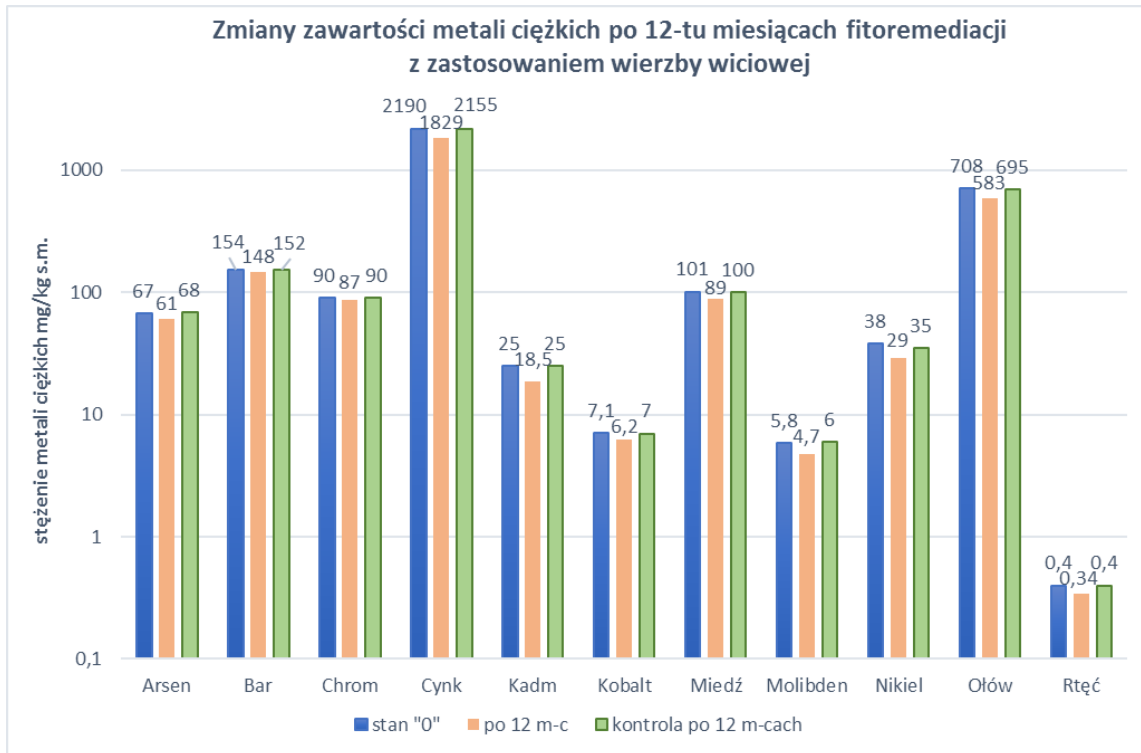
Uwzględniając uzyskane wyniki badań próbek gleby z podsekcji nr 2 osiągnięty spadek stopnia zanieczyszczenia przedmiotowej gleby nie był wystarczający do zakwalifikowania jej jako spełniającej normy wymagane dla IV grupy gruntów zgodnie z zapisami rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny

zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395) z uwagi na ponadnormatywne zawartości kadmu.

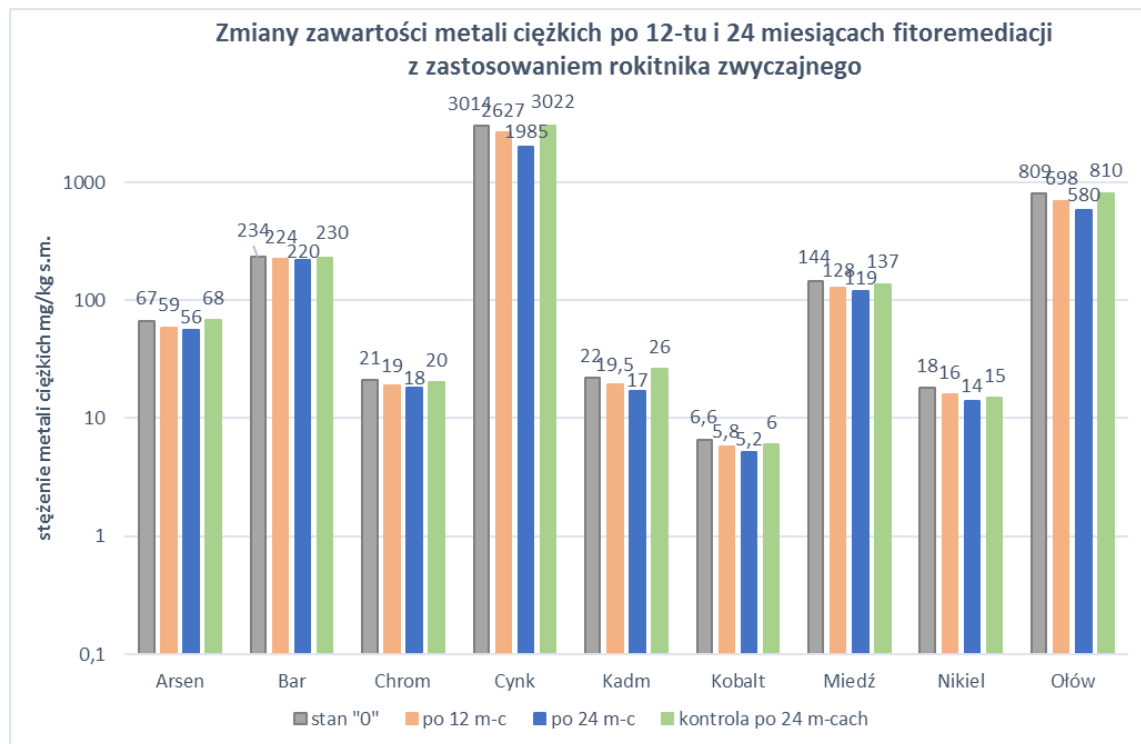
Zmiany stężeń metali ciężkich zawartych w glebach z poszczególnych sekcji, które zidentyfikowano na przestrzeni trwania procesu fitoremediacji przy użyciu sadzonek wierzby wiciowej, rokitnika zwyczajnego i śnieguliczki białej przedstawiono na Rysunku 27, Rysunku 28 i Rysunku 29.



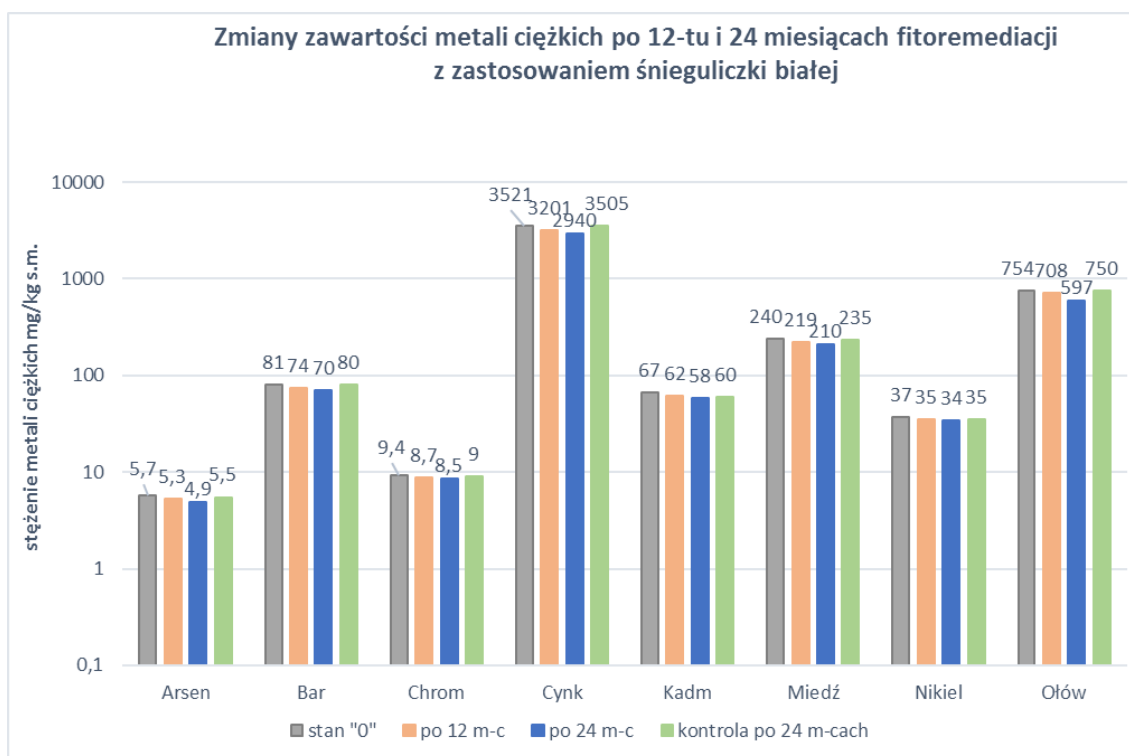
Rysunek 26. Stopień redukcji zawartości metali ciężkich w próbkach gleby w procesie fitoremediacji z wykorzystaniem śnieguliczki białej po 12-tu i 24 miesiącach trwania doświadczenia polowego



Rysunek 27. Wykres zmian stężeń metali ciężkich zawartych w glebie w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. w 12-miesięcznym procesie fitoremediacji przy zastosowaniu wierzby wiciowej



Rysunek 28. Wykres zmian stężeń metali ciężkich zawartych w glebie w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. w procesie fitoremediacji przy zastosowaniu rokitnika zwyczajnego



Rysunek 29. Wykres zmian stężeń metali ciężkich zawartych w glebie w zakresie głębokościowym 0,25-1,0 m p.p.t. w procesie fitoremediacji przy zastosowaniu śnieguliczki białej

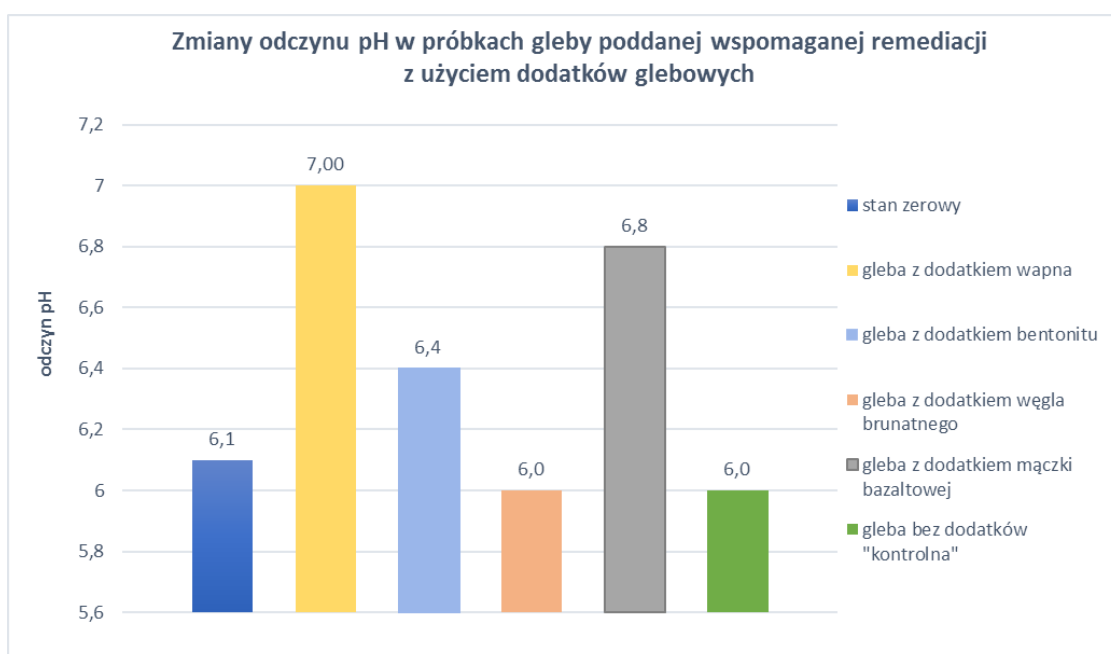
5.6. Wspomagana fitostabilizacja z użyciem dodatków doglebowych

Badania prowadzone w doświadczeniu wazonowym wykorzystującym dodatki doglebowe wraz z sadzonkami rokitnika zwyczajnego miały na celu fizyczną stabilizację gruntu i wykazanie wpływu stosowanych dodatków glebowych na unieruchomienie metali ciężkich w glebie.

Stopień mobilności metali ciężkich w badanej glebie został określony na podstawie zmiany ich koncentracji w środowisku glebowym. Większość danych literaturowych dotyczących wpływu metali ciężkich na środowisko gruntowo-wodne odnosi się do ich biodostępnych form chemicznych. Całkowita zawartość metali w glebie nie daje dokładnej informacji o możliwości włączenia metali do obiegu biogeochemicznego, a tym samym nie pozwala określić ich bioprzyswajalności (Alloway i Ayres, 1999; Kabata-Pendias i Pendias, 1999; Schwizguebel, 2017). Jednak z punktu widzenia właściciela zanieczyszczonej nieruchomości gruntowej istotne jest spełnienie aktualnie obowiązujących wymagań prawnych w zakresie zanieczyszczenia powierzchni ziemi. Obowiązujące regulacje prawne, pomimo licznych nowelizacji wciąż odnoszą się do całkowitej zawartości metali w glebie, nie uwzględniając związków w jakich występują one w środowisku, co ma duże znaczenie w określeniu ich rzeczywistej mobilności. W związku z powyższym, wyniki badań uzyskane

w niniejszej pracy dotyczą całkowitej zawartości metali ciężkich w glebie, zgodnie z obowiązującymi regulacjami prawnymi.

Gleba wykorzystana w doświadczeniu charakteryzowała się odczynem lekko kwaśnym o $\text{pH}=6,1$. Po wprowadzeniu do badanej gleby dodatków w ilości 5% wagowych spowodowało istotne zmiany odczynu badanej gleby. W przypadku wprowadzenia dodatku w postaci wapna, mączki bazaltowej i sorbentu na bazie montmorylonitu odczyn gleby wyraźnie wzrósł, natomiast w przypadku wprowadzenia do gleby węgla brunatnego pH gleby uległo obniżeniu w porównaniu do wartości zerowej przed wprowadzeniem dodatków. Zmiany odczynu w trakcie doświadczenia wazonowego wspomaganą remediacji przy zastosowaniu dodatków doglebowych zostało przedstawione na Rysunku 30.



Rysunek 30. Zmiany odczynu pH w trakcie doświadczenia wazonowego wspomaganą remediacji przy zastosowaniu dodatków doglebowych

Przeprowadzone badania wykazały, że każdy z zastosowanych dodatków glebowych wpłynął na spadek stężeń poszczególnych metali ciężkich zawartych w glebie z sadzonkami rokitnika zwyczajnego, w porównaniu z wartościami wyjściowymi z początkowego etapu doświadczenia, jednak w żadnym z przypadków nie uzyskano efektu polegającego na obniżeniu stężeń metali ciężkich do poziomu spełniającego kryteria stawiane gruntem grupy IV, zgodnie z zapisami Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395) (Tabela 15). Zmiany stężeń metali ciężkich w badanej glebie po wprowadzeniu poszczególnych dodatków stabilizujących przedstawiono na Rysunku 31.

Tabela 15. Wyniki badań gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi po 24 miesiącach (2 okresach wegetacyjnych) doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem dodatków doglebowych i sadzonek rokitnika zwyczajnego

Badany parametr	Jednostka	gleba bez dodatków wartość "0"	Zawartość metali po 24 miesiącach doświadczenia fitostabilizacji					Wartość dopuszczalna substancji z podziałem na grupy gruntów ¹⁾ IV grupa
			gleba z dodatkiem wapna	gleba z dodatkiem bentonitu	gleba z dodatkiem węgla brunatnego	gleba z dodatkiem mączki bazaltowej	gleba bez dodatków	
Arsen	mg·kg ⁻¹ s.m.	82	80	76	77	80	81	100
Bar	mg·kg ⁻¹ s.m.	203	197	188	200	200	205	1500
Chrom	mg·kg ⁻¹ s.m.	90	88	71	78	90	89	1000
Cyna	mg·kg ⁻¹ s.m.	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5	<5,0	350
Cynk	mg·kg ⁻¹ s.m.	3386	2898	3110	3046	3140	3375	2000
Kadm	mg·kg ⁻¹ s.m.	53	47	40	45	55	50	15
Kobalt	mg·kg ⁻¹ s.m.	9,5	9,6	9,0	8,9	9,2	9,6	200
Miedź	mg·kg ⁻¹ s.m.	250	228	237	198	249	247	600
Molibden	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,40	<0,40	<0,40	<0,40	<0,4	<0,40	250
Nikiel	mg·kg ⁻¹ s.m.	47	45	45	42	42	47	500
Ołów	mg·kg ⁻¹ s.m.	790	780	768	775	793	787	600
Rtęć	mg·kg ⁻¹ s.m.	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,1	<0,10	30
odczyn pH	-	6,1	7,0	6,4	6,0	6,8	6,0	-

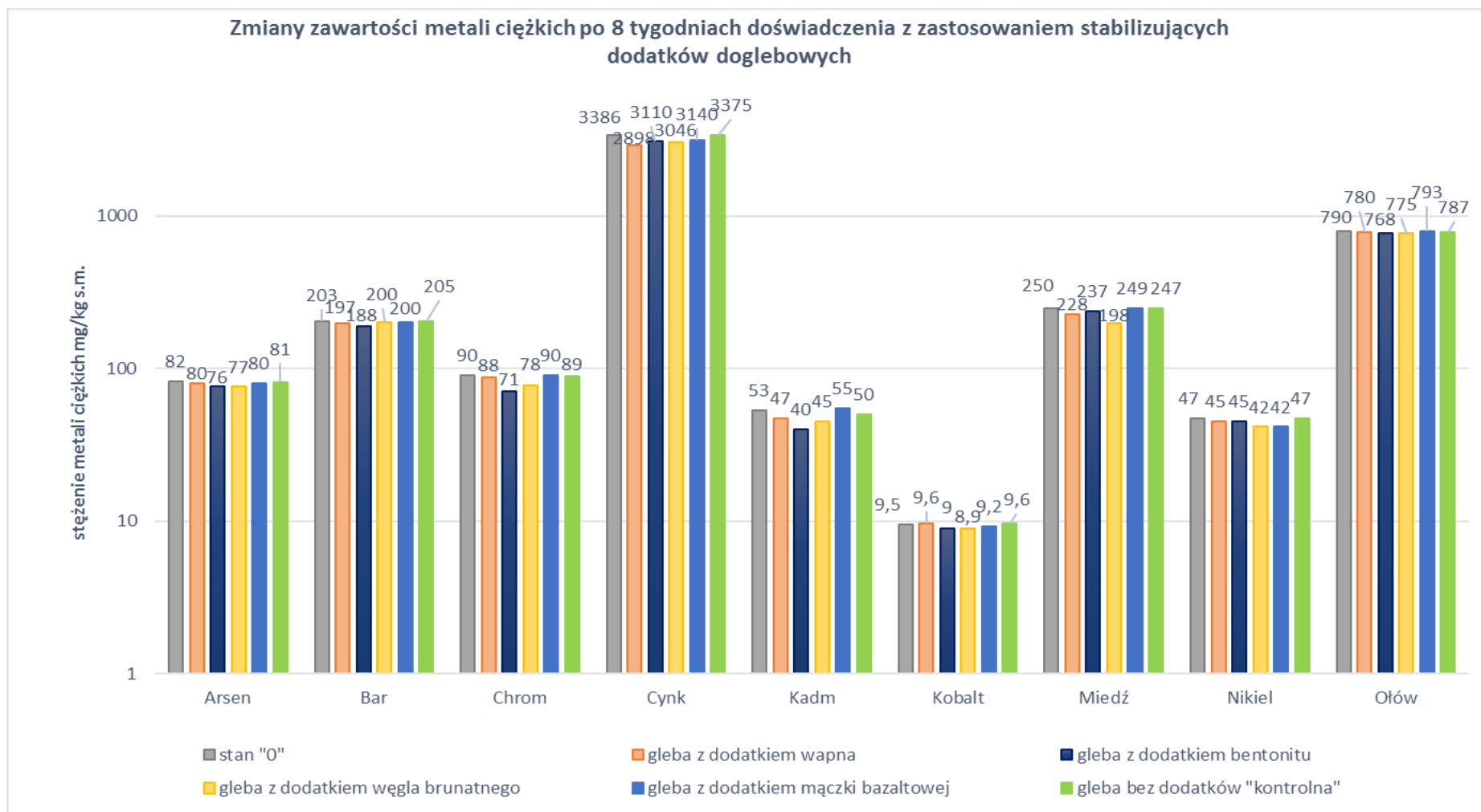
Objaśnienia do tabeli:

¹⁾ - wartości dopuszczalne wg rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395)

- przekroczenie w stosunku do wartości granicznej

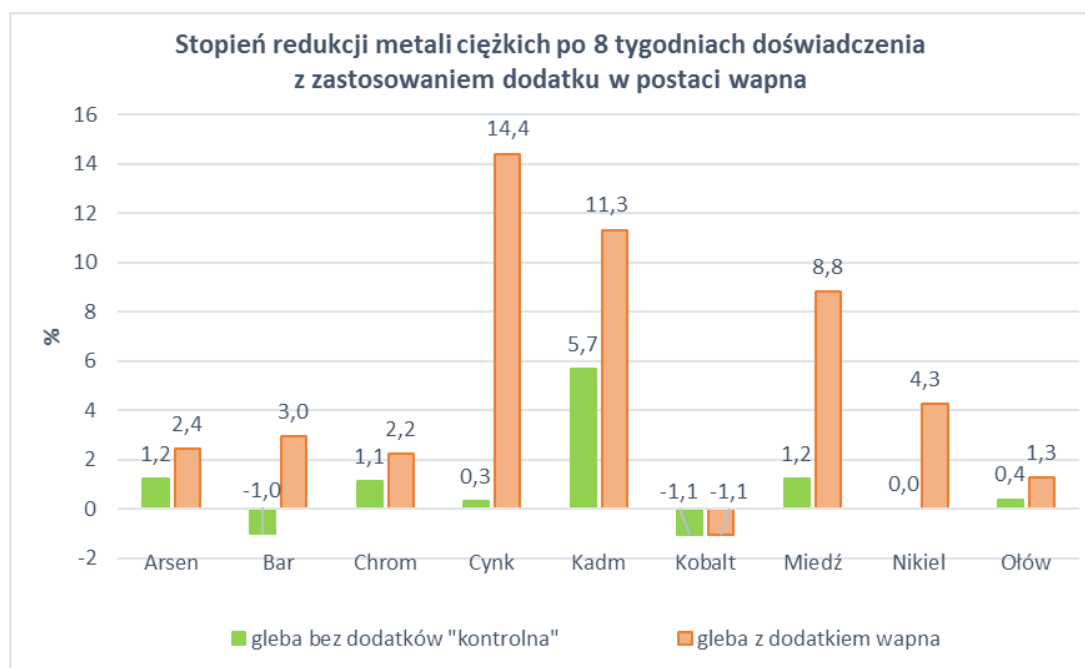
s.m. - sucha masa

< - wartość poniżej dolnej granicy oznaczalności zastosowanej metody pomiarowe



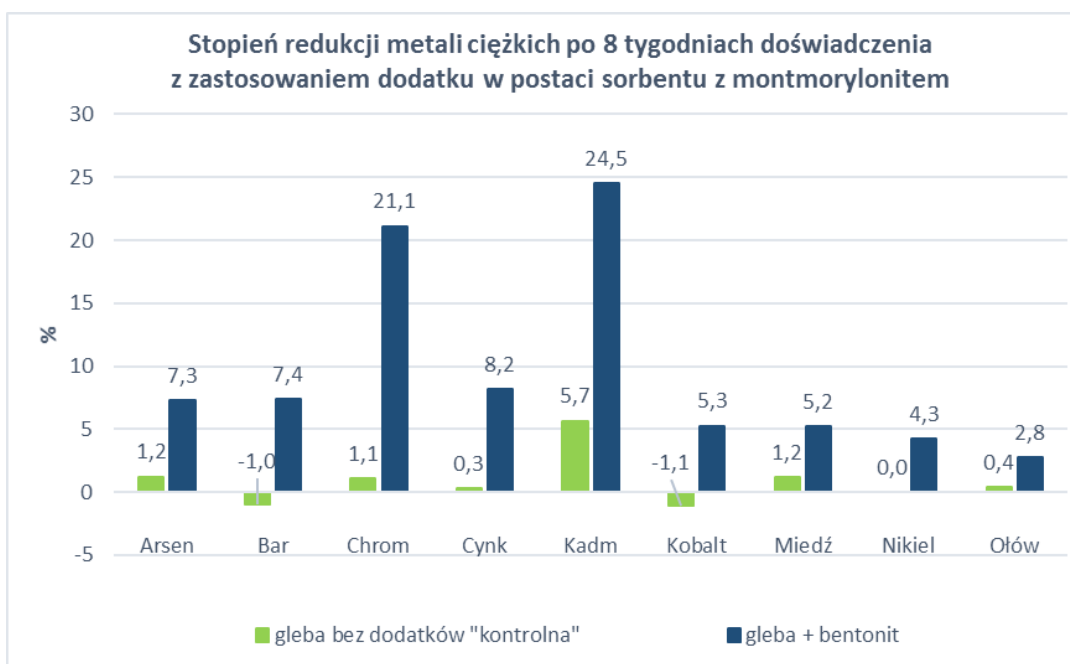
Rysunek 31. Zmiany stężeń metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym po wprowadzeniu poszczególnych dodatków stabilizujących

Po 24 miesiącach trwania eksperymentu, w wyniku wapnowania skażonej gleby, zaobserwowane ograniczenie zawartości wybranych metali ciężkich (poza kobaltem) związane jest głównie z podwyższeniem odczynu gleb zanieczyszczonych metalami (Karczewska, 2008). Wprowadzenie do gleby wapna jako dodatku stabilizującego spowodowało redukcję metali ciężkich przez sadzonki rokitnika zwyczajnego na poziomie od 1,3% w przypadku ołowiu do 14,4% w przypadku cynku. Stężenie kobaltu w glebie z domieszką wapna wzrosło o 1,1%.



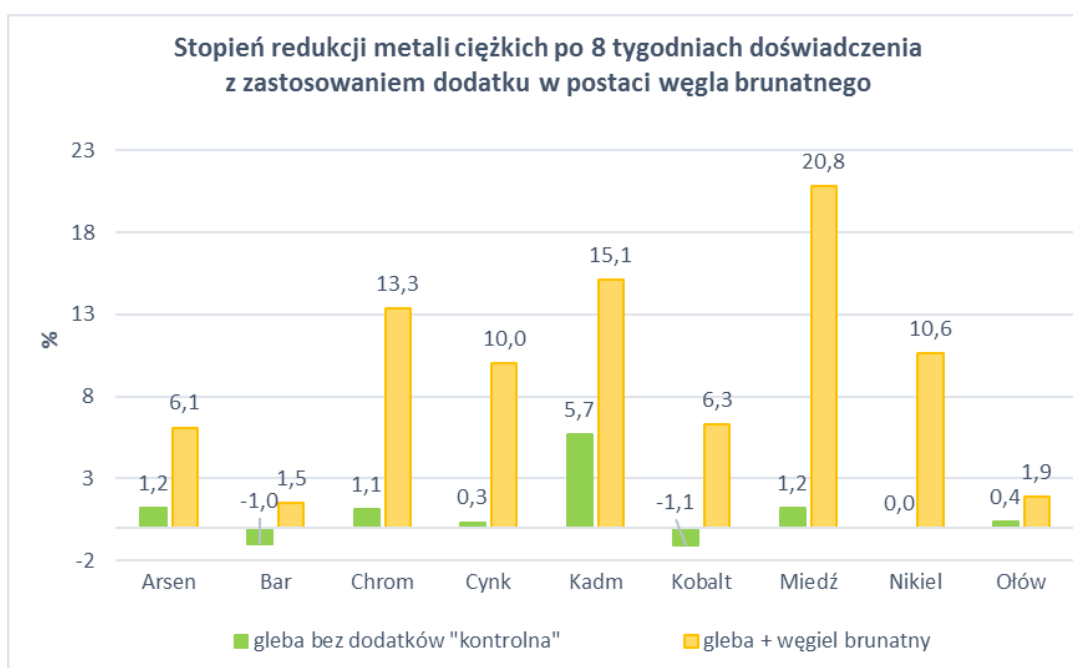
Rysunek 32. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci wapna

Zastosowanie dodatku w postaci sorbentu mineralnego, którego głównym składnikiem jest montmorylonit, wpłynęło na zmniejszenie stężeń poszczególnych metali ciężkich w badanej glebie. Stężenia metali ciężkich w glebie z dodatkiem bentonitu obniżyły się od 2,8% dla zawartości ołowiu do 24,5% w przypadku stężenia kadmu.



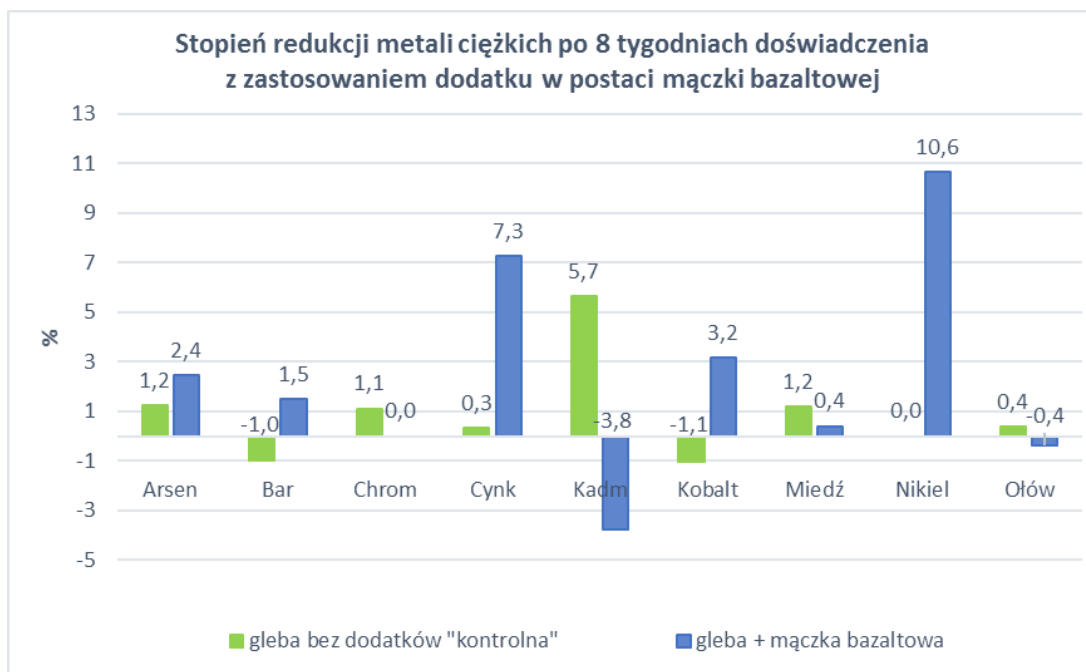
Rysunek 33. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci sorbentu mineralnego na bazie montmorylonitu

Przeprowadzone badania wykazały, że aplikacja materii organicznej w postaci węgla brunatnego do środowiska glebowego również wpłynęła na obniżenie całkowitej zawartości zanieczyszczeń metalami ciężkimi na poziomie od 1,5% dla baru do 20,8% w przypadku stężenia miedzi.



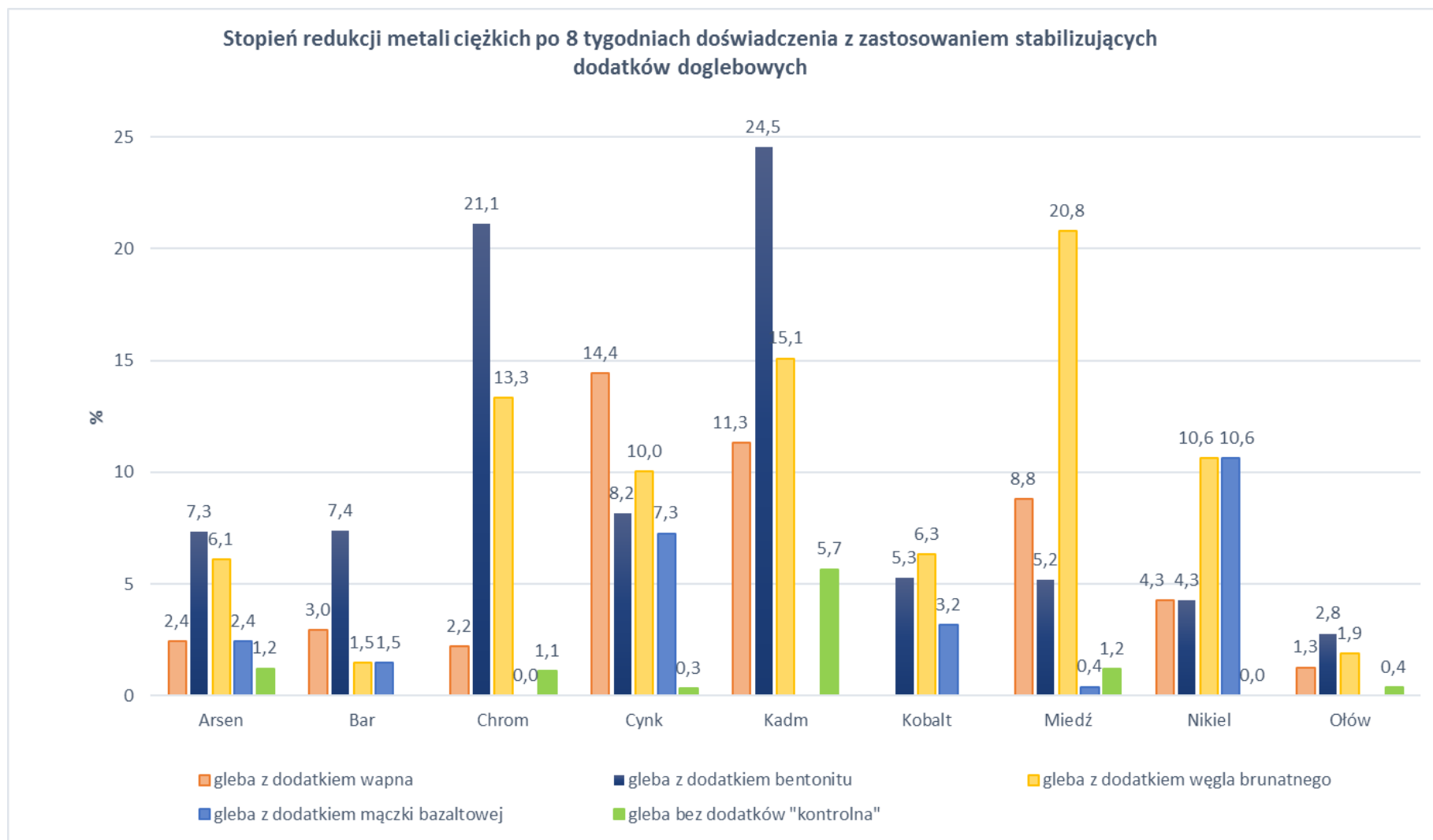
Rysunek 34. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci węgla brunatnego

Dodatek w postaci mączki bazaltowej wpłynął na obniżenie zawartości metali ciężkich w badanej glebie w granicach od 0,4% w przypadku stężenia miedzi do 10,5% dla niklu. Równolegle stwierdzono także nieznaczny wzrost zawartości kadmu (3,8%) i ołowiu (0,4%).



Rysunek 35. Stopień redukcji metali ciężkich w glebie obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w wyniku doświadczenia wazonowego z zastosowaniem dodatku stabilizującego w postaci mączki bazaltowej

Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu wazonowego wprowadzania dodatków glebowych oraz uzyskanych wyników badań stwierdzono, że dodatek doglebowy w postaci bentonitu z montmorylonitem (w dawce 5%) można uznać za substancję, która najskuteczniej wpłynęła na obniżenie zawartości metali ciężkich w środowisku glebowym, w którym remediantem był rokitnik zwyczajny. Wykres stopnia redukcji stężeń metali ciężkich zawartych w próbkach gleby poddanej doświadczeniu wazonowemu polegającemu na procesie fitostabilizacji wspomaganą poszczególnymi dodatkami glebowymi zamieszczono na Rysunku 36.



Rysunek 36. Wykres stopnia redukcji stężeń metali ciężkich zawartych w próbkach gleby obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym w procesie fitostabilizacji wspomaganey poszczególnymi dodatkami glebowymi

6. Dyskusja Wyników

6.1. Związki ropopochodne

Bioremediacja

W niniejszej pracy do procesu bioremediacji gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi zastosowano preparat mikrobiologiczny zawierający szczepy bakterii tlenowych m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens* w stężeniu 10^6 do 10^8 jtk/ml oraz enzymy i biosurfaktanty. Wpływ stosowanych w biopreparatach bakterii m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, na rozkład węglowodorów został poparty licznymi badaniami naukowymi (Khan i in., 2013; Lang i in., 2016; Seo i in., 2009). Udział bakterii endofitycznych w rozkładzie węglowodorów alifatycznych, aromatycznych i WWA został potwierdzony także przez innych autorów (Andreoli i in., 2013; Oliveira i in., 2014; Schwitzguébel, 2017; Thijs i in., 2014; Yousaf i in., 2010a, 2010b). Wielu badaczy udowodniło, że szczepy *Bacillus* posiadają zdolność do wytwarzania biosurfaktantów i degradowania ropy naftowej (Khan i in., 2013; Souza i in., 2015). Z kolei wiele bakterii z rodzaju *Pseudomonas* posiada enzymy zdolne do rozkładu węglowodorów alifatycznych i aromatycznych (Khan i in., 2013; Pawlik i in., 2015, 2017).

Jak wykazał Parthipan i in. (2017), zaaplikowanie szczepu *Bacillus subtilis* do zanieczyszczonej gleby, spowodowało obniżenie stężenia węglowodorów C_{10} - C_{29} , w ciągu 7 dni aż o 87%.

W niniejszej pracy, w efekcie doświadczenia polowego polegającego na bioremediacji gleby zanieczyszczonej węglowodorami C_{12} - C_{35} , składnikami frakcji oleju, nastąpił spadek zawartości tych związków organicznych. Próbki gleby charakteryzowały się redukcją zanieczyszczeń węglowodorami C_{12} - C_{35} na poziomie 93,4 % w przypadku próbki nr 1 oraz 78,5 % w przypadku próbki nr 2. Dla porównania w przypadku próbek kontrolnych, w obrębie których nie zaimplementowano biopreparatu, redukcja stężenia sumy węglowodorów C_{12} - C_{35} w badanej glebie wyniosła jedynie 0,5% dla próbki nr 1 i 1,5% dla próbki nr 2.

Korzystny wpływ mikroorganizmów i roślin na efektywność rozkładu substancji ropopochodnych zbadali także Ying i in. (2011), którzy wykazali, że po procesie remediacyjnym stężenie TPH (indeks oleju mineralnego) w ryzosferze trzech różnych gatunków roślin, obniżyło się do poziomu dopuszczalnego. Z kolei Ho i in. (2012) badali pozytywny wpływ bakterii endofitycznych, na biodegradację fenolu zawartego w glebie.

Naturalna biodegradacja związków ropopochodnych w glebie zwykle trwa bardzo długo. Przeprowadzone badania potwierdziły, że bioaugmentacja polegająca na wprowadzeniu do zanieczyszczonego środowiska wyselekcjonowanych szczepów mikroorganizmów w formie biopreparatów intensyfikuje i ukierunkowuje rozkład zanieczyszczeń ropopochodnych.

Wyniki badań dotyczących bioremediacji gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi uzyskane w niniejszej pracy są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi (np. Masakorala i in., 2014; Parthipan i in., 2017; Ying i in., 2011). Podczas prowadzenia badań polowych należy jednak zwrócić szczególną uwagę na warunki pogodowe, które mogą istotnie wpływać na uzyskane rezultaty.

Fitoremediacja

Fitoremediacja gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi przy użyciu łatwo dostępnych i tanich mieszanek nasion traw i kwiatów tworzących tzw. „łąki kwietne” do tej pory zarówno w literaturze naukowej polskiej jak i zagranicznej nie doczekała się szczegółowej, opartej na badaniach analizy wyników stanowiących efekt procesu oczyszczania zanieczyszczonych gleb. O ile znany jest potencjał niektórych roślin (również ozdobnych), w tym naftofitów, do degradacji zanieczyszczeń w glebie (np. Cai i in., 2010; Cheng i in., 2016; Lee, 2013; Liu i in., 2012; Peng i in., 2009; Zhang i in., 2010), to o badaniach dotyczących mieszanek nasion łatwo dostępnych roślin napisano niewiele. Łąki kwietne posiadają wiele zalet takich jak zwiększanie retencji wód opadowych, zapobieganie suszy poprzez brak potrzeby podlewania, są siedliskami dla owadów zapylających i nie wymagają zabiegów pielęgnacyjnych, nawożenia, koszenia. Badania nad procesem fitoremediacji przy użyciu konkretnych mieszanek tworzących „łąki kwietne”, pozwoliły ocenić ich zdolność do usuwania zanieczyszczeń związkami ropopochodnymi z gleby oraz określić stopień redukcji w trakcie doświadczenia polowego trwającego 30 miesięcy.

W literaturze naukowej istnieją opracowania dotyczące wykorzystania do fitoremediacji pojedynczych gatunków roślin, które występowały w wykorzystanej w niniejszej pracy mieszance tworzącej „łąki kwietne”. Takie eksperymentalne badania dotyczące fitoremediacji gleby zanieczyszczonej ropą naftową z wykorzystaniem trzech gatunków traw: proso różgowe *Panicum*, manieczka indyjska *Eleusine indica* (L.) Gaertn i kostrzewa trzcinowa *Festuca arundinacea* prowadzili między innymi Wang i in. (2008), którzy wykazali, że po okresie 150 dni eksperymentu redukcja węglowodorów ropopochodnych w ryzosferze była 3-4 razy większa niż w glebie nieobsadzonej. W nieobsadzonej glebie degradacja węglowodorów ropopochodnych wyniosła tylko około 10% (Wang i in., 2008). Tożsame spostrzeżenia mieli Corgie i in. (2003) wykazując w badaniach dotyczących degradacji związków organicznych, że wydzieliny korzeniowe stymulują wzrost i rozwój mikroorganizmów ryzosferowych, przez co wpływają na proces mikrobiologicznego rozkładu zanieczyszczeń organicznych. Małachowska-Jutczak i in. (2012), próbki gleby zanieczyszczonej przeparowanym olejem silnikowym poddali procesowi fitoremediacji przy użyciu koniczyny białej *Trifolium repens*. Przeprowadzone przez autorów badania wykazały, że fitotoksyczność próbek zanieczyszczonej gleby malała w miarę postępującego procesu fitoremediacji, a próbki gleby charakteryzowały się mniejszą toksycznością, w porównaniu z próbkami poddanymi jedynie samooczyszczaniu.

Kostrzewę i koniczynę, wchodzącą w skład mieszanki tworzącej „łąki kwietne”, do procesu fitoremediacji zastosowali także Shahriary i in. (2006). Eksperyment oczyszczenia zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi gleby o stężeniu 1%, 3%, 5%, 7% i 10% prowadzono przez 120 dni. Porównanie wyników badań między próbkami gleby nieobsianej z próbkami gleby z roślinnością wykazało, że procent redukcji substancji ropopochodnych był wyższy przy glebie obsianej kostrzewą i koniczyną. Największa redukcja zanieczyszczenia nastąpiła w próbce z 1% zanieczyszczeniem substancjami ropopochodnymi. Zaobserwowano spadek zanieczyszczenia o 36,7%. Natomiast najniższa redukcja zanieczyszczeń wystąpiła dla próbki z 10% zanieczyszczeniem substancjami ropopochodnymi, gdzie redukcja wyniosła 5,6% (Shahriari i in., 2006).

Kluk i Steliga (2016) również potwierdziły relacje pomiędzy rozkładem substancji ropopochodnych, a zastosowaniem kostrzewy trzcinowej *Festuca arundinacea*. W procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi wykorzystały kostrzewę trzcinową, nostrzyka żółtego i sałatę lodową. Sześciomiesięczny proces fitoremediacji gleby wstępnie skażonej 10 000 mg TPH/kg s.m. spowodował znaczną redukcję zanieczyszczeń, tj. obniżenie stężenia do wartości 1790 mg TPH/kg s.m., co stanowi 82,0% (nostrzyk żółty *Melilotus officialis*), 3480 mg TPH/kg s.m., co stanowi 65,2% (kostrzewa trzcinowa *Festuca arundinacea*) i 4210 mg TPH/kg s.m., co stanowi 57,4% (sałata lodowa *Lettuce iceberg*). Zawartość substancji ropopochodnych w glebie zanieczyszczonej 10 000 mg TPH/kg s.m., na której nie prowadzono wegetacji roślin (gleba kontrolna), po 6 miesiącach zmniejszyła się do 7110 mg TPH/kg s.m., co stanowi 28,6% (Kluk i Steliga, 2016). Te same autorki przeprowadziły sześciomiesięczny proces fitoremediacji gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi TPH i WWA przy użyciu nasion słonecznika zwyczajnego *Helianthus annuus*, który doprowadził do ich znacznego zmniejszenia z 4806 mg TPH/kg s.m. do 2774 mg TPH/kg s.m. co oznacza spadek o 42,5%, a dla gleby kontrolnej o 14,0% (Kluk i Steliga, 2019). Nedunuri i in. (2000) podali, iż zastosowanie w remediacji życicy rocznej *Lolium temulentum* spowodowało zmniejszenie zanieczyszczenia gleby węglowodorami aromatycznymi o 42%, natomiast zastosowanie trawy św. Augusta *Stenotaphrum secundatum* o 50%, w ciągu doświadczenia trwającego 21 miesięcy. Badania Małachowskiej–Jutz i in. (2012) wykazały, iż użycie babki lancetowatej *Plantago lanceolata* przyczyniło się do znacznego zmniejszenia toksyczności gleby zanieczyszczonej węglowodorami aromatycznymi. Babka lancetowata *Plantago lanceolata* jak i życicy trwała *Lolium perenne* wchodzi w skład mieszanki tworzącej „łąki kwietne” wykorzystanej do procesu fitoremediacji.

W niniejszej pracy, doświadczenie polegające na fitoremediacji zanieczyszczonej gleby obsianej mieszanką nasion tworzącą łąki kwietne trwało 30 miesięcy. Wyniki badań własnych uzyskane w niniejszej pracy są zgodne z powyżej przedstawionymi danymi literaturowymi. Gleba zanieczyszczona sumą węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju, na poziomie 4 840 mg·kg⁻¹ s.m., w efekcie fitoremediacji przy użyciu mieszanki tworzącej łąki kwietne, została oczyszczona do wartości 1 162 mg·kg⁻¹ s.m. sumy węglowodorów C₁₂-C₃₅, co stanowi ok. 76% redukcji wstępnie

zidentyfikowanego zanieczyszczenia. Dla porównania zawartość substancji ropopochodnych w glebie zanieczyszczonej, na której nie prowadzono wegetacji roślin (gleba kontrolna 1), po 30 miesiącach zmniejszyła się do $4202 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. sumy węglowodorów $\text{C}_{12}\text{-C}_{35}$, co stanowi 13%. Z kolei zawartość sumy węglowodorów $\text{C}_6\text{-C}_{12}$, składników frakcji benzyn, która wynosiła początkowo w badanej glebie $146 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. została zredukowana do wartości $<1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m., co stanowi ok. 99%. Nie można wykluczyć, że część lekkich węglowodorów odparowała już na wstępnym etapie wegetacji, wskutek naruszenia gleby przez system korzeniowy wszystkich wykorzystywanych w doświadczeniach roślin.

Reakcje morwy białej *Morus alba* na substancje toksyczne, zwłaszcza metale ciężkie, analizowało wielu badaczy (Ashfagh i in., 2009; Prince i in., 2000; Wang, 2002; Wang i in., 2003). W literaturze naukowej, w doświadczeniu trwającym 12 lat, Olson i Fletcher (1999), potwierdzili zdolność morwy białej do degradacji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych WWA przez system korzeniowy rośliny. Prace dotyczące wykorzystania morwy białej *Morus alba* do degradacji związków ropopochodnych (w tym WWA) zanieczyszczających glebę prowadził między innymi Rentz i in. (2005). Autorzy udowodnili, że wydzieliny z korzeni tej rośliny wspomagają usuwanie 15–20% benzo[*a*]pirenu w czasie 24 godzin.

Wyniki badań własnych dotyczące doświadczenia wazonowego z wykorzystaniem morwy białej *Morus alba* potwierdzają istotny wpływ tego gatunku na degradację węglowodorów ropopochodnych. Po 18 miesiącach doświadczenia, w próbkach gleby poddanej procesowi fitoremediacyjnemu nastąpił spadek zawartości substancji ropopochodnych. Próbkę gleby charakteryzowały się redukcją zanieczyszczeń węglowodorami $\text{C}_{12}\text{-C}_{35}$ na poziomie od 34,9% (pojemnik nr 3) do 50,9% (pojemnik nr 2). Rezek i in. (2010) stosując pokrewny gatunek (morwę czerwoną: *Morus rubra*) uzyskali po 12 miesiącach degradację węglowodorów aromatycznych na poziomie 50%, co sugeruje, że morwa jest nieco bardziej skuteczna przy degradacji WWA. W przypadku gleby zanieczyszczonej węglowodorami ropopochodnymi stanowiącej próbkę kontrolną, w której nie użyto sadzonek morwy białej, redukcja stężenia sumy węglowodorów $\text{C}_{12}\text{-C}_{35}$ w badanej glebie wyniosła jedynie 1,9%. W przypadku sumy węglowodorów $\text{C}_6\text{-C}_{12}$ po 6 miesiącach doświadczenia wazonowego, zarówno w dwóch próbkach obsadzonych sadzonkami morwy białej (pojemnik nr 1, 2) jak i próbie kontrolnej, stężenia tych substancji zostały zredukowane do poziomu granicy oznaczalności stosowanej metody badawczej ($<1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) już w drugim etapie doświadczenia. W pojemniku nr 3 podobny wynik został uzyskany w etapie 3, po 12 miesiącach trwania doświadczenia.

6.2. Metale ciężkie

Wykorzystana w doświadczeniach polowym i wazonowym gleba pochodząca z poletka nr 2 zanieczyszczonego metalami ciężkimi, zlokalizowanego na terenach byłej Huty „Jedność” w Siemianowicach Śląskich, charakteryzowała się wysokimi stężeniami metali ciężkich, zwłaszcza cynku i kadmu, które przekraczały dopuszczalne stężenia dla terenów przemysłowych określone w rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395).

Na obszarze Górnego Śląska niejednokrotnie identyfikowano znaczne zanieczyszczenie gleb wysokimi stężeniami metali ciężkich w powierzchniowej warstwie gleby (Kucharski i in., 2005; Łaszczyca i in., 2004). W latach 1990-2010 zaobserwowano znaczący spadek emisji kadmu, ołowiu i rtęci do środowiska, jednak stężenia metali ciężkich w środowisku naturalnym nadal są bardzo wysokie. Pomimo tendencji spadkowych, występowanie metali ciężkich i ich bioakumulacji w łańcuchu pokarmowym organizmów żywych nadal stanowi poważny problem (Pawlas, 2014).

Fitoremediacja

W niniejszej pracy do określenia efektywności metod fitoremediacji zanieczyszczonej metalami ciężkimi gleby przez wybrane gatunki roślin, zastosowano ocenę stopnia redukcji tych metali z gleby, określonej na podstawie zmiany ich całkowitej zawartości w środowisku glebowym. Stężenia całkowitej zawartości metali ciężkich zidentyfikowanych w zanieczyszczonej glebie monitorowano zarówno w glebie kontrolnej, jak i poddanej fitoremediacji, w trakcie dwuletniego doświadczenia poletkowego.

Zdolności śnieguliczki białej *Symphoricarpos albus* do akumulacji metali ciężkich jak ołów, cynk, kadm i miedź zostały przedstawione za pośrednictwem badań naukowych Koev i Dimitrova (1994). Potencjał śnieguliczki do pochłaniania zawartych w dużej ilości w glebie cynku i ołowiu potwierdzili swoimi badaniami Kałużny i in. (2016). Ciekawe wyniki badań dotyczące zdolności śnieguliczki białej do akumulacji emitowanego pyłu składającego się między innymi metali ciężkich przez liście prowadziły Gorelova i Frontasyeva (2017). Śnieguliczka charakteryzowała się pochłanianiem 153 mg pyłu na 1 dm³. Autorki na podstawie zdolności akumulacji biologicznej roślin określiły także efektywność akumulacji metali ciężkich przez śnieguliczkę białą w procesie fitoremediacji zanieczyszczonych gleb.

Wyniki prowadzonych w niniejszej pracy badań wskazywały na potencjał śnieguliczki białej do fitoremediacji metali ciężkich z gleb, głównie cynku i miedzi. W doświadczeniu polowym wykorzystującym sadzonki śnieguliczki białej, po 24-miesięcznym procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi osiągnięto spadek cynku o 16,5% i miedzi o 12,5%, a dodatkowo uzyskano wysoką redukcję ołowiu (20,8%), arsenu (14%) i kadmu (13,4%). Jednakże, uzyskane wyniki nie potwierdziły bardzo dużej skuteczności *Symphoricarpos albus* do fitoremediacji ołowiu.

Akar i in. (2009) wykazują, że śnieguliczka biała w roztworze wodnym zawierającym mieszaninę metali, może usunąć ponad 88% Pb. Jak wykazały przeprowadzone eksperymenty wazonowe, w przypadku gleby skuteczność *Symphoricarpos albus* jest wielokrotnie niższa.

W literaturze naukowej dostępnych jest niewiele prac, w których sadzonki rokitnika zwyczajnego *Hippophae rhamnoides* byłyby wykorzystywane do procesu fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi. Jednymi z ciekawszych pozycji są prace Bogatu i in. (2007) oraz Comakli (2022), które traktują stricte o potencjale fitoremediacyjnym rokitnika zwyczajnego. Bogatu i in. (2007) przedyskutowali w swoich badaniach zdolność rokitnika zwyczajnego *Hippophae rhamnoides* do transportowania z gleby metali ciężkich poprzez ich akumulację w materii organicznej rośliny. Autorzy w efekcie potwierdzili malejącą koncentrację metali ciężkich w badanych frakcjach gleby poprzez zdolność rokitnika zwyczajnego do procesu fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Potencjał rokitnika zwyczajnego do pobierania metali ciężkich z gleb i możliwość wykorzystania tego gatunku do fitoremediacji potwierdził także Comakli (2022), który w liściach i gałęziach rokitnika zwyczajnego zidentyfikował wysokie stężenia takich metali ciężkich jak glin ($0,625 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), mangan ($0,32 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), żelazo ($0,60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), cynk ($0,077 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) czy nikiel ($0,009 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). W niniejszej pracy, podczas trwania eksperymentu poletkowego z wykorzystaniem sadzonek rokitnika zwyczajnego, trwającego 24 miesiące w porównaniu do gleby kontrolnej nieobsadzonej roślinnością, zaobserwowano spadek stężenia metali ciężkich na poziomie od 6,0% w przypadku baru do 34,1% w przypadku cynku. Gleba z sekcji obsadzonej rokitnikiem zwyczajnym została oczyszczona w stopniu kwalifikującym ją jako spełniająca normy wymagane dla IV grupy gruntów zgodnie z zapisami rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz.1395).

Według badań Duan i in. (2023) rokitnik zwyczajny może być także skutecznym narzędziem do oczyszczania gleby z zanieczyszczenia związkami ropopochodnymi. Wyniki badań wykazały, że szybkość usuwania substancji ropopochodnej dzięki zastosowaniu sadzonek rokitnika zwyczajnego była istotnie zwiększona w glebach skażonych ropopochodnymi do $15000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ już po jednym sezonie wegetacyjnym. Należy jednak zauważyć, że wyniki mogą się różnić w zależności od warunków glebowych i stężenia zanieczyszczeń.

Wierzba wiciowa znalazła zastosowanie w rewitalizacji zanieczyszczonych i zdegradowanych gleb za sprawą łatwej aklimatyzacji do różnych warunków środowiskowych i dużej tolerancji na zanieczyszczenia. Zastosowana do procesu fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi wierzba wiciowa *Salix viminalis* jest zaliczana do hiperakumulatorów metali ciężkich (Mahar i in., 2016). Istotną zaletą wierzby wiciowej jest jej duża tolerancja środowiskowa i siedliskowa. Dodatkowo wierzba *Salix viminalis* wykorzystywana jest do celów energetycznych. W literaturze naukowej znanych jest wiele badań, które potwierdziły w doświadczeniach wazonowych i polowych, duże zdolności wierzby do pobierania cynku i kadmu z podłoża oraz akumulacji tych związków w częściach nadziemnych (Baran i in., 2001; Boyter i in., 2009; Meers i in., 2007; Pulford i in., 2002;

Rosselli i in., 2003; Vervaeke i in., 2003). Z kolei Tlustos i in. (2007) w wyniku prowadzonego w ciągu trzech lat doświadczenia wazonowego z zanieczyszczoną glebą udowadniają, że z drewnem wierzby wiciowej usunięto z gleby do 30% kadmu i do 5% cynku. Wyniki badań dotyczące redukcji kadmu i cynku z gleby przez sadzonki wierzby wiciowej, uzyskane w niniejszej pracy były zbliżone do tych uzyskanych przez Tlustos'a i in. (2007). Niektóre doświadczenia wskazują także na duże możliwości akumulacji miedzi w częściach nadziemnych wierzby (Kuzovkina i Quigley, 2004; Pulford i in., 2002). Jednocześnie, cytowane badania potwierdzają zdolność wierzby do fitostabilizacji miedzi i ołowiu pobieranych z gleby. Dodatkowo gatunek wierzby wiciowej charakteryzuje się silnym rozrostem systemu korzeniowego, który sięga nawet 8-10 m. Korzenie penetrują nie tylko powierzchniową warstwę gleby, ale również grunty położone znacznie głębiej dzięki czemu poprawiają jej właściwości (Dubas, 2006). W wyniku doświadczenia polowego osiągnięto obniżenie stężenia kadmu o 26%, a cynku o 16,5%. Redukcja pozostałych metali ciężkich z zanieczyszczonej gleby wahała się w granicach od 23,7% dla niklu do 3,3% dla chromu.

Wspomagana fitostabilizacja

Fitostabilizacja wspomagana to metoda polegająca na zastosowaniu dodatków doglebowych wraz z odpowiednio dobranymi gatunkami roślin. Unieruchamianie zanieczyszczeń w glebie oparte jest głównie na procesie absorpcji i kumulacji w korzeniach, adsorpcji na powierzchni korzeni a także przekształcaniu zanieczyszczeń w ryzosferze w związki trudno rozpuszczalne (Megharaj i in., 2011; Ruttens i in., 2006; Salt i in., 1998).

Głównym czynnikiem determinującym rozpuszczalność metali ciężkich w glebie jest jej pH. Odczyn gleby w dużym stopniu warunkuje wiele biologicznych i fizykochemicznych procesów w niej zachodzących. Przyjmuje się, że optymalnym przedziałem dla większości procesów biologicznych, związanych z bytowaniem gatunków roślin i mikroflory glebowej jest wartości pH od 5,5 do 7,2. Rozpuszczalność i mobilność metali ciężkich zmniejsza się wraz ze wzrostem wartości pH gleby (Siebielec i Chaney, 2012). W zakresie odczynu obojętnego i alkalicznego rozpuszczalność metali ciężkich jest niska. W glebach o kwaśnym odczynie dochodzi do rozpuszczania tlenków metali i uwalniania ich z minerałów pierwotnych i wtórnych. Ruchliwość metali w środowisku kwaśnym maleje zgodnie z szeregiem: kadm > cynk > nikiel > mangan > miedź > ołów > rtęć (Karczewska, 2002).

Gleba wykorzystana w doświadczeniach charakteryzowała się odczynem lekko kwaśnym (pH=6,1). Wielu badaczy obserwowało w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi spadek odczynu gleby, przy czym w większości analizowanych przypadków pierwotny odczyn kształtował się w zakresie lekko kwaśnym lub obojętnym (Karczewska, 2002; Kucharski i in., 2005; Siebielec i Chaney, 2012). W ramach doświadczenia wazonowego wspomaganą fitostabilizacją metali ciężkich w zanieczyszczonej glebie, w przypadku wprowadzenia dodatku w postaci wapna, mączki bazaltowej i sorbentu na bazie montmorylonitu odczyn gleby wyraźnie wzrósł (z 6,1 do odpowiednio 7,0; 6,8

i 6,4), natomiast w przypadku wprowadzenia do gleby węgla brunatnego pH gleby uległo obniżeniu do pH=6,0 w porównaniu do wartości pierwotnej przed wprowadzeniem dodatków. Czynnikiem remediacyjnym zastosowanym w doświadczeniu wspomaganej fitostabilizacji były sadzonki rokitnika zwyczajnego.

Jednym z głównych zabiegów ograniczających ruchliwość metali jest odkwaszenie gleb przez wapnowanie. Wykorzystanie związków wapnia, takich jak węglan wapnia CaCO_3 , wodorotlenek wapnia Ca(OH)_2 , tlenek wapnia CaO i tlenek magnezu MgO w remediacji terenów zanieczyszczonych metalami ciężkimi i porównanie ich efektywności z innymi stosowanymi dodatkami doglebowymi badali m.in. Bolan i in. (2003), Dorskocil i Piekar (2012) czy Garau i in. (2007). Karczewska i in. (1996) podają, że wprowadzenie do gleby wapna nawozowego powoduje skuteczne unieruchomienie ołowiu i miedzi w glebie zanieczyszczonej tymi metalami ciężkimi.

W ramach doświadczenia przeprowadzonego w niniejszej pracy, w wyniku wapnowania skażonej gleby, po 24 miesiącach trwania eksperymentu wazonowego zaobserwowano ograniczenie zawartości wybranych metali ciężkich (poza kobaltem). Wprowadzenie do gleby wapna jako dodatku stabilizującego spowodowało redukcję stężenia metali ciężkich przez rokitnika zwyczajnego na poziomie od 1,3% w przypadku ołowiu, 8,8% dla miedzi, do 14,4% w przypadku cynku. Równolegle zaobserwowano wzrost stężenia kobaltu w glebie z domieszką wapna o 1,1%.

Wielu autorów (Dorskocil i Pekar, 2012; Havelcova i in., 2009; Maciejewska, 1998; Vamerali i in., 2010) potwierdza, że kwasy huminowe, które są składnikiem węgla brunatnego charakteryzują się zdolnościami jonowymiennymi, dzięki czemu mogą wymieniać glin, żelazo, miedź, kadm i ołów. Grupy funkcyjne kwasów huminowych i fulwowych zawarte w węglu brunatnym łączy się z metalami jedno-, dwu- lub trójwartościowymi, tworząc kompleksy chelatowe, których trwałość w dużej mierze zależy od odczynu gleby oraz stężenia samego metalu w glebie (Maciejewska, 1998). Aplikacja materii organicznej w postaci węgla brunatnego do środowiska glebowego również powoduje obniżenie dostępności zanieczyszczeń metalami ciężkimi co zostało udowodnione (m.in. Karczewska i in., 1996). Janos i in. (2010) badali wpływ dodatku węgla brunatnego na stabilizację metali ciężkich takich jak kadm, ołów i cynk w glebie zanieczyszczonej oddziaływaniem hutnictwa metali nieżelaznych. Po zaaplikowaniu do gleby węgla brunatnego w ilości 5%, uzyskali spadek zawartości form biodostępnych ołowiu, kadmu i cynku w glebie odpowiednio o 6%, 20% i 14%. Z kolei Pusz (2007) po wprowadzeniu do zanieczyszczonej gleby stabilizatu w postaci węgla brunatnego w dawce 5%, uzyskała obniżenie biodostępności ołowiu o 91%, kadmu o 83%, cynku o 94%. W wyniku doświadczenia wazonowego, polegającego na wprowadzeniu węgla brunatnego w ilości 5% wagowych do gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi z sadzonkami rokitnika zwyczajnego uzyskano ograniczenie stężenia kadmu, cynku i ołowiu, jednak istotną różnicą jest odniesienie się do całkowitej zawartości tych metali ciężkich w badanej glebie, a nie tylko do ich biodostępnych form, jak w przypadku badań innych autorów.

Wielu autorów prowadziło już badania nad właściwościami minerałów ilastych w kontekście immobilizacji metali ciężkich takich jak As, Pb, Cd, Cu, Zn, Ni i Mn (Abollino i in., 2008; Garcia-Sanchez i in., 1999; Gupta i Bhattacharyya, 2008; Lothenbach i in., 1997; Panuccio i in., 2009). Wprowadzenie do silnie zanieczyszczonej gleby minerałów ilastych takich jak pałygoraskit i sepiolit spowodowało znaczne obniżenie dostępnych form kadmu i cynku, ołowiu i miedzi, co zostało udowodnione przez Alvareza-Ayuso i Garcję-Sancheza (2003a; 2003b). Badania nad redukcją zanieczyszczeń przez minerały ilaste wykazały pozytywny wpływ bentonitu na immobilizację arsenu w zanieczyszczonej glebie (Garcia-Sanchez i in., 2002). Z kolei badania przeprowadzone przez Placek i in. (2015) polegające na aplikacji do gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi sorbentu mineralnego w dawkach 0,25%, 0,5%, 1%, 2% i 4% wykazały, że dodatek sorbentu mineralnego nie wpłynął w znaczący sposób na obniżenie stężeń metali ciężkich w badanej glebie, a w dawkach powyżej 1% przyczyniły się do wzrostu zawartości cynku i ołowiu w glebie. W badaniach Barana i in. (1995) zastosowanie pyłu skalnego bogatego w minerały ilaste do gleby zanieczyszczonej ołowiem i cynkiem znacznie obniżyło rozpuszczalność metali w glebie, w szczególności cynku (do 14%). W wyniku doświadczenia wazonowego, polegającego na wprowadzeniu sorbentu mineralnego składającego się w min. 80% z montmorylonitu, w ilości 5% wagowych do gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi z czynnikiem remediacyjnym w postaci rokitnika zwyczajnego, uzyskano obniżenie stężeń kadmu o 24,5%, chromu o 21,1%, cynku o 8,2%, arsenu o 7,3%, natomiast równolegle zaobserwowano wzrost zawartości baru o 1% i kobaltu o 1,1%.

Osiągnięty efekt wynika z naturalnych właściwości montmorylonitu, który dzięki swojej strukturze i składzie chemicznym posiada zdolność wymiany jonowej i pochłaniania jonów z roztworów wodnych. Montmorylonit zbudowany jest z trzech pakietów charakterystycznych dla krzemianów (dwie warstwy tetraedryczne i warstwa oktaedryczna). Warstwa tetraedryczna zbudowana jest z atomów krzemu, warstwa oktaedryczna zawiera atomy glinu. Tetraedry zamiast atomów krzemu mogą posiadać atomy glinu, a oktaedry - krzem, glin, cynk, nikiel, miedź, magnez czy żelazo. Pomiedzy pakietami znajduje się warstwa jonów wymiennych (Kurleto i in., 2015). W montmorylonicie część jonów glinu w pozycjach oktaedrycznych jest obsadzona przez kationy magnezu, w wyniku czego w warstwach tego minerału występuje ładunek ujemny kompensowany poprzez inne kationy (np. Na^{2+} , Ca^{2+}), które znajdują się w przestrzeniach międzywarstwowych. W wyniku procesu wymiany jonowej kationy te stosunkowo łatwo podstawiają się innymi kationami czy kompleksami kationów (Chmielarz, 2012).

Wykorzystanie mączki bazaltowej w procesach rekultywacyjnych badali m.in. Gałka i in. (2011), Maliszewski (2021) oraz Zagożdżon (2008). Maliszewski (2021) w swoich badaniach wykazał, że początkowy odczyn gleby z 6,81 wzrasta do wartości 6,86, 7,01 i 7,02 po dodaniu odpowiednio 10, 50 i 100 g mączki bazaltowej na 1000 g gleby. W wyniku eksperymentu wazonowego z zastosowaniem dodatku glebowego w postaci mączki bazaltowej w dawce 5% wagowych również uzyskano wzrost odczynu z wartości początkowej na poziomie 6,1 do 6,8. Zagożdżon (2008) poza

działaniami naprawczymi w procesach remediacji, wykazał także możliwość wykorzystania mączki bazaltowej jako nawozu mikroelementowego ze względu na różnorodność występujących w niej związków, w tym pierwiastków śladowych. Badania nad wpływem dodatku pyłu skalnego na zawartość cynku w glebie prowadził także Jakubowski i in. (2013). W wyniku prowadzonych badań autorzy wykazali, że przy zawartości cynku w glebie na poziomie $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ aplikacja pyłu skalnego obniżyła zawartość rozpuszczalnej formy cynku o około 25%.

Wyniki badań własnych wskazują, że dodatek w postaci 5% wagowych mączki bazaltowej wpłynął na obniżenie zawartości metali ciężkich w badanej glebie w granicach od 0,4% w przypadku stężenia miedzi do 10,5% dla niklu. Równolegle stwierdzono także nieznaczny wzrost zawartości kadmu (3,8%) i ołowiu (0,4%). Dostarczenie glebie mączki bazaltowej w łatwej do chemicznego rozłożenia pylastej postaci spowodowało dostarczenie glebie szeregu mikroelementów. Korzystną cechą mączki bazaltowej jest jej urozmaicony skład chemiczny, zarówno w postaci tlenków jak i pierwiastków śladowych. Decydująca jest tu duża zawartość tlenków wapnia i magnezu, alkaliów, ale też glinki i krzemionki oraz minerałów ilastych. Stosowanie mączki bazaltowej reguluje równowagę mineralną gleby oraz działa stymulująco na rozwój mikroorganizmów tlenowych, hamując jednocześnie rozwój bakterii beztlenowych. Udowodniono także pozytywny wpływ stosowania mączki bazaltowej na strukturę i napowietrzenie gleby (Zagożdżon, 2008).

Poszczególne dodatki stabilizujące w postaci wapna, sorbentu mineralnego z montmorylonitem, drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego i mączki bazaltowej wykorzystane w trakcie eksperymentu wazonowego, wpłynęły na obniżenie zawartości metali ciężkich w zanieczyszczonej glebie, w której jako czynnik remediacyjny zastosowano rokitnik zwyczajny *Hippophae rhamnoides*. Stężenia metali ciężkich po wprowadzeniu do gleby poszczególnych dodatków stabilizujących najbardziej obniżyły się w przypadku zastosowania sorbentu mineralnego (bentonitu) składającego się w min. 80% z montmorylonitu oraz w przypadku drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego. Proces fitostabilizacji z udziałem montmorylonitu wpłynął na zdolność rokitnika do pobierania metali ciężkich z gleby. W wyniku zastosowania bentonitu stężenie arsenu, baru, chromu, kadmu i ołowiu obniżyło się odpowiednio o 7,3%, 7,4%, 21,1%, 24,5%, 2,8%. Z kolei dodatek węgla brunatnego obniżył zawartość arsenu, chromu, cynku, kadmu i miedzi o odpowiednio 6,1%, 13,3%, 10%, 15,1% i 20,8%.

Wykorzystanie wapna do procesu stabilizacji metali ciężkich w zanieczyszczonej glebie spowodowało redukcję tych metali na poziomie od 1,3% w przypadku ołowiu oraz do 14,4% w przypadku cynku. Z kolei zastosowanie mączki bazaltowej spowodowało najmniejsze skutki w postaci obniżenia dostępności metali (od 0,4% w przypadku stężenia miedzi do 10,5% dla niklu).

Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu wazonowego wprowadzania dodatków glebowych oraz uzyskanych wyników badań stwierdzono, że dodatek doglebowy w postaci bentonitu (w dawce 5%) można uznać za substancję, która najskuteczniej obniżyła stężenia całkowite metali ciężkich w środowisku glebowym.

Wg Mench i in. (1998) mechanizmem w głównej mierze odpowiedzialnym za unieruchomienie metali jest precypitacja wodorotlenków na stałej matrycy glebowej. Sorbowane jony mogą tworzyć zewnętrzny lub wewnętrzny kompleks z reaktywnymi grupami powierzchniowymi matrycy glebowej. Kiedy wewnętrzny kompleks zawiera pochłaniane polimery, może dochodzić do zarodkowania a następnie do procesów precypitacji metali na ich powierzchni. Jeżeli natomiast adsorbowany jon metalu znajduje się w matrycy sorbentu, to wtedy może mieć miejsce współstrącanie.

7. WDROŻENIE USŁUGI REMEDIACYJNEJ – PROCEDURA POSTĘPOWANIA

Na terenach, w obrębie których zidentyfikowano zanieczyszczenie powierzchni ziemi, władający powierzchnią ziemi, zgodnie z art. 101 h. ustawy z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska (Dz. U. 2022, poz. 2556 t.j.) jest obowiązany do przeprowadzenia remediacji, czyli podjęcia wszelkich czynności rozumianych jako poddanie zanieczyszczonej gleby działaniom mającym na celu usunięcie lub zmniejszenie ilości substancji powodujących ryzyko lub ograniczenie rozprzestrzeniania, tak aby tereny zanieczyszczone przestały stwarzać zagrożenie dla zdrowia ludzi lub stanu środowiska, jeżeli takie zostało stwierdzone.

Rozpoczynając procedurę remediacyjną, w pierwszym korku należy wystąpić do właściwej Regionalnej Dyrekcji Ochrony Środowiska z wnioskiem o wydanie decyzji zatwierdzającej projekt planu remediacji. Jest to dokument określający wszelkie okoliczności związane z remediacją terenu zanieczyszczonego, tj. charakterystyka terenu zanieczyszczonego wraz z dokładną identyfikacją zanieczyszczenia, analiza wpływu zanieczyszczenia na środowisko oraz zdrowie człowieka, sposób i czas wykonania remediacji. Po przedłożeniu projektu planu remediacji, właściwa Regionalna Dyrekcja Ochrony Środowiska wydaje stosowną decyzję.

Podczas planowania prac remediacyjnych należy uwzględnić przyszłe przeznaczenie i zagospodarowanie terenu zanieczyszczonego, zwłaszcza, jeżeli planowane jest wykorzystywanie takiego terenu kwalifikującego go do grupy gruntów I (m.in. tereny mieszkaniowe i usługowe) zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 5 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016 poz. 1395) oraz rachunek ekonomiczny prowadzonych działań. Uwzględnia się również rodzaj zanieczyszczenia i jego charakterystykę jakościową, jak też ilościową, lokalne warunki geologiczne i hydrogeologiczne mające wpływ na migrację zanieczyszczeń w środowisku, wszelkie drogi i czynniki narażenia mające wpływ na zdrowie człowieka, a także możliwości techniczne i technologiczne wykonania remediacji na danym terenie oraz zakładany czas, w którym planuje się osiągnąć pożądany efekt (zwykle metody długotrwałe są znacznie tańsze od metod przynoszących efekty w relatywnie krótkim okresie czasu).

Prace remediacyjne można rozpocząć wyłącznie po uzyskaniu stosownej decyzji, zgodnie z uwarunkowaniami w niej zawartymi.

Ostatnim etapem procedury remediacyjnej jest potwierdzenie skuteczności zastosowanej metody, poprzez wykonanie badań laboratoryjnych i przedstawienie sprawozdań do właściwej Regionalnej Dyrekcji Ochrony Środowiska wydającej decyzję zatwierdzającą projekt planu remediacji.

Wdrożona usługa remediacyjna obejmujące wszystkie etapy, od etapu rozpoznania zanieczyszczenia, poprzez charakterystykę terenu pod względem budowy geologicznej i warunków hydrogeologicznych, przygotowanie niezbędnych dokumentacji, po wykonanie remediacji wybranymi metodami, na badaniach końcowych, potwierdzających efekt ekologiczny kończąc.

7.1. Metoda in situ – fitoremediacja

Fitoremediacja, wykorzystuje właściwości różnych gatunków roślin i ich odpowiedzi fizjologiczne na zastane zanieczyszczenie. Metodę tę można stosować zarówno do zanieczyszczeń gruntu substancjami ropopochodnymi, jak również metalami ciężkimi. Najlepsze efekty są możliwe do osiągnięcia w przypadku gleb umiarkowanie zanieczyszczonych, gdzie czas trwania procesu może być stosunkowo krótki (około 2-3 lata).

Metoda jest możliwa do zastosowania na powierzchniach zanieczyszczonych, które mogą być wyłączone na pewien czas z innego użytkowania niż polegające na uprawie roślin oczyszczających glebę.

7.1.1. Gleba zanieczyszczona metalami ciężkimi

W stosunku do gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi, gdzie zanieczyszczenie zalega stosunkowo płytko (nie przekracza głębokości 1 m p.p.t.) proponuje się stosowanie gatunku krzewiastego, rokitnika zwyczajnego *Hippophae rhamnoides*. Zastosowanie tej rośliny uzależnione jest od lokalnych uwarunkowań siedliskowych oraz przede wszystkim technicznych (ze względu na rozłożystość rośliny po osiągnięciu nominalnej dojrzałości wegetatywnej).

Roślina ta powszechnie uważana za hiperakumulator metali ciężkich będzie wspomagała samooczyszczanie się gleby poprzez fitoekstrakcję tj. pobieranie zanieczyszczeń przez system korzeniowy rośliny i ich translokację do części nadziemnych, a także poprzez fitodegradację, która polega na zdolności tego gatunku do pobierania zanieczyszczeń ze skażonego miejsc, a następnie ich transformacji za pomocą kompleksów enzymatycznych cyklu metabolicznego. Fitodegradacja może również zachodzić w strefie korzeniowej rośliny, dzięki enzymom wydzielanym bezpośrednio do środowiska glebowego.

Rokitnik zwyczajny jest krzewem osiagajacym wysokość do około 3 m, który porasta na glebach różnego rodzaju, od piaszczystych po zaglinione. Roślina ta ma dosyć niskie wymagania ekologiczne pod względem składników odżywczych oraz wilgotności gleby, natomiast preferuje dużo światła oraz zasadowy odczyn gleby. Roślina stanowi gatunek rodzimy, chociaż w Polsce naturalne jego stanowiska występują wyłącznie na wybrzeżu Morza Bałtyckiego. Często stosowana jako gatunek ozdobny, a ze względu na specyficzny system korzeniowy doskonale nadaje się do umacniania skarp. W stanie dzikim rokitnik zwyczajny objęty jest częściową ochroną gatunkową na mocy Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin (Dz. U. 2014, poz. 1409).

Rokitnik ma bardzo dobrze rozwinięty system korzeniowy, rozmieszczony tuż pod powierzchnią gleby. Główna masa korzeni zalega na głębokości 50 cm w obrębie projekcji korony — 2–3 m od pnia. Charakterystyczną cechą rokitnika jest tworzenie korzeniowych odrostów.

Dodatkowo zastosowanie tej rośliny może powodować wzrost różnorodności biologicznej okolicy, w której jest stosowany oraz poprawę warunków estetycznych. Roślina nie jest gatunkiem inwazyjnym, toteż nie zachodzi niebezpieczeństwo jej niepożądanego rozrostu w sposób niekontrolowany.

Prace fitoremediacyjne, które wykonujemy podzielone są na kilka etapów:

Prace przygotowawcze

Wczesną wiosną (przełom marca i kwietnia), po rozmarznięciu powierzchniowej warstwy gleby i przy dogodnych warunkach atmosferycznych należy wykonać prace przygotowawcze polegające na zbiorze obumarłej biomasy (jeżeli taka się znajduje na remediowanej powierzchni), następnie pobrać próbki gleby do badań laboratoryjnych w celu określenia lokalnych warunków siedliskowych. Wykonywane są podstawowe analizy, które określają zasobność siedliska pod kątem możliwości zastosowania konkretnego gatunku rośliny:

- Skład granulometryczny,
- Zawartość materii organicznej
- Wilgotność gleby,
- Odczyn,
- Azot ogólny i azot przyswajalny,
- Zawartość wapnia,
- Przewodność: Mg, K, P

Ponadto w celu poznania pojemności wymiany kationów PWK (Cation exchange capacity) oraz stopnia wysycenia gleb zasadami (degree of soil saturation by alkalis) zaleca się zbadanie właściwości gleb, takich jak:

- Na i Ca – zawartość całkowita,
- Kwasowości hydrolityczna,
- Zasadowości ogólna.

Dzięki określeniu lokalnych warunków siedliskowych możemy, w razie pewnych niedoborów składników odżywczych poprawić zasobność gleby tak, aby jak najlepiej zoptymalizować i zintensyfikować proces fitoremediacji. W tym celu przed przystąpieniem do właściwych nasadzeń na remediowaną powierzchnię dozowany jest odpowiedni dodatek doglebowy np. bentonit na bazie montmorylonitu, wapno dolomitowe, mączka bazaltowa czy drobnoziarnista frakcja węgla brunatnego, w dawce określonej indywidualnie na podstawie uzyskanych wyników badań. W przypadku zastania wystarczających warunków siedliskowych etap wspomaganie dodatkami glebowymi jest pomijany.

Nasadzenia

Nasadzenia dokonuje się w liczbie 20-30 sadzonek w stanie bezlistnym, na 100 m² remediowanej powierzchni, uwzględniając rozłożystość jej części nadziemnych oraz zasięg bryły korzeniowej. Poszczególne sadzonki należy rozmieścić na całej powierzchni, w równych odstępach. Rośliny nasadzone są ręcznie. Przed usadowieniem sadzonki należy wykonać dół o wymiarach odpowiadającym wielkości bryły korzeniowej. Na dno dołu nasypać około 5 cm warstwa gleby próchnicznej, po usadowieniu sadzonki w dole roślinę ponownie obsypać ją glebą próchniczną. Następnie glebę należy ubić, a wokół jej pnia uformować niewielkie zagłębienie, które wypełniane jest wodą.

Wczesna wiosna jest najlepszym okresem na nasadzenia rokitnika. Roślina ta, ma zdolności do stosunkowo wczesnej wegetacji, a jak najwcześniejsze nasadzenie pozwala w pełni wykorzystać długość całego okresu wegetacyjnego.

Prace pielęgnacyjne

W okresie do 3 tygodni od dokonania nasadzenia należy zapewnić dobre warunki wilgotnościowe roślinom. W przypadku niekorzystnych warunków atmosferycznych (brak opadów) powinno się podlewać sadzonki, by zapewnić wysoką wilgotność gleby, która jest istotna w początkowym etapie wzrostu roślin.

W pierwszym roku po posadzeniu roślin nie trzeba nawozić, wystarczy jedynie regularnie je podlewać i odchwaszczać. Na powierzchni ziemi wokół nich dobrze jest rozłożyć ściółkę (na przykład warstwę z przekompostowanej kory grubości 5-8 cm). Zapobiegnie ona intensywnemu parowaniu wody z gleby i ograniczy wzrost chwastów. W kolejnych latach uprawy większość gatunków wystarczy podlewać tylko w czasie przedłużającej się suszy, szczególnie jeśli wypada ona w czasie kwitnienia.

Badania weryfikacyjne

Po zakończeniu okresu wegetacyjnego (koniec października) z remediowanej powierzchni należy pobierać próbki do badań laboratoryjnych w celu określenia tempa postępowania procesy fitoremediacji. Próbkę pobiera się w ilości określonej w projekcie planu remediacji, indywidualnie dla danego terenu.

W drugim i kolejnym roku prowadzenia procesu fitoremediacji próbki pobiera się na początku i na końcu okresu wegetacyjnego, w celu weryfikacji postępu zachodzącego procesu fitoekstrakcji i fitodegradacji. W razie konieczności ponawiane są czynności wyszczególnione w pracach przygotowawczych (wzbogacenie siedliska poprzez dodatki dogłebowe).

Po osiągnięciu efektu ekologicznego rośliny wykorzystane w procesie fitoremediacji pozostają na remediowanej powierzchni, stanowiąc element dekoracyjny lub w przypadku takiego zapotrzebowania wynikającego ze sposobu zagospodarowania terenu są usuwane.

7.1.2 Gleba zanieczyszczona substancjami ropopochodnymi

W przypadku gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi w jej powierzchniowej warstwie, w zakresie głębokościowym 0-0,25 m p.p.t stosujemy mieszanki nasion tworzące tzw. łąki kwietne, o składzie gatunkowym opartym przede wszystkim na gatunkach dobrze akumulujących i metabolizujących substancje ropopochodne, jak różne rodzaje traw, babka lancetowata *Plantago lanceolata* czy koniczyna biała *Trifolium repens* i czerwona *Trifolium pratense*. Są to gatunki przystosowane do umiarkowanego światła, odporne na okresowe niedobory wody, dla których siedlisko stanowią zwłaszcza gleby piaszczyste lub gliniaste. Wskazane jest okresowe prowadzenie zabiegów pielęgnacyjnych polegających na wykaszaniu roślinności zielnej i usuwaniu biomasy.

Proponowana usługa remediacji gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi jest dla powierzchni terenu do 1 ha.

Prace przygotowawcze

W okresie wczesnej wiosny należy wykonać prace przygotowawcze, polegające na zbiorze biomasy stanowiącej pozostałości listowia drzew i krzewów (o ile występują na zanieczyszczonej powierzchni). Prace wykonuje się ręcznie (grabienie). Po usunięciu pozostałości listowia, na tej samej powierzchni dokonuje się pokosu istniejącej roślinności zielnej. Zebraną biomasę zagospodarowuje się zgodnie z przepisami określającymi gospodarkę odpadami.

Po dokonaniu pokosu i zbiorze biomasy trzeba wykonać prace przygotowujące glebę do wysiewu. Przeprowadza się je spulchniając i napowietrzając wierzchnią warstwę gleby, do około 10-15 cm, przy pomocy glebogryzarki.

Pierwszy wysiew

Początkiem kwietnia należy przystąpić się do wysiewu roślinności, za pomocą której przeprowadzana będzie fitoremediacja. Najefektywniejsza powinna być uprawa mieszanki nasion kwiatów i traw zawierającej duże ilości koniczyny białej *Trifolium repens* i czerwonej *Trifolium pratense* w mieszance z trawami (w tym z udziałem babki lancetowatej *Plantago lanceolata*, która jest gatunkiem dobrze akumulującym i metabolizującym substancje ropopochodne). Do wysiewu na przykładowej powierzchni 1000 m² należy przygotować mieszankę nasion 1-1,5 kg. Wysiew dokonywany jest ręcznie lub przy użyciu siewnika, poprzez rozsiewanie nasion równomiernie na całej powierzchni przygotowanej do obsiewu.

Wczesna wiosna jest najlepszym okresem na wysiew mieszanki nasiennej, z dużym udziałem traw. Należy unikać rozsiewu nasion w okresach intensywnych opadów deszczu, w związku z możliwością spływu materiału nasiennego.

Prace pielęgnacyjne

W okresie do 3 tygodni od dokonania obsiewu należy zapewnić dobre warunki wilgotnościowe kiełkującym roślinom. W przypadku niekorzystnych warunków atmosferycznych (brak opadów) obsiany teren powinien być podlewany, by zapewnić wysoką wilgotność gleby, która jest istotna w początkowym etapie wzrostu roślin.

Pierwszy pokos

Pierwszego pokosu należy dokonać w pierwszym tygodniu czerwca. Przy małych powierzchniach pokosu dokonuje się go z wykorzystaniem ręcznych wykaszarek elektrycznych lub spalinowych. Po wykonaniu pokosu biomasę należy zbierać i zagospodarować zgodnie z przepisami określającymi gospodarkę odpadami.

Postępowanie po pierwszym pokosie

Po wykonaniu pierwszego pokosu i zebraniu biomasy obsiany teren pozostawiany jest do spoczynku. Koniczyna i trawy mają zdolność rozwoju zarówno generatywnego, jak również wegetatywnego, toteż w przypadku wcześniejszego, licznego występowania na danym terenie możliwy jest ponowny wzrost w ciągu danego okresu wegetacyjnego, pod warunkiem utrzymania odpowiedniej wilgotności gleby, bez konieczności ponownego wysiewu.

Drugi wysiew

Drugiego wysiewu można dokonać w przypadku stwierdzenia znacznych ubytków w areale roślinnym na powierzchni poddawanej fitoremediacji. Najkorzystniejszym okresem do wykonania tego zabiegu jest początek sierpnia. Stosuje się podobną mieszankę nasienną, jak w przypadku pierwszego wysiewu, w proporcji do 1,5 kg/1000 m². Po dokonaniu dosiewu należy zapewnić odpowiednie warunki wilgotnościowe gleby, polegające na okresowym podlewaniu w przypadku braku opadów atmosferycznych.

Drugi pokos

Drugiego pokosu należy dokonać w drugiej połowie sierpnia. Po wykonaniu pokosu biomasę należy zbierać i zagospodarować zgodnie z przepisami określającymi gospodarkę odpadami.

Postępowanie po drugim pokosie

Po dokonaniu drugiego pokosu powierzchnia, na której wykonuje się zabiegi fitoremediacji pozostawiana jest w spoczynku na okres około 3 tygodni. W okresie tym powinna wystąpić wzmożona aktywności mikroorganizmów glebowych, które z reguły dobrze metabolizują substancje ropopochodne.

Po okresie spoczynku, w drugiej połowie listopada, należy pobierać próbki z powierzchniowej warstwy gleby do badań laboratoryjnych na weryfikację zawartości substancji ropopochodnych, w celu zbadania skuteczności i tempa zabiegów remediacyjnych prowadzonych przez cały okres wegetacyjny danego roku.

Próbki pobierane są zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 roku w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016, poz. 1395), tj. 15 próbek pojedynczych z każdej wyznaczonej sekcji badawczej, w celu uzyskania jednej próbki zbiorczej na sekcję.

Wyniki badań są analizowane pod kątem skuteczności i szybkości prowadzonych zabiegów fitoremediacyjnych. Uzyskane wyniki badań pozwalają określić przybliżony okres osiągnięcia zakładanego efektu ekologicznego i zaplanować prace na kolejne okresy wegetacyjne.

W przypadku nieosiągnięcia dopuszczalnego stężenia substancji ropopochodnych, w powierzchniowej warstwie gleby po jednym roku prowadzenia fitoremediacji, proces należy powtórzyć w kolejnym roku, analogicznie jak w pierwszym roku przeprowadzania fitoremediacji.

Poszczególne etapy prowadzenia zabiegów związanych z fitoremediacją uzależnione są od aktualnie występujących warunków atmosferycznych, zwłaszcza takich jak mrozy lub przymrozki, zaleganie pokrywy śnieżnej, występowanie deszczy nawalnych.

7.2. Metoda in situ – bioremediacja

Do zanieczyszczeń gruntu substancjami ropopochodnymi, zalegającymi na większych głębokościach, jak również przykrytych warstwami ekranującymi (ciągi komunikacyjne, place manewrowe, płyty postojowe i inne) zaleca się zastosować biologiczną metodę remediacji, określaną w nomenklaturze jako bioremediacja z wykorzystaniem mikroorganizmów. Jest to metoda usuwania zanieczyszczeń gruntu, wykorzystująca żywe mikroorganizmy w celu przekształcenia zanieczyszczeń w formy mniej szkodliwe. Polega na systematycznym i okresowym dodawaniu do gruntu bakterii zdolnych do metabolizowania substancji ropopochodnych, węglowodorów alifatycznych i węglowodorów aromatycznych.

W przypadku węglowodorów alifatycznych i aromatycznych, dobór odpowiednich parametrów prowadzenia procesu oczyszczania tj. odpowiednie natlenienie gruntu oraz wzbogacanie go w substancje odżywcze, pozwala na stworzenie korzystnych warunków dla mikroflory, która czerpie energię z rozkładu węglowodorów powodując ich biologiczną degradację. Mikrobiologiczna remediacja przy użyciu mikroorganizmów jest bezpieczna dla środowiska. Bakterie naturalne i inne organizmy wyizolowane z zanieczyszczonego gruntu rozkładają zanieczyszczenia pochodzenia organicznego na CO₂, H₂O i proste sole, czyli na produkty rozkładu niezagrażające środowisku i przyjazne dla niego, co pozwala na redukcję zanieczyszczeń rezydualnych.

W przypadku substancji organicznych o złożonej strukturze chemicznej, bakterie doprowadzają do rozrywania ich wiązań, w wyniku czego powstają związki organiczne prostsze, które bakterie potrafią utylizować. Rozkład tlenowy eliminuje uwalnianie się zapachów pochodzących z procesów beztlenowych, efektywnie oraz szybko eliminuje lekkie i lotne związki chemiczne z grupy BTEX.

Aplikacja bioroztworu

Przy zanieczyszczeniu występującym w powierzchniowej warstwie gruntu zaleca się hydroobsiew bioroztworem rozcieńczonym z wodą w proporcjach 1:3. Należy utrzymać remediowaną strefę w warunkach wilgotności na poziomie 50-60%. W przypadku zanieczyszczenia węglowodorami występującego w głębszych partiach gleby stężony bioroztwór z namnożonymi bakteriami należy wprowadzić do gruntu poprzez system rozsączania. Warunkiem zastosowania bioremediacji w głębszych interwałach gleby jest występowania wody gruntowej jako ośrodka odpowiedzialnego za rozchodzenie się bioroztworu w zanieczyszczonej strefie. W następnym kroku, celem intensyfikacji procesu remediowany grunt jest systematycznie napowietrzany przy użyciu systemu drenów napowietrzających. W skutek większej ilości składników odżywczych, tj. tlenu oraz węglowodorów, występujących jako zanieczyszczenie, następuje znacznie większy od naturalnego wzrost liczebności bakterii tlenowych i proces samooczyszczania (naturalnej bioremediacji) zachodzi coraz szybciej. Im większy zakres napowietrzania strefy saturacji gruntów, tym większy następuje stopień redukcji zanieczyszczeń.

W procesie bioremediacji stosowane są bakterie tlenowe z rodzaju *Bacillus* Sp. o zawiesinie od 10⁶ do 10⁸ jtk/ml. Ostateczne dawki roztworu ustala się i weryfikuje w trakcie trwania procesu remediacji na podstawie badań laboratoryjnych. Zaleca się, aby po miesiącu od rozpoczęcia prac dokonać pierwszej weryfikacji dawek, które uzależnione są od zastanych warunków glebowych (m.in. wilgotność, poziom napowietrzenia), co bezpośrednio powiązane jest z warunkami atmosferycznymi (m.in. temperatura powietrza, czas trwania i natężenie opadów atmosferycznych, występowanie lokalnych podtopień lub susz).

W celu iniekcji bakterii i bioroztworu, wokół wyznaczonego obszaru zanieczyszczonego należy wykonać tzw. otwory aplikacyjne, którymi bioroztwór jest rozsączany wraz z wodą. Ilość

otworów aplikacyjnych uzależniona jest od lokalnych warunków infrastrukturalnych (uzbrojenie podziemne, istniejące kanały technologiczne z okablowaniem, itp.), które mają wpływ na możliwość wykonania odwiertu. Roztwór wodny namnożonych bakterii wraz z odżywkami (bioroztwór) dawkowany jest do każdego otworu indywidualnie poprzez zatłaczanie pompą, umieszczoną w zbiorniku z bioroztworem.

W kolejnym etapie bioroztwór należy aplikować do środowiska gruntowego na całym remediowanym obszarze poprzez otwory wielofunkcyjne, wykorzystywane również do natleniania gruntu. Aplikacja bioroztworu z pożywkami bakteryjnymi jest niezbędna do właściwego przebiegu procesu bioremediacji poprzez utrzymanie właściwego stosunku C:N:P w gruncie.

8. WNIOSKI

W niniejszej pracy przedstawiono technologie oczyszczania gleb zanieczyszczonych węglowodorami ropopochodnymi oraz metalami ciężkimi z wykorzystaniem fitoremediacji, bioremediacji i wspomaganiej fitostabilizacji przy użyciu naturalnych dodatków. Opracowano metodykę remediacji gleb zanieczyszczonych zarówno węglowodorami C₆-C₁₂ składników frakcji benzyn, C₁₂-C₃₅ składników frakcji oleju, jak i metalami ciężkimi, począwszy od badań laboratoryjnych (badania wazonowe) po badania polowe.

Realizacja poszczególnych etapów pracy oraz wyniki badań prowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej umożliwiły osiągnięcie założonych celów oraz sformułowanie następujących wniosków:

1. Bioremediacja, w której proces biodegradacji zaczyna się niezwłocznie po iniekcji preparatu jest efektywną i najszybszą metodą oczyszczania terenów zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi, pod warunkiem, że utrzymywana jest odpowiednia wilgotność gleby oraz zapewniony jest stały, wysoki poziom tlenu. Bioremediacja przebiega najefektywniej i najszybciej w warunkach dobrego napowietrzenia i uwilgotnienia gleby.
2. Równie skuteczną i najkorzystniejszą ekonomicznie, ale stosunkowo długotrwałą metodą, niewymagającą dużego zaangażowania w postaci prac terenowych, jest fitoremediacja powierzchniowej warstwy gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi z zastosowaniem mieszanki gatunków kwiatów i traw tworzącą łąki kwietne, którą można stosować na zanieczyszczonych terenach o dużych powierzchniach.
3. Utworzona przez mieszankę kwiatów i traw na zanieczyszczonej glebie zwarta pokrywa roślinna, charakteryzująca się gęstym systemem korzeniowym, zabezpieczyła glebę przed pyleniem oraz migracją zanieczyszczeń do głębszych warstw.
4. Na zanieczyszczonych terenach o niewielkich powierzchniach lub zanieczyszczonych punktowo równie skuteczną metodą remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami

ropopochodnymi okazała się fitoremediacja z zastosowaniem sadzonek morwy białej *Morus alba*. Zasięg głębokościowy tej metody ograniczony jest do poziomu występowania strefy korzeniowej morwy białej.

5. W przypadku fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi, najszybszą metodą remediacji okazało się użycie sadzonek rokitnika zwyczajnego i wierzby wiciowej.

6. Efekt remediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi przy użyciu sadzonek śnieguliczki białej był słabszy niż przy wykorzystaniu sadzonek rokitnika zwyczajnego i wierzby wiciowej.

7. Wprowadzenie do gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, dodatków stabilizujących w postaci wapna, bentonitu na bazie montmorylonitu, drobnoziarnistej frakcji odpadowej węgla brunatnego oraz mączki bazaltowej w istotny sposób wpłynęło na redukcję całkowitych stężeń metali ciężkich przez czynnik remediujący, którym był rokitnik zwyczajny.

8. Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu wazonowego wprowadzania dodatków glebowych oraz uzyskanych wyników badań stwierdzono, że dodatek doglebowy w postaci bentonitu z montmorylonitem (w dawce 5%) można uznać za substancję, która najskuteczniej zoptymalizowała proces fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi przy wykorzystaniu sadzonek rokitnika zwyczajnego.

8. PODSUMOWANIE

Na terenach poprzemysłowych, na których funkcjonowały zakłady przemysłowe zanieczyszczenie gruntu jest zjawiskiem powszechnym. W glebach często występują podwyższone wartości kilku metali ciężkich równocześnie, spośród których wysokie stężenia przekraczające wartości normatywne określone dla terenów przemysłowych wg Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016 poz. 1935) notuje się zazwyczaj dla 1-3 metali, zależnie od rodzaju prowadzonej działalności przemysłowej (Kabir i in., 2012; Karczewska i Kabała, 2010). Na wytypowanym do badań poletku doświadczalnym będącym fragmentem terenu w obrębie byłej Huty Jedność, w Siemianowicach Śląskich stwierdzono występowanie podwyższonych wartości metali ciężkich, z czego dwa (kadm i cynk) przekraczały wartości dopuszczalne określone dla IV grupy gruntów (tereny przemysłowe) w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. 2016 poz. 1935). Jak podaje Kabata-Pendias i Pendias (1999) usunięcie cynku, poprzez naturalnie zachodzące procesy w glebach piaszczystych trwa tysiące lat. Z kolei usunięcie miedzi, nawet dziesiątki tysięcy lat. Jednak największe zagrożenie dla środowiska naturalnego stanowi ołów i kadm, a następnie arsen, chrom, rtęć i cynk (Salt i in., 1998).

Uzyskane wyniki badań laboratoryjnych poparte literaturą jednoznacznie wskazywały, że podjęcie działań mających na celu oczyszczenie zdegradowanych gleb jest możliwe.

Jedną z naturalnych metod oczyszczania terenów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi i metalami ciężkimi jest remediacja *in situ* wykorzystująca naturalne właściwości organizmów żywych oraz dodatki doglebowe. Ten naturalny proces unieszkodliwiania lub unieruchamiania zanieczyszczeń zidentyfikowanych w obszarze występowania gleb skażonych poprzez zastosowanie rodzimych, mało ekspansywnych gatunków roślin oraz właściwości skał jest zrównoważony ekologicznie oraz posiada walory ekonomiczne.

Pomysł zastosowania roślin do remediacji środowiska naturalnego wykorzystywany był od dawna, jednak dopiero ostatnio opracowano technologie stosujące różne odpowiednio dobrane warianty pod kątem zidentyfikowanego zanieczyszczenia i czynników środowiskowych (Seo i in., 2007). Zastosowanie metody fitoremediacji może być stosowane na terenach, z których usunięcie zanieczyszczonego gruntu może być problematyczne technicznie lub nieuzasadnione ekonomicznie. Uzyskane efekty dowodzą istotnego wpływu roślin na proces oczyszczania gleby z produktów ropopochodnych oraz metali ciężkich.

Celem pracy była poprawa efektywności wybranych metod remediacji gleb, w różnym stopniu zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi, a także metalami ciężkimi. W rezultacie laboratoryjnych badań fizyko-chemicznych ukierunkowanych na oznaczenie zawartości substancji ropopochodnych oraz metali ciężkich w próbkach gleb pochodzących z miejsc o różnym rodzaju i poziomie zanieczyszczenia gleby uzyskano zbiór informacji na temat poziomów zawartości wybranych parametrów w materiale badawczym. Badania prowadzono w latach 2018–2022 w warunkach polowych, a także w postaci doświadczeń wazonowych i badań instrumentalnych. Zbiór danych dotyczących poziomów stężeń związków ropopochodnych oraz metali ciężkich w próbkach gleb został wykorzystany do głównego celu niniejszej rozprawy, czyli sprawdzenia możliwości remediacyjnych poszczególnych gatunków roślin, bakterii oraz naturalnych dodatków glebowych.

Redukcja stężeń metali ciężkich w badanych próbkach gleby została określona na podstawie zmiany ich koncentracji w środowisku glebowym. Większość danych literaturowych dotyczących wpływu metali ciężkich na środowisko gruntowe odnosi się do ich biodostępnych form chemicznych. Całkowita zawartość metali w glebie nie pozwala określić ich bioprzyswajalności, jednak z punktu widzenia właściciela zanieczyszczonej nieruchomości gruntowej istotne jest spełnienie aktualnie obowiązujących wymagań prawnych w zakresie zanieczyszczenia powierzchni ziemi, które odnoszą się do całkowitej zawartości metali w glebie, nie uwzględniając związków w jakich występują one w środowisku. W związku z powyższym, wyniki badań uzyskane w niniejszej pracy dotyczą całkowitej zawartości metali ciężkich w glebie, zgodnie z obowiązującymi regulacjami prawnymi.

W procesie fitoremediacji testowano różne gatunki roślin: mieszankę kwiatów i traw tworzącą tzw. „łąki kwietne”, morwę białą *Morus alba*, wierzbę wiciową *Salix viminalis*, rokitnika zwyczajnego

Hippophae rhamnoides oraz śnieguliczkę białą *Symphoricarpos albus*, które wybrano pod kątem mechanizmów reakcji roślin na poszczególne zanieczyszczenia.

W procesie fitoremediacji gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi skutecznym, najbardziej ekonomicznym, ale długotrwałym rozwiązaniem okazało się zastosowanie mieszanki kwiatów i traw tworzących „łąki kwietne”. Gleba zanieczyszczona sumą węglowodorów C₁₂-C₃₅, składników frakcji oleju, w efekcie fitoremediacji przy użyciu mieszanki tworzącej łąki kwietne, charakteryzowała się redukcją tych węglowodorów o ok. 76% wstępnie zidentyfikowanego zanieczyszczenia.

Z kolei zawartość sumy węglowodorów C₆-C₁₂, składników frakcji benzyn, została zredukowana o ok. 99%. Mieszanek nasion tworzącą „łąki kwietne”, dostępną do zakupu w takiej formie można zalecić jako skuteczny fitoremediator gleb zanieczyszczonych przez związki ropopochodne.

Na zanieczyszczonych terenach o niewielkich powierzchniach lub zanieczyszczonych punktowo równie skuteczną metodą remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi okazała się fitoremediacja z zastosowaniem sadzonek morwy białej *Morus alba*. Próbkę gleby poddane fitoremediacji przy użyciu tego gatunku charakteryzowały się redukcją zanieczyszczeń węglowodorami C₁₂-C₃₅ na poziomie od 34,9% do 50,9%.

W przypadku fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi, najszybszą metodą remediacji okazało się użycie sadzonek rokitnika zwyczajnego i wierzby wiciowej. Po 24 miesiącach doświadczenia polowego, badania wykazały, że remediacja gleby skażonej metalami ciężkimi w przedziale 0,25-1,0 m p.p.t., przy użyciu sadzonek rokitnika zwyczajnego charakteryzowała się redukcją zanieczyszczeń w postaci metali ciężkich na poziomie od 6,0% w przypadku baru do 34,1% w przypadku cynku.

Efekt remediacji przy użyciu sadzonek śnieguliczki białej był słabszy niż przy wykorzystaniu sadzonek rokitnika zwyczajnego. Badana gleba charakteryzowała się redukcją zanieczyszczeń na poziomie od 8,1 % w przypadku niklu do 20,8 % w przypadku ołowiu.

Najszybszą i efektywną metodą remediacji *in situ* gruntów zanieczyszczonych węglowodorami ropopochodnymi jest bioremediacja. Do procesu bioremediacji skażonej gleby zastosowano komercyjnie dostępny enzymatyczny preparat mikrobiologiczny firmy Cleanbacter Instytut Technologii Mikrobiologicznych Sp. z o.o. W procesie bioremediacji zastosowano bakterie tlenowe m.in. z rodzaju *Bacillus Sp.*, *Pseudomonas fluorescens* oraz enzymy i biosurfaktanty.

W przypadku gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poszczególne dodatki stabilizujące w postaci wapna, sorbentu mineralnego z montmorylonitem, drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego i mączki bazaltowej wykorzystane w trakcie eksperymentu wazonowego fitoremediacji wspomaganą, w istotny sposób wpłynęły na obniżenie zawartości metali ciężkich, w związku z czym mogą stanowić szybką i skuteczną metodę remediacji dla potrzeb rekultywacji zdegradowanych terenów przemysłowych zanieczyszczonych metalami.

Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu wazonowego wprowadzania dodatków glebowych oraz uzyskanych wyników badań stwierdzono, że dodatek doglebowy w postaci bentonitu z montmorylonitem (w dawce 5%) można uznać za substancję, która najskuteczniej zoptymalizowała proces fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi przy wykorzystaniu sadzonek rokitnika zwyczajnego.

W wyniku zastosowania bentonitu stężenie arsenu, baru, chromu, kadmu i ołowiu obniżyło się odpowiednio o 7,3%, 7,4%, 21,1%, 24,5%, 2,8%. Z kolei w przypadku zastosowania drobnoziarnistej frakcji węgla brunatnego w istotny sposób obniżono zawartość arsenu, chromu, cynku, kadmu i miedzi o odpowiednio 6,1%, 13,3%, 10%, 15,1% i 20,8%.

Jak wykazały badania, fitoremediacja jest stosunkowo długotrwałą, ale skuteczną metodą w oczyszczaniu gleby. Zarówno proces fitoremediacji jak i bioremediacji gleby przyczynił się do redukcji zanieczyszczenia i uzyskania stężenia zanieczyszczeń mieszczących się w wartościach dopuszczalnych określonym w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. *w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi* (Dz. U. 2016 poz. 1935).

Prace eksperymentalne niezbędne do realizacji rozprawy doktorskiej zostały zakończone, a cele badawcze postawione do realizacji projektu zostały zrealizowane. Metody remediacji *in situ* zostały wdrożone w ramach świadczonych usług w firmie GBA Polska (dawniej JARS S.A.) i wykorzystane do realizacji zleceń remediacji zanieczyszczonych terenów na rzecz klientów.

Świadczenie usługi oczyszczania terenów zanieczyszczonych metodami, które są korzystne ekonomicznie, łatwo dostępne i przynoszące efekty w relatywnie krótkim czasie zdecydowanie ułatwi podmiotom decydowanie się na podjęcie działań mających na celu oczyszczenie zdegradowanych terenów i przywrócenie ich do ponownego zagospodarowania, a tym samym umożliwi firmie GBA Polska Sp. z o.o. świadczenie kompleksowej usługi polegającej na identyfikacji zanieczyszczonego terenu badań, pobieraniu i analizach fizykochemicznych pobranych próbek materiału glebowego, doborze i dostosowaniu metody remediacji w zależności od zidentyfikowanych zanieczyszczeń i preferencji czasowych klienta.

Szybkość i efektywność danej metody remediacji jest decydująca dla ochrony środowiska gruntowego przed potencjalnym jego skażeniem, szczególnie na zdegradowanych terenach przemysłowych charakteryzujących się wysokim stopniem zanieczyszczenia. Jednak należy pamiętać, że bardzo ważnym aspektem jest także czynnik ekonomiczny. Opracowanie korzystnych ekonomicznie, dostępnych i niewymagających dużego wkładu w prace terenowe metod remediacji, otwiera drogę do oczyszczania zanieczyszczonych i zdegradowanych gruntów właścicielom nieruchomości, którzy wcześniej ze względów ekonomicznych nie mogli sobie pozwolić na podjęcie tych działań.

9. LITERATURA

- Abollino O., Giacomino A., Malandrino M., Mentasti E., 2008. Interactions of metal ions with montmorillonite and vermiculite. *Applied Clay Science*, 38, 227-236.
- Akar S.T., Gorgulu A., Anilan B., Kaynak Z., Akar T., 2009. Investigation of the biosorption characteristics of lead(II) ions onto *Symphoricarpus albus*: Batch and dynamic flow studies. *Journal of Hazardous Materials*, 165, 126-133.
- Alexander M., 1999. *Biodegradation and bioremediation*. Academic Press, San Diego, USA.
- Ali H., Khan E., Sajad M. A. 2013. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869–881.
- Alloway B.J., Ayres D.C., 1999. *Chemiczne podstawy zanieczyszczenia środowiska*, PWN, Warszawa.
- Alvarez-Ayuso E., Garcia-Sanchez A., 2003a. Sepiolite as a feasible soil additive for the immobilization of cadmium and zinc. *Science of the Total Environment*, 305, 1-12.
- Alvarez-Ayuso E., Garcia-Sanchez A., 2003b. Palygorskite as a feasible amendment to stabilize heavy metal polluted soils. *Environmental Pollution*, 125, 337-344.
- Andreolli M., Lampis S., Poli M., Gullner G., Biró B., Vallini G., 2013. Endophytic Burkholderia fungorum DBT1 can improve phytoremediation efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere* 92, 688-694.
- Ashfagh M., Afzal W., Hanif M. A., 2009. Effect of Zn (II) deposition in soil on mulberry-silk worm food chain. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 9, 1665-1672.
- Atlas R. M., 1995. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. *Marine Pollution Bulletin*, 31, 178–182.
- Azubuikwe C., Chikere C., Okpokwasili G., 2016. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32, 180.
- Baran S., 2000. *Ocena stanu degradacji i rekultywacji gleb*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Lublinie. Lublin, 2000.
- Baran S., Martyn W., Flis – Bujak M., Pietrasik W., 1995. Problemy rekultywacji gleb zanieczyszczonych przez metale ciężkie. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 418, 697-702.

- Baran S., Wójcikowska-Kapusta A., Jaworska B., 2001. Przydatność wikliny do sanacji gleb zanieczyszczonych miedzią i ołowiem. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 477, 187–193.
- Bednarski W., Fiedurek J. (red.), 2012. *Podstawy biotechnologii przemysłowej*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
- Berti W. R., Cunningham S. D., Cooper E. M., 1998. Case studies in the field - in-place inactivation and phytoremediation of Pb-contaminated sites. (W:) Vangronsveld J., Cunningham S. D. (red.), *Metal-contaminated Soils in situ Inactivation and Phytoremediation*. Springer-Verlag Berlin, Georgetown, TX, USA, 235-248.
- Bogatu C., Lazarovici M., Masu S., Ne grea A., Mosoarca G., Ciopec M., Dragomir N., 2007. Mobilization of heavy metals from mining wastes by their Covering with soil and phytoremediation. *Chemical Bulletin of Politehnica University of Timisoara*, 52, 1-2, 27-30.
- Bolan, N. S., Adriano, D. C., Mani, P. A., Duraisamy, A., 2003. Immobilization and phytoavailability of cadmium in variable charge soils. II. Effect of lime addition. *Plant and Soil*, 251, 187-198.
- Boldrin B., Tiehm A., Fritzsche Ch., 1993. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 1927-1930.
- Boszczyk-Maleszak H., Bieszkiewicz E., Lelas A., Dukielska A., Kacieszczenko J., 2000. Wpływ wybranych czynników biotycznych na przebieg biodegradacji produktów naftowych w gruncie. *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej* 1487, 109–118.
- Boyer M.J., Brummer J.E., Leininger W.C., 2009. Growth and metal accumulation of geyer and mountain willow grown in topsoil versus amended mine tailings. *Water, Air & Soil Pollution*, 198, 17–29.
- Cai Z., Zhou Q., Peng S., Li K., 2010. Promoted biodegradation and microbiological effects of petroleum hydrocarbons by *Impatiens balsamina* L. With strong endurance. *Journal of Hazardous Materials*, 183, 731–737.
- Cao X., Wahbi A., Ma L., Li B., Yang Y., 2009. Immobilization of Zn, Cu, and Pb in contaminated soils using phosphate rock and phosphoric acid. *Journal of Hazardous Materials*, 164, 555–564.
- Cheng L., Wang Y., Cai Z., Liu J., Yu B., Zhou Q., 2016. Phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated saline-alkali soil by wild ornamental Iridaceae species. *International Journal of Phytoremediation*, 19, 300–308.
- Chmielarz L., 2012. Naturalne krzemiany warstwowe jako materiały do syntezy katalizatorów dla procesu DeNOx (W:) *Adsorbenty i katalizatory: wybrane technologie a środowisko* (red.) J. Ryczkowski. Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów, 7-29.

Chmielnicka J., 1999. Metale i metaloidy (W:) Seńczuk W. (red.) Toksykologia. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 433-511.

Comakli E., 2022. Evaluation of heavy metal accumulation in sediment, surface water and some plants in the Karasu Riparian Zone. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 37, 35-45.

Compant S., Duffy B., Nowak J., Clement C., Barka E. A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 9, 4951-4959.

Corgie S., Joner E., Leyval C., 2003. Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity roots. *Plant and Soil*, 257, 143-150.

Cunningham S.D., Berti W.R., Huang J.W., 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, 13, 293-397.

Debiec-Andrzejewska K., Piatkowska K., Drewniak L., 2019. Remediacja gleb zanieczyszczonych arsenem z wykorzystaniem bakterii utleniających arseniny. *Postępy Mikrobiologii. Suplement*, 58, 1, 110-117.

Doskocil L., Pekar M., 2012. Removal of metal ions from multi-component mixture using natural lignite. *Fuel Processing Technology*, 101, 29-34.

Duan Q., Han G., Cui B., Rennenberg H., 2023. The effects of petroleum contaminated soils on the growth, gas exchange and antioxidative level of sea-buckthorn. *Plant and Soil* 486, 535-550.

Dubas, J. W., 2006. Przegląd możliwości wykorzystania biomasy wierzbowej oraz najbliższa przyszłość jej zastosowania. *Energia Odnawialna*, 2-3, 31-36.

Ernst W. H. O., 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soil by plants, *Applied Geochemistry*, 11, 1-2, 163-167.

Flathman P. E., Lanza G. R., 1998. Phytoremediation: current views on an emerging green technology. *Journal of Soil Contamination*, 7, 415-432.

Gałka B., Chodak T., Szerszeń L., Kaszubkiewicz J., 2011. Skład mineralogiczny odpadowej mączki skalnej i jej przydatność rekultywacyjna. *Roczniki Gleboznawcze Tom LXII*, 2, 95-100.

Garau G., Castaldi P., Santona L., Deiana P., Melis P., 2007. Influence of red mud, zeolite and lime on heavy metal immobilization, culturable heterotrophic microbial populations and enzyme activities in contaminated soil. *Geoderma*, 142, 47-57.

Garcia-Sanchez A., Alastuey A., Querol X., 1999. Heavy metals adsorption by different minerals: application to the remediation of polluted soils. *Science of the Total Environment*, 242, 179-188.

Garcia-Sanchez A., Alvarez-Ayuso E, Rodriguez-Martin F., 2002. Sorption of As(V) by some oxyhydroxides and clay minerals: Application to its immobilisation in two polluted mining soils. *Clay Minerals*, 37, 187-194.

Ghosh M., Sing S. P., 2005. A review of phytoremediation of heavy metals and utilization of its by products. *Asian Journal on Energy and Environment*, 6, 214-231.

Glick B. R., 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 28, 367-374.

Gorelova S.V., Frontasyeva M. V., 2017. The Use of Higher Plants in Biomonitoring and Environmental Bioremediation. (W:) Ansari A., Gill S., Gill R., Lanza G., Newman L. (red.) *Phytoremediation. Management of Environmental Contaminants*, Springer 5, 103-155.

Grobelak A., Kacprzak M., Grosser A., Napora A., 2013. Chemofitostabilizacja gleby zanieczyszczonej kadmem, cynkiem i ołowiem. *Rocznik Ochrona Środowiska*, tom 15, 1982-2002.

Gupta S. S., Bhattacharyya K. G., 2008. Immobilization of Pb(II), Cd(II) and Ni(II) ions on kaolinite and montmorillonite surface from aqueous medium. *Journal of Environmental Management*, 87, 46-58.

Hamon, R. E., McLaughlin, M. J., Cozens, G., 2002. Mechanisms of attenuation of metal availability in *in situ* remediation treatments. *Environmental Science & Technology*, 36, 3991-3996.

Ho Y. N., Mathew D. C., Hsiao S. C., Shih C. H., Chien M. F., Chiang H. M., Huang C. C., 2012. Selection and application of endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain F3B for improving phytoremediation of phenolic pollutants. *Journal of Hazardous Materials*, 219-220, 43-49.

Izdebska-Mucha D., 2005. Wpływ zanieczyszczeń ropopochodnych na wybrane geologiczno-inżynierskie właściwości gruntów spoistych. *Przegląd Geologiczny*, 53, 766-769.

Jadia C., Fulekar M., 2009. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. *African Journal of Biotechnology*, 8, 921-928.

Jakubowski M., Stanisławska-Głubiak E., Gałka B., 2013. Przydatność odpadowego pyłu skalnego do remediacji gleb zanieczyszczonych cynkiem. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, 24,1-4.

Janos P., Vavrova J., Herzogova L., Pilarova V., 2010. Effects of inorganic and organic amendments on the mobility (leachability) of heavy metals in contaminated soil: A sequential extraction study. *Geoderma*, 159, 335-341.

Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*, PWN, Warszawa.

Kabata-Pendias A., Pendias H., 2001. Trace Elements in Soils and Plants. 3rd Edition, CRC Press, Boca Raton.

Kabir E., Ray S., Kim K.H., Yoon H. O., Jeon E. C., Kim Y. S., Cho Y. S., Yun S. T., Brown R. J., 2012. Current status of trace metal pollution in soils affected by industrial activities. *The Scientific World Journal*, 916705, 1-18.

Kałużny K., Hanus-Fajerska E., Ciarkowska, K., 2016. Natural landscaping in industrial areas – case study of Boleslaw Manor. *Acta Horticultura*, 1108, 173-180.

Karczevska A., 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi - formy i rozpuszczalność. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu*, 432, 1-159.

Karczevska A., 2008. Ochrona gleb i rekultywacja terenów zdegradowanych. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Karczevska A., Chodak T., Kaszubkiewicz J., 1996. The suitability of brown coal as a sorbent for heavy metals in polluted soils. *Applied Geochemistry*, 11, 343-346.

Karczevska A., Kabała C., 2010. Gleby zanieczyszczone metalami ciężkimi na Dolnym Śląsku – potrzeby i metody rekultywacji, *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Rolnictwo XCVI*, nr 576, 59–79.

Kasai Y., Takahata Y., Hoaki T., Watanabe K., 2005. Physiological and molecular characterization of a microbial community established in unsaturated, petroleum-contaminated soil. *Environmental Microbiology*, 7, 806-818.

Khan S., Afzal M., Iqbal S., Khan Q. M., 2013. Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere* 4, 1317-1332.

Klimiuk E., Łebkowska M., 2003. *Biotechnologia w ochronie środowiska*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.

Kluk D., Steliga T., 2016. Ocena zmian toksyczności gleby skażonej nikiem i substancjami ropopochodnymi w procesach fitoremediacji. *Nafta-Gaz*, 4, 230–241.

Kluk D., Steliga T., 2019. Potential of *Helianthus annuus* for phytoremediation of lead, zinc, total petroleum hydrocarbons (TPH) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soil. *Nafta-Gaz*, 7, 379–387.

Koev K., Dimitrova Y., 1994. The anatomical and morphological reaction and the accumulative capabilities of *Symphoricarpus albus* and *Lonicera tatarica* in conditions of soil pollution with heavy metals. Proceedings of a jubilee symposium marking 100 years from the birthday of the Academician Boris Stephanov (1894-1979), Sofia, Bulgaria, 2-3 June 1994, 128-134.

- Kołwzan B., 2002., Wykorzystanie mikroorganizmów do oczyszczania gruntów skażonych produktami naftowymi. *Inżynieria Ekologiczna*, 7, 36–44.
- Kołwzan B., 2003. Technologie odolejania gruntów, odpadów ściekowych. *Toksykologia gleb skażonych produktami naftowymi*. *Inżynieria Ekologiczna*, 8, 43–49.
- Kołwzan B., 2008. Ocena przydatności inokulantów do bioremediacji gleby zanieczyszczonej produktami naftowymi. *Ochrona Środowiska*, 30, 3-14.
- Kucharski J., Jastrzębska E., 2001. Aktywność enzymatyczna gleby zanieczyszczonej olejem napędowym. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 476, 181–187.
- Kucharski J., Jastrzębska E., 2006. Effect of heating oil on the activity of soil enzymes and the yield of yellow lupine. *Plant, Soil and Environment*, 52, 220–226.
- Kucharski R., Sas-Nowosielska A., Małkowski E., Japenga J., Kuperberg J. M., Pogrzeba M., Krzyżak J., 2005. The use of indigenous plant species and calcium phosphate for the stabilization of highly metal polluted sites in southern Poland. *Plant and Soil*, 273, 291-305.
- Kumpiene J., 2010. Trace elements immobilization in soil using amendments. W: Hooda (red). *Trace Elements in Soil*, 353-379, John Wiley and Sons, Ltd., United Kingdom.
- Kurleto Ż., Brabowska B., Kaczmarek K., Szymański Ł., 2015. Wiązania chemiczne występujące w montmorylonicie. *Archives of Foundry Engineering*, 15, 79-82.
- Kuzovkina Y. A., Quigley M. F., 2004. Cadmium and copper uptake and translocation in five willow species. *International Journal of Phytoremediation*, 6, 269-287.
- Lang F.S., Destain J., Delvigne F., Druart P., Ongena M., Thonart P., 2016. Characterization and evaluation of the potential of a diesel-degrading bacterial consortium isolated from fresh mangrove sediment. *Water Air Soil Pollution*, 227, 58-77.
- Langauer-Lewowicka H., 2014. *Rtęć*. (W:) Langauer-Lewowicka H. (red), *Metale - zagrożenia środowiskowe i zawodowe*. Wydawnictwo Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, 44-64.
- Langauer-Lewowicka H., Pawlas K., 2014. *Kadm*. (W:) Langauer-Lewowicka H. (red), *Metale - zagrożenia środowiskowe i zawodowe*. Wydawnictwo Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, 65-71.
- Lee J. H., 2013. An overview of phytoremediation as a potentially promising technology for environmental pollution control. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 431–439.

Liu R., Jadeja R. N., Zhou Q., Liu Z., 2012. Treatment and remediation of petroleum-contaminated soils using selective ornamental plants. *Environmental Engineering Science*, 29, 494–501.

Logeshwaran P., Megharaj M., Chadalavada S., Bowman M., Naidu R., 2018. Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. *Environmental Technology & Innovation*, 10, 175-193.

Lothenbach B., Furrer G., Schulin R., 1997. Immobilization of heavy metals by polynuclear aluminium and montmorillonite compounds. *Environmental Science and Technology*, 31, 1452-1462.

Łaszczyca P., Augustyniak M., Babczyńska A., Bednarska K., Kafel A., Migula P., Wilczek G., Witas I., 2004. Profiles of enzymatic activity in earthworms from zinc, lead and cadmium polluted areas near Olkusz (Poland). *Environment International*, 30, 901-910.

Maciejewska A., 1998. Węgiel brunatny jako źródło substancji organicznej i jego wpływ na właściwości gleb. *Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej*, Warszawa.

Maciejewska A., Kwiatkowska J., 2003. Heavy metals accumulation by plants for soils treated by the brown coal derived preparation. W: *Obieg pierwiastków w przyrodzie*. (Red.) B. Gworek, J. Misiaka, T. 2. Wydawnictwo Naukowe Gabriel Borowski, Lublin, 594-600.

Mahar A., Wang P., Ali A., Awasthi M. K., Lahori A. H., Wang Q., Li R., Zhang Z., 2016. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 126, 111–121.

Mahbub K. R., Bahar M. M., Labbate M., Krishnan K., Andrews S., Naidu R., Megharaj M., 2017. Bioremediation of mercury: not properly exploited in contaminated soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 963–976.

Maliszewski M., 2021. Wstępne badania właściwości fizyko-chemicznych bazaltowej mączki skalnej z kopalni Męcinka na Dolnym Śląsku do zastosowania w rolnictwie. *Mining Science*, 28, 175-187.

Małachowska-Jutsz A., Mrozowiska J., Kozielska M., Mikach K., 1997. Aktywność enzymatyczna w glebie skażonej związkami ropopochodnymi w procesie jej detoksykacji. *Biotechnologia*, 1, 79–91.

Małachowska-Jutsz A., Janosz W., Rudek J. 2012. Toksyczność gleby zanieczyszczonej olejem silnikowym poddanej samooczyszczaniu oraz fitoremediacji. *Toxicity of Engine Oil Contaminated Soil Made Subject to Natural Attenuation and Phytoremediation*. *Ochrona Środowiska*, 34, 1, 15–20.

Małuszyński M. J., Małuszyńska I., 2009. Odporność wybranych gatunków roślin na zanieczyszczenie gleby przepracowanych olejem silnikowym. *Inżynieria Ekologiczna*, 21, 40-47.

- Mani D., Kumar C., 2014. Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special reference to phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11, 843–872.
- Masakorala K., Yao J., Chandankere R., Liu H., Liu W., Cai M., and Choi M.M. 2014. A combined approach of physicochemical and biological methods for the characterization of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 454–463.
- McGrath S., Zhao F., 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 277-282.
- Meers E., Lamsal S., Vervaeke P., Hopgood M., Lust N., Tack F. M. G., 2005. Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site. *Environmental Pollution*, 137, 2, 354–364.
- Megharaj M., Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., and Naidu R. 2011. Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective. *Environment International*, 37, 1362–1375.
- Mench M., Vangronsveld N. W., Lepp N. W., Edwards R., 1998. Physico-chemical aspects and efficiency of trace element immobilization by soil amendments (W:) Vangronsveld J., Cunningham S. D. (red). *Metal-Contaminated Soils: In Situ Inactivation and Phytoremediation*. Springer-Verlag, 151–182.
- Michocka K., Cieszyńska A., 2011. Biosurfaktanty i ich zastosowania. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu*, 178, 9-20.
- Naguib M. M., El-Gendy A. O., Khairalla A. S., 2018. Microbial diversity of mer operon genes and their potential roles in mercury bioremediation and resistance. *Open Biotechnology Journal*, 12, 56–77.
- Nanda Kumar P. B. A., Dushenkov V., Motto H., Raskin I., 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology*, 29, 5, 1232-1238.
- Nedunuri K. V., Govindaraju R. S., Banks M. K., Schwab A. P., Chen Z., 2000. Evaluation of phytoremediation for field-scale degradation of total petroleum hydrocarbons. *Journal of Environmental Engineering*, 126, 483-490.
- Nikolova T., 2015. Absorption of Pb, Cu, Zn and Cd type *Morus alba* L. cultivated on soils contaminated with heavy metals. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21, 747–750.

- Nowak A., Hawrot M., Dudzińska A., 1998. Badanie biodegradacji substancji ropopochodnych w glebie oraz wpływu różnych zabiegów intensyfikujących szybkość tego procesu. *Chemia i Inżynieria Ekologiczna* 5, 1013–1024.
- Ociepa E., Lach J., Ociepa A., 2011. Wpływ nawożenia gleb węglem brunatnym i preparatami wykonanymi na bazie węgla brunatnego na zmianę rozpuszczalności ołowiu i cynku w glebach. *Nauka Przyroda Technologie*, 41, 1-8.
- Ociepa-Kubicka A., Ociepa E., 2012. Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi, *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 15, 169-180.
- Oliveira V., Gomes N. C. M., Almeida A., Silva A. M. S., Simoes Smalla K., Cunha A., 2014. Hydrocarbon contamination and plant species determine the phylogenetic and functional diversity of endophytic degrading bacteria. *Molecular Ecology*, 23, 1392-1404.
- Olson P. E., Fletcher J., 1999. Field evaluation of mulberry root structure with regard to phytoremediation. *Bioremediation*, 3, 27-33.
- Pacwa-Płociniczak M., Płociniczak T., Yu D., Kuroła J.M., Sinkkonen A., Piotrowska-Seget Z., Romantschuk M., 2018. Effect of *Silene vulgaris* and heavy metal pollution on soil microbial diversity in long-term contaminated soil. *Water, Air & Soil Pollution*, 229, 1–13.
- Panuccio M. R., Sorgona A., Rizzo M., Cacco G., 2009. Cadmium adsorption on vermiculite, zeolite and pumice: batch experimental studies. *Journal of Environmental Management*, 90, 364-374.
- Parthipan P., Preetham E., Machuca L. L., Rahman P. K. S. M., Murugan K., Rajasekar A., 2017. Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1. *Frontiers in Environmental Microbiology*, 8, 193.
- Paszko T., Gaszczyk R., 1996. Procesy sorpcyjno-desorpcyjne miedzi, niklu i cynku w glebach mineralnych. Wpływ kationu amonu. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 434, 431–436.
- Pawlas K., 2014. Transgraniczne i lokalne przemieszczanie się ołowiu, kadmu i rtęci. (W:) Langauer-Lewowicka H. (red), *Metale - zagrożenia środowiskowe i zawodowe*. Wydawnictwo Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, 133-143.
- Pawlas K., Langauer-Lewowicka H., 2014. Ołów. W: Langauer-Lewowicka H. (red), *Metale - zagrożenia środowiskowe i zawodowe*. Wydawnictwo Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, 9-27.
- Pawlik M., Cania B., Thijs S., Vangronsveld J., Piotrowska-Seget Z., 2017. Hydrocarbon degradation potential and plant growth-promoting activity of culturable endophytic bacteria of *Lotus corniculatus*

and *Oenothera biennis* from a long-term polluted site. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 19640-19652.

Pawlik M., Piotrowska-Seget Z., 2015. Endophytic bacteria associated with *Hieracium piloselloides*: their potential for hydrocarbon-utilizing and plant growth- promotion. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 78, 860-870.

Peng S., Zhou Q., Cai Z., Zhang Z., 2009. Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *mirabilis Jalapa* L. in a greenhouse plot experiment. *Journal of Hazardous Materials*, 168, 1490–1496.

Pilon-Smits E., 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15–39.

Placek A., Kacprzak M., Napora A., 2015. Zmiana mobilności cynku i ołowiu na skutek wprowadzenia dodatków mineralno-organicznych do środowiska glebowego. *Interdyscyplinarne Zagadnienia w Inżynierii i Ochronie Środowiska EKO-DOK 2015*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 314-326.

Płociniczak T., Pacwa-Płociniczak M., Kwaśniewski M., Chwiałkowska K., Piotrowska-Seget Z., 2020. Response of rhizospheric and endophytic bacterial communities of white mustard (*Sinapis alba*) to bioaugmentation of soil with the *Pseudomonas* sp. H15 strain. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 194, 1- 9.

Polskie Towarzystwo Gleboznawcze, 2009. Klasyfikacja uziarnienia gleb i utworów mineralnych - PTG 2008. *Roczniki Gleboznawcze*, 60, 5-16.

Prince W., Sentilkumar P., Subburam, V., 2000. Mulberry - silk worm food chain - A template to assess heavy metal mobility in terrestrial ecosystems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 69, 231- 238.

Przedwojski R., Maćkiewicz J., Rytlewski J., 1980. Zmiany właściwości środowiska glebowego wywołane silnym skażeniem ropą naftową. *Roczniki Gleboznawcze*, 31, 185–190.

Pulford I. D., Riddell-Black D., Steward C., 2002. Heavy metal uptake by willow clones fromsewage sludge-treated soil: the potential for phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 4, 1, 59–72.

Pusz A., 2007. Influence of brown coal on limit of phytotoxicity of soils contaminated with heavy metals. *Journal of Hazardous Materials*, 149, 590-597.

Raicevic S., Kaludjerovic-Radoicic T., Souboulis A. I., 2005. In-situ stabilization of toxic metals in polluted soils using phosphates: theoretical prediction and experimental verification, *Journal of Hazardous Materials*, 117, 41–53.

Rakowska J., 2012. Charakterystyka produktów ropopochodnych. (W:) Usuwanie substancji ropopochodnych z dróg i gruntów. Centrum Naukowo-Badawcze Ochrony Przeciwpożarowej – PIB, 16-19.

Rentz J. A., Alvarez P. J., Schnoor J. L., 2005. Benzo[a]pyrene cometabolism in the presence of plant root extracts and exudates: Implications for phytoremediation. *Environmental Pollution* 136, 477–484.

Rezek J., in der Wiesche C., Mackova M., Zadrazil F., Macek T. 2009. Biodegradation of PAHs in long-term contaminated soil cultivated with European white birch (*Betula pendula*) and red mulberry (*Morus rubra*) tree. *International Journal of Phytoremediation*, 11, 65-80.

Rosselli W., Keller C., Boschi K., 2003. Phytoextraction capacity of trees growing on metal contaminated soil. *Plant and Soil*, 256, 265–272.

Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi, Dz.U. 2016 poz. 1935.

Ruttens A., Mench M., Colpaert J. V., Boisson J., Carleer R., Vangronsveld J., 2006. Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. W: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals. *Environmental Pollution*, 144, 524-532.

Ruttens A., Adriaensen K., Meers E., De Vocht A., Geebelen W., Carleer R., Mench M., Vangronsveld J., 2010. Long-term sustainability of metal immobilization by soil amendments: Cyclonic ashes versus lime addition, *Environmental Pollution*, 158, 1428-1434.

Salt D. E., Smith R. D., Raskin I., 1998. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 643–668.

Sas-Nowosielska A., Kucharski R., Kuperberg J. M., Japenga J., Pogrzeba M., Krzyżak J., 2008. Phytoremediation technologies used to reduce environmental threat posed by metal-contaminated soils. *Theory and Reality*. (W:) Barnes I., Kharytonov M.M. (red.), Simulation and assessment of chemical processes in a multiphase environment. Netherlands, Springer, 285-297.

Schnoor J. L., 2000. Phytostabilization of metals using hybrid poplar trees. W: Raskin I. i Ensley B. D (red.), Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment, New York, John Wiley & Sons Inc., 133-150.

Schwitzguébel J., 2017. Phytoremediation of soils contaminated by organic compounds: hype, hope and facts. *Journal of Soils and Sediments*, 17, 1492–1502.

Sejakova Z., Dercova K., Tothova L., 2009. Biodegradation and ecotoxicity of soil contaminated by pentachlorophenol applying bioaugmentation and addition of sorbents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 243-252.

Seo J.-S., Keum Y.-S., Harada R. M., Li Q. X., 2007. Isolation and characterization of bacteria capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organophosphorus pesticides from PAH-contaminated soil in Hilo, Hawaii. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5383–5389.

Seo J. S., Keum Y. S., Li Q. X., 2009. Bacterial degradation of aromatic compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6, 278-309.

Shahriari M. H., Savaghebi Firouzabadi G. H., Minaei Tehrani D., Padidaran M., 2006. The effect of mixed plants alfalfa (*Medicago sativa*) and fescue (*Festuca arundinacea*) on the phytoremediation of light crude oil in soil, *Environmental Science*, 4, 33-40.

Sheoran V., Sheoran A. S., Poonia P., 2016. Factors affecting phytoextraction: A review. *Pedosphere*, 26, 148-166.

Siciliano S. D., Fortin N., Mihoc A., Wisse G., Labelle S., Beaumier D., Ouellette D., Roy R., Whyte L.G., Banks M. K., Schwab P., Lee K., Greer C. W., 2001. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Applied and Environmental Microbiology*, 6, 2469-2475.

Siebielec G., Chaney R., 2012. Testing amendments for remediation of military range contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 108, 8-13.

Siuta J., 2003. Ekologiczne, technologiczne i prawne aspekty rekultywacji gruntów zanieczyszczonych produktami ropy naftowej. *Inżynieria Ekologiczna* 8, 7–26.

Sorbak Z., 2010. Wykorzystanie sorbentów w procesach oczyszczania gruntu. *Chemia, Dydaktyka, Ekologia, Metrologia*, 15, 77–92.

Souza R., Ambrosini A., Passaglia L. M. P., 2015. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38, 401-419.

Steliga T., 2000. Sposoby oczyszczania ścieków i wód złożowych w kopalniach ropy naftowej i gazu ziemnego. *Inżynieria Ekologiczna*, 2, 14–22.

Stuczyński T., Siebielec G., Maliszewska-Kordybach B., Smreczek B., Gawrysiak L., 2004. Wyznaczanie obszarów, na których przekraczane są standardy jakości gleb. *Poradnik metodyczny dla administracji. Biblioteka Monitoringu Środowiska*, Warszawa, 1-103.

Sun K., Liu J., Jin L., Gao Y., 2014. Utilizing pyrene-degrading endophytic bacteria to reduce the risk of plant pyrene contamination. *Plant and Soil*, 374, 251-262.

Surminski J., 2008. Występowanie i właściwości rokitnika zwyczajnego *Hippophaë rhamnoides L.*, *Sylwan* 152, 68–74.

Światała-Trybek D., Światała-Mastalerz J., 2018. Hałdy przemysłowe – ich kulturowy i turystyczny potencjał (na przykładzie wybranych obiektów w województwie śląskim). Wybrane problemy turystyki kulturowej i agroturystyki. *Zeszyty Naukowe „Turystyka i Rekreacja”*, 2, 125-141.

Tardif S., Yergeau E., Tremblay J., Legendre P., Whyte L. G., Greer C. W., 2016. The willow microbiome is influenced by soil petroleumhydrocarbon concentration with plant compartment-specific effects. *Frontiers in Environmental Microbiology*, 7, 1363.

Thapa B., Kumar A. K. C., Ghimire A., 2012. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. *Kathmandu University Journal Of Science, Engineering And Technology* 8, 164-170.

Thijs S., van Dillewijn P., Sillen W., Truyens S., Holtappels M., D'Haen J., Carleer R., Weyens N., Ameloot M., Ramos J.L., Vangronsveld J., 2014. Exploring the rhizospheric and endophytic bacterial communities of *Acer pseudoplatanus* growing on a TNT-contaminated soil: towards the development of a rhizocompetent TNT- detoxifying plant growth promoting consortium. *Plant and Soil*, 385, 15-36.

Tlustos P., Szakova I., Vyslouzilova M., Pavlikova D., Weger J., Javorska H., 2007. Variation in the uptake of arsenic, cadmium, lead and zinc by different species of willows grown in contaminated soils. *Central European Journal of Biology*, 2, 254–275.

Tyczkowski A., 1993. Usuwanie zanieczyszczeń ropopochodnych z gleby i wód gruntowych metodami fizykochemicznymi i biotechnologicznymi. *Ekologia i Technika* 3, 10–13.

Van Beilen J. B., Funhoff E. G., van Loon A., Just A., Kaysser L., Bouza M., Holtackers R., Rothlisberger M., Li Z., Witholt B., 2006. Cytochrome P450 alkane hydroxylases of the CYP153 family are common in alkane-degrading eubacteria lacking integral membrane alkane hydroxylases. *Applied Environmental Microbiology*, 72, 59-65.

Vamerali T., Bandiera M., Mosca G., 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 1–17.

Van Bogaert I. N. A., Groeneboer S., Saerens K., Soetaert W., 2011. The role of cytochrome P450 monooxygenases in microbial fatty acid metabolism. *FEBS Journal*, 278, 206-221.

Van Epps A., 2006. *Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbons*. Environmental Protection Agency. Washington, USA.

- Vervaeke P., Luysaert S., Mertens J., Meers E., Tack F. M. G., Lust N., 2003. Phytoremediation prospects of willow stands on contaminated sediment: a field trial. *Environmental Pollution*, 126, 2, 275–282.
- Wang J., Zhang Z., Su Y., He W., He F., Song H., 2008. Phytoremediation of petroleum polluted soil. School of Chemical Science & Engineering, China University of Petroleum, Beijing, China, *Petroleum Science*, 5, 167-171.
- Wang K. R., 2002. Tolerance of cultivated plants to cadmium and their utilization in polluted farmland soils. *Acta Biotechnologica*, 22, 189-198.
- Wang K. R., Gong H., Wang Y., Vanderzee S. E. 2003. Toxic effect of cadmium on *Morus alba* L. and *Bombyx mori* L. *Plant and Soil*, 261, 171- 180.
- Wang L. Q., Luo L., Ma Y. B., Wei D. P., Hua L., 2009. *In situ* immobilization remediation of heavy metals-contaminated soils: a review, *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20, 1214–1222.
- Wyszkowska J., Kucharski J., Wałdowska E., 2002. The influence of diesel oil contamination on soil enzymes activity. *Rostlinna Vyroba*, 48, 58–62.
- Ying X., Dongmei G., Judong L., Zhenyu W., 2011. Plant-microbe interactions to improve crude oil degradation. *Energy Procedia*, 5, 844-848.
- Yousaf S., Andria V., Reichenauer T. G, Smalla K., Sessitsch A., 2010a. Phylogenetic and functional diversity of alkane degrading bacteria associated with Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) in a petroleum oil- contaminated environment. *Journal of Hazardous Materials*, 184, 523-532.
- Yousaf S., Ripka K., Reichenauer T.G., Andria V., Afzal M., Sessitsch A., 2010b. Hydrocarbon degradation and plant colonization by selected bacterial strains isolated from Italian ryegrass and birdsfoot trefoil. *Journal of Applied Microbiology*, 109, 1389-1401.
- Zadroga B., Olańczuk-Neyman K., 2001. Ochrona i rekultywacja zanieczyszczonego podłoża gruntowego. *Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej*, 9–40.
- Zagożdżon P., 2008. Mączki bazaltowe w zastosowaniach rolniczych i pokrewnych. *Prace Naukowe Instytutu Górnictwa Politechniki Wrocławskiej. Mining Science*, X,1, 133-142.
- Zhang Z., Zhou Q., Peng S., Cai Z., 2010. Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Pharbitis nil* L. and its microbial community. *Science of The Total Environment*. 408, 5600–5605.