

**Průběžná zpráva o postupu prací a dosažených
výsledcích v polovině projektu (září 2018) pro Kontrolní
den se zpravodajem projektu**

Dotační program:

INTER-EXCELLENCE, PODPROGRAM INTER-EUREKA

Číslo projektu:

LTE117016 (1. výzva)

Název projektu:

**Technologie pro katalytickou destrukci
persistentních organických polutantů (POPDESTR)**

Poskytovatel v ČR:

Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

Zpravodaj projektu: doc. Ing. Ladislav Lehký, CSc.

Příjemce: E&H services, a.s.

Další český účastník: ESSENCE LINE, s.r.o.

Další zahraniční účastníci:

EnProCo Berlin GmbH, Německo,

Xenometrix AG, Švýcarsko,

Zodpovědný řešitel: Ing. Tomáš Ocelka, Ph.D.

Obsah

1	Zkratky.....	3
2	Úvod.....	3
3	Popis projektu.....	4
3.1	Dílčí cíle 1. etapy.....	5
3.2	Úloha jednotlivých partnerů	5
3.3	Účinnost technologie pro vybrané POPs	5
4	Příprava a využití technologie, testy genotoxicity.....	6
4.1	Spalovny odpadu.....	6
4.1.1	Mapping of waste treatment	6
4.1.2	Ash and residue treatment.....	7
4.2	Metalurgický průmysl – odprašky a popílký.....	13
4.2.1	Technologie CDC pro odprašky.....	14
4.2.2	Reakční mechanismus	14
4.2.3	Stávající konstrukce pro metalurgii a pilotní testování	14
4.2.4	Vlastní realizace experimentů.....	15
4.2.5	Hodnocení, závěry.....	20
4.3	Testy genotoxicity – EssenceLine s. r. o.	20
4.3.1	Optimalizace testů	20
4.3.2	State-of-the-Art.....	21
4.3.3	Test genotoxicity	22
4.3.4	Test endokrinní disrupce	24
4.3.5	Optimalizace analytických protokolů do terénu	26
4.3.6	Závěr.....	26
5	Plnění dílčích cílů první etapy	27
5.1	Nákup a instalace analytických systémů; příprava a validace metodik, akreditace	27
5.2	Nákup materiálu pro konstrukci jednotky separace, vlastní konstrukce.....	27
5.3	Výpočet entalpických bilancí, návrhy úprav jednotek	27
5.3.1	Výpočty společnosti EnProCo	27
5.3.2	WP01 – Příprava, analytika, vyhodnocení, modelování	28
5.3.3	WP02 – Optimalizace	30
5.4	Vlastní technická realizace úprav pro mobilní uspořádání, napojení na jednotku.....	31
5.5	Příprava testovacích matric obsahujících POPs	31
6	Závěr	32

1 Zkratky

POPDESTR – akronym projektu označující cíl projektu: destrukci perzistentních organických látek

CDC – catalytic destruction using copper
POP – perzistentní organické polutanty
DRE – destruction and removal efficiency
PCDD/F – dioxiny a furany
PCB – Polychlorované bifenylly
TEQ – toxický ekvivalent
LOD – limit detekce analytického stanovení

2 Úvod

Tato zpráva uvádí výsledky tříletého projektu POPDESTR v přibližně polovině trvání projektu (polovina roku 2018). Kapitola 2 popisuje cíle projektu a dílčí cíle 1. etapy, úlohu jednotlivých partnerů a na příkladu ukazuje vysokou účinnost vyvíjené technologie. V kapitole 4 je popsán stav a postup prací v roce 2017 a v první polovině roku 2018 na dvou důležitých aplikacích technologie 1) spalovny odpadu a 2) metalurgický průmysl. Další vhodnou aplikací jsou staré ekologické zátěže. V kapitole 5 je popis plnění cílů první etapy projektu podle zadání a rozpracovanost v druhé etapě v roce 2018.

Strategicky významné kroky celého projektu můžeme shrnout do těchto bodů:

1. Upgrade semi-kontinuálního i laboratorního zařízení, ze zkušeností z minulých generací reaktorů, zejména o separační jednotku POP,
2. Sestavení detoxikační jednotky včetně měření, regulace a systému pro sběr dat,
3. Experimentální ověření na vybraných matricích,
4. Případně úpravy na základě prvních provozních zkoušek, optimalizace reakčních podmínek, včetně přípravy katalyzátoru, dávkování suroviny, energetické optimalizace, atd.
5. Získání dat o genotoxicitě a endokrinní aktivitě vstupních a výstupních materiálů s následnou optimalizací reakčních podmínek. Adaptace metod pro on-site aplikace pro řízení sanační míry zásahu,
6. Optimalizace analytických postupů, včetně robustní korelace, umožňující složení sady optimalizovaných geotestů a rutinní nasazení, případně certifikaci,
7. Finalizace prototypu, zpracování příslušné dokumentace,
8. ETV certifikace pro uznání komplexní technologie pro sanaci POP,
9. Prezentace výsledků cílovým zákazníkům. Patentová ochrana.

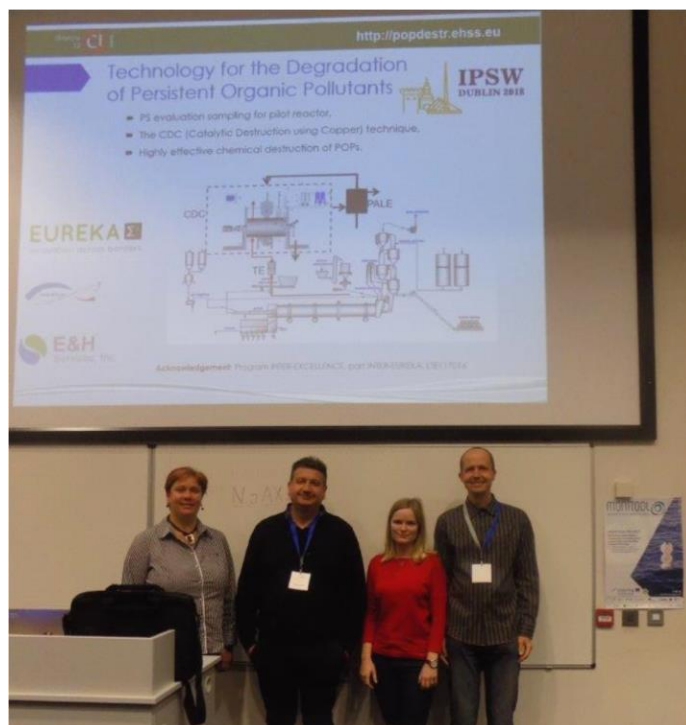
Hlavním výsledkem projektu je průmyslový vzor a ověřená technologie pro dekontaminaci POP.

Technologie CDC je provozována v technologické hale společnosti E&H services, a.s. v Ostravě-Radvanicích. Hala byla zakoupena řešitelem tohoto projektu pro širší využití této technologie, včetně technologií separačních.

První „kick off meeting“ projektu s účastí všech partnerů, včetně zahraničních, se konal dne 7. 7. 2017 v budově výzkumného centra BIOCEV ve Vestci u Prahy, viz zápis z tohoto jednání.

V roce 2017 byly vytvořeny webové stránky informující o projektu <http://popdestr.ehss.eu>.

V roce 2017 byl projekt prezentován na 10-tém ročníku konference International Passive Sampling Workshop and Symposium - IPSW 2018, konaném v květnu 2017 v irském Dublinu, viz foto níže. Zde byly prezentovány také techniky pasivního vzorkování, které jsou předvstupem do inventarizace a zachyt látek, končící destrukční operací.



Prezentace na IPSW 2018 v Dublinu

3 Popis projektu

Projekt řeší vývoj optimalizované technologie dehalogenace (detoxikace) pevného odpadu obsahujícího vysoce chlorované perzistentní organické látky (POPs) založená na metodě CDC (Catalytic Destruction using Copper), včetně optimálního postupu izolace, použitelného pro mobilní uspořádání. Detoxikace je orientována na produkty termických procesů, obsahujících POPs, s hlavním záměrem na kontaminované popílků a další toxické odpady ze spaloven komunálního, nemocničního a nebezpečného odpadu. Optimalizovaná technologie se ověří v pilotních podmínkách, přičemž testy budou probíhat na různých vstupních materiálech s různým složením.

Zásadní pro tuto technologii jsou dlouhodobé zkušenosti navrhovatele projektu v minulých generacích reaktorů a rostoucí požadavky na jeho uplatnění v různých technologiích. Dále pak znalost řešitele destrukčních mechanismů a jeho optimálních cest, výsledků destrukčních zkoušek a dosavadních postupů optimalizace, včetně příslušných analytických metod. Rozšířením analytických metod spočívá v optimalizovaných testech genotoxicity, které jsou důležitým doplňkem pro hodnocení destrukční účinnosti, ale také rychlým testem pro rozhodování širší sanačního zásahu a ohraničení předmětné kontaminace. Toto know-how je kritické pro efektivní návrh nové generace celkového uspořádání technologie pro sanaci či průmyslovou aplikaci přímo u významného zdroje (spalovny, metalurgie).

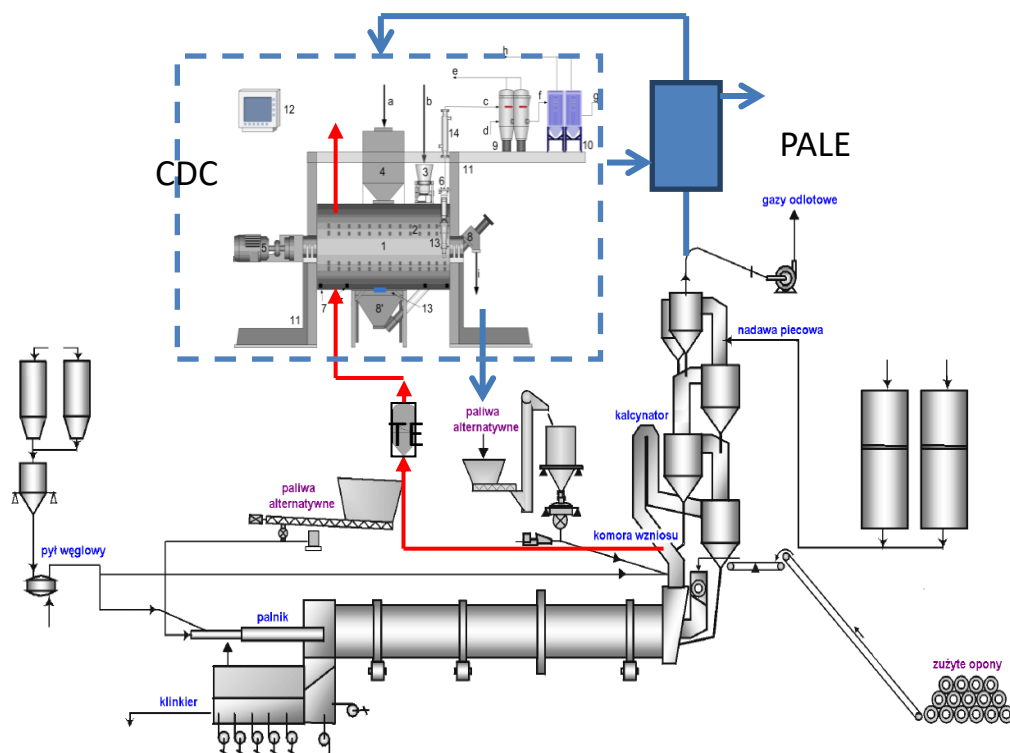


Schéma aplikace CDC v průmyslu

3.1 Dílčí cíle 1. etapy

První etapa je přípravnou a konstrukční fází projektu a časově odpovídá první etapě roku 2017.

Následuje výčet dílčích cílů 1. Etapy tak jak je definován v zadání projektu:

1. Nákup a instalace analytických systémů; příprava a validace metodik, akreditace,
2. Nákup materiálu pro konstrukci jednotky separace, vlastní konstrukce,
3. Výpočet entalpických bilancí, návrhy úprav jednotek,
4. Vlastní technická realizace úprav pro mobilní uspořádání, napojení na jednotku,
5. Příprava testovacích matric obsahujících POPs.

Všechny tyto cíle pro rok 2017 se podařilo splnit. Podrobný popis je uveden v kapitole 5.

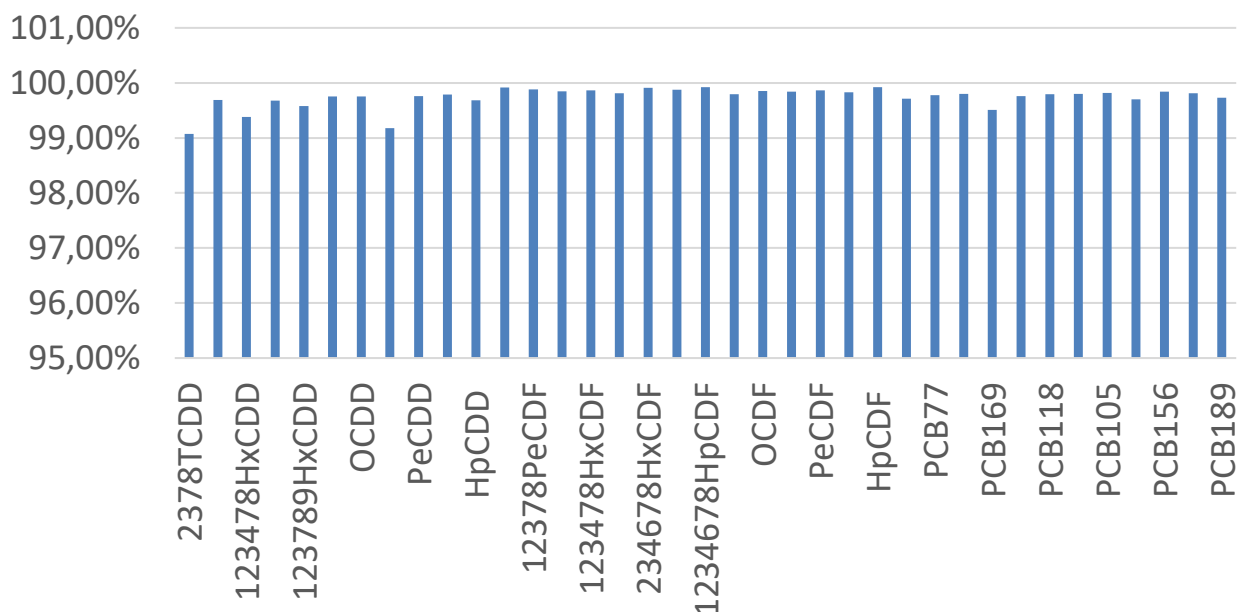
3.2 Úloha jednotlivých partnerů

Výroba a sestavení jednotlivých komponent, včetně sady příslušných diagnostických metod pro chemické parametry bylo provedeno firmou E&H services, a.s., která také provedla parametrizaci dekontaminačního procesu s návrhem charakteristické modelové reakce. Dále byly připraveny teoretické podklady pro laboratorní separační jednotku, která bude v roce 2018 otestována a vybraná jednotka bude navržena pro poloprovozní návrh a konstrukci v mobilním uspořádání. Essence Line a Xenometrix provedl prvotní testování genotoxicity a endokrinních disruptorů na bázi bakteriálních testů s návrhem postupu k optimalizaci do terénu, viz příslušná kapitola partnerů projektu. Další partner firma EnProCo provedla ze získaných syntetických dat pokročilou chemicko-inženýrskou optimalizaci pro konstrukci dekontaminační jednotky v průmyslovém měřítku.

3.3 Účinnost technologie pro vybrané POPs

Níže uvádí střední destrukční účinnost kontaminovaného materiálu z metalurgie (Třinecké železářny, a.s.).

Střední destrukční účinnosti (medián), PCDD/F a PCB



Destrukční účinnosti pro dioxiny a PCB

4 Příprava a využití technologie, testy genotoxicity

Kapitoly 4.1 a 4.2 se věnují postupu prací ve dvou hlavních směrech zamýšlených aplikací této technologie ve spalovnách odpadů a v metalurgickém průmyslu, a to včetně teoretické přípravy. V kapitole 4.3 je pak uveden postup prací při genotoxických testech prováděných společností EssenceLine.

4.1 Spalovny odpadu

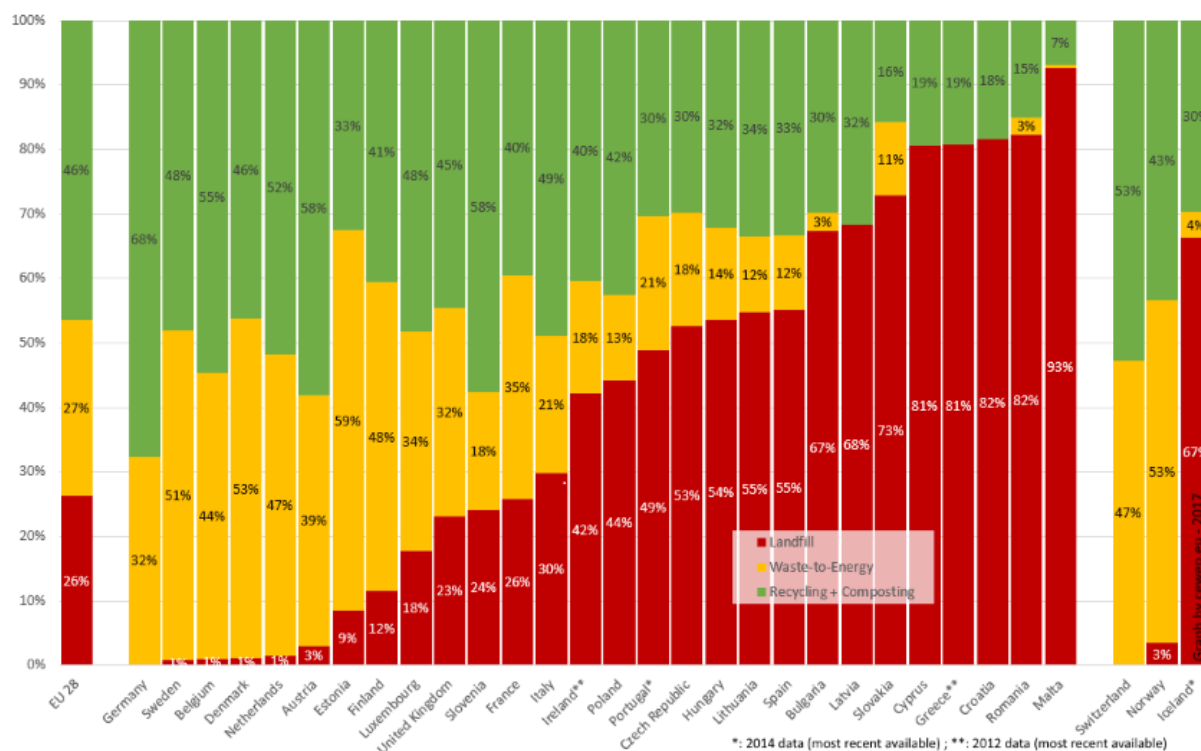
Velmi významné je využití této technologie pro spalovny komunálního odpadu. V tomto směru byla zaktualizována studie proveditelnosti v minulosti vypracovaná řešitelem pro rumunský projekt zařízení na zpracování a využití odpadu situovaný v oblasti. Zásadní je velmi široké pole využití a potřeby naší vyvíjené technologie. V první podkapitole je demonstrován nárůst komunálního odpadu a s tím související slibný potenciál využití CDC technologie, v druhé podkapitole pak konstrukce CDC jednotky. Vzhledem k výše uvedené skutečnosti, že naším cílem je oslovit zahraniční zákazníky, je tato část v angličtině.

4.1.1 Mapping of waste treatment

Each year after publication of the Eurostat figures for Municipal Waste Treatment, CEWEP produces many graphs based on this data in order to show the state of waste treatment in Europe (gend: Landfill Waste-to-Energy Recycling+Composting, Recycling & WtE complementary to divert waste from landfills.) This particular graph shows the share of recycling (including composting), waste-to-energy and landfilling of municipal waste in each EU Member State (plus Iceland, Norway and Switzerland), sorted by share of landfilling.

In 2015 the leading country for recycling is Germany, with 68% of municipal waste either recycled or composted. While 7 Member States landfill less than 10 % of their waste – which is the target

proposed by the European Commission in the Circular Economy package for 2030 – 8 Member States still landfill more than 60 % of their municipal waste.



Graph by CEWEP, Source: EUROSTAT 2017

*2014 data (most recent data available), **2012 data (most recent data available)

4.1.2 Ash and residue treatment

4.1.2.1 Bottom ash

The bottom ash from the boiler is quenched in a water tank and passes through a finder to separate bulky items (mostly ferrous metals and is then conveyed past a magnetic separator that recovers ferrous metals. After magnetic separation, the ash residues are conveyed to a hopper to be shipped without any further treatment or material recovery to a landfill. Because of the high combustion temperature, the bottom ash is somewhat vitrified and can be used as daily cover at the landfill. However, within this project other beneficial use of the bottom will realized.

4.1.2.2 Fly ash

Most of the boiler/fly ash and APC-residue of modern MSW combustors does not meet the Waste Acceptance Criteria (WAC) for hazardous waste landfills set by the European directive 1999/31/EC and pursuant council decision 2003/33/EC. Primarily, the leaching of chlorides, sulphates and lead is too high. Hence, boiler/fly ash and APC-residue have to undergo a dedicated treatment before final disposal on a hazardous waste landfill. Solidification and stabilisation (S/S) with Portland cement as a binder is worldwide the most used treatment method however, it can be considered as a temporary solutions, due to presence of current technologies for detoxification. When boiler/fly ash and/or APC-residue are mixed with Portland cement and water is added, a hydration process is promoted, which is extremely complex, particularly due to the heavy metals present, of which the fate and role in the different S/S steps in not yet fully understood. Advantages of using cement for the final treatment of a WtE's solid residues are that solidification and stabilisation are combined in one step, and that the cost is relatively low. Disadvantages are the increase of mass of the final product and the environmental

impact of the production of cement (mainly in terms of energy use and CO₂ emission). A large quantity of cement – typically 350 kg/t of residue – is to be added in order to comply with the leaching standards. However, as boiler/fly ash and APC-residues basically consist of the same chemical compounds as Portland cement, i.e. CaO (40–50 %), SiO₂ (10–20 %) and Al₂O₃ (5–10 %), they might possess pozzolanic/cement like properties and so the question can be raised whether the addition of cement is strictly required for the S/S of these residues. For this project, before its use, removal of dioxins is necessary by CMD destruction way.

4.1.2.3 Dioxin removal from fly and carbon beds

Since the early stage of installation and operations of MWI plants, special focus on health risk assessment was associated with occurrence of dioxins, furans, their precursors and heavy metals, mainly bounded on solid fractions. Whereas heavy metals are concentrated in bottom ash, occurrence of dioxins and their precursors are associated with fly ash. Moreover, solid fractions of carbon matrix (e.g. from bag-house filters, ESP) are filled by >95 % of total mass balance of PCDD/F effluents. Despite use of Goretex REMEDIA® catalytic filters, solely eliminating PCDD/F from gas phase, the CMD is capable to remove all residual content from solid fraction. Thus, combination of those techniques brings best BAT/BREF.

4.1.2.4 CMD for POPs removal

Technology is realized in the construction of Copper Mediated Destruction reactor. Reaction mechanism is written onto patent. The system operates under atmospheric pressure, within temperature window 250-300°C. The energy is used as waste from incineration process. As a carrier gas (inert, non-oxidation) atmosphere is used nitrogen. It operates with automatic loads or continual arrangement. Reaction time on 4-8 hours. As used phases, the unit is used for solid matrix. Contaminants from liquid phase is captures on carbon bed in sorption column. As for catalysis, specific the copper based, with donor of hydrogen in specific mixture composition is to be used.

4.1.2.5 Reactor description

Reactor volume in mobile construction is approximately 1m³ and its size is depends on the size of ISO container (dimensions: 2,5m x 2,5m x 6,0m). The highest volume of reactor can be larger (up to 10 m³), the size is given by use on other waste for POPs removal that can be strongly economically positive, if used for remediation or other POPs, considered as hazardous waste (e.g. stockpile pesticides (OCPs), polychlorinated biphenyls (PCBs)).

The body of reaction vessel is made from cylindrical coat (1) with vertical or horizontal design of agitator mounted with electric motor (5). Material used is stainless steel which is resistant to hydrogen chloride gases. One reactor coat there are some heating segments (2) on its surface; these are designed to best fit the economy of operation (either electric heaters or burners burning gas or fuel oil). When using a burner, double-shell construction is expected to be used. However, as to be used in the most economical regime, the reactor would be heated by waste energy, transferred through economizer.

Reactor shell in a single or double construction is appropriately insulated and equipped with covers. The reactor can be placed also vertically, with the batch dosing opening (4) and catalyst (3) at the top of the reactor. Dosage of batch (flow a) is designed either discontinuously (via mixing vessel) or continuously (via dosing snail), or a combination of both.

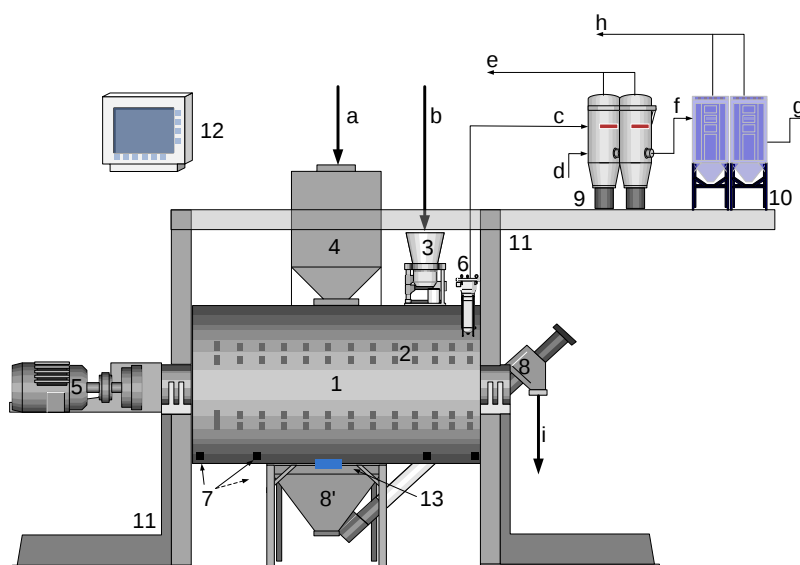
Dosage of catalyst (flow b) is similar. The dosage is associated with the measurement of weight or volume of batch and reagents. During the reaction condensation products are returned to the reaction via condenser (6) with fractions separator. Unreacted liquid portions are returned to reactor. Reacted portions - lower fractions condense in the condenser. Condenser is placed in the reaction vessel or out of it. Non-condensing gaseous portions leave the reactor to go through a pair of cleaning wet (9) and dry (10) filters - (flow c). Sorption vessels (9) and (10) are made of materials resistant to absorption reagent (flow d). Pre-cleaned gas (flow f) is finally cleaned on

solid adsorption filter, heated to a temperature corresponding to optimum efficiency of solid sorbent (activated carbon). Cleaning in the liquid phase is performed at ambient temperature. Flows of dirty liquid sorption material (e) and (h) go into the water washer, respectively into the reactor (a). Batch temperature is controlled by a set of temperature sensors (7).

Non-toxic residues after the reaction are removed through the collecting vessel (8') from the bottom of the reactor by cooled snail conveyor (8) into the waste storage container in flow (i). All structural elements are placed in a robust technological frame (11). For mobile arrangement frame is designed to match the space of the ISO container. The process is controlled by the central control unit (12) according to different pre-set destruction programs. Destruction efficiency monitoring is carried out by analyses of samples taken during and after the destruction process (according to set schedule) from the sampling sites (13) at the bottom of reactor. The device represents a new technological solution to disposal of wastes containing persistent organic pollutants (POPs), for contaminations of various concentrations, with the possibility of operating independently or connected to the thermal desorption unit, providing isolation of contaminants prior to destruction.

The system is then heated to a temperature of the reaction mechanism of destruction of POPs - 290 ° C and maintained within the temperature to 300 ° C to ensure destruction of persistent substances, for 4-6 hours. Then the system is cooled and emptied through snail conveyor and decontaminated materials containing residues of organic skeletons is processed by normal thermal destruction. Input and output material is tested on the content of persistent substances, destruction efficiency of the process is evaluated. Gases evolving from the first moment of heating the batch are cleaned (node D1) by a combination of water washer (2) and dry carbon filter (3). The liquid from washers is subjected to elimination of POPs. These are adsorbed on activated carbon in adsorption columns (node B). Activated carbon from solid filter is fed to the destruction reactor forming a closed system.

Another example is decontamination of ash most often containing PCDD/F (separation of non-homogeneous parts, as in the case of soil, is not necessary as well as the use of thermal desorption unit (5)). Ash is mixed with activated carbon in a blender (7) and transferred into the reactor. Then catalyst mixture is added (7). Destruction in the reactor follows (1). The process is the same with the exception that the material is not thermally disposed after the destruction, but can be used as decontaminated recycled material (e.g. for use in construction).



Technological scheme of the CMD reactor

Framework of key components for fly-ash recycling technology is given in the tables below.

Table 1 Components of CMD

Reactor body (horizontal or vertical; based on treated wastes); for steam head exchange, vertical arrangement is preferable,
Heating elements (gas burners / electric heaters / heat coat)
Catalyst dozing
Load dozing – material before dehalogenation
Electromotor with gearbox and stirrer
Condenser with fraction separator and catalytic filter
Output of dehalogenated material
Snail conveyor for the undehalogenated material with a funnel 8'
Water washers
Dry carbon filters
Fixation of the reactor and other components by a robust frame
Central control unit
Sampling profile of the solid material

Table 2 Flows of CMD

contaminated material
Catalyst
Degas from the reactor
Input of cleaning liquid
Contaminated liquid
Input of gas from water washers
Output of gas for further processing
Contaminated activated carbon

4.1.2.6 Materials for possible chlorine removal

Range of materials is determined by their occurrence and experimental verification of the methodology and apparatus. These are in particular:

- Concentrates of the original mixtures (mainly solid and liquid)
- Contaminated ash from different waste incinerators,
- Contaminated soil,
- Waste,
- Water (from contaminated sites, process water),
- Concentrated adsorbent cartridges, solid residues after cleaning POPs,
- Construction materials,
- Technical sands,
- Liquid materials (waste oil) in appropriate media,
- Sewage sludge from industrial wastewater treatment plants, etc.

Destruction and removal efficiency (DRE) is expected >99,99% as minimum, related so solid matrix and as accounted for PCDD/F and their precursors like PCBz and PCPh. Technological solution is given under figure below.

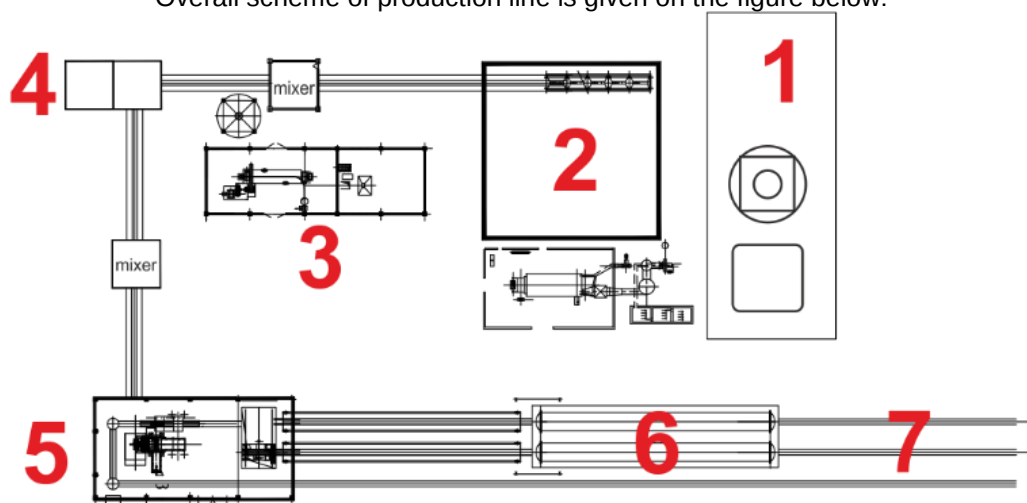
4.1.2.7 Briquetting or ash residuals

Residual bottom ash over 35000 tons/year ($\approx 4,5$ t/h), mixed with detoxified fly ash over 4500 tons/year ($\approx 0,5$ t/h) can contribute to various brick production (basement-lost bricks, pavement bricks of various colors). The technology of production thermally and spatially stable products can be implemented by Autoclaved Block Formation (ABF).

4.1.2.8 Preparation of components

Key ingredient for manufacturing Autoclaved Aerated Concrete (AAC) blocks is silica rich material like fly ash, concrete, pond ash or sand. Fly ash is mixed with water to form fly ash slurry. Slurry thus formed is mixed with other ingredients like lime powder, cement, gypsum and silica powder in quantities consistent with the recipe. Alternately sand can also be used to manufacture AAC blocks. Autoclaved aerated concrete does not contain any aggregate, all the main mix components are reactive, even milled sand where it is used. The sand, inert when used in dense concrete, behaves as a stabilization in the autoclave due to the high temperature and pressure. A 'wet' ball mill finely grinds sand with water converting it into sand slurry. Sand slurry is mixed with other ingredients just like fly ash slurry.

Overall scheme of production line is given on the figure below:



The legend

1. auxiliary equipment, 2. raw material workshop, 3. lime workshop, 4. lime digestion, 5. Briquetting,
6. Autoclaving, 7. final product workshop

Briquetting scheme of ash residuals

During this process, the mix proportions and the initial mix temperature must be precisely regulated and the silica powder must be present in required amount and with the appropriate reactivity in alkaline environment. All of the materials must be of suitable fraction (usually <2 mm or specific diameter).

4.1.2.9 Dosing of materials

After raw material preparation, next step is dosing and mixing. Process of dosing and mixing defines the quality of final products. Maintaining ratio of all ingredients as per the selected recipe is critical to ensure consistent quality of production. This is operation is accomplished by various control systems to measure and release the required quantity of various raw materials, as to be acceptable for working conditions. A dosing and mixing unit is used to form the correct mix to produce Autoclaved Aerated Concrete (AAC) blocks. Fly ash/sand slurry is pumped into a separate container. Once the desired weight is poured in, pumping is stopped. Similarly lime powder, cement and gypsum are poured into individual containers using screw conveyors. Once required amount of each ingredient is filled into their individual containers control system releases all ingredients into mixing drum. Mixing drum is represented by a giant bowl with a stirrer rotating inside to ensure proper mixing of ingredients. Waste steam is fed to the unit to maintain temperature in range of 40-50°C. A smaller bowl type structure used for feeding silica powder is also attached as a part of mixing unit. Once the mixture has been churned for set time, it is ready

to be poured into molds using dosing unit. Dosing unit releases the mixture as per set quantities into molds for foaming. Dosing and mixing process is carried out continuously because if there is a long gap between charging and discharging of ingredients, residual mixture might start hardening and choke up the entire unit.

For AAC blocks manufacturing, entire dosing and mixing operation need to be completely automated requiring minimum human intervention. This entire operation is monitored using control systems integrated with computer and CCTV cameras. As with any industrial operation, there is provision for human intervention and emergency actions integrated inside the control system.

4.1.2.10 Casting process

After feeding, AAC blocks manufacturing process involves casting, rising and pre-curing. Once desired mix of raw materials is ready, it is into molds, providing particular shape. The process is called casting. At the cutting stage, the blocks are still green - only a few hours has passed since the mix was poured into the mold and they are soft and easily damaged. However, if they are too soft, the cut blocks may either fall apart or stick together; if they are too hard, the wires will not cut them - here too, the process has to be carefully controlled to achieve the necessary consistency, to yield high quality bricks. Cutting machine shall be properly selected to reduce body damage of multiple hoisting by advanced technology.

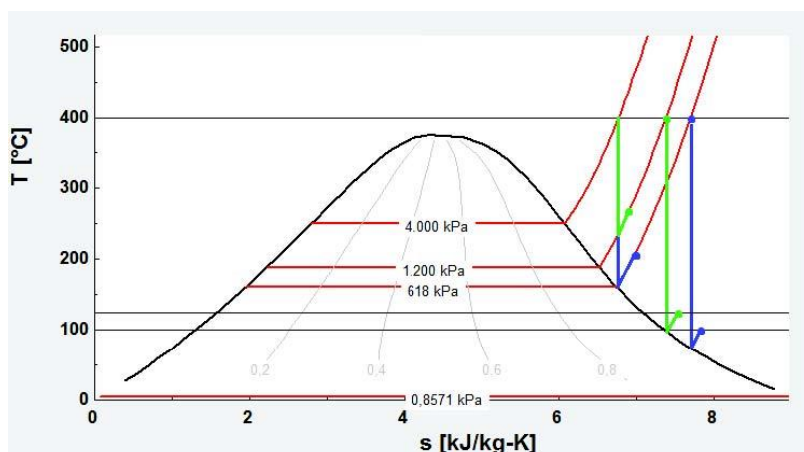
4.1.2.11 Autoclaving, final operation

The cut blocks are then loaded into the autoclave. It takes a couple of hours for the autoclave to reach maximum temperature and pressure, which is held for about 8-10 hours, or longer for high density/high strength concrete. When removed from the autoclave and cooled, the blocks have achieved their full strength and are packed ready for transport. Depending on the actual production process, the cake may be de-molded entirely onto a trolley before cutting, or it may be cut in the mold after the sides are removed. Autoclaved kettle are to be mainly used in new building materials for aerated concrete block, lime-sand brick, fly ash brick and high strength cement electric pole, tubular pile and other cement products and other insulation materials for other industries with its broad usage.

Finally, bricks or any produced materials are controlled, sorted. Those, not allowed for approval are grinded and added into initial mixture preparation loop. That material approved, it is transferred into final packaging.

4.1.2.12 Rankine cycle

The decision on the mode of operation is based on economics. The price of backpressure and reheat-condensing turbines are similar; and in fact, many modern steam turbines can be adjusted to operate in either mode. A backpressure turbine will be selected because it allows for maximization of annual income and overall efficiency. Plus, as an added benefit, increasing the overall efficiency increases the carbon offset from the facility, the amount of carbon avoided by using an alternative energy source. When calculating the theoretical energy output of power generation this thermodynamic flow cycle is used to describe it. The cycle describes the thermodynamic properties of an energy carrier according to what amount of heat is added and extracted. In a co-generation plant there are certain limitations set to the cycle, depending on internal and external factors. Internal factors are for instance the durability of components and the size of the plant. A number of external factors are local climate, fuel quality and external cooling sources such as district heating grids and cooling towers. An example of a Rankine cycle with two turbines, are heating step and district heating connection is illustrated on the figure below.



Rankine cycle for selected parameters of the steam turbine

Within this project, combined heat and power plant (CHP) comes from the fact that the steam energy is used to produce electric power and hot water. The main source of energy in the obtained steam comes out of the condensation process. A temperature of 400°C and 40 bar pressure is one of the commonly used combinations to minimize investment costs. Temperatures higher than 400°C may cause high temperature corrosion and forces the boiler to have steel alloy super heater tubes to withstand the strain. At the same time, pressures below 40 bar lower the requirements for pretreatment of the feed water.

4.2 Metalurgický průmysl – odprašky a popílký

Současný stav problematiky odpadů je spojen se dvěma směry:

- Snižování environmentální zátěže,
- Recyklace v maximální míře s cílem šetřit nerostné suroviny.

Odpady z provozů metalurgie jsou s těmito směry velmi těsně spjaty. Obsahují velké množství škodlivých látek, ale stejně tak mají velký potenciál pro jejich recyklaci. V případě odprašků je požadováno odstranění všech forem chlóru, které je pro zpětné využití limitujícím faktorem. Organický chlór je silně vázán v podobě organických látek, kde se problematika dotýká látek s aromatickými skelety s různě kondenzovanými jádry. Na druhou stranu anorganický chlór je možné poměrně snadno odstranit běžnými separačními cestami.

Cíle lze shrnout takto:

- 1) V odprašcích je analyzován obsah cílových analytů (PCDD/F),
- 2) Je provedeno odstranění anorganického chlóru,
- 3) Dle množství dioxinů jsou stanoveny podmínky experimentu odstranění organického chlóru; jsou provedeny příslušné destrukční zkoušky s finální separací,
- 4) Z procesů jsou hodnoceny účinnostní charakteristiky, zejména DRE, která určuje, zda je technologie použitelná pro rutinní nasazení,
- 5) Analytické výsledky jsou prováděny v systému EN ISO/IEC 170025 pro akreditované subjekty. Hmotnost jednotlivých podílů je stanovena prostou vážkovou metodou. Stanovení PCDD/F je provedeno metodou plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí

případně vysokého rozlišení (GC-MS/SM; GC-HRMS), s použitím kvantifikace pomocí isotopicky značených standardů.

4.2.1 Technologie CDC pro odprašky

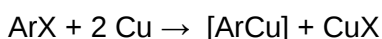
Vlastní konstrukce CDC (dříve též CMD) jednotky pro destrukci POP z popílků či odprašků z metalurgie je předmětem českého patentu a je specifická pro reakční mechanismus a níže uvedené podmínky:

Tlak:	atmosférický
Teplota:	250-300°C
Prostředí:	inertní (neoxidační) atmosféra (inertní plyn, např. dusík)
Režim:	polokontinuální (s automatickým dávkováním vsázky) nebo kontinuální
Doba zdržení:	4-8 hodin
Fáze:	pevná, kapalná, plynná
Katalýza:	katalyzátor na bázi mědi, s donorem vodíku
Ohřev:	kombinovaný – elektrický a teplotnosné médium
Uspořádání:	mobilní
Kapacita vsázky:	cca 0,5 m ³ , škálovatelná do velikosti až 5 m ³
Účinnost:	>99,999 %

4.2.2 Reakční mechanismus

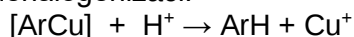
Reakční mechanismus není závislý na stupni halogenace a pozice halogenu. Nejedná se o spalovací technologii, což je její obrovskou výhodou.

Mechanismus vychází z reakce halogenované látky (aromatického či lineárního skeletu), která je katalyzována mědi:

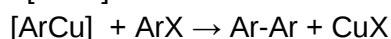


kde Ar je halogenový anion a X je uhlovodíkový skelet.

Dochází k dehalogenizaci:



a k Ullmanově reakci (biarylová tvorba) za vzniku netoxických a dále využitelných látek:

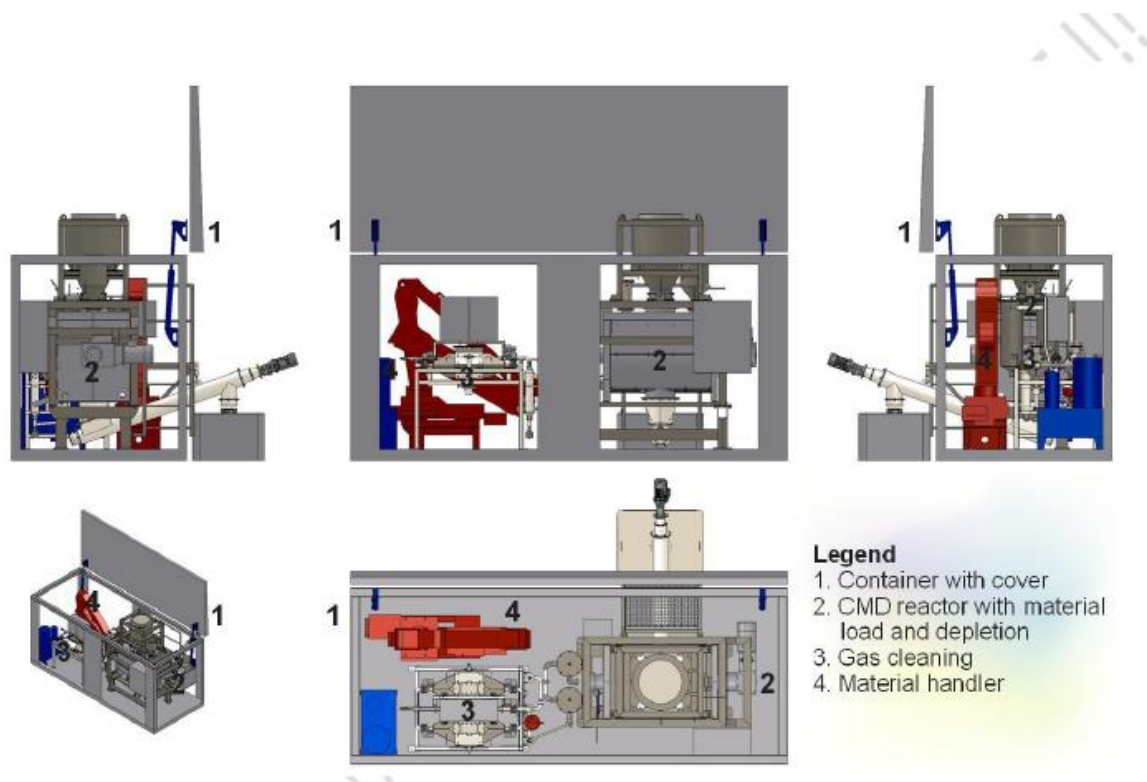


Bylo ověřeno, že technologie je vhodná pro širokou škálu látek typu: PCDD/F, PCB, OCP (x-HCH, DDTs/DDE/DDD, CBz...). Pozitivem je i možnost destrukce na nearomatickém skeletu. Jednotka je vhodná pro odstraňování POP ze všech fází: pevné, kapalná i plynná.

Výhodou je destrukce nejen terminálních látek typu PCDD/F, ale také jejich prekurzorů, typu HCB, PCPh, čímž konkurenční řešení technologicky významně předstihuje.

4.2.3 Stávající konstrukce pro metalurgii a pilotní testování

Jednotka prošla při svém vývoji řadou inovací. Stávající jednotka je v mobilním uspořádání, s provozem pomocí turbogenerátoru (pro plnou mobilitu). Schéma je uvedeno na obrázku níže:



Umístění jednotky CDC v kontejneru

Všechny konstrukční prvky CDC jednotky jsou umístěny do robustního technologického rámu. Pro mobilní uspořádání je rám navržen tak, aby odpovídal umístění v technologickém kontejneru ISO. Proces je řízen centrální řídicí jednotkou dle různých, předem stanovených destrukčních programů. Sledování destrukční účinnosti se provádí analýzou odebraných vzorků během a po procesu destrukce (dle stanoveného vzorkovacího plánu) ze vzorkovacích míst ze dna reaktoru.

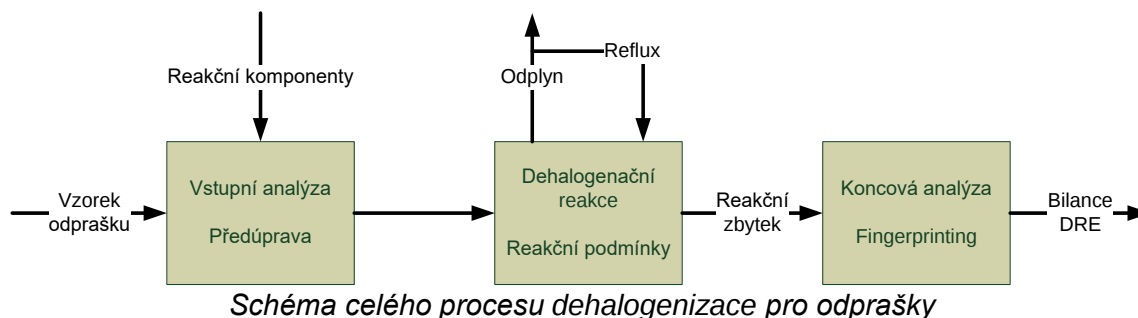
Zařízení reprezentuje nové technologické řešení likvidace odpadů s obsahem POPs, pro různé koncentrované kontaminace, s možností provozování samostatně nebo s napojením na jednotku termální desorpce, zajišťující izolaci kontaminantů před vlastní destrukcí. Je základem pro konstrukce nových generací jednotek, fungujících samostatně, ale také součástí technologie, např. spalovny nebo aglomerace s využitím odpadního tepla pro zajištění maximální ekonomiky provozu.

Při realizaci pilotních experimentů byly v technologické hale společnosti E&H services, a.s. v Ostravě-Radvanicích přítomni pracovníci Třineckých železáren a.s..

4.2.4 Vlastní realizace experimentů

4.2.4.1 Popis experimentů

Celkový popis experimentu je uveden na obrázku níže.



Vlastní zpracování probíhá v těchto krocích:

- 1) Promytí I. části vzorků anorganických solí a chloridů, separace pevné fáze,
- 2) Přenos pevné fáze do reaktoru, detoxifikace,
- 3) Separace II. zbytkové části anorganických chloridů z detoxifikace,
- 4) Analýza zbytkového obsahu toxických PCDD/F, stanovení destrukční účinnosti.

Další parametry experimentu:

- Celkový počet dodaných vzorků: 1 tuna,
- Reprezentativní velikost vzorků každé zkoušky: cca 250 kg,
- Reaktorem je tlaková nádoba s mícháním, s přívodem nosného plynu, chlazením odplynů, s děličem frakce (reflux) a elektrickým ohřevem,
- Přibližný gradient ohřevu byl stanoven na přibližnou hodnotu 300 °C/45 minut,
- Teplotní profil řízených reakcí: 150-300 °C,
- Reakčními komponentami jsou: směsný katalyzátor a vhodný donor vodíku,
- Doba reakce: do 4 hodin (dle průběhu),
- Chlazení vsázky: volné.

4.2.4.2 Výsledky

Všechny výsledky jsou uvedeny v tabulární podobě níže. Detailní výsledky jsou uvedeny v protokolární podobě. Výsledky PCDD/F jsou stanoveny v koncentračních úrovních na hmotu, dále pak vztaženy na jednotku TEQ (toxického ekvivalentu). Destrukční účinnosti jsou vypočítávány z koncentračních hladin na hmotu.

V případě, že došlo k uvádění hodnoty pod mezí detekce (< LOD); pro možnost výpočtu byly tyto převedeny na jednotlivé hodnoty notací LOD = hodnota. Celkově byly výstupní hodnoty buď na hranici stanovitelnosti, nebo pod mezí detekce. Z těchto výsledků byl stanoven parametr účinnosti destrukce a odstranění (DRE; destruction and removal efficiency).

Ta je definována jako $DRE = (W_{in} - W_{out})/W_{in} \times 100$,

kde W_{in} = vstupní hodnota sledovaného parametru, W_{out} = výstupní hodnota sledovaného parametru (po destrukci/procesu odstranění).

Celková destrukční účinnost se pohybovala u sumárních hodnot PCDD/F a PCB na úrovních 99.8 %. Střední hodnoty DRE z pohledu hodnocení průměru či mediánu je možné považovat za shodné, a to jak pro jednotlivé kongenery, tak i pro sumární hodnoty izomerů.

Jednotlivé výsledky jsou uvedeny pro jednotlivé experimenty 1-4 níže; tabulková podoba také uvádí výsledky sumární.

S ohledem na meze detekce nebo hodnoty blízko nich, zejména po destrukčních zkouškách je nutno vzít v úvahu míru snížení obsahu sledované látky. V případě, že by došlo k hodnocení

šumových složek, hodnocení takového parametru není relevantní. Pak je nutno hodnocení provést z celkových hodnot, které jsou nejvěrohodnějším obrazem původního a zbytkového obsahu celé skupiny, v kontextu s příslušnými toxickými ekvivalenty.

Experiment 1				Experiment 2			
	PCDD/F	PCDD/F	DRE		PCDD/F	PCDD/F	DRE
	[µg/kg]	[µg/kg]			[µg/kg]	[µg/kg]	
	W (In)	W (Out)			W (In)	W (Out)	
2378TCDD	1,06	0,01	99,34%	2378TCDD	0,760	0,01	99,22%
12378PeCDD	2,64	0,01	99,65%	12378PeCDD	2,50	0,01	99,73%
123478HxCDD	2,05	0,02	98,98%	123478HxCDD	1,90	0,02	99,21%
123678HxCDD	3,75	0,01	99,63%	123678HxCDD	3,46	0,01	99,60%
123789HxCDD	3,31	0,02	99,49%	123789HxCDD	3,20	0,02	99,50%
1234678HpCDD	12,2	0,03	99,75%	1234678HpCDD	11,4	0,02	99,79%
OCDD	17,9	0,04	99,80%	OCDD	17,6	0,06	99,66%
TCDD	25,5	0,0542	99,79%	TCDD	19,5	0,0714	99,63%
PeCDD	37,1	0,0320	99,91%	PeCDD	37,6	0,0523	99,86%
HxCDD	41,7	0,0539	99,87%	HxCDD	38,3	0,0520	99,86%
HpCDD	39	0	99,82%	HpCDD	37	0,143	99,61%
Suma PCDD	161	0,140	99,91%	Suma PCDD	150	0,319	99,79%
2378TCDF	106	0,0279	99,97%	2378TCDF	78,3	0,0427	99,95%
12378PeCDF	77,6	0,0358	99,95%	12378PeCDF	56,7	0,0323	99,94%
23478PeCDF	35,5	0,0515	99,85%	23478PeCDF	34,2	0,0486	99,86%
123478HxCDF	21,0	0,028	99,87%	123478HxCDF	20,0	0,027	99,87%
123678HxCDF	12,8	0,023	99,82%	123678HxCDF	12,6	0,025	99,80%
234678HxCDF	98,5	0,031	99,97%	234678HxCDF	90,0	0,027	99,97%
123789HxCDF	44,2	0,05	99,89%	123789HxCDF	26,7	0,04	99,87%
1234678HpCDF	203	0,05	99,98%	1234678HpCDF	199	0,04	99,98%
1234789HpCDF	30,7	0,07	99,79%	1234789HpCDF	26,1	0,05	99,80%
OCDF	55,5	0,09	99,84%	OCDF	53,9	0,07	99,86%
TCDF	2800	2,10	99,93%	TCDF	2550	1,97	99,92%
PeCDF	693	0,864	99,88%	PeCDF	649	0,804	99,88%
HxCDF	264	0,389	99,85%	HxCDF	237	0,413	99,83%
HpCDF	570	0,126	99,98%	HpCDF	538	0,139	99,97%
Suma PCDF	4383	3,35	99,92%	Suma PCDF	4028	3,33	99,92%
Suma PCDD/F	4544	3,5	99,92%	Suma PCDD/F	4178	3,6	99,91%

	PCB	PCB	DRE
	[µg/kg]	[µg/kg]	
PCB81	25,2	0,058	99,77%
PCB77	157	0,120	99,92%
PCB126	76,8	0,079	99,90%
PCB169	16,5	0,100	99,39%
PCB123	36,7	0,056	99,85%
PCB118	109	0,05	99,95%
PCB114	27,2	0,052	99,81%

	PCB	PCB	DRE
	[µg/kg]	[µg/kg]	
PCB81	11,3	0,056	99,50%
PCB77	69,7	0,110	99,84%
PCB126	34,9	0,065	99,81%
PCB169	7,00	0,081	98,84%
PCB123	16,8	0,056	99,67%
PCB118	46,8	0,05	99,89%
PCB114	11,3	0,052	99,54%

[illegible]

PCB169	21,9	0,083	99,62%		PCB169	16,4	0,0189	99,88%	
PCB123	51,7	0,170	99,67%		PCB123	34,3	0,017	99,95%	
PCB118	147	0,444	99,70%		PCB118	103	0,495	99,52%	
PCB114	36,3	0,052	99,86%		PCB114	23,7	0,0485	99,80%	
PCB105	103	0,201	99,80%		PCB105	68,8	0,136	99,80%	
PCB167	24,6	0,073	99,70%		PCB167	17,0	0,0516	99,70%	
PCB156	68,1	0,103	99,85%		PCB156	44,1	0,0733	99,83%	
PCB157	28,2	0,050	99,82%		PCB157	18,0	0,0250	99,86%	
PCB189	28,5	0,067	99,76%		PCB189	20,6	0,020	99,90%	
Suma PCB	842	2,175	99,74%		Suma PCB	592	1,802	99,70%	

Střední hodnoty				
	AVG	Medián	Min	Max
2378TCDD	99,09%	99,07%	98,64%	99,91%
12378PeCDD	99,69%	99,69%		
123478HxCDD	99,38%	99,38%		
123678HxCDD	99,68%	99,68%		
123789HxCDD	99,59%	99,58%		
1234678HpCDD	99,74%	99,76%		
OCDD	99,75%	99,76%		
TCDD	99,20%	99,18%		
PeCDD	99,73%	99,76%		
HxCDD	99,77%	99,79%		
HpCDD	99,70%	99,69%		
Suma PCDD	99,67%	99,64%		
			Min	Max
2378TCDF	99,90%	99,92%	98,34%	99,98%
12378PeCDF	99,86%	99,88%		
23478PeCDF	99,65%	99,85%		
123478HxCDF	99,59%	99,86%		
123678HxCDF	99,45%	99,81%		
234678HxCDF	99,91%	99,91%		
123789HxCDF	99,87%	99,88%		
1234678HpCDF	99,92%	99,92%		
1234789HpCDF	99,80%	99,80%		
OCDF	99,85%	99,85%		
TCDF	99,82%	99,84%		
PeCDF	99,69%	99,86%		
HxCDF	99,64%	99,83%		
HpCDF	99,91%	99,92%		
Suma PCDF	99,81%	99,86%		
Suma PCDD/F	99,80%	99,86%		
			Min	Max
PCB81	99,68%	99,72%	98,84%	99,95%

PCB77	99,75%	99,78%		
PCB126	99,81%	99,80%		
PCB169	99,44%	99,51%		
PCB123	99,78%	99,76%		
PCB118	99,76%	99,79%		
PCB114	99,75%	99,80%		
PCB105	99,84%	99,82%		
PCB167	99,66%	99,70%		
PCB156	99,85%	99,84%		
PCB157	99,75%	99,81%		
PCB189	99,66%	99,73%		
Suma PCB	99,76%	99,74%		

Vedle těchto experimentů byly realizovány destrukční zkoušky s různými obsahy nepolárních pesticidů, dále pak na obsahy PCB, cestou totální destrukce.

K připravovaným destrukcím do konce roku 2018 se budou řadit ještě tyto experimenty:

- Destrukční zkoušky polárních pesticidů, z izolace na vodních kolonách,
- Destrukční zkoušky hormonů a antibiotik a jiných látek, zachycených v odpadních vodách,
- Destrukční zkoušky s identifikací destrukčních cest (v různých časových intervalech). Nyní je v návrhu systém laboratorního reaktoru, ze kterého bude možné odebírat vzorky malého v různých časových intervalech.

4.2.5 Hodnocení, závěry

Z celkových výsledků je patrné, že experimenty dehalogenace přinášejí výborné výsledky. Hodnoty DRE minima a maxima z celkových obsahů kongenerů jsou na středních úrovních 99,6-99,9%. Detailní souhrn popisuje následující tabulka.

PCDD (nejtoxictější část)	
Min	Max
98,64%	99,91%
AVG (suma PCDD)	Medián (suma PCDD)
99,67%	99,64%
PCDD/F	
Min	Max
98,34%	99,98%
AVG (suma PCDF)	Medián (suma PCDF)
99,81%	99,86%
PCB	
Min	Max
98,84%	99,95%
AVG (suma PCB)	Medián (suma PCB)
99,76%	99,74%

4.3 Testy genotoxicity – EssenceLine s. r. o.

4.3.1 Optimalizace testů

Cílem projektu POPDESTR je optimalizovat technologii dehalogenace (detoxikace) pevného odpadu, obsahujícího vysoce chlorované perzistentní organické látky (POPs), založené na metodě

CDC, včetně optimálního postupu izolace, použitelného pro mobilní uspořádání a detekce genotoxicity. Detoxikace bude orientována na produkty termických procesů, obsahujících POPs, s hlavním záměrem na kontaminované popílků a další toxické odpady ze spaloven komunálního, nemocničního a nebezpečného odpadu. Optimalizovaná technologie bude ověřena v pilotních podmínkách, přičemž testy budou probíhat na různých vstupních materiálech s různým složením. Další cíl spočívá v pochopení destrukčních mechanismů a jejich optimálních cest na základě výsledků destrukčních zkoušek a dosavadních postupů optimalizace a dále optimalizace příslušných analytických metod. Rozšíření analytických metod spočívá v optimalizaci testů genotoxicity, které budou důležitým nástrojem pro hodnocení destrukční účinnosti nejen v laboratorních podmínkách, ale i v terénu. Toto know-how bude kritické pro efektivní návrh nové generace celkového uspořádání technologie pro sanaci či průmyslovou aplikaci přímo u významného zdroje (spalovny, metalurgie). Další know-how bude předmětem publikačních výstupů, podkladů účinnosti pro uznání technologie mezinárodními standardy podpořené ochranou duševního vlastnictví.

4.3.2 State-of-the-Art

Nesčetné biologické a syntetické sloučeniny obsažené v různých ekosystémech, včetně metalurgických popílků, farmaceutických a kosmetických výrobků, nutraceutikách, pesticidech a dalších materiálech s dopadem na životní prostředí a člověka samotného vyžadují nové efektivní nástroje pro screening potenciálu genotoxicity a tedy i karcinogenity. Znečištění životního prostředí se na celém světě zvyšuje a existují důkazy, že expozice halogenovaných POPs, jako jsou polychlorované bifenylly, může přispět k patologii zánětlivých onemocnění, jako je ateroskleróza, cukrovka a rakovina. Odstranění znečišťujících látek z kontaminovaných míst a následná degradace znečišťujících látek jsou předmětem tohoto projektu a jsou rozhodující pro snížení dlouhodobých zdravotních rizik spojených s expozicí. Úplná sanace toxického prostředí z prostředí je však velmi obtížná a nákladná a to zejména za použití stávajících technologií. Navíc některé technologie sanace vedou k tvorbě sekundárních toxických látek. Vzhledem k těmto okolnostem je třeba prozkoumat environmentálně šetrné a udržitelné technologie sanace a řešení s cílem snížit zranitelnost vůči chemickým útokům na životní prostředí, aby se snížily celková zdravotní rizika spojená s expozicí znečišťujícími látkami v životním prostředí.

Ke znečištění životního prostředí nemalou měrou přispívá i nadužíváním a nešetrným nakládáním s léčivy (zejména cytostatik, antibiotik, antihypertenziv, antidepresiv, hormonálních apod.), u nichž byly publikovány genotoxické účinky, případně endokrinní disrupce.

Genotoxická látka má schopnost měnit charakter genetického profilu buňky (nukleových kyselin). Při působení ve vyšších koncentracích dochází k přímému úhynu buněk, nižší koncentrace způsobují poškození genetické informace. Důsledkem nemusí být buněčná smrt, ale neletální genetické změny trvalého charakteru. Jako důsledek mohou vznikat defektní buňky nebo mutanti organismů. Mezi v současnosti nejvíce diskutované zdravotní důsledky působení genotoxických látek patří například tvorba zhoubných nádorů. Z tohoto důvodu je důležitá informace o případném potenciálu existující látky k poškození nukleových kyselin, kterou lze získat pomocí standardizovaných biotestů. Genotoxický potenciál se může projevovat mnoha způsoby, ale mezi nejčastěji zkoumané endpointy testů patří genové mutace, chromozomální aberace, poškození DNA a jejich oprava. Tyto endpointy mohou být studovány *in vivo* a *in vitro*, přičemž *in vivo* jsou testy prováděné jako součást celkového testování na genotoxicitu za účelem návaznosti na pozitivní *in vitro* testování (Rothfuss et al., 2011, Kirkland et al., 2005, Macgregor et al., 1987). Žádný doposud známý test ale nedokáže detekovat všechny zmiňované endpointy, proto se používá několik navazujících testů (Lynch et al., 2011).

V současné době je nejrozšířenějším a nejvíce účinným testem genotoxicity chemických látek, doporučeným FDA, OECD, ICH ad. *in vitro* Test bakteriální reverzní mutace (Ames Test), který slouží především k primárnímu screeningu genotoxicity a v určitých případech (vymezených

legislativou) je doplňován testem Mikronukleárním, Testem chromozomálních aberací, Umu testem, případně testy *in vivo*.

Pro účely detekce genotoxických látek byla v tomto projektu zvolena metoda odvozená od tzv. Amesova testu, uplatňována vedoucími regulačními orgány jako je Evropská agentura pro chemické látky (ECHA), Evropská agentura pro léčivé přípravky (ICH S2R1, M7), FDA atd. Princip testu spadá do kategorie prokaryotických systémů, za použití kmenů bakterie *Salmonella typhimurium*, které nesou mutace v genech podílejících se na syntéze histidinu. Princip testu je blíže popsán níže. Klasická metoda na Petriho miskách je velmi dobře známá a globálně využívána, ale je poměrně časově, prostorově a materiálově náročná a prakticky nemožná použít pro HTS a obtížně v terénu. Zaznamenány byly pokusy o její optimalizaci v podobě miniaturizace na agaru do "mini" destiček (s použitím 6- až 24- jamkových formátů), které částečně snížily nároky na laboratorní prostory, ale obecně byl zaznamenán pouze omezený pokrok. Další modifikace "metodou fluktuální", za použití podobného principu, ale s odlišným detekčním systémem (pH), dovolila částečně snížit analytickou dobu (cca. 1 týden), nároky na laboratorní prostory a materiál. Nicméně, úspěšná optimalizace systému do terénu předpokládá výrazné snížení laboratorní doby a snazší operace v terénu.

Systém SOS-odpovědi, na základě *Escherichia coli* mechanismu opravy DNA, je další dobře známý test používaný pro screening genotoxicity. Tento test byl také uveden na trh jako metoda fluktuální, je poměrně rychlý a spolehlivý, použitelný pro HTS, nicméně postrádá legislativní podporu, což může být považováno za zásadní nevýhodu z obchodního a marketingového hlediska.

Vědecký výzkum a vývoj se v posledních 2 desetiletích zaměřil zejména na vývoj nových eukaryotických systémů, se zvířecími a biomarkerovými testy, aby bylo lépe simulováno savčí (lidské) metabolické prostředí. V prokaryotických systémech je tento relativní nedostatek kompenzován použitím tzv. S9 frakce, což je enzymatická směs simulující savčí metabolické podmínky. V poslední době byl uveden na trh též testy BlueScreenTM a GreenScreenTM, pro které ovšem chybí legislativní podpora jako v případě systému SOS-odpovědi, což je kritický předpoklad pro jejich úspěšný celosvětový marketing. V rámci dalšího výzkumu a vývoje a historického využití lze zahrnout kvasinkový DEL test a Mitotický test genové konverze, testy na zvířatech (myši transgenní, zebrafish, *Drosophila melanogaster* systémy) a biomarkerové testy (3D-DIP-Chip, Cell Ciphr, CellSensor, OligoGEArray, se zeleným pozadím HC, BkueScreen HC, hymna je genotoxicity obrazovka, GADD153). Kromě animálních testů, které jsou dnes významně redukovány v rámci celosvětové strategie „3R“, tyto testy zůstávají spíše pro výzkumné účely, než-li by mohly aspirovat na diagnostický nástroj pro rutinní analýzy a to v důsledku zejména absence podpůrných právních předpisů, ale také pracnosti a relativně úzkém profilu informací obsažených ve výsledcích. Další testy, jako je kometový test, mikronukleový test a test myšího lymfomu byly začleněny do právních předpisů, do tzv. baterie testů použitelných pro screening genotoxicity, ale zůstávají testem druhé volby.

4.3.3 Test genotoxicity

4.3.3.1 Princip testu

Princip testu byl odvozen od klasického Amesova testu, u kterého se využívá přirozené mutace v histidinovém operonu (*his*-) (*Salmonella typhimurium*) nebo operonu tryptofanu (*trp*-) (*E.coli*), čímž takováto bakterie není schopna produkovat danou aminokyselinu. Bakterie s mutací *his* – nebo *trp*- nejsou schopné růstu své populace pokud nemají přístup k dané aminokyselině. Změna nastává v případě mutace, konkrétně v substituci bází nebo posunu čtecího řetězce uvnitř genu, která může způsobit obnovení funkce (reverse) genu a tedy obnovení prototrofického fenotypu. Revertanti pak jsou schopni růstu v mediu bez přídavku aminokyseliny.

Určení mutagenního potenciálu zkoumané látky je dosaženo expozicí bakterií různým koncentracím testované látky a následnou kvantifikací reverzních mutací. K selekci revertantů jsou použity média bez obsahu specifických aminokyselin.

Použité kmeny jsou u *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1353 a TA1537 a u *E.coli* wp2[pKM101] wp2 *uvrA*. Kmeny TA 100, TA1535 a *E.coli* se používají z důvodu určení nukleotidových substitucí a kmeny TA98 a TA1537 slouží k určení posunu čtecího rámce. K detekci mutace posunu čtecího řetězce a substituce dochází u kmenů *S.typhimurium* v párech bází GC a u *E.coli* kmeny v párech bází AT. Všechny použité kmeny jsou ve shodě s příslušným metodickým předpisem (OECD 471).

4.3.3.2 Genotypy kmenů

Kmen	Mutace	Typ	Cíl	Buněčná stěna	Oprava	pKM101
S. typhimurium						
TA98	hisD3052	posunu čtecího řetězce	GCGCGCGC	rfa	UvrB	Ano
TA100	HisG46	Substituce	GGG	rfa	UvrB	Ano
TA1535	HisG46	Substituce	GGG	rfa	UvrB	Ne
TA1537	HisC3076	posunu čtecího řetězce	+ 1	rfa	UvrB	Ne
E.coli wp2						
uvrA	trpE65	Substituce	A:T	-	UvrA	Ne
[pKM101]	trpE65	Substituce	A:T	-	-	Ano

Přehled použitých kmenů a příslušných mutací

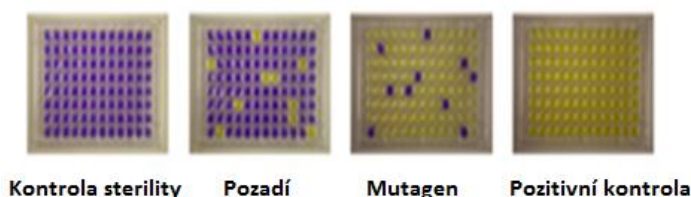
V tabulce výše je uveden přehled používaných kmenů: *rfa* mutace způsobuje defekt v lipopolysacharidové (LPS) membránové vrstvě, čímž se zvýší permeabilita povrchu bakteriálních buněk pro objemné molekuly, *uvrB/uvrA* mutace eliminují přesný reparační mechanismus (accurate excision repair mechanism) buněk, namísto nějž se zapojí více chybový mechanismus (error-prone DNA repair) a tím vzniká více mutací. pKM101 R faktor plazmid způsobuje zvýšenou citlivost a odpověď kmenů na různé mutageny.

4.3.3.3 Analytický Postup

Přibližně 10^7 bakterií je vystaveno 6ti různým koncentracím testované látky a zároveň pozitivní a negativní kontrole. Expozice probíhá 90 minut v médiu s minimálním obsahem deficientní aminokyseliny pro dané kmeny. Obsah aminokyselin je dostatečný pro dvě buněčné dělení. Po expozici jsou buňky rozředěny médiem s deficitem aminokyselin a po přidavku pH indikátoru alikvotovány do 48 jamek na 384 jamkové destičce. V případě úspěšné mutace dochází ke změně pH v důsledku růstu buněk, které byly látkou změněny na prototrofní. Každá dávka je měřena ve třech replikacích pro zlepšení statistické robustnosti analýzy. Počet jamek s obsahem revertantů je porovnán s negativní kontrolou.

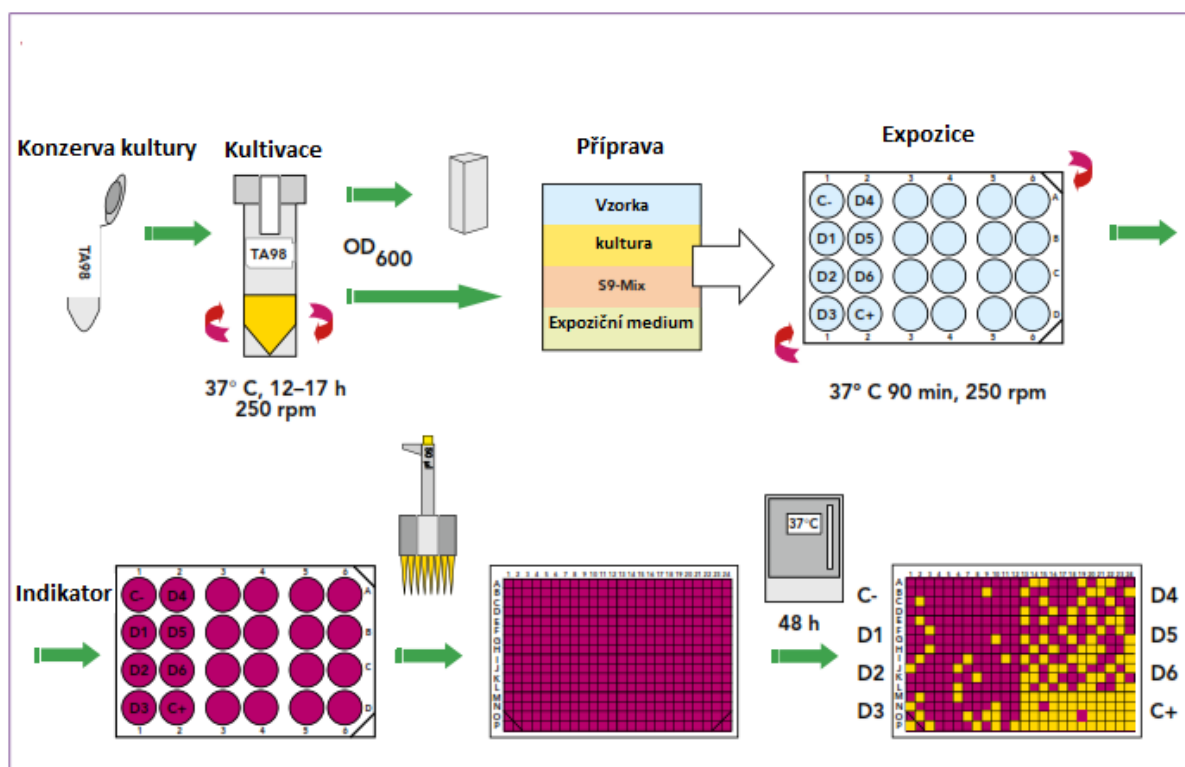
Metoda se provádí výhradně v kapalně kultuře a je vyhodnocena sečtením počtu jamek, které zežloutnou z fialové barvy na 384-jamkové destičce.

Tato technika využívá stejné koncepty jako tradiční misková s tím, že bakterie jsou přidány do reakční směsi s malým množstvím histidinu, který umožňuje bakteriím růst a mutovat, a navrátit se do stavu kdy jsou schopny syntetizovat svůj vlastní histidin nebo tryptofan. Zahrnutím indikátoru pH je možno počítat frekvenci mutace jako počet jamek z 48, které změnil barvu (v důsledku poklesu pH v důsledku metabolických procesů množících se bakterií). Stejně jako v případě tradičního Amesova testu, je vzorek srovnán s backgroundem, tj. přirozenou rychlostí reverzní mutace za účelem stanovení genotoxicity látky. 384-jamkové destičky



se inkubují po dobu dvou dnů, kdy se mutované (žluté), pozitivní jamky se počítají a porovnávají s pozadím pomocí standardních tabulek k určení významných rozdílů mezi pozadím a testovanými vzorky.

Metoda je srovnatelná s tradiční metodou co se týče citlivosti a přesnosti, nicméně má řadu výhod včetně možnosti testování ve nižších koncentracích vzorku (až do 75% V/V), což zvyšuje a rozšiřuje použití i na environmentální mutageny obsažené v nízkých koncentracích.



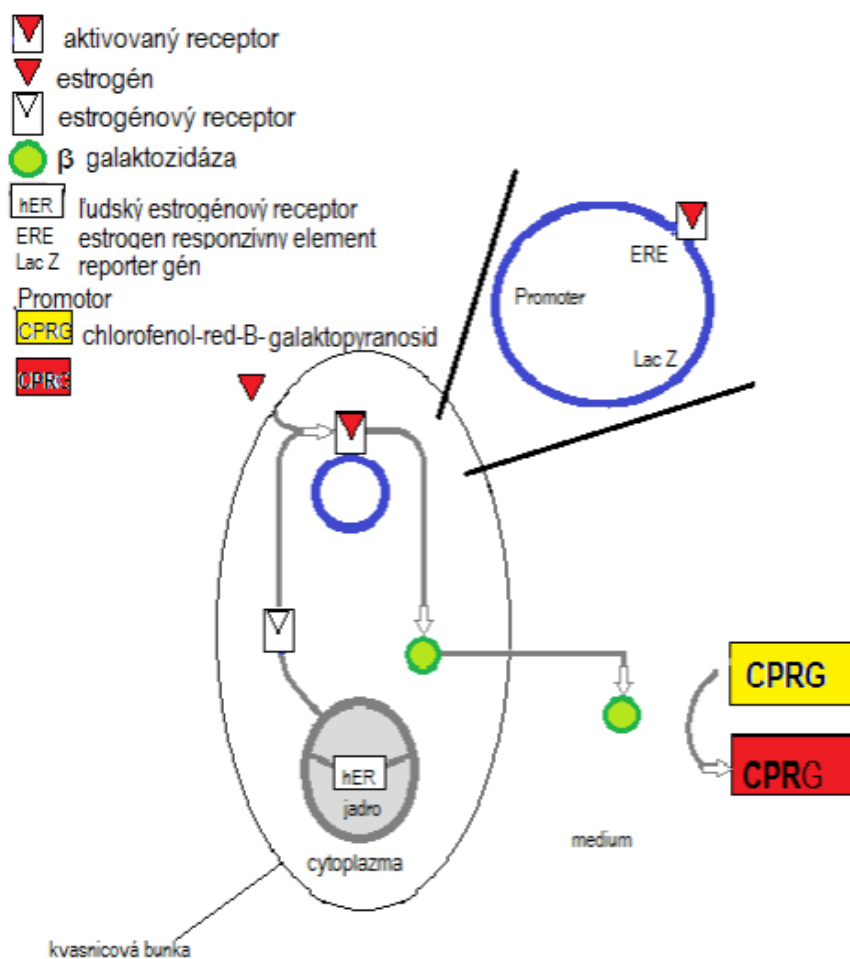
Schématické znázornění průběhu testu genotoxicity

Metoda má jednoduchý kolorimetrický koncový bod, spočítání pozitivních jamek z 384-jamkových destiček je mnohem méně časově náročné než počítání jednotlivých kolonií na misce s agarem.

4.3.4 Test endokrinní disrupce

4.3.4.1 Princip testu

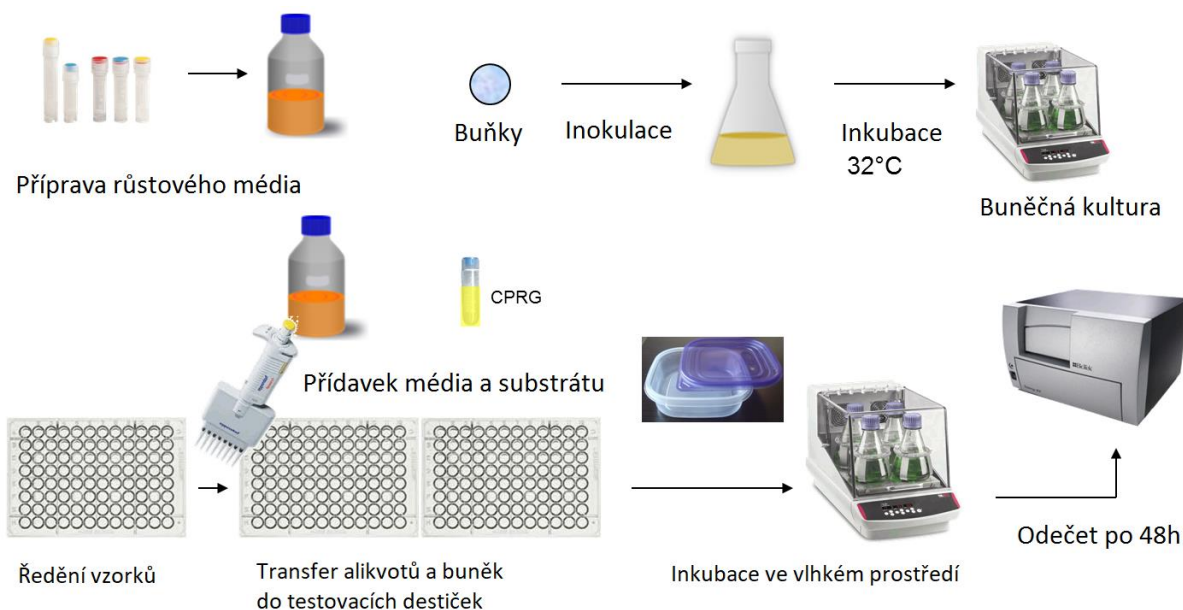
Geneticky modifikované *Saccharomyces cerevisiae* se využívají k detekci sloučenin s endokrinní disrupcí prostřednictvím interakce lidského estrogenního a androgenního receptoru hERa a hAR. Do chromozomů kvasinek jsou stabilně integrovány sekvence pro hERa nebo hAR. K tomu je do buněk vložen plazmid s reportérovým genem lacZ pro enzym beta-galaktosidázu a estragenový (YES) nebo androgenní (YAS) responsivní element. Při vazbě ligandu s receptorem je receptor aktivován. Aktivovaný receptor interaguje s příslušným elementem a spouští transkripci lacZ. Galaktosidáza je sekretována do růstového média, kde dochází k přeměně žlutého substrátu chlorofenol red-β-D-galaktopyranosidu (CPRG) na červenou látku kolorimetricky detekovatelnou při 570nm. Tímto měřením je možno korelovat množství uvolněného enzymu s aktivitou zkoumané substance. Níže je schematicky znázorněn molekulární princip testu.



Schématické znázornění molekulárního principu testu

4.3.4.2 Analytický postup

Nakultivované kvasinky jsou vystaveny různým koncentracím zkoumaných látek, pozitivním kontrolám a kombinaci pozitivní kontroly a zkoumané látky (ke zjištění antagonistického efektu). Buňky jsou inkubovány v médiu s přidavkem substrátu pro beta-galaktózu. Následně jsou inkubace vyhodnoceny měřením absorbance při 570 a 690 nm. Výsledky slouží k odhalení případné estrogenní nebo androgenní aktivity, případně inhibice. Níže je schematicky popsán analytický průběh testu.



Schématické znázornění průběhu testu endokrinní disrupce

4.3.5 Optimalizace analytických protokolů do terénu

Z pohledu optimalizace testů genotoxicity a endokrinní disrupce do terénu byly navrženy zejména následující úpravy s ohledem na níže uvedená hlediska:

- Prostorová náročnost
 - Minimalizace přístrojového vybavení a skladových prostor
 - Optimalizace pracovní plochy
- Časové nároky
 - Optimalizace času inkubací
 - Optimalizace „hands on time“ náročnosti
 - automatizace procesů
- Optimalizace vstupních surovin
 - Optimalizace energetické náročnosti.
 - Optimalizace jednotlivých vstupních surovin
- Specifické požadavky v místě aplikace
 - Úprava vzorků pro analýzy
 - Nároky na zásobování v terénu
 - Bezpečnost práce v terénu
 - Ochrana osob, vzorků a vybavení před kontaminací
 - Ochrana osob, vzorků a vybavení před environmentálními vlivy
 - Jiné specifické požadavky dle nepředvídaných okolností

4.3.6 Závěr

Během 1. roku řešení projektu byla pořízena, sestavena a adjustována analytická soustava k detekci genotoxicity a endokrinní disrupce a ověření účinnosti dehalogenace (detoxikace) pevného odpadu, obsahujícího vysoce chlorované POPs, založené na metodě CDC. Zejména byla ověřena použitelnost pro vzorky s hlavním záměrem, tj. kontaminované popílký a další toxické odpady ze spaloven komunálního, nemocničního a nebezpečného odpadu. Z proběhlé aktuální rešerše a předchozích zkušeností byly zvoleny výše popsány analytické metody, kde hlavním

kritériem byla co nejvyšší efektivita a použitelnost jak pro dané vzorky tak v terénu. Kromě instalace analytické soustavy byly testovány protokoly a analytické podmínky, dále pro statistická vyhodnocení bylo pořízeno pokročilé datové úložiště s dostatečnou kapacitou (12 TB) s možností dalšího rozšíření pro data, která budou získána během řešení projektu. V rámci technologie byla popsána metodika, analytické postupy a řešení v příštím roce, včetně návrhů postupů k optimalizaci do terénu.

5 Plnění dílčích cílů první etapy

Následující podkapitoly popisují splnění jednotlivých dílčích úkolů pro 1. etapu odpovídající postupu prací v roce 2017.

5.1 *Nákup a instalace analytických systémů; příprava a validace metodik, akreditace*

Byl zakoupen analytický systém GC, se systémem statickým headspace. Metody byly připraveny pro stanovení zbytkových obsahů více těkavých POP, včetně TOL. Metody jsou zpracovány, připraveny ke kontrole.

Dalším systémem, který je v procesu nákupu, je systému GC-MS/MS, iontové pasti, který je již připraven na instalaci a zaškolení obsluhy – pro speciální organickou analýzu málo těkavých POP.

5.2 *Nákup materiálu pro konstrukci jednotky separace, vlastní konstrukce*

Byly zakoupeny jednotlivé komponenty separace systémy kapalina-pevná fáze. Jmenovitě jde o tyto komponenty:

- 1x Extrakční nádoba, jmenovitěho objemu 16m³, pracovního objemu 12m³,
- 2x Odparky, s kondenzory, o jmenovitěm objemu 2,5 m³,
- Propojovací potrubí/hadice,
- Cirkulační čerpadla – v procesu dodání,
- Skladovací nádrže izolátů – 4x – dodány,
- Mezisklady – nádrže – na meziprodukty,
- Kolony pro záchyty různých forem látek – dodáno, provozováno,
- Modifikace košů pro záchyty na ČOV – vyrobeno – připraveno pro expozici na ČOV (v jednání výběr míst; dosti citlivé (obava ze zneužití informací, nutno formálně smluvní podchycení), bylo nutno oslovit kolegy za VUV, kteří využívají přímých vazeb).

5.3 *Výpočet entalpických bilancí, návrhy úprav jednotek*

Entalpické bilance provádí zahraniční partner projektu společnost EnProCo, jejíž činnosti do poloviny roku 2018 jsou shrnuty v následujících podkapitolách:

5.3.1 *Výpočty společnosti EnProCo*

Projekt POPDESTR je zaměřen na chemicko/katalytickou destrukci těžko odbouratelných škodlivých látek POP. Na základě cílů projektu a podle rozdělení pracovních balíčků byly vybrány matrice, reprezentující škodliviny. Tyto matrice byly degradovány a průběh monitorován pomocí procesních modelů a simulací.

EnProCo vypracovalo v průběhu roku 2017 a části roku 2018 pracovní balíček č.1 (výpočet hmotnostních a entalpických bilancí a návrh úprav jednotek), stejně jako optimalizaci reaktoru pro dosažení zvýšené destrukční účinnosti při nejmenších nákladech na provoz (pracovní balíček 2 pro rok 2018 – rozpracováno). Získané výsledky byly shrnuty ve výroční zprávě pro Německou grantovou agenturu, representovanou AIF Berlin GmbH. Tato agentura schválila zprávu EnProCo v plném rozsahu a byla rovněž informována o průběžných výsledcích všech projektových partnerů.

V dalším textu jsou shrnuty nejdůležitější dosažené výsledky.

5.3.2 WP01 – Příprava, analytika, vyhodnocení, modelování

Cílem prvního pracovního balíčku bylo kromě výběru studovaných matric zejména sestavení příslušných procesních modelů degradační jednotky, zaměřené na hmotnostní a entalpické bilance jednotlivých degradačních procesů. Přestože není příspěvek EnProCo zcela vědeckého charakteru, je mechanismus degradace po kinetické stránce velmi atraktivní téma a v odborné literatuře je relativně málo popsán, obzvláště pokud přihlédneme ke komplexnosti odbourávání zátěží, například z komunálních skládek. Současně je nutné již na začátku zmínit, že motivace tohoto projektu cílí do totální degradace a tedy eliminace škodlivin, která bývá v drtivé většině případů dosažena při velmi vysokých konverzích, spojených s totální degradací škodlivin. Tohoto cíle bylo ve vybraných maticích úspěšně dosaženo.

Konkrétní výsledky inženýrské práce EnProCo jsou pro pracovní balíček č.1 shrnuty ve dvou modelových studiích, věnovaných:

1. Degradace škodlivin z komunálních odpadů a deponií,
2. Rozklad a degradace chlorovaných POP z komunálních residuí, zaměřená na epichlorhydrin, chlorovaná rozpouštědla a trichlorethan.

V první pracovní matici byly analyzovány a modelovány výsledky obsažného datového materiálu E&H services, získaného při degradaci komunálního odpadu. Surová procesní data, získaná na prototypu degradační jednotky, byla statisticky vyhodnocena a získané výsledky implementovány do procesního modelu, který popisoval reálné pracovní podmínky při degradaci. Výstupy procesní simulace byly srovnány s naměřenými výsledky a byla konstatována velmi dobrá shoda naměřených a namodelovaných výsledků. Na tomto místě je třeba podotknout, že monitoring degradace odpadů simulačními modely z deponií není v odborné literatuře popsán a způsob simulačního přiblížení je unikátní. Pro jednotlivé skupiny škodlivin bylo využito přiblížení pomocí chemických „reprezentantů“ a konverze systému byla adjustována pomocí dvojí aproximace – konverze reakce a její selektivity. Tak bylo možné nastavit procesní model pro popis velmi komplexního degradačního systému škodlivin z deponie. Detailní výsledky jsou uvedeny v národní zprávě pro rok 2017.

Ve druhém studovaném systému byla sledována kinetická degradace trichlorethylénu při variabilní teplotě a době zdržení. Cílem bylo rigorózně popsat degradaci této komponenty pomocí běžných kinetických nástrojů, tedy definovat kinetické konstanty, vyhodnotit pre-exponenciální faktor a vypočíst aktivační energii reakce. Těchto cílů bylo jednoznačně dosaženo a získané výsledky korelují s obdobnými poznatky z odborné literatury. Díky přítomnosti katalytického kontaktu bylo upřednostněno kinetické přiblížení podle Langmuir-Hinshelwood-a, definující rychlost reakce r jako:

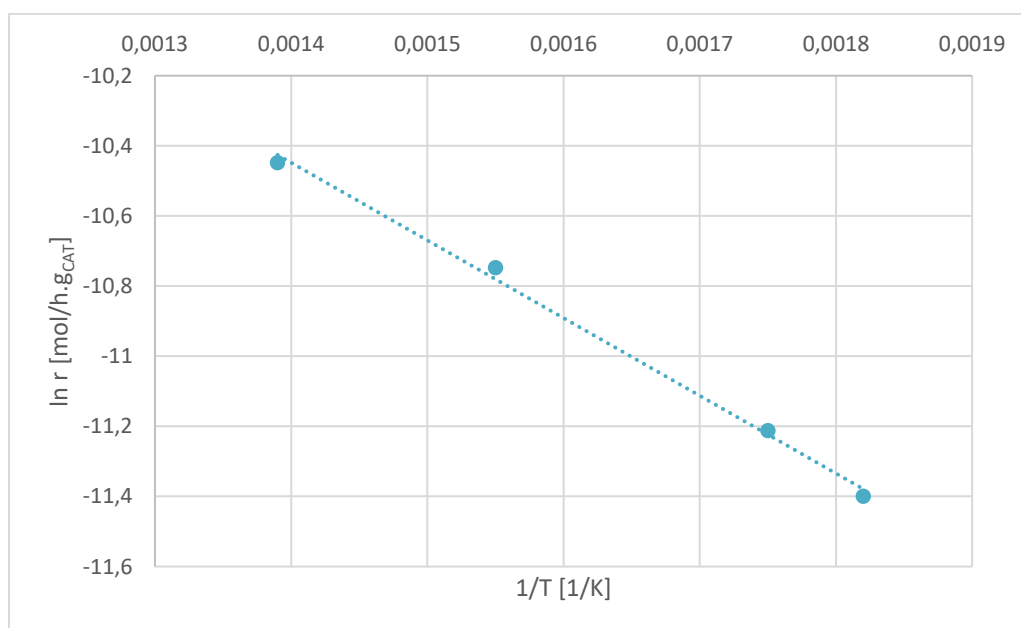
$$r = \frac{K_A \cdot k_{VOC} \cdot p_{VOC}}{(1 + K_A \cdot p_{VOC})^2} \left[\frac{\text{mol}}{\text{h} \cdot g_{CAT}} \right]$$

kde K_A znamená Adsorpční konstantu [m^3/kmol], k_{VOC} kinetickou konstantu reakce [$\text{m}^3 \text{ směsi} / \text{m}^2 \text{ Katalysátoru}$] a p_{VOC} koncentraci eduktu [Pa].

Po integraci příslušných integrálních rovnic a diskriminaci modelu bylo možné vyhodnotit Aktivační Energii E_A a předexponenciální Faktor k_∞ podle Arrheniova vztahu:

$$k = k_\infty \cdot e^{\frac{-E_A}{RT}} \left[\frac{\text{J}}{\text{mol}} \right]$$

Směrnice získané lineární závislosti odpovídá aktivační energii 18,4 kJ/mol a úsek předexponenciálnímu faktoru $6,45 \cdot 10^{-4} [\text{m}^3/\text{m}^2 \text{ Kat}]$, viz následující graf. Díky absorpčnímu chování reakce je hodnota aktivační reakce přes její exothermičnost relativně nízká. To je ovšem dáno jednoznačnou limitací chemické reakce vnější difuzí, která je rychlost určujícím krokem. Molekuly reaktantů si velmi intenzivně konkurují při obsazování aktivních center katalyzátoru a proto je adsorpce, nikoli exothermní chemická reakce zodpovědná za výši aktivační reakce.



Arrheniusova-závislost POP-Destrukce pro matrici 2

Získané výsledky degradačních reakcí obou maticí byly využity pro několik účelů: předně to byl intenzivní feedback pro experimentální činnost. Při studiu kinetiky či rozkladných reakcí je ve většině případů nutné volit metodu trial/error, zejména při screeningu nových katalytických systémů či matic. Toto byl rovněž případ této práce. Na základě vyhodnocení procesních dat byly výsledky komunikovány s partnery projektu a byly navrženy nové pracovní podmínky, vedoucí ke zvýšení účinnosti degradace.

Vedle těchto prací byly navrženy doplňkové testy na referenčních materiálech, objevily se však určité nutnosti úprav destrukční jednotky, aby bylo možné vzorky odebírat i během destrukční operace (toto je v řešení, dosavadní technická opatření nebyla nejvhodnější).

Druhým využitím práce EnProCo je návrh úpravy destrukční jednotky, zejména s ohledem na pracovní podmínky chemických přeměn. Vzhledem k předběžným analýzám toxikologických rozborů je totiž jednoznačné, že je nutné vést jednotlivé destrukční přeměny do velmi vysokých konverzí tak, aby byla zajištěna toxická nezávadnost produktů. Tohoto cíle je možné dosáhnout pouze při systematické korelaci procesních podmínek jak s dosaženými výsledky, tak ale také s předpovědi procesních modelů, které byly v tomto pracovním balíčku představeny.

Pracovní balíček 1 byl splněn v plném rozsahu a potvrzen grantovou agenturou SRN.

5.3.3 WP02 – Optimalizace

V souladu s výstupy prvního pracovního balíčku byla v dalších pracích zaměřena pozornost na optimalizaci reaktoru pro dosažení zvýšené destrukční účinnosti při nejmenších nákladech na provoz.

Toto téma je rozpracována, ovšem první výsledky jsou již k dispozici.

Díky získaným poznatkům bylo přikročeno k optimalizaci reakčního uspořádání, korespondující takzvanému hybridnímu, či kombinovanému procesu degradace, které je chemické reakci předřazena účinná extrakce škodlivin ze sledovaného materiálu. Tohoto postupu bylo již parciálně využito v první sledované matici a prohloubeno v těchto případech:

- Extrakce a degradace drogových a hormonálních residuů ze sedimentů, usazených v říčních tocích, jezerech či velkých zásobnících vody,
- Extrakce a degradace popílků z metalurgie, obsahujících POP.

Studium kombinované extrakce a degradace zvolených nových matrice má za úkol kromě studia chemických přeměn také minimalizovat náklady na provoz jednotky. Zde byly provedeny expertní práce, související se základním tématem – sdílením tepla v těchto systémech. Ukazuje se, že nejenom scale up reakční jednotky, ale také zajištění tepelného hospodářství a rekuperace tepla je klíčem k dosažení úspěšného výsledku.

5.4 Vlastní technická realizace úprav pro mobilní uspořádání, napojení na jednotku

Do kontejnerového uspořádání byly připraveny kolony pro čištění vod, které budou moci být nasazeny na vybraných ČOV. V prvním přiblížení byl pořízen systém pro zachyt látek na pevné fázi – pro regeneraci sorpčních náplní. Do mobilního uspořádání tento systém pak snadno přeneseme, neb zmenšování měřítko v tomto případě bude snadnější. V souvislosti s umístěním extrakce jsou také řešeny příslušné stavební úpravy, které jsou vázány na nově zakoupenou halu pro provozování těchto technologií.

5.5 Příprava testovacích matric obsahujících POPs

Byly připraveny tyto matrice pro realizované destrukční zkoušky:

- Nativní matrice s kontaminací zbytkovými nepolárními pesticidy – z různých zdrojů, zejména ekologických deponií (realizováno, totální destrukce),
- Umělé matrice s koncentrovanými nánosy (realizováno, totální destrukce),
- Nativní matrice odprašků z metalurgie – realizováno (totální destrukce),
- Umělé nánosy na nabohacovacích kolonách (simulace z procesu čištění a regenerace povrchových zdrojů pitné vody) – probíhá,
- Nativní nabohacení sorpční náplně na ČOV – probíhá,
- Destrukce materiálů s referenčními hodnotami pro časově realizované destrukce – probíhá.

Z důvodu velkého rozsahu testů nepřikládáme všechny výsledky. Jalo příklad uvádíme seznam matric, které byly získány z různých zdrojů referenčních materiálů (E&H services, a.s.).

Označení	Sloučeniny	Matrice	Certifikát
R1	halogenated hydrocarbons	mussel homogenate	IAEA 142
R2	organic contaminants	fish homogenate	IAEA 406
R3	organic contaminants	estuarine sediment	IAEA 408
R4	organic contaminants	mussel homogenate	IAEA 432
R5	halogenated hydrocarbons	sediment	IAEA 383
R6	halogenated hydrocarbons	sea plant homogenate	IAEA 140
R7	organic contaminants	marine sediment	IAEA 459
R8	chlorinated biphenyls	sewage sludge	EC 392 - BCR
R9	organic contaminants	mussel tissue	NIST 2977
R10	chlorinated biphenyls	sewage sludge	EC 392 - BCR
R11	organic contaminants	marine sediment	NIST 1941a
R12	organic contaminants	cabbage	IAEA 359
R13	PAH	diesel particulate matter	NIST 1650b

Tabulka: Seznam standardních referenčních materiálů

Tyto experimenty jsou připraveny pro destrukční zkoušky v časových intervalech, nikoli cestou totální destrukce, tj. destrukce do konečné 100% detoxifikace.

6 Závěr

Cíle projektu jsou plněny podle plánu. Výsledné hodnoty pilotních testů ukazují na vysokou účinnost vyvíjené technologie. Testování stále probíhá, zejména s ohledem na komplexitu reprezentativních odběrů vzorků v časových intervalech. Do projektu byly doplněny technologické jednotky pro separaci z pevné fáze a experimenty na kolonách. Jednotky se nyní testují. Projekt jsme totiž nad plán rozšířili na nové látky, které jsou v současnosti velmi žádané: hormony, antibiotika a jiná léčiva + polární pesticidy, neboť se objevují poptávky po těchto řešeních a stávající technologie v ČR a Evropě neexistují.