

Niszczący wpływ ozonu na roztocza kurzu domowego – najważniejszego czynnika wywołującego alergię

Jae-Hyuk Han,¹ Byung Soo Oh,² Sung-Yon Choi,¹ Byoung-Chul Kwon,¹ Myung Hyun Sohn,¹ Kyu-Earn Kim,¹ Joon-Wun Kang²

¹ Wydział pediatrii, Yonsei University College of Medicine, Youngdong Severance Hospital, Seoul, Korea

² Wydział inżynierii środowiska, Yonsei University Wonju, Wonju, Korea

W ramach niniejszego badania sprawdzono, czy ozon jest w stanie wyeliminować roztocza kurzu domowego (House Dust Mites, HDM), jedną z najczęstszych przyczyn chorób alergicznych, jak również czy ozonu może mieć zastosowanie do kontroli środowiskowej pacjentów cierpiących na alergię. Eksperymenty przeprowadzono w niewielkiej komorze (50 cm³), w której istniała możliwość zachowania stałego kontaktu między ozonem w postaci gazowej a 40-60 aktywnymi roztoczymi kurzu domowego przez cały okres reakcji (temperatura = 25°C, wilgotność względna = 75%). W przedziale 0,19-10,62% (v/v) wyższe stężenie ozonu prowadziło do szybszej inaktywacji roztocza kurzu domowego. Wartość CT ozonu wykazywała liniową zależność ze skutecznością inaktywacji (%) żywych roztoczy. Uzyskane przez nas wyniki pozwoliły na stwierdzenie, iż wartość CT rzędu 400 mg-min/L była niezbędna do uzyskania blisko 100% skuteczności eliminacji 40-60 aktywnych roztoczy.

WSTĘP

Roztocza kurzu domowego (House Dust Mites, HDM) stanowią najczęstszą przyczynę chorób alergicznych. Tezę, iż kurz domowy stanowi przyczynę chorób alergicznych postawił po raz pierwszy Kern w roku 192; w roku 1967 w Danii Voorhorst zasugerował, iż antygeny roztoczy kurzu domowego obecnego w środowisku domowym stanowią prawdopodobną przyczynę chorób alergicznych układu oddechowego, odnotowując jednocześnie zależność pomiędzy takimi chorobami a roztoczymi kurzu domowego (Voorhorst i in., 1967; Boner i in., 1985; Arlian i in., 2001). Roztocza kurzu domowego spotykane są najczęściej na materacach, dywanach, obitych tkaniną sofach, tkaninach, materiałach, pościeli oraz fotelach samochodowych obitych tkaniną. W samej Korei liczba roztoczy kurzu domowego wzrasta istotnie w sierpniu, najniższa natomiast w maju, jednak wystarczająca do wywołania chorób alergicznych, dlatego symptomy takich chorób widoczne są przez cały rok (Hong i Lee, 1992). Objawy drażliwości układu oddechowego oraz jego reakcje alergiczne wywoływane są przez większość antygenów roztoczy kurzu domowego, w tym Dermatophagoides farinae (Der f) i Dermatophagoides pteronyssinus (Der p) obecne głównie w szczątkach roztoczy, które wiążą się z immunoglobuliną IgE obecną na powierzchni komórek tucznych, tworząc takie produkty reakcji chemicznej, jak np. histamina.

Najpoważniejsze choroby alergiczne obejmują astmę, alergiczny nieżyt nosa oraz atopowe zapalenie skóry (Jeon i in., 1999). Podstawowe rodzaje terapii chorób alergicznych obejmują wyeliminowanie przyczyn, jak np. antygenów roztoczy kurzu domowego, lub odpowiednie postępowanie z otoczeniem celem zredukowania obecności antygenów: Stosowanie pościeli antyalergicznego stanowi główną metodę uniknięcia obecności roztoczy kurzu domowego (Crank i in., 2001; Choi i in., 2002).

W celu ograniczenia liczby roztoczy kurzu domowego należy zapewnić odpowiednią temperaturę oraz wilgotność względną, odpowiednio poniżej 20°C i 45%, natomiast pościel należy prać w gorącej wodzie o temperaturze przekraczającej 55°C częściej, niż raz na 2 tygodnie, a następnie dokładnie suszyć w świetle słonecznym (Arlian i Platts-Mills, 1993). Pościel i sofę należy zabezpieczyć osłoną nieprzepuszczającą antygeny celem uniemożliwienia rozwoju roztoczy kurzu domowego, jak również stosować urządzenia do oczyszczania powietrza oraz odkurzacze.

Ozon, środek silnie dezynfekujący i utleniający, wykorzystywany jest w wielu gałęziach przemysłu do dekoloryzacji, dezodoryzacji i zmian strukturalnych związków organicznych (Langlais i in., 1991). W ostatnich latach ozon wykorzystywany jest również do sterylizacji wody pitnej i powietrza, dezodoryzacji różnorodnych obiektów, w tym między innymi zakładów oczyszczania ścieków, czy też do oczyszczania instalacji, akwariów i zakładów browarniczych itp. Odnotowano, iż ozon w stężeniu od 0,3 do 0,9 mg/L eliminuje bakterie *E. coli*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* oraz *Listeria*, a także różnego rodzaju wirusy (Sechi i in., 2001). Nie przeprowadzono jednak badań jakościowych ani ilościowych, dotyczących niszczącego wpływu ozonu na roztocza kurzu domowego (Days i in., 1983). Dlatego też w ramach niniejszych badań sprawdzono, czy ozon jest w stanie wyeliminować roztocza kurzu domowego w fazie atmosferycznej, natomiast podczas ciągłej ekspozycji roztoczy kurzu domowego na działania ozonu w postaci gazowej przeprowadzono pomiar wartości CT celem ustalenia właściwej dawki ozonu pozwalającej na ich wyeliminowanie.

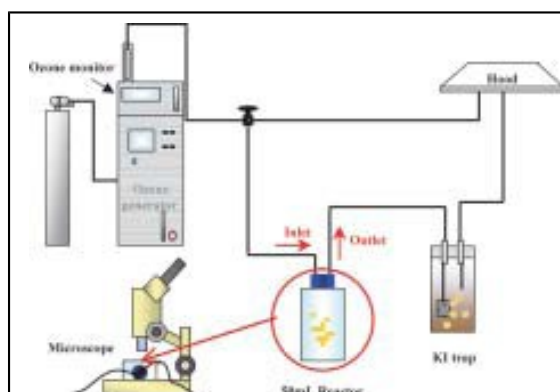
MATERIAŁY I METODY

Pobieranie próbek roztoczy kurzu domowego

W procesie pobierania próbek docelowych roztoczy kurzu domowego (Der f AND Der p) udział wzięł Wydział parapsychologii kolegium medycznego. Z kurzu zgromadzonego w odkurzaczu pobrano próbki roztoczy obecnych na pościeli, sofach, dywanach i przedmiotach codziennego użytku. Pobrane próbki roztoczy podzielono na odrębne gatunki, umieszczono w środowisku umożliwiającym ich rozwój, wykorzystując do tego pokarm dla ryb i suszone drożdże wymieszane w proporcjach 1:1, i przechowywano w temperaturze pokojowej (21-22°C) przy wilgotności względnej rzędu 75% (Rei i in., 1997). Po uzyskaniu odpowiedniej liczby dorosłych osobników usunięto larwy i jaja. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż 0,01 g podłoża zawiera około 40-60 aktywnych roztoczy, których płęć nie została jednak określona.

Ozonowanie roztoczy kurzu domowego

Do badań w charakterze reaktora ozonowego wykorzystywano komorę (objętość = 50 mL, długość = 4 cm, szerokość = 2 cm, wysokość = 2 cm), w której ozon w postaci gazowej mógł być rozpraszany nieprzerwanie. Reaktor ten wykonany został ze szkła, co ułatwiało obserwację z zewnątrz. Ozon generowany był z tlenu o wysokim stopniu czystości z wykorzystaniem odpowiedniego generatora ozonu (OZONIA, CFS, Szwajcaria). Ozon w postaci gazowej rozpraszany był w komorze zawierającej 40-60 aktywnych roztoczy ze stałym natężeniem przepływu wynoszącym 50 mL/min., gwarantowanym przez wykorzystanie przepływomierza. Stężenie ozonu w stanie ustalonym w komorze, uzyskane po upływie co najmniej 3 minut, wynosiło od 0,19 do 10,62% (v/v). Reaktor umieszczono pod mikroskopem (Reichert, Niemcy) pozwalającym na uzyskanie 20-krotnego powiększenia celem ustalenia liczby roztoczy kurzu domowego żywych i aktywnych podczas ozonowania. Powyższa konfiguracja pozwoliła na określenie liczby żywych i aktywnych roztoczy kurzu domowego w czasie rzeczywistym, w trakcie badań. Temperatura oraz wilgotność względna wewnątrz reaktora wynosiły odpowiednio 25°C i 75%. Do ustalenia, czy roztocza kurzu domowego są aktywne wykorzystano kilkusekundową obserwację ich ruchu. W przypadku nawet najdrobniejszego ruchu przyjmowano, iż roztocza te są żywe, gdyż nieustanny ruch stanowi jedną z ich cech charakterystycznych. Pomiar początkowego i końcowego stężenia ozonu w postaci gazowej przeprowadzono z wykorzystaniem 2% roztworu jodku potasowego umieszczonego w zbiorniku podłączonego z jednej strony do reaktora. Na Rys. 1 przedstawiono schemat laboratoryjnego reaktora ozonowego.



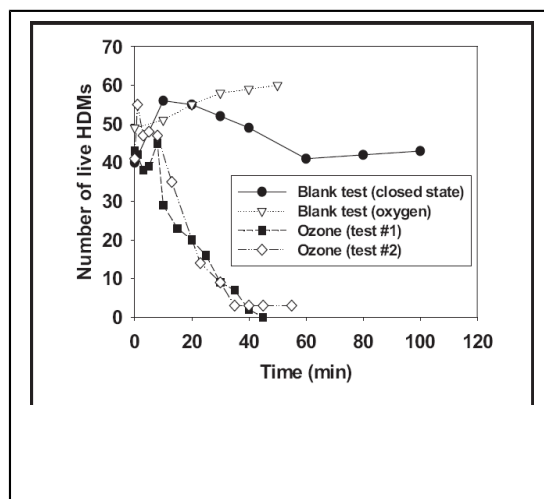
Rys. 1 Schemat laboratoryjnego reaktora ozonowego

Podczas pierwszego eksperymentu zbadano, czy obecne w reaktorze roztocza kurzu domowego niszczone były podczas nieprzerwanej ekspozycji na działanie ozonu w stężeniu 0,48% (v/v); czas wymagany do eliminacji został odnotowany. Jednocześnie zbadano roztocza zamknięte w komorze i poddane działaniu tlenu (99,999%) zamiast ozonu. Podczas drugiego eksperymentu, celem ustalenia skuteczności różnych dawek ozonu i czasów ekspozycji, roztocza kurzu domowego poddano działaniu 0,19, 0,29, 0,63 i 1,18% stałych stężeń ozonu, a liczba aktywnych roztoczy odnotowana została podczas ekspozycji wynoszących 0, 10, 20, 30, 40, 60, 80 i 100 min. Podczas trzeciego eksperymentu, po początkowej dawce 0,10% ozonu, gazu tego nie wprowadzono do reaktora. Stężenie ozonu w reaktorze w miarę upływu czasu ulegało zmianie, a badaniu poddano korelację pomiędzy wartością CT (iloczyn stężenia ozonu i czasu ekspozycji) a skutecznością inaktywacji roztoczy. Podczas czwartego eksperymentu, ze względu na to, iż ozon pozostający w reaktorze po zniszczeniu roztoczy może mieć szkodliwy wpływ na ludzi, określono również czas niezbędny do ograniczenia stężenia ozonu do poziomu dla ludzi bezpiecznego (0,10 ppm). W tym celu wieko reaktora usunięte zostało pod osłoną, a ozon został naturalnie odprowadzony do atmosfery, a jego stężenie mierzone było wraz z upływem czasu.

WYNIKI I DYSKUSJA

Inaktywacja roztocza kurzu domowego z wykorzystaniem ozonu

Do ustalenia różnic w liczbie aktywnych roztoczy kurzu domowego wynikających z nieprzerwanej ekspozycji na działanie ozonu w postaci gazowej, podczas próby zerowej wykorzystano tlen (99,999%). Spowodowane było to tym, iż badane stężenia ozonu wynosiły od 0,19 do 1,18% (v/v) głównego strumienia tlenu (99,2-98,2% (v/v)). Próba zerowa przeprowadzona została również w stanie zamkniętym. W jej przypadku w reaktorze początkowo znajdowało się wyłącznie powietrze. Na Rys. 2 skuteczność inaktywacji roztocza kurzu



Rys. 2. Próby zerowe i wpływ ozonu na inaktywację roztoczy kurzu domowego (początkowa liczba roztoczy kurzu domowego = 41-50; stężenie ozonu = 0,48% (v/v); tlen = 99,99%).

domowego podczas eksperymentu przedstawiono jako funkcję czasu reakcji. W czasie reakcji nie zaobserwowano spadku liczby aktywnych roztoczy kurzu domowego w stanie zamkniętym. Doprowadzenie tlenu do reaktora zawierającego aktywne roztocza kurzu domowego miało również niewielki wpływ na inaktywację roztoczy aktywnych. Wzrost liczby aktywnych roztoczy kurzu domowego był szczególnie widoczny podczas ekspozycji na działanie tlenu.

W przypadku napowietrzenia tlenem liczba aktywnych roztoczy kurzu domowego uległa relatywnemu spadkowi wraz z upływem czasu i spadła do zera po upływie 45 minut od chwili wprowadzenia 0,48% (v/v) ozon (test nr 1). W przypadku testu nr 2 przetrwały tylko 3 roztocza. Podobny stopień inaktywacji zaobserwowano w przypadku dwóch identycznych prób (test nr 1 i test nr 2 przedstawiony na Rys. 2) eksperymentów z wykorzystaniem ozonu. Uzyskany wynik jednoznacznie wskazuje na to, iż nieprzerwana ekspozycja na działanie ozonu w postaci gazowej ma wysoce niszczący wpływ na aktywne roztocza kurzu domowego. Ponadto, po upływie jednej godziny obserwacji podano roztocza martwe celem potwierdzenia ich faktycznego zniszczenia. W wyniku przeprowadzonych informacji ustalono, iż żadne z roztoczy początkowo uznanych za martwe nie było aktywne. Ustalono również, iż pozostałe 3 roztocza z testu nr 2 były martwe. Powyższe wskazuje na to, iż po ekspozycji na działanie ozonu roztocza kurzu domowego ulegają uszkodzeniu, a następnie zniszczeniu. W chwili obecnej prowadzone są dalsze szczegółowe badania, których celem jest wyjaśnienie przyczyn tego zjawiska.

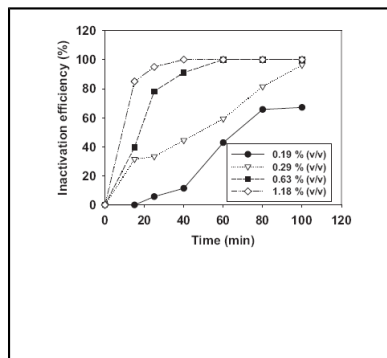
Porównanie stopnia inaktywacji roztoczy kurzu domowego przy różnych stężeniach ozonu

Na Rys. 3 przedstawiono skuteczność inaktywacji aktywnych roztoczy kurzu domowego przez różne dawki ozonu (0,19-1,18%) w reaktorze, wprowadzane do niego w sposób ciągły. Niezależnie od warunków doświadczalnych liczba roztoczy kurzu domowego uznanych początkowo za aktywne wzrosła, ponieważ niektóre roztocza, początkowo uznane za nieaktywne ze względu na brak ruchu, zaczęły się poruszać po wprowadzeniu ozonu. Przy stałym stężeniu ozonu wynoszącym 0,19% liczba aktywnych roztoczy ulegała stopniowemu zmniejszeniu w miarę upływu czasu ekspozycji, nigdy jednak nie spadała poniżej 23. Przy stężeniu ozonu wynoszącym 0,29%, po upływie 100 minut ekspozycji przetrwały jedynie 2 roztocza. Po upływie 60 i 30 minut ekspozycji na działanie, odpowiednio, 0,63 i 1,18% ozonu, roztocza nie poruszały się. Uzyskane wyniki wskazują na to, iż stopień inaktywacji roztoczy kurzu domowego wzrasta wraz ze wzrostem stężenia ozonu w reaktorze. W czasie eksperymentu zaobserwowano również, iż na inaktywację roztoczy kurzu domowego wpływ ma ich wielkość (0,28 mm x 0,19 mm-3,4 mm x 0,23 mm). Szczególnie w przypadku stężenia

wynoszącego 0,19% wszystkie aktywne roztocza kurzu domowego pozostałe po upływie 80 minut ekspozycji na działanie ozonu okazywały się relatywnie większe (ponad 3,0 mm x 2,1 mm) od roztoczy martwych. Wynik ten dostarcza bardzo istotnych informacji dotyczących większych roztoczy kurzu domowego o większej odporności na ozon w postaci gazowej. Tym niemniej, nieprzerwana ekspozycja na działanie ozonu postaci gazowej i stężeniu przekraczającym 0,29% może prowadzić również do inaktywacji roztoczy kurzu domowego o większej odporności.

Rys. 3. Inaktywacja roztoczy kurzu domowego przy różnych stężeniach ozonu (początkowa liczba roztoczy kurzu domowego = 40-68)

W ramach obiektywnego porównania, na Rys. 4 przedstawiono skuteczność inaktywacji (%) aktywnych roztoczy kurzu domowego jako funkcję czasu kontaktu z ozonem. Obliczenia dotyczące skuteczności inaktywacji (%) oparto na czasie początkowym, kiedy to liczba aktywnych roztoczy kurzu domowego była najwyższa (maksymalną liczbę przedstawiono na Rys. 3). Przy stężeniu ozonu wynoszącym 0,19% skuteczność inaktywacji wynosiła 11% po upływie 40 minut, 43% po upływie 60 minut, 67% po 80 upływie minut i 68% po upływie 100 minut. Przy stężeniu wynoszącym 0,29% skuteczność inaktywacji wynosiła 44% po 40 upływie minut, 59% po upływie 60 minut, 81% po 80 upływie minut i 96% po upływie 100 minut. Przy stężeniu wynoszącym 0,63% skuteczność inaktywacji wynosiła 91% po 40 upływie minut i 100% po upływie 100 min. Przy stężeniu wynoszącym 1,18% skuteczność była pełna po upływie 30 minut ekspozycji. Wyniki te wskazują na to, iż liczbę aktywnych roztoczy kurzu domowego można radykalnie inaktywować w krótkim czasie reakcji i ekspozycji na maksymalne stężenie ozonu.



Rys. 4. Odsetek roztoczy kurzu domowego inaktywowanych ozonem w różnych stężeniach (początkowa liczba roztoczy kurzu domowego = 51-80)

Relacja pomiędzy inaktywacją roztoczy kurzu domowego a wartością CT ozonu

Podczas eksperymentu dopływ ozonu w postaci gazowej przerwano po uzyskaniu pożądanego stężenia ozonu (19 mg O₃/L O₂), po czym pomiar ozonu szczątkowego w reaktorze przeprowadzono na różnych etapach pomiaru liczby roztoczy kurzu domowego (po upływie 0, 5, 10, 20 i 40 minut). Na Rys. 5a przedstawiono porównanie szczątkowego stężenia ozonu i skuteczności inaktywacji (%) roztoczy kurzu domowego jako funkcję czasu reakcji. W miarę upływu czasu kontaktu szczątkowe stężenie ozonu ulegało stopniowemu spadkowi. Na Rys. 5b odsetek nieaktywnych roztoczy kurzu domowego przedstawiono jako funkcję wartości CT ozonu, iloczynu stężenia ozonu (mg/L) i czasu ekspozycji (min.) (Rejestr Federalny, 1989), wskazującą na zależność liniową. Uzyskane przez nas wyniki pozwoliły na stwierdzenie, iż wartość CT rzędu 400 mg-min/L była niezbędna do uzyskania blisko 100% skuteczności eliminacji ok. 60 aktywnych roztoczy. Sformułowano następujące równanie empiryczne:

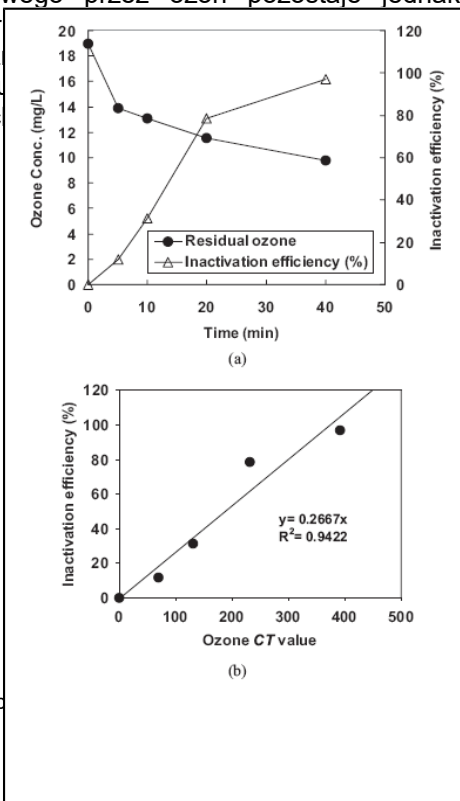
$$y = 0,2677 x \quad (R^2 = 0,9422, p < 0,05)$$

y: skuteczność inaktywacji (%)

x: C (stężenie ozonu, mgO₃/LofO₂)

x T (czas ekspozycji w min.)

Wykorzystanie powyższego wzoru pozwala na określenie czasu ekspozycji niezbędnego do wyeliminowania określonej liczby roztoczy kurzu domowego przy określonym stężeniu ozonu. Dla przykładu – wartość CT niezbędna do wyeliminowania 35% roztoczy kurzu domowego wynosić będzie 130, co wskazuje na to, iż wymagane będzie ok. 10 minut ekspozycji i stężenie ozonu wynoszące 13 mg/L. Metoda ustalenia faktycznego zniszczenia roztoczy kurzu domowego jest oczywiście wysoce pożądana. Mechanizm związany z eliminacją roztoczy kurzu domowego przez ozon pozostaje jednak niejasny; ozon może powodować zniszczenie genów w jądrze komór



Rys 5. Zmiany stężenia ozonu i skuteczności inaktywacji roztoczy kurzu domowego w miarę upływu czasu ekspozycji (początkowa liczba roztoczy kurzu domowego = 62).

Odprowadzenie pozostałości ozonu w postaci gazowej

W przypadku eliminacji roztoczy kurzu domowego z wykorzystaniem ozonu w postaci gazowej jego pozostałości mogą pogorszyć problemy oddechowe (Phillips i in., 1999). Zgodnie z założeniami systemu alarmowania poziomu ozonu stosowanego w Korei, niski poziom wskazywany jest w sytuacji, w której jego stężenie w powietrzu w ciągu jednej godziny przekracza 0,12 ppm (v/v); poziom średni wskazywany jest w sytuacji, gdy stężenie to przekracza 0,3 ppm (v/v), natomiast poziom wysoki wskazywany, jest gdy stężenie to przekracza wartość 0,5 ppm. W przypadku alarmu niskiego poziomu ozonu zaleca się unikania ćwiczeń fizycznych na świeżym powietrzu; osobom z problemami oddechowymi, osobom w podeszłym wieku i dzieciom zaleca się unikanie wszelkiej aktywności fizycznej na świeżym powietrzu. Choć stężenia ozonu nieprzekraczające wartości 0,12 ppm mogą nie mieć wpływu na choroby układu oddechowego, stężenia przekraczające 0,14 ppm w niewielkim stopniu obniżają wydajność płuc (Berrington i Pedler, 1998). Co więcej, symptomy astmy mogą ulec pogorszeniu, jeśli cierpiący na nią pacjenci poddani działaniu ozonu o stężeniu przekraczającym 0,16 ppm przez okres ponad 6,7 godziny, natomiast za stężenie stanowiące bezpośrednie zagrożenie dla życia lub zdrowia uważa się 5 ppm (Krishna i in., 1995; Peden i In., 1997; Kehrl i in., 1999; Gottschalk i in., 2000). Dlatego też ogromne znaczenie ma odprowadzenie pozostałości ozonu po jego doprowadzeniu.

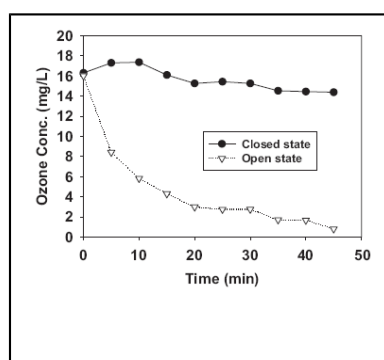
W przeprowadzonym eksperymencie przyjęto szczytowe stężenie ozonu w postaci gazowej po inaktywacji roztoczy kurzu domowego na poziomie 16 mg/L (0,80% lub 8000 ppm) i badaniu poddano zjawiska zachodzące przy reaktorze zamkniętym i otwartym do naturalnej wentylacji. Jak przedstawiono to na Rys. 6, w przypadku reaktora zamkniętego poziom zużytego ozonu zmierzono na poziomie nieprzekraczającym 2 mg/L (0,09% lub 900 ppm) przez 45 min. Po doprowadzeniu powietrza spadek stężenia ozonu z poziomu 16 do 0,8 mg/L (0,05% lub 500 ppm) wymagał 45 minut. Uzyskany wynik wskazuje na to, iż szczytowe stężenie ozonu (0,8 mg/L) w reaktorze po zakończeniu eksperymentów jest nadal wystarczające do istotnego uszkodzenia funkcji człowieka. Dlatego też do usunięcia ozonu niezbędny będzie system wentylacji (lub eliminacji). Rozwój metod pozwalających na całkowite, bezpieczne i szybkie usunięcie ozonu może istotnie ułatwić zarządzanie środowiskiem pacjentów cierpiących na choroby alergiczne.

WNIOSKI

Celem badania było sprawdzenie wpływu ozonu na roztocza kurzu domowego (House Dust Mites, HDM) podczas nieprzerwanej ekspozycji na działanie ozonu w postaci gazowej i potwierdzenie możliwości inaktywacji roztoczy kurzu domowego przy pomocy ozonu. W przypadku stężenia ozonu na poziomie 0,48% (v/v) (temperatura = 25°C, wilgotność względna = 75%), po 40 minutach od wprowadzenia ozonu nie zaobserwowano aktywnych roztoczy kurzu domowego (początkowa liczba roztoczy kurzu domowego = 41-50). W przypadku innych stężeń (0,19-1,18%) stopień inaktywacji roztoczy kurzu domowego wynikający z ekspozycji na działanie ozonu wzrastał wraz ze zwiększeniem jego stężenia. Wyniki te wskazują na to, iż liczbę aktywnych roztoczy kurzu domowego można radykalnie inaktywować w krótkim czasie reakcji i ekspozycji na maksymalne stężenie ozonu.

Porównanie szczytkowego stężenia ozonu i skuteczności inaktywacji (%) roztoczy kurzu domowego jako funkcję czasu reakcji prowadzi do stwierdzenia, iż do uzyskania blisko 100% skuteczności eliminacji 40-60 roztoczy kurzu domowego (w temperaturze = 25°C i wilgotności względnej = 75%) niezbędna jest wartość CT wynosząca 400 mg-min/L. Zastosowanie wzoru wykorzystującego wartość CT oraz skuteczność inaktywacji (5) pozwala na określenie czasu ekspozycji niezbędnego do wyeliminowania określonej liczby roztoczy kurzu domowego przy określonym stężeniu ozonu.

Po naturalnym odprowadzeniu ozonu pozostającego w reaktorze 16 mg/L szczytkowego ozonu spadło poziomu poniżej 1 mg/L, jednak do zapewnienia bezpieczeństwa środowiska dla ludzi niezbędny będzie system wentylacji (lub eliminacji).



Rys 6. Zmiany szczytkowego stężenia ozonu podczas napowietrzania ($[\text{ozon}]_0 = 16 \text{ mg/L}$; objętość reaktora = 50 mL).

Opracowanie jest własnością Laboratorium „Korona”
I bez zgody właściciela nie może być kopiowane i cytowane.
© dr inż. Andrzej Luft