



**UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HEMIJU**



mr Srđan Rončević

**KARAKTERIZACIJA BIOREMEDIJACIONIH PROCESA
U ZEMLJIŠTU I PODZEMNIM VODAMA
ZAGAĐENIM NAFTOM I DERIVATIMA
NA LOKALITETU RATNO OSTRVO**

- doktorska disertacija -

Novi Sad, 2007. godina

Sanji, najviše na Svetu celom...

Ova doktorska disertacija je sačinjena uz pomoć mojih saradnika, prijatelja i porodice.

Prof. dr Božo Dalmacija je svojim predlozima, savetima i angažovanjem pomogao da se definiše oblast istraživanja, postavi eksperiment i dođe do odgovora na postavljena pitanja, zbog čega sam mu večno zahvalan.

Uloga mikroorganizama u toku procesa bioremedijacije definisana je zahvaljujući prof. dr Olgi Petrović i dipl. biologu Jeleni Marković - malo je reći da su uložile ogroman trud jer su svi prezentovani mikrobiološki parametri njihova zasluga.

"Tajne Ratnog ostrva" su istraživane u saradnji sa kolegama iz JKP Vodovod i kanalizacija dipl. ing. Draganom Ivanovićem, mr Slavkom Kulačinom i Savkov Petrom te koristim priliku da im se zahvalim na višegodišnjoj odličnoj saradnji, koja često izlazi iz zvaničnih okvira.

Takođe, zahvaljujem se i kolegama iz Rafinerije nafte Novi Sad, Mirjani Pavlović i Želimiru Topiću, jer su svesni problema zaštite životne sredine bezrezervno pomogli da se istraživanja sprovedu prema planu.

Zahvaljujem se Ministarstvu nauke i zaštite životne sredine jer su istraživanja finansirana u okviru projekta "Razvoj remedijacionih tehnika zagađenih lokaliteta".

Zahvaljujem se prof. dr Elviri Karlović, prof. dr Zagorki Tamaš i prof. dr Miletu Klašnji na iskazanom interesovanju i podršci.

Kolginicama i kolegama sa Katedre za hemijsku tehnologiju i zaštitu životne sredine dugujem veliku zahvalnost na pomoći pri hemijskoj karakterizaciji procesa i podršci pri svakodnevnim izazovima.

Hvala svima iz Departmana za hemiju na pomoći i interesovanju.

Hvala bližnjima na ljubavi, veri i podršci.

I naravno, Sanja,

*kao ljubav,
kao podrška,
kao odricanje,
kao podsticanje,
sada više nego ikad...*

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	OPŠTI DEO	3
2.1.	Zagađenje životne sredine naftom i derivatima nafte	3
2.1.1.	Ponašanje nafte u zemljištu	3
2.1.2.	Ponašanje nafte u vodi	5
2.1.3.	Toksično delovanje nafte	7
2.2.	Remedijacione metode i tehnike	8
2.3.	Bioremedijacija	9
2.3.1.	Mehanizmi i proizvodi razgradnje ugljovodonika	9
2.3.1.1.	Aerobna degradacija	9
2.3.1.2.	Anaerobna degradacija	11
2.3.2.	Faktori bioremedijacije	11
2.3.2.1.	Priroda zagađenja	12
2.3.2.2.	Mikrobiološka zajednica	12
2.3.2.3.	Hidrogeohemijske karakteristike zemljišta	13
2.3.2.4.	Sorpcija	14
2.3.2.5.	Ograničavajući faktori bioremedijacije	16
2.3.3.	Kinetika bioremedijacionih procesa	16
2.3.3.1.	Uticaj procesa difuzije i sorpcije na modeliranje kinetike biodegradacije	18
2.4.	Tipovi bioremedijacije	19
2.4.1.	Pasivna bioremedijacija	19
2.4.2.	Tehnička bioremedijacija	21
2.4.2.1.	Razvoj tehničke bioremedijacije	21
2.4.2.2.	Osnove dizajna bioremedijacionog procesa	23
2.4.3.	In-situ tehnička bioremedijacija	23
2.4.3.1.	Bioremedijacioni sistemi za nezasićeno zemljište	24
2.4.3.2.	Bioremedijacioni sistemi za podzemnu vodu	25
2.4.4.	Praćenje procesa in-situ bioremedijacije	28
2.4.4.1.	Indikatori mikrobiološke aktivnosti	29
2.4.4.2.	Trodelna strategija za dokazivanje in-situ bioremedijacije	29
2.4.4.3.	Tehnike za demonstraciju biodegradacije na terenu	30
2.4.4.3.1.	<i>Analiza terenskih uzoraka</i>	30
2.4.4.3.2.	<i>Eksperimenti sprovedeni na terenu</i>	35
2.4.4.3.3.	<i>Modelovanje eksperimenta</i>	37
2.4.5.	Ex-situ tehnička bioremedijacija	38
2.4.5.1.	Bioreaktori -bioremedijacija u suspenziji	38
2.4.5.2.	Površinska obrada (landfarming)	39
2.4.5.3.	Biogomile (biopiles)	39
2.4.5.4.	Kompostiranje (composting)	40
2.4.5.5.	Ex-situ tretman podzemne vode (pump-and-biotreat)	40
2.4.5.6.	Biofiltracija – biosorpcija	41

2.4.5.7.	Integracija bioremedijacije sa drugim tehnologijama	42
2.5.	Ekološke crne tačke u Srbiji	44
2.5.1.	Novi Sad - lokalitet "Ratno ostrvo"	44
2.5.1.1.	Karakteristike područja Ratno ostrvo	45
2.5.1.1.1.	<i>Hidrogeološke karakteristike područja</i>	45
2.5.1.1.2.	<i>Hidrološki uslovi na području</i>	45
2.5.1.1.2.1.	<i>Dunav</i>	46
2.5.1.1.2.2.	<i>Kanal DTD Savino Selo - Novi Sad</i>	46
2.5.1.1.2.3.	<i>Kanalska mreža sliva crpne stanice "Kalište"</i>	46
2.5.1.2.	Infrastruktura i objekti na području Ratno ostrvo	47
2.5.2.	Izvorište "Ratno ostrvo"	49
2.5.3.	Razaranje postrojenja Rafinerije nafte i kontaminacija zemljišta	50
2.6.	Monitoring kontaminiranog područja Ratno ostrvo	54
2.6.1.	Monitoring područja "Ratno ostrvo" u toku i neposredno posle bombardovanja	56
2.6.2.	Istraživački monitoring	57
2.6.2.1.	Analiza transporta naftnog zagađenja tokom podzemnih voda	61
2.6.3.	Nadzorni i operativni monitoring	63
2.7.	Mikrobiološko-ekološka ispitivanja podzemnih voda iz pijezometara - mogućnost pasivne bioremedijacije	71
3.	EKSPERIMENTALNI DEO	74
3.1.	Ispitivanje prirodne bioremedijacije podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo	74
3.2.	Ispitivanje tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode sa lokaliteta Ratno ostrvo na laboratorijskom postrojenju	79
3.2.1.	Opis laboratorijskog istraživačkog postrojenja	79
3.2.2.	Plan eksperimenta	84
3.3.	Metode analize	87
3.3.1.	Metode analize vode	87
3.3.2.	Metode analize zemlje	88
3.3.3.	FTIR-spektrofotometrijska karakterizacija naftnih ugljovodonika u vodi i zemlji	89
3.3.3.1.	Kvalitativna FTIR-spektrofotometrijska analiza	89
3.3.3.2.	Kvantitativna analiza na sadržaj ugljovodonika	89
3.3.4.	GC/MSD karakterizacija naftnih ugljovodonika u vodi i zemlji	89
3.3.4.1.	Kvalitativna GC/MSD analiza	90
3.3.4.2.	Kvantitativna analiza na sadržaj PAH	90
3.3.5.	Brojnost bakterija u vodi i zemlji	90
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	91
4.1.	Rezultati ispitivanja prirodne bioremedijacije podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo	91
4.1.1.	Zagađenje podzemne vode ugljovodonicima	91
4.1.2.	Mikrobiološka ispitivanja podzemne vode	97

4.1.3.	Ispitivanje funkcionalne zavisnosti bakterijske brojnosti od koncentracije ugljovodonika (XII 2002. – I 2006.)	100
4.1.3.1.	Organotrofi	100
4.1.3.2.	Fakultativni oligotrofi	102
4.1.3.3.	Lipolitske bakterije	103
4.1.3.4.	Ugljovodonik-oksidujuće bakterije	108
4.1.3.5.	Bakterije na niskonutritivnoj R2A podlozi	114
4.1.3.6.	Fosfatazna aktivnost	116
4.2.	Rezultati ispitivanja tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode sa lokaliteta Ratno ostrvo na laboratorijskom postrojenju	118
4.2.1.	Karakteristike zagađenog zemljišta	118
4.2.2.	Ispitivanje biostimulacije na laboratorijskom postrojenju	118
4.2.2.1.	Temperatura	118
4.2.2.2.	Vlažnost zemlje	119
4.2.2.3.	Promena pH vrednosti	120
4.2.2.4.	Promena elektroprovodljivosti vode	121
4.2.2.5.	Poređenje primenjenih tehnika za obezbeđenje kiseonika potrebnog bakterijama	122
4.2.2.6.	Sadržaj nutrijenata u zemlji i vodi u toku eksperimenta	124
4.2.2.6.1.	<i>Azot</i>	124
4.2.2.6.1.1.	<i>Amonijak</i>	124
4.2.2.6.1.2.	<i>Nitrati i nitriti</i>	124
4.2.2.6.1.3.	<i>Organski azot</i>	125
4.2.2.6.1.4.	<i>Ukupni azot</i>	126
4.2.2.6.2.	<i>Fosfor</i>	127
4.2.2.7.	Promena organskih materija i kinetika uklanjanja u toku	128
4.2.2.8.	Karakterizacija ugljovodoničnog zagađenja u toku tretmana tretmana	134
4.2.2.8.1.	<i>GC/MSD kvalitativna analiza zemlje i vode</i>	136
4.2.2.8.2.	<i>FTIR-spektrofotometrijska kvalitativna analiza zemlje</i>	136
4.2.2.8.3.	<i>GC/MSD kvantitativna analiza zemlje na sadržaj PAH-ova</i>	140
4.2.2.8.4.	<i>Ugljovodonici u vodenoj fazi</i>	142
4.2.2.9.	Određivanje potrebe za nutrijentima (CH:N:P)	147
4.2.2.10.	Površinski aktivne materije	148
4.2.2.11.	Analiza taloga iz aeratora	149
4.2.2.12.	Separatori	150
4.2.2.13.	Metali prisutni u tretiranoj zemlji i vodi	151
4.2.2.13.1.	<i>Gvožđe</i>	151
4.2.2.13.2.	<i>Mangan</i>	152
4.2.2.13.3.	<i>Cink</i>	153
4.2.2.13.4.	<i>Bakar</i>	153
4.2.2.13.5.	<i>Nikal</i>	154
4.2.2.13.6.	<i>Kadmijum</i>	154
4.2.2.13.7.	<i>Olovo</i>	154
4.2.2.13.8.	<i>Hrom</i>	155
4.2.3.	Mikrobiološka karakterizacija procesa biostimulacije	156
4.2.3.1.	Mikrobiološka karakterizacija zagađene zemlje	156
4.2.3.1.1.	<i>Dehidrogenazna aktivnost</i>	159
4.2.3.1.2.	<i>Fosfatazna aktivnost</i>	160
4.2.3.1.3.	<i>Brojnost bakterija na mernom mestu S</i>	161
4.2.3.2.	Mikrobiološka karakterizacija podzemne vode u reaktoru	164
4.2.3.3.	Korelacije bakterija i koncentracije ugljovodonika u vodi reaktora	165
4.2.3.4.	Mikrobiološka karakterizacija vode aeratora	169
4.2.3.5.	Mikrobiološka karakterizacija vode bioreaktora	171
4.2.3.6.	Korelacija bakterija i koncentracije ugljovodonika u vodi bioreaktora	173
4.2.3.7.	Aktivni mulj bioreaktora (biomasa)	176

4.2.3.7.1.	<i>Korelacije bakterija na izlazu iz bioreaktora i indeksa mulja</i>	178
4.2.3.7.2.	<i>Korelacije bakterija na izlazu iz bioreaktora i opterećenja bioreaktora</i>	178
4.2.3.7.3.	<i>Korelacije bakterija na izlazu iz bioreaktora i vremena zadržavanja</i>	179
5.	ZAKLJUČAK	182
6.	LITERATURA	186
7.	PRILOG	195
	BIOGRAFIJA	
	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	

1. UVOD

Sa industrijskom revolucijom došlo je do intenzivnog uticaja čoveka na prirodu i svet oko njega. Nivo ekološke svesti bio je veoma nizak, te se težilo što većoj produktivnosti i ekonomskoj isplativosti, koja nije uzimala u obzir narušavanje prirodne ravnoteže i danas neophodna sredstva da se negativne posledice industrijalizacije otklone, ako je to još moguće. Prema politici održivog razvoja razvoj tehnologija treba da je u smeru eliminacije negativnih efekata po prirodu. Međutim, nisu sve zemlje u finansijskoj mogućnosti da mogu u dogledno vreme da napuste stare tehnologije. Takođe, prisutne su posledice dosadašnjeg delovanja i potrebno ih je otkloniti.

XX. vek ostaće upamćen kao vek nafte. Sa pojavom nafte kao energenta došlo je do najintenzivnijeg privrednog rasta i celokupna današnja civilizacija počiva na primeni nafte. Prve bušotine iskopane su 1857. godine u Nemačkoj. Iako su rezerve nafte značajno iscrpljene i već se razmišlja o alternativnim vidovima energije, ipak posledice primene nafte ostaće još mnogo vekova nakon prestanka njene primene. Nafta i naftni derivati mogu da izazovu ekološke katastrofe usled akcidentnih izlivanja usled havarija na postrojenjima za crpljenje, transport i preradu nafte. Većina komponenata nafte je toksična za čoveka i živi svet uopšte, a naročitu pažnju privlače policiklični i aromatični ugljovodonići kod kojih je dokazana kancerogenost.

Kao posledica izlivanja nafte i derivata usled bombardovanja Rafinerije nafte Novi Sad u podzemnoj vodi izvorišta Ratno ostrvo detektovani su ugljovodonići i mineralna ulja. Obzirom da takvo zemljište natopljeno naftom i derivatima neminovno predstavlja opasnost za ljude i uopšte živi svet, a sa druge strane je i stalni izvor zagađenja podzemnih voda, neophodno je izvršiti sanaciju zagađenog lokaliteta. Za uklanjanje nafte kao zagađivača koriste se različite remedijacione tehnike, među kojima se izdvaja mikrobiološka degradacija zagađivača poznata kao bioremedijacija. Ona se može podeliti na dva osnovna tipa: prirodnu (pasivnu) bioremedijaciju, koja se odvija kada pogoduju faktori sredine, i tehničku (pojačanu) bioremedijaciju, gde se mikrobiološka aktivnost pospešuje upotrebom sistema za cirkulisanje fluida i nutrijenata kroz zagađenu sredinu.

Predmet izučavanja ove disertacije je pasivna bioremedijacija naftom i derivatima nafte zagađenih podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo i pospešivanje procesa bioremedijacije zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte na laboratorijskom postrojenju u cilju sanacije ugroženog lokaliteta.

Cilj je utvrditi da li podzemna voda izvorišta poseduje autopurifikacionu moć, odnosno, da li teče proces prirodne bioremedijacije pod dejstvom abiotičkih i biotičkih faktora sredine, da bi definisali da li pasivna bioremedijacija može uspešno da ukloni zagađenje. Istraživanja pasivne bioremedijacije podzemnih voda data u literaturi se odnose na određene lokalitete ili na strogo kontrolisane laboratorijske uslove i ne mogu se u potpunosti preneti na zagađene podzemne vode na lokalitetu Ratno ostrvo, pošto lokalitet Ratno ostrvo poseduje specifične uslove. Stoga je potrebno odrediti parametre koji karakterišu procese

biodegradacije na datom lokalitetu da bi se bolje razumeli procesi koji se odvijaju u kompleksnoj sredini.

Dalje, cilj je, ispitivanjem tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte na laboratorijskom postrojenju, dobiti preliminarna saznanja potrebna za projektovanje bioremedijacije in-situ na ugroženom lokalitetu radi poboljšanja postignutih efekata pasivne bioremedijacije. Pospešivanje bioremedijacionih procesa u zagađenom zemljištu i podzemnoj vodi postiže se primenom mikroorganizama adaptiranih ekološkim inženjeringom da razgrađuju naftu i derivate i primenom tehnika koje će prilagoditi uslove sredine potrebne mikroorganizmima za transformaciju i razgradnju nafte i derivata. Potrebno je definisati optimalno tehničko rešenje za bioremedijaciju zagađenog sloja.

2. OPŠTI DEO

2.1. Zagađenje životne sredine naftom i derivatima nafte

Industrija nafte i prirodnog gasa obuhvata niz složenih tehnoloških procesa, koji su potencijalna žarišta zagađenja. Prilikom vađenja, transporta, obrade i primene nafte mogu se izazvati ekološke katastrofe, bilo da se radi o nastalom otpadu ili slučajnim havarijama (slika 1).

Svaka sirova nafta sadrži lakše frakcije slične benzinu i teže frakcije katrana i parafina. U zavisnosti od izvora, konzistencija sirove nafte može varirati od lake, isparljive tečnosti, do viskozne, polučvrste supstance. *Gustina nafte* je, bez obzira na njeno poreklo uvek manja od gustine vode i kreće se između $670-980 \text{ kg/m}^3$. Laki derivati nafte (benzini i mlazna goriva) imaju manju gustinu što je posledica većeg sadržaja lakših ugljovodonika (aromata i olefina). *Viskoznost nafte* je na $20 \text{ }^\circ\text{C}$ veća od viskoznosti vode, izuzev u slučaju benzina koji imaju viskoznost $\nu=0,7 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$. U zavisnosti od sadržaja parafina, viskoznost nafte se kreće u širokom dijapazonu od 10 do $800 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$. Ova osobina je veoma značajna sa aspekta izlivanja nafte i transporta u podzemlju, obzirom da uslovljava njenu brzinu i način kretanja kroz poroznu sredinu.

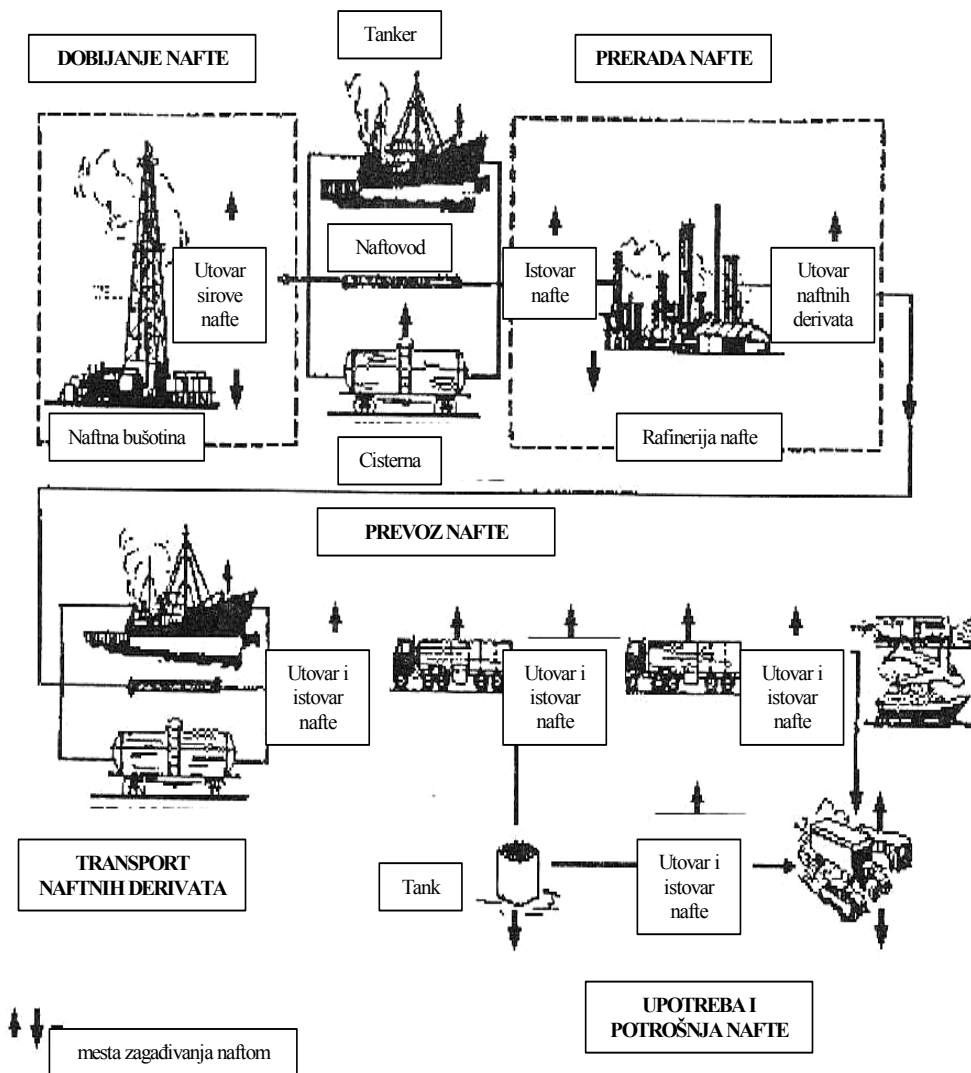
Generalno gledano, nafta se slabo rastvara u vodi, međutim neke komponente nafte se dobro rastvaraju u vodi, kao što su benzen, toluen, etilbenzen i ksileni. Međutim, rastvorljivost čak i najslabije rastvorljivog ugljovodonika je mnogo veća od njihove maksimalno dozvoljenih koncentracija u vodi.

Lako isparljivi ugljovodonici isparavaju sa mesta zagađenja formirajući gasne oblake, što je pogodno za pronalaženje zagađenja, naročito kod podzemnih voda (*Veselinović i dr., 1995*).

2.1.1. Ponašanje nafte u zemljištu

Nafta i derivati nafte se različito ponašaju kada dospeju na površinu zemljišta. Sirova nafta ima veću gustinu i viskozitet i sporije se kreće kroz zemlju u odnosu na derivate nafte koji brže prodiru u podzemlje te tako predstavljaju veću opasnost za zagađenje podzemlja i podzemne vode. Pored karakteristika nafte i derivata na njihovo kretanje kroz zemlju utiču i karakteristike samog zemljišta, klima, vegetacija i prisutna mikroflora.

Izlivanjem nafte na površinu zemljišta dolazi do narušavanja njegove strukture, zatvaranja pora i slepljivanja čestica zemljišta. Time se menja režim kretanja i količine kiseonika što izaziva izumiranje aerobnih organizama koji svojim uticajem razaraju pedološki sloj (*Marković i dr., 1996*).

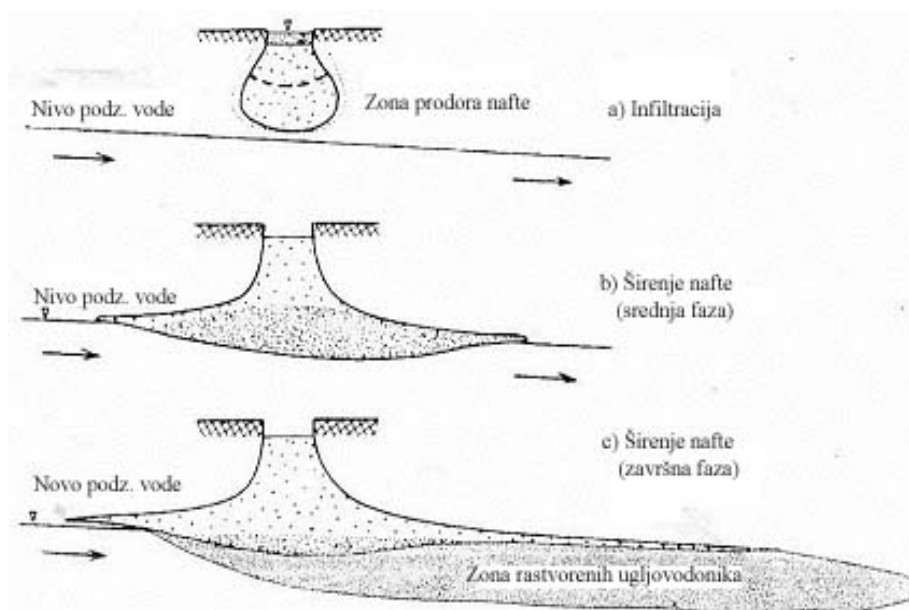


Slika 1. Mesta najčešće pojave naftnog zagađenja (označeno strelicama) (Marković i dr., 1996)

Nafta koja se izlila na površinu zemljišta migrira na sledeći način (slika 2):

1. Nafta se kreće naniže kroz nezasićeno zemljište pod uticajem gravitacije. U ovoj fazi nafta se kreće i bočno pod dejstvom kapilarnih sila.
2. Nakon dostizanja nivoa podzemne vode nafta se kreće u tri faze:
 - kao gasna faza iznad zagađene vode
 - kao čista faza
 - kao faza rastvorenih ugljovodonika

Horizontalno i vertikalno kretanje u delu zemljišta iznad podzemne vode zavisi od poroznosti tla i prirode ugljovodonika od kojih je sastavljena nafta što otežava preciziranje tačnog oblika zagađenja.



Slika 2. Faze migracije nafte koja se razlila na površinu terena (Dimkić i dr., 1999).

2.1.2. Ponašanje nafte u vodi

Kada se zbog nepažnje, akcidentne situacije, zastarelog tehnološkog procesa ili neminovnosti same tehnologije nafta pojavi u vodi, dolazi do pojave različitih procesa na čiji intenzitet utiču fizičko-hemijske karakteristike same nafte tj, njenih derivata, geološke i morfološke osobine tla, klimatski uslovi itd. Kada nafta dospe na površinu vode ona obrazuje *naftnu mrlju* koja narušava razmenu toplote, vlage i gasova (naročito kiseonika) između hidrosfere i atmosfere. Mrlja sprečava i prodor sunčevih zraka u vodu. Nakon izlivanja nafte na površinu vode, pod uticajem spoljašnjih faktora dolazi do isparavanja lakših frakcija (sa nižom tačkom ključanja), gustina nafte se povećava i ona tone na dno. Nafta može da dospe na dno i usled njene adsorpcije na teškim česticama peska ili mulja (Dorčić, 1987). Policiklični aromatični ugljovodonici su slabo rastvorni u vodi, ali se koncentrišu na suspendovanim česticama organske materije, što znatno smanjuje mogućnost njihove razgradnje. Na proces sorpcije utiču mineraloški sastav tla, temperatura, pH i karakteristike samog jedinjenja. Sorpcija je najintenzivnija na česticama peska, gline i organske materije što je vezano za veličinu i strukturu ovih čestica. Pored PAH-ova koji imaju hidrofobne osobine i samim tim se dobro akumuliraju u sedimentu, adsorbuju se i alkani (normalni i razgranati) i to u većoj meri nego ciklični i aromatični ugljovodonici. Koncentracija organskih zagađujućih materija u sedimentu je u dinamičkoj ravnoteži sa koncentracijom u vodenom rastvoru iznad sedimenta (Eglinnton, 1975). PAH-ovi mogu biti prisutni u sedimentu u šest različitih formi: kao pojedinačni polutanti, u obliku tečnog filma, adsorbovani na česticama sedimenta, adsorbovani u organskoj materiji sedimenta, rastvoreni u vodi koja se nalazi u porama sedimenta i mogu biti prisutni u obliku čvrste ili tečne faze u porama (Cuypers i dr., 1998). Sorpcija PAH-ova na površini sedimenta i zemljišta se direktno povezuje sa sadržajem organskog ugljenika u sorbentu, dok je sorpcija PAH-ova na ćelijama bakterija kompleksnija (Stringfellow i Alvarez-Cohen, 1999).

Glavni procesi koji doprinose razlaganju nafte u vodi ili na vodenim površinama su: isparavanje, rastvaranje, emulgovanje, disperzija, taloženje, oksidacija i mikrobiološka degradacija. Lakše i isparljivije komponente nestaju brže tako da se sirova laka nafta i laka ulja razlažu daleko brže nego teška sirova nafta i teška ulja za loženje koja sadrže manji procenat lakih frakcija (Dorčić, 1987).

Isparavanje nafte i njenih derivata je važan faktor čiji se značaj sastoji u odstranjivanju visoko toksičnih komponenata malih molekulskih masa. Isparavanjem se smanjuje zapremina izlivena nafte, njena zapaljivost i toksičnost, ali se povećava viskoznost i gustina ostatka, tako da postoji mogućnost da ostatak potone. Isparavanje, takođe, usporava i širenje naftne mrlje.

Rastvaranje nafte u vodi je veoma slabo i ograničeno je na lakše frakcije.

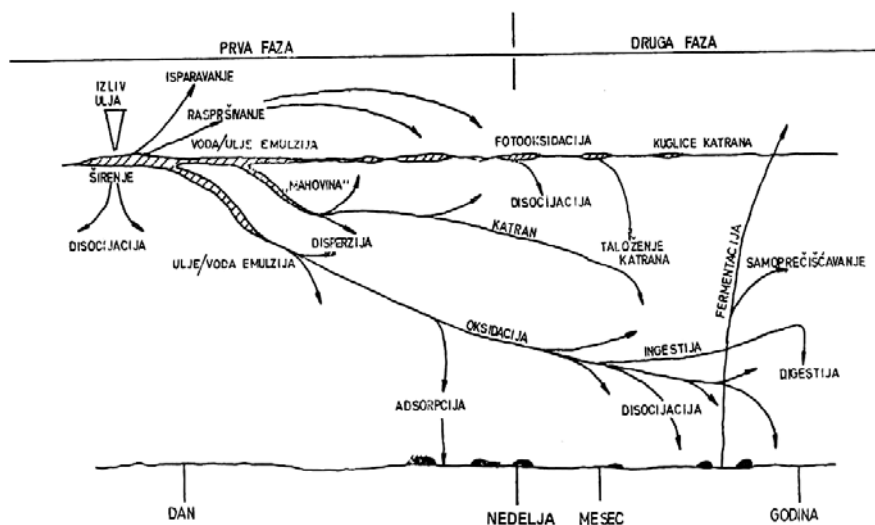
Mehanizam **emulgovanja** rezultira formiranjem stabilne emulzije poznate pod nazivom "čokoladna mahovina". To je emulzija tipa voda u ulju koja sarži više od 50 % vode. Emulgovanje usporava razlaganje nafte zbog manjeg izlaganja nafte uticaju vode i vazduha.

Disperzija mehanički ili hemijski doprinosi povećanju površinskog zagađenja i njegovom prodoru u podzemne slojeve. Ona utiče selektivno na rastvorljivost ulja, tako što povećava površinu oblasti na kojoj je ulje izliveno i time povećava rastvorljivost komponenata male molekulske težine. Kombinacija povećanja površine zagađenja i rastvorljivosti stimuliše, takođe, i biodegradaciju.

Taloženje nafte nastaje kao posledica starenja nafte usled čega dolazi do povećanja gustine izlivenog ulja. Kada gustina ulja postane veća od gustine vode ulje će potonuti. Ulje takođe može potonuti ako je prethodno bilo adsorbovano na teškim česticama peska i mulja. Pretpostavka je da ulje, odnosno nafta koja potone biva raznesena strujama i na kraju pada na dno. U toku taloženja i na dnu nastavljaju se procesi razgradnje koji se drastično smanjuju ako se ulje prekrije muljem ili peskom. U tom slučaju dolazi do anaerobne razgradnje koja je znatno usporena, pa se čak može i zaustaviti (Dorčić, 1987).

Biološka razgradnja je faktor od izuzetne važnosti za procese razgradnje naftnih ugljovodonika. Stepem biološke razgradnje uslovljavaju brojni faktori vezani za sastav nafte i fizičko kretanje zagađenja, kao i prisutnost mikroorganizama i potrebnih nutrienata, temperature i kiseonika.

Na slici 3 prikazan je tok procesa kojim se ulje razlaže i gubi na vodenoj površini.



Slika 3. Prikaz procesa razgradnje ulja u toku vremena (Dorčić, 1987)

2.1.3. Toksično delovanje nafte

Ugljovodonici iz nafte se lancem ishrane prenose na sve organizme nezavisno od načina njihovog dospevanja u životnu sredinu. Posebno značajni u pogledu toksičnosti su hlorovani, aromatični i policiklični aromatični ugljovodonici.

Glavni izvor benzena je dispozicija iz atmosfere i spiranje sa naftnih platformi. U životnu sredinu se godišnje ispusti 4 miliona tona ove supstance. Benzen izaziva oštećenje centralnog nervnog sistema, kičmene moždine, prouzrokuje promene u krvi uključujući anemiju i leukemiju i ispoljava kancerogeno dejstvo (*Jerina i Daly, 1974*). Ksilen je jedinjenje koje se u životnoj sredini nalazi u raspodeli 99,1% vazduh, 0,7% voda, 0,1% sediment. Toluen iz zagađenih površinskih voda isparava u atmosferu. Poluživot mu je oko 5 časova. Toluen, etilbenzen i ksileni izazivaju oštećenje centralnog nervnog sistema, ali su relativno manje štetni u poređenju sa benzenom, obzirom da podležu oksidativnim transformacijama u organizmu i na taj način se lako eliminišu (*Ram i dr., 1990*). Lako isparljivi aromatični ugljovodonici se najviše zadržavaju u atmosferi gde podležu reakcijama transformacije sa nascentnim kiseonikom, peroksi- ili hidroksi-radikalima ili sa ozonom (*Dalmacija, 1997*). U poređenju sa ostalim naftnim ugljovodonicima, aromatični ugljovodonici imaju veću rastvorljivost u vodi i na taj način lako dospevaju do nezaštićenih površina životinja i biljaka, pri čemu ispoljavaju razarajuće dejstvo (*Marković i dr., 1996*).

Policiklični aromatični ugljovodonici ili poliareni su široko rasprostranjeni kontaminanti životne sredine i čine izuzetno veliku i raznoliku grupu organskih jedinjenja. Njihovo prisustvo je utvrđeno u uzorcima vazduha, sedimenta, vode, ulja, katrana i prehrambenih proizvoda (*Harvey, 1991, 1997; Cerniglia, 1992*). PAH mogu dospeti u životnu sredinu kao proizvodi sagorevanja fosilnih goriva, gasifikacije uglja, spaljivanja otpada, prerade drveta, dok su akcidentna izlivanja ugljovodonika i ulja glavni izvori PAH u životnoj sredini (*Freeman i Cattel, 1990; Giger i Blumer, 1974*). Pojedini PAH nastaju u znatno manjoj meri kao biosintetski proizvodi bakterija, algi i biljaka.

PAH spadaju u grupu organskih jedinjenja sa dva ili više kondenzovana aromatična prstena. Ekološki značajni PAH se nalaze u nizu od naftalena (dva prstena) do koronena (sedam prstenova) i utvrđeno je da ispoljavaju **toksične, mutagene i kancerogene efekte** (*Neilson, 1998; Mersch-Sundermann i dr., 1992; Juhasz i dr., 1997*). Naime, PAH koji u molekuli sadrže 4-6 kondenzovana aromatična prstena, odgovorni su za preko 75% potencijalnog kancerogenog dejstva (*MacRae i Hall, 1998; Mix, 1984; Marvin i dr., 1999*).

Američka agencija za zaštitu životne sredine (United States Environmental Protection Agency; US EPA) i Evropska unija (European Union; EU) su odlučili da se određenih 16 PAH nađu na listi prioritetnih polutanata, a to su: *naftalen, acenaftilen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, piren, benzo[a]antracen, krizen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]piren, dibenzo[a,h]antracen, benzo[g,h,i]perilen i indeno[1,2,3-cd]piren* (*Kornmüller i Wiesmann, 1999; Keith i Telliard, 1979*).

Najtoksičiji PAH je **benzo[a]piren** (3,4-benzopiren). Nastaje nepotpunim sagorevanjem drveta i fosilnih goriva. U organizmu čoveka pored ostalih izvora dospeva i preko životnih namirnica u koje ulazi iz zemljišta, vode, vazduha, ambalaže, tokom prerade i pripreme hrane kao i sintezom u namirnicama (*Marković i dr., 1996*).

2.2. Remedijacione metode i tehnike

Za uklanjanje nafte kao zagađivača koriste se različite remedijacione tehnike koje se mogu podeliti na nekoliko načina na:

- tehnike koje ne menjaju i tehnike koje dovode do transformacije i degradacije zagađenja,
- nebiološke i biološke tehnike,
- konvencionalne i inovacione.

Pod tehnike koje ne menjaju zagađenje spadaju dve grupe tehnika: tehnike solidifikacije i stabilizacije i tehnike separacije.

Prvu grupu čine tehnike koje podrazumevaju prevođenje zagađujuće supstance u čvrsto stanje, njenu stabilizaciju i sve potrebne procese da se izbegne širenje površine zahvaćene zagađivačem kao što je na primer naftna mrlja. Ovi procesi su usmereni na smanjenje pokretljivosti i toksičnosti naftnih ugljovodonika smanjenjem njihove rastvorljivosti i isparljivosti i propustljivosti medijuma. To se postiže mešanjem ili ubacivanjem agenasa u cilju formiraja kristalnog, staklenog ili polimernog okruženja zagađenja. Solidifikacija se izvodi materijama na bazi silikata i cementa, kreča, termoplastičnih materijala i organskih polimera. U ovu grupu spadaju sledeće tehnike: biostabilizacija, pojačana sorpcija, in-situ precipitacija/koprecipitacija, in-situ mešanje zemljišta, asfaltna obrada, dodavanje kreča, dodavanje pozoloničkih agenasa (cementni materijali), vitrifikacija (formiranje staklenog matriksa), postavljanje nepokretnih reaktivnih barijera, postavljanje prekrivača i slabo-propusnih zidova i dr.

Drugu grupu čine metode i tehnike koje obuhvataju separaciju zagađivača od kontaminiranog medijuma, njihovu mobilizaciju i ekstrakciju. Ove metode uspešno se primenjuju za uklanjanje lako isparljivih i rastvorljivih naftnih ugljovodonika. Da bi se efikasno razdvojilo zagađenje od medijuma najčešće se koriste povišena temperatura, hemijski reagensi, vakuum ili provođenje struje kroz sloj zemljišta. U ovu grupu spadaju sledeće tehnike: isumpaj-i-tretiraj (eng. pump-and-treat), vakuum ekstrakcija isparenja iz zemljišta (eng. soil vapor extraction, SVE), produvavanje vazduha (eng. air stripping), produvavanje pare, crpljenje nevodnog sloja tečnosti, in situ ispiranje (eng. flushing) zemljišta (rastvaračima, površinski aktivnim materijama i dr.), ex situ pranje (eng. washing) zemljišta (hemijским reagensima), termalna desorpcija, frakturisanje (obrazovanje pukotina), elektrokinetika, elektroosmoza i dr.

Pod tehnike koje dovode do uklanjanja zagađenja putem njihove degradacije ili transformacije spadaju one koje koriste hemijske reakcije, termičke ili biološke procese. Tehnike zasnovane na hemijskim reakcijama su: injektovanje hemikalija (oksidacija, redukcija i imobilizacija (formiranje reduktivne zone), supstitucija), reaktivne barijere, odn. zidovi (barijera od elementarnog gvožđa) i sl. Termička remedijacija obuhvata incineraciju i pirolizu. Tehnike zasnovane na biološkim reakcijama su pasivna i tehnička bioremedijacija (biostimulacija i bioaugmentacija) - bioreaktori sa suspenzijom, biogomile, površinska obrada zemljišta, kompostiranje, bioprovetravanje i bioproduvavanje, primena organskih biofiltera, postavljanje nepokretnih reaktivnih barijera sa mikroorganizmima, fitoremedijacija i dr.

Procesi biološke transformacije i degradacije zagađivača pomoću mikroorganizama su poznati generalno kao **bioremedijacija**.

2.3. Bioremedijacija

Bioremedijacija je kompleksan proces. Biološka degradacija se obavlja u ćelijama mikroorganizama, koji resorbuju neki zagađivač, pa u slučaju da poseduju odgovarajuće enzime dolazi do razgradnje zagađujuće supstance u odgovarajuće metabolite. Ugljovodnici iz nafte služe kao izvor nutrienata i energije za rast i razvoj mikroorganizama, koji ih razgrađuju do naftenskih kiselina, alkohola, fenola, hidroperoksida, karbonilnih jedinjenja (aldehidi i ketoni), estara i na kraju do ugljenik(IV)-oksida i vode (*Eglinnton, 1975; Marković i dr., 1996*).

2.3.1. Mehanizmi i proizvodi razgradnje ugljovodonika

Istraživači bioremedijacije su došli do velikog broja informacija o mehanizmima biooksidacije, nastalim produktima i o uticaju reakcionih uslova pre nego što se bioremedijaciona tehnologija počela komercijalno primenjivati. Mikroorganizmi koji mogu da razgrađuju različite klase jedinjenja, i pod aerobnim i pod anaerobnim uslovima, bili su prilično dobro ispitani kao i njihova potreba za odgovarajućim pH, nutrijentima, kiseonikom, temperaturom, redoks-potencijalom i vlagom (*Brown i dr., 1993*).

Tausson je objavio rane studije o metabolizmu ugljovodonika i izolovao je bakterijske vrste sposobne da oksiduju naftalen, antracen i fenantren. Kasnije, Sisler i Zobell su demonstrirali da bakterije iz mora mogu brzo da oksiduju benzo(a)antracen do ugljenik(IV)-oksida (*Sisler i Zobell, 1947*). Senez i Konovaltschikoff-Mazoyer su prvi sugerisali da su normalni alkani enzimatski napadnuti na prvom C-atomu (C1 pozicija) (*Senez i Konovaltschikoff-Mazoyer, 1956*). Na kraju, Leadbetter i Foster su prvi koji su posmatrali, definisali i izvestili o kooksidaciji ugljovodonika ranije smatranih otpornim na oksidaciju i asimilaciju (*Leadbetter i Foster, 1959*).

Zavisno od količine prisutnog kiseonika u zemljištu bioremedijacija se može odvijati pod aerobnim i anaerobnim uslovima.

2.3.1.1. Aerobna degradacija

Aerobnu razgradnju vrše aerobni mikroorganizmi, i na nju, pored kiseonika, značajan uticaj ima prisustvo mineralnih soli, temperatura i pH. Aerobni mikroorganizmi zahtevaju soli azota, fosfora, kalijuma, magnezijuma, gvožđa, cinka i dr. Najveći rast bakterija i gljivica oksidanasa ugljovodonika zapaža se u temperaturnom intervalu od 25 - 40 °C. Međutim mikroorganizmi pokazuju veliku prilagodljivost na uslove rasta, pa i na temperaturu. Optimalni pH za biorazgradnju se kreće između 7 i 8,5. Međutim, promena kiselosti sredine može uticati na promenu dominantne vrste mikroorganizama pa time i uslova za mikrobiološku razgradnju. Degradacija nafte opada sa povećanjem dubine sedimenta i anaerobije.

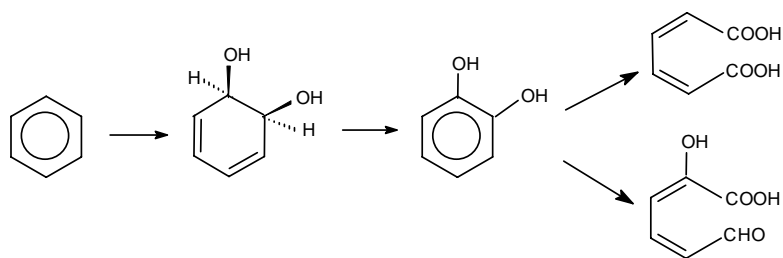
Metil grupe na krajevima molekula alkana i u aromatima (toluen, ksilen) podležu reakcijama oksidacije, gde prvo nastaje alkohol, potom aldehyd i na kraju karboksilna kiselina. Mikrobiološkom degradacijom toluena može nastati benzaldehyd i benzoeva kiselina (*Seyfried i dr., 1994*). Alkil grupe podležu reakcijama subterminalne oksidacije dajući keton ili

hidroksi-derivat. Tako, iz heksana nastaje 2-hidroksiheksan i 2-ketoheksan (Patel i dr., 1980) itd. Alkani podležu i reakcijama dehidrogenacije: iz n-heptana nastaje 1-hepten (Chouteau i dr., 1962). Cikloalkani podležu reakcijama oksidacije: može doći do hidroksilacije cikloheksana pri čemu nastaje cikloheksanol (deKlerk i van der Linden, 1973), može da se stvara keto-derivat pri čemu nastaje cikloheksanon (Beam i Perry, 1973) a mogu se dešavati i reakcije dehidrogenacije cikloalkana.

Aromatična jedinjenja podležu reakcijama hidroksilacije i građenja ketona. Hidroksilacija je nespecifična i nekad vodi ka građenju ketona ili hinona. Najčešći proizvod je dihidrodiol kad se dve OH grupe uvode na dva susedna C-atoma. Iz benzena može nastati fenol i hidrohinon (Burback i Perry, 1993).

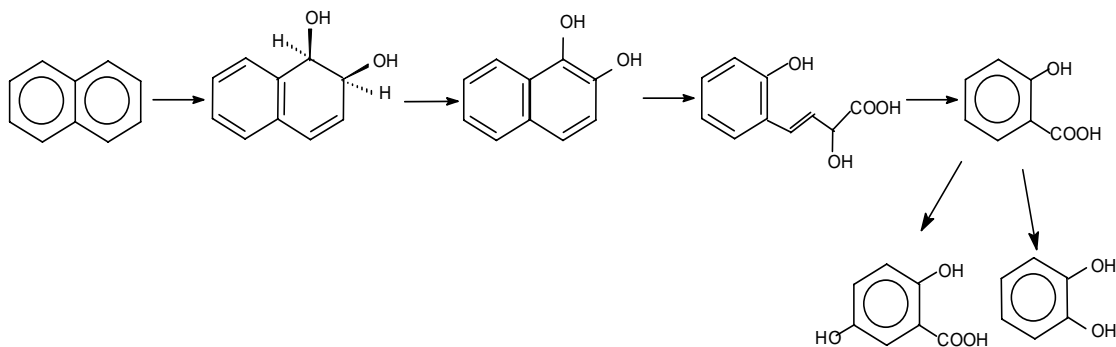
Zavisno od supstrata i mikroorganizma mogu nastati različiti proizvodi prilikom otvaranja aromatičnih prstenova. Može se otvoriti samo jedan, nekoliko ili svi prstenovi. U aerobnim uslovima otvaranjem prstena u molekulu se formiraju dve karboksilne ili jedna karboksilna i jedna hidroksilna grupa.

Degradacija benzena bakterijama započinje formiranjem cis-dihidrodiola, zatim sledi dehidrogenacija do katehola (Gibson i dr., 1968) i potom dolazi do otvaranja prstena (Högn i Jaenicke, 1972) (slika 4).



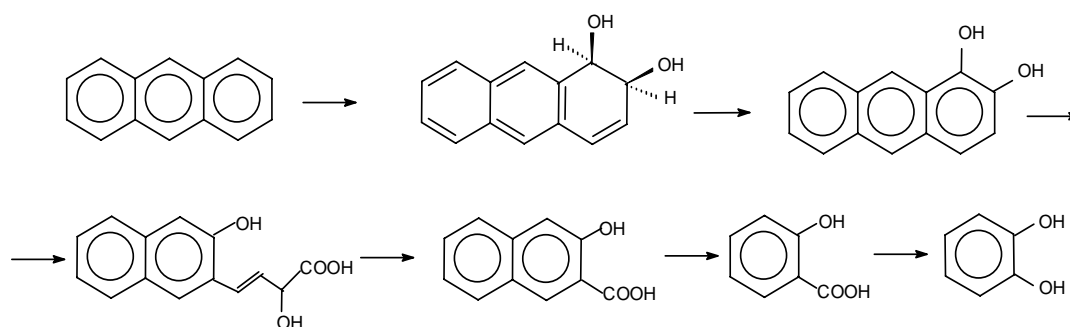
Slika 4. Biodegradacija benzena bakterijama

Bakterijska degradacija naftalena je ista kao kod benzena - prvo dolazi do dioksidacije (cis-1,2-dihidrodiol (Jerina i dr., 1984)), potom sledi dehidrogenacija (1,2-dihidroksinaftalen (Patel i Gibson, 1974)) i na kraju dolazi do otvaranja prstena (salicilat i katehol (Eaton i Chapman, 1992)) (slika 5).



Slika 5. Biodegradacija naftalena bakterijama

Kod PAH-ova prvo dolazi do dioksigenacije (antracen prelazi u cis-1,2-dihidrodiol (Akhtar i dr., 1975), fenantren u cis-1,2- i cis-3,4-dihidrodiol (Koreeda i dr., 1978), benz(a)antracen u cis-1,2-, cis-8,9- i cis-10,11-dihidrodiol (Jerina i dr., 1984) itd. Potom nagrađeni dihidrodioli dehidrogenacijom daju katehole, zatim dolazi do otvaranja prstena i oksidativne degradacije produkata razgradnje (slika 6).



Slika 6. Biodegradacija antracena bakterijama

Policiklični aromatični ugljovodonici metaboličkom aktivacijom ispoljavaju mutageni i karcinogeni biološki potencijal (Harvey, 1991).

2.3.1.2. Anaerobna degradacija

Anaeroban proces se odvija pod dejstvom anaerobnih mikroorganizama i on je toliko spor da je njegov značaj zanemarljiv. Ipak je ustanovljeno da anaerobna razgradnja može uzeti maha nakon što je nafta prethodno bila izložena aerobnim mikroorganizmima (Jobson i dr., 1979). Anaerobna razgradnja ugljovodonika moguća je u dubljim slojevima nafte, tj. u dubini naftonosnih nalazišta bez dotoka vazduha. Pobuđivači anaerobne degradacije su najčešće sulforedukujuće bakterije. Reakcija sulfata pod dejstvom mikroorganizama predstavlja oksido - redukcioni proces. Pri tome se sulfati redukuju do sumporvodonika, a ugljovodonici oksidišu.

Pod anaerobnim uslovima procesi razgradnje su specifičniji, na primer, čiste kulture bakterija iz toluena mogu nagraditi benzilsukcinat, a iz ksilena metilbenzilsukcinat. Kod aromata može doći i do redukcije dvostrukih veza, tako su testovi sa mikrobiološkim kulturama pokazali redukciju jedne ili više dvostrukih veza u benzenovom prstenu pod anaerobnim uslovima: iz benzena može nastati cikloheksen, a iz toluena 4-metilcikloheksanol (Grbić-Galić i Vogel, 1987).

2.3.2. Faktori bioremedijacije

Uspostavljanje bioremedijacionog sistema zavisi od prirode samog zagađenja (odnosno njegove biodegradabilnosti), prisutne mikrobiološke zajednice i od hidrogeohemijskih karakteristika zemljišta (CISB, 1993).

2.3.2.1. Priroda zagađenja

Neke vrste mikroorganizama mogu da koriste naftu kao izvor ugljenika, neke vrste nafta ubija ili inhibira, dok na neke vrste ne utiče. Fizičke i hemijske karakteristike nafte utiču na stepen i brzinu njene degradacije (Haus et al., 2001).

Fizički uticaji od značaja za biodegradivnost su: viskoznost, fotolitička aktivnost, isparavanje, mehanička disperzija, rastvaranje, bioemulzifikacija i sorpcija.

Viskoznost utiče na širenje naftne mrlje, a time i na povećanje površine pogodne za napad mikroorganizama koji teže da se koncentrišu na dodirnoj površini nafta - voda. Nafta male tečljivosti prosuta pri hladnijim uslovima otpornija je na biorazgradnju. Fotolitički proizvodi polarniji i time podložniji biodegradaciji od jedinjenja od kojih su nastali. Tečni ugljovodonici su podložniji biorazgradnji od onih u čvrstom agregatnom stanju.

Kao poseban faktor od uticaja na biodegradaciju može se razmatrati *koncentracija* pojedinačnih komponenata u nafti. Pojedina jedinjenja u visokim koncentracijama, npr. fenol, m- i p-krezol, ne mogu biti razgrađeni zbog njihove toksičnosti, dok pri niskim koncentracijama podležu biorazgradnji.

Što se tiče *hemijskog sastava* nafte, n-alkani se razgrađuju brže od drugih grupa jedinjenja. Takođe n-alkani srednje dužine lanca su manje toksični i brže se razgrađuju od n-alkana velike dužine lanca (dužih od 30 C atoma) ili cikloalkana. Razgradnju alkana inhibira njihova razgranatost, naročito pri niskim temperaturama.

Lako isparljiva jedinjenja, benzen, toluen, etilbenzen i ksileni (BTEX), relativno lako se razgrađuju usled više faktora: relativno su rastvorni u vodi, mogu služiti kao primarni elektron-donori za mnoge bakterije, brzo se razgrađuju i bakterije koje razgrađuju BTEX brzo rastu u prisustvu kiseonika.

PAH-ovi se sporo razgrađuju zbog kompleksne strukture, niske rastvorljivosti i jakih sorptivnih karakteristika. Vreme poluraspada PAH-ova male molekulske mase (naftalen, alkilnaftalen) iznosi nekoliko dana u atmosferi, nedelja u vodi, meseci u zemljištu i oko godinu dana u sedimentu. PAH-ovi veće molekulske mase, sa pet ili šest kondenzovanih prstenova u molekulu su znatno stabilniji, sa vremenom poluraspada od nekoliko nedelja do nekoliko godina (Faust i Hunter, 1971). Efikasnost biodegradacije individualnih PAH-ova u sedimentu opada sa porastom broja kondenzovanih prstenova u molekulu, tako da se petočlani i šestočlani PAH-ovi veoma teško razgrađuju (Steffens, 1998).

2.3.2.2. Mikrobiološka zajednica

Da bi uklanjanje zagađenja bilo efikasno potrebno je obezbediti odgovarajuće naftnooksidujuće mikroorganizme, u dovoljno velikom broju, kao i optimalne uslove za njihov rast i razvoj kao što su dovoljne količine azota i fosfora (Petrović, 1984). Najčešće se primenjuje autohtona mikroflora, koja se izoluje iz zemljišta i razmnožava u bioreaktorima.

Pored kvasaca iz rodova *Candida* (*C. lipolytica*, *C. tropicalis*), *Hansenula*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* i gljiva iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma* i druge, osnovnu ulogu u biodegradaciji ugljovodonika nafte imaju bakterije, među kojima dominiraju vrste iz rodova *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* i druge.

Nedostatak kataboličkog puta za biodegradaciju određenih ksenobiotika danas se prevazilazi tehnikama bioinženjeringa, jer biohemijski putevi mogu da evoluiraju. U tom smislu razmena genetičkih informacija između različitih vrsta i sojeva, putem plazmida, može znatno da ubrza ove procese. Tako je, na primer, primena genetičkih metoda rezultirala

razvojem sojeva *Pseudomonasa* koji su sposobni da degradiraju širok niz hlorobenzoata i hlorfenola. Ukoliko je sproveden genetski inženjering mikroorganizama proces se naziva bioaugmentacija (CISB, 1993).

Bioremedijacija zavisi ne samo od vrste i koncentracije zagađenja i prisutne mikrobiloške zajednice, već i od hidrogeohemijskih karakteristika zemljišta.

2.3.2.3. Hidrogeohemijske karakteristike zemljišta

Bilo o kom tipu bioremedijacije da se radi, uspešno uspostavljanje procesa čišćenja na zagađenom lokalitetu ometano je heterogenošću zemljišta i teškoćom osmatranja. Pogodno zemljište je ono koje je moguće kontrolisati.

Kod *spontane bioremedijacije* nema nikakvih intervencija. Kritični parametar za uspešno sprovođenje spontane bioremedijacije je predvidljivost toka podzemne vode u vremenu i prostoru. To je važno da bi smo mogli znati gde će mikroorganizmi delovati (da li na svim mestima gde je prisutno zagađenje) i da li će delovati dovoljno brzo da bi sprečili širenje zagađenja putem podzemne vode.

Prirodne karakteristike zemljišta kod *tehničke bioremedijacije* su manje važne nego kod spontane bioremedijacije zbog toga jer se koristi tehnologija za manipulaciju prirodnim uslovima. Kritični parametar za uspešno sprovođenje tehničke bioremedijacije je propustljivost podzemnog materijala za fluide (vodu i vazduh).

Kod oba sistema zagađena zona teže će se tretirati ako postoje naprsline, pukotine ili druge nepravilnosti koje izazivaju strujanje fluida oko zagađenja.

Nevodeno-fazne tečnosti (naftni produkti i hlorovani rastvarači) otežavaju remedijaciju. Koncentracija vodonerastvornog zagađenja koje ometa cirkulaciju fluida zavisi od zagađenja i zemljišta. Zagađenje u koncentraciji manjoj od 10000 mg/kg zemljišta često ne smanjuje protok vode i vazduha, jer je na tom nivou zagađenje nepokretno i zauzima mnogo manje pukotina nego voda.

Nutrijenti su esencijalni za metabolizam organskih materija od strane mikroorganizama (Norris i Eckenfelder, 1991; Oh et al., 2001). Izbor nutrijenata je mnogo važniji za in-situ nego za ex-situ tretman. Prilikom izbora nutrijenata potrebno je voditi računa o vremenu njihovog zadržavanja u zemljištu. Svi potrebni elementi za proces biooksidacije u zemljištu i podzemnoj vodi su skoro uvek prisutni u višku izuzev azota i fosfora. Primena azota i fosfora je bila predmet mnogih istraživanja. U ranim radovima (Helmerts i dr., 1951) predlagana je primena azota od 4,3 kg na 100 kg biohemijski potrošenog kiseonika i fosfora od 0,6 kg na 100 kg BPK. Potreba za nutrijentima zavisi od toga u kojoj se meri obnavljaju nutrijenti iz mrtvih mikroorganizama, koja količina zagađenja je prevedena u CO₂ i koja količina nutrijenata već postoji na lokalitetu. Većina istraživača preporučuje da se primenjuje 3-10 kg azota i 0,3-1 kg fosfora na 100 kg biodegradabilnog organskog ugljenika. Potreba za nutrijentima može se odrediti i laboratorijskim testovima. U nekim slučajevima proces može teći i bez dodatka nutrijenata. Izvor fosfora je najčešće so fosforne kiseline, a izvor azota može biti amonijumova so, nitratna so, urea ili kombinacija različitih supstanci. Upotreba nutrijenata je zabrinjavajuća jer oni mogu da povećaju nivo nitrata u podzemnoj vodi. Takođe, zabrinjavajući je i rezidual amonijum-jona jer oni mogu da pređu u nitrate. Ortofosfati mogu da prouzrokuju taloženje gvožđa, kalcijuma i magnezijuma, i zato treba da se primenjuju uz veliku pažnju. Tripolifosfati rastvaraju gvožđe, kalcijum i magnezijum i u mnogo manjoj meri izazivaju blokadu sistema. Ako se koriste soli natrijuma,

glinovito zemljište može da nabrekne i smanji propustljivost i za vodu i za vazduh. U nekim slučajevima proces može teći i bez dodatka nutrijenata.

Iako su **azot i fosfor** važni za mikroorganizme oni manje limitiraju spontanu bioremedijaciju nego elektron-akceptori. Većina komercijalnih bioremedijacionih projekata koristi kiseonik kao elektron-akceptor, iako se mogu koristiti i drugi elektron-akceptori za mikrobiološku razgradnju organskih jedinjenja (nitrati, sulfati, gvožđe(III)-joni) (Norris i Eckenfelder, 1991).

Primena **kiseonika** izuzetno važna. Kiseonik i nutritienti u prvoj generaciji bioremedijacionih tehnika su dodavani putem cirkulacije podzemne vode ali su postupci biodegradacije koji su se odigrali bili ograničeni malom rastvorljivošću i nestabilnošću kiseonika u vodenom rastvoru (Brown i dr., 1993). Zbog potrebe za većim količinama kiseonika sve više se primenjivao vodonik-peroksid. Primenom vodonik-peroksida značajno se povećava količina kiseonika (10-50 puta više kiseonika nego do tada primenjivanim aeracionim sistemima), međutim, njegova primena ima ograničenja, jer u nekim tipovima zemljišta može doći do prebrze dekompozicije vodonik-peroksida i do obrazovanja začepljenja (Britton, 1985).

U poslednje vreme se sve više koristi raspršivanje vazduha (Brown i Jasinlewicz, 1992). Raspršivanje vazduha podrazumeva injektovanje vazduha ispod vodene table radi zasićenja podzemne vode vazduhom i na taj način se obezbeđuje kiseonik. Raspršivanje vazduha je relativno jeftino i kiseonik se može distribuirati kroz sve zemljište odjednom, što je bolje nego osloniti se na front kiseonika koji se kreće kroz zemljište.

Varijacije **temperature** utiču na sve biološke procese (Norris i Eckenfelder, 1991; Algappan i Cowan, 2004). Većina aerobnih bioloških tretmana se odvija u osegu 4-39 °C. Bioremedijacioni sistem ne može biti praktičan pod veoma toplim i veoma hladnim vremenskim uslovima bez kontrolisanja temperature u zemljištu. Na primer, u hladnom periodu vazduh se može produvavati u toku toplijeg dela dana ili se može produvati topao vazduh. Na sreću, in-situ bioremedijacioni proces često može teći u prihvatljivom temperaturnom opsegu bez preduzimanja bilo kakve aktivnosti radi kontrolisanja temperature.

Biooksidacioni procesi su uobičajeno efikasni unutar određenog **pH opsega**. Većina procesa je praktično ograničena u opsegu 5-9 pH jedinica sa optimalnim intervalom 6,5-8,5 (Norris i Eckenfelder, 1991). Karakteristike zemljišta mogu da se menjaju zbog prisustva minerala u akviferu u obliku karbonata koji puferuju promene pH što utiče na biološku produkciju CO₂ ili drugih kiselina ili baza (CO₂ nastao biooksidacijom kada se rastvara u vodi obrazuje ugljenu kiselinu). Bitno je da se u toku tretmana ne menja pH vrednost.

2.3.2.4. Sorpcija

Organski molekuli mogu da ne budu biodostupni jer su sorbovani na čvrstu fazu ili se nalaze u nevedenoj fazi ili su zarobljeni fizičkim matriksom zemljišta, sedimenta ili akvifera. Površina zemljišta može dramatično da smanji aktivnost prirodnih mikroorganizama. Ta površina može da promeni dostupnost organskih jedinjenja, koncentraciju različitih organskih i neorganskih nutrijenata, pH, odnos kiseonika, zadrži inhibitore, mikroorganizme ili smanji aktivnost ekstracelularnih enzima. Aktivna površina mogu biti minerali gline, organske frakcije (ili huminske materije) zemljišta, druga kompleksna jedinjenja ugljenika ili nekad amorfnog gvožđe- ili aluminijum-oksidi ili hidroksidi. Glavni procesi sorpciju odvijaju se na površini minerala gline i huminskih materija, jer oni mogu da imaju veliku površinu. Po jedinici mase, na primer, gram gline ima površinu od 20-80 m². Površina zemljišta deluje

često adsorpcijom, što se odnosi na zadržavanje rastvorka originalno prisutnog u zemljišnom rastvoru sa površinom čvrstog materijala. Adsorpcija može biti takođe prisutna, što se odnosi na zadržavanje rastvorka sa masom zemljišta pre nego sa površinom. Sorpcija obuhvata oba procesa.

Mnogi faktori vrše uticaj na sorpciju organskih jedinjenja. To su vrsta i koncentracija rastvoraka u zemljišnom rastvoru, vrsta i količina minerala gline, količina organskih jedinjenja u zemljištu i sedimentu, uključujući i prisustvo specifičnih jedinjenja, pH, temperatura i sl.

Mnogo pažnje je posvećeno sorpciji organskih jedinjenja i na glini i na organskoj materiji zemljišta i sedimenta i važno je razmotriti hemiju sorpcije na tim glavnim konstituentima zemljišta i akvatičnog sedimenta. Mineral gline kaolinit ima manju površinu i manji kapacitet sorpcije nego montmorilonit jer su slojevi blisko zajedno i molekuli su adsorbovani za spoljnu površinu gline. Kod montmorilonita struktura gline može da se raširi i takva struktura može da adsorbuje molekule sa obe strane površine gline. Organski molekuli, neorganski nutrijenti i voda može da penetrira između slojeva kristala minerala.

Adsorpcija može da uključi fizičke i Van der Waalove sile, vodonične veze, jonsku izmenu ili hemisorpciju. Veliki molekuli mogu da se vežu vodoničnim vezama, a mali molekuli jonskom izmenom. Minerali gline i koloidne organske materije su negativno naelektrisani. Glina može da ima jone vodonika, kalcijuma, kalijuma ili magnezijuma na površini, ali pozitivno naelektrisana organska materija može da zameni katjone već prisutne na površini gline i tako da se zadrži na površini minerala. Pozitivno naelektrisana jedinjenja mogu biti adsorbovana i na organskoj frakciji zemljišta jer su huminska jedinjenja negativno naelektrisana. Površina gline ili huminski koloidi mogu da zadržavaju organske katjone na taj način. Anjonski organski molekuli se uglavnom odbijaju zbog negativno naelektrisane površine (Morrill *et al.*, 1982).

Organska frakcija zemljišta i sedimenta je odgovorna za sorpciju mnogih jedinjenja, naročito hidrofobnih. Mnogi PAH-ovi i drugi nepolarni polutanti su sorbovani uglavnom na prirodnim organskim materijama pre nego na glini. Step en ovog zadržavanja je direktno u korelaciji sa koeficijentom raspodele oktanol-voda, K_{OW} i procentom organskog ugljenika u zemljištu ili sedimentu. Postoje dva pristupa kako se hidrofobni molekuli zadržavaju na organskoj materiji. Jedan pristup je da je u pitanju proces fizičke sorpcije na organskoj materiji, gde se javlja fizičko vezivanje rastvorka na organskoj čvrstoj fazi, tj. na spoljnoj površini ili u porama (Calvet, 1989). Po drugom pristupu, hidrofobni molekuli difunduju u organsku materiju više kao prelaz hidrofobnog jedinjenja iz vodenog u organski rastvarač u kome je dobro rastvoran, tj. molekul je distribuisan u unutrašnju zapreminu organske materije (Chiou, 1989).

Katjonski organski molekuli mogu biti sorbovani na katjon-izmenljivu stranu minerala gline i/ili huminske površine. Anjonska jedinjenja su slabo sorbovana na mineralima gline, ali ona mogu biti umereno zadržana na organskoj površini. Kompleksna organska materija zemljišta je uglavnom sorbent za nejonska organska jedinjenja.

Nekad se formiraju stabilne veze koje mogu biti kovalentne veze između niskomolekularnih jedinjenja i kompleksnih prirodnih huminskih supstanci. Rezultat toga su nove hemijske vrste.

2.3.2.5. Ograničavajući faktori bioremedijacije

Postoji niz faktora koji ometaju uspešno uspostavljanje procesa bioremedijacije na zagađenom lokalitetu (CISB, 1993).

Zagađenje može biti “nevidljivo” za mikroorganizme ako je suviše niska koncentracija zagađenja, ako je zagađenje u nevodenoj fazi (u rastvoru koji se ne meša lako sa vodom i zato putuje odvojeno od podzemne vode kroz zemlju), ako je adsorbovano za površinu zemlje ili u porama tako malim da ih voda cirkulacijom teško ispira. U takvim slučajevima treba dodati hemijske agense koji će mobilisati zagađenje. Organsko zagađenje može biti pokrenuto dodavanjem surfaktanata. Male količine surfaktanata smanjuju površinski napon i zagađenje prelazi u vodenu fazu. Kada se primenjuju velike količine surfaktanata dolazi do spajanja molekula surfaktanata u koloide uz građenje micela. Organsko zagađenje rastvara se u micelama i transportuje se sa vodom u njima, tako da nemamo pravo povećanje koncentracije u vodenoj fazi i biodegradacija nije povećana. U nekim slučajevima bakterije proizvode sopstvene surfaktante.

Zagađenje može biti *toksično* za mikroorganizme. Neka toksična jedinjenja mogu biti razgradljiva u malim koncentracijama, ali u velikim koncentracijama u vodenoj fazi mogu da uništavaju mikroorganizme.

Mikroorganizmi preferiraju lako razgradljiva jedinjenja ili ona jedinjenja koja daju najviše energije. Prirodna jedinjenja mogu da ometaju proces biodegradacije zagađenja zbog *selektivne razgradnje*, a mogu i da pomažu ukoliko podstiču razvoj mikroorganizama pa time omogućuje razgradnju i onih jedinjenja koja su zbog niske koncentracije “nevidljiva” za mikroorganizme.

Parcijalnom razgradnjom zagađenja mogu nastati nusproizvodi toksičniji od zagađenja.

Može se desiti da je nemoguće ukloniti zagađenje do niskih koncentracija, iako su uslovi za biodegradaciju dobri, jer jednostavno može biti favorizovana neka druga reakcija.

Usled mikrobiološkog rasta može doći do akumulacije mikroorganizama blizu bunara i može doći do *začepljenja akvifera*, što izaziva smanjenje efikasne cirkulacije rastvora nutrijenata. Protozoe mogu da uklone začepljenje jer se hrane mikroorganizmima. Primenuju se dve tehnike da se spreči začepljenje: dodaju se nutrijenti i supstrat u porcijama tako da nema nagomilavanja blizu mesta injektiranja i dodaje se vodonik-peroksid kao izvor kiseonika i jak dezinficijens (razgrađuje se do kiseonika i vode).

2.3.3. Kinetika bioremedijacionih procesa

Istraživanja kinetike procesa bioremedijacije teku u dva pravca: prvi je proučavanje faktora koji utiču na količinu transformisanih jedinjenja u toku vremena; drugi pravac istraživanja je određivanje oblika krivih koje opisuju transformacije i, ispitivanje koji od grafika dekompozicije najbolje fituje metabolizam datih jedinjenja u mikrobiološkoj kulturi u laboratorijskom mikrokosmosu, ili, ponekad, na terenu. Zbog ometajućih faktora kompleksnosti procesa nemoguće je tačno predvideti vreme trajanja bioremedijacije. Određivanja iz literaturnih vrednosti stepena degradacije su korisna, ali manje tačna jer ona ne uzimaju u obzir specifične karakteristike zemljišta, temperaturu, vlagu, i, najčešće, prilagođavanje bakterija specifičnom zagađenju. Istraživanje kinetike biodegradacije u

prirodnom okruženju je često empirijsko, i njime se oslikava osnovni nivo znanja o mikrobiološkoj populaciji i njenoj aktivnosti u datom okruženju (*Höhener et al., 2003*). Jedan primer empirijskog pristupa je model:

$$- dC/dt = kC^n,$$

gde je **C** koncentracija supstrata, **t** je vreme, **k** je konstanta nestajanja jedinjenja, **n** je parametar fitovanja, red reakcije (*Hamaker, 1972*). Kod ovog modela može se fitovati kriva nestajanja supstrata menjanjem **n** i **k** dok se ne dobije dobar fit. Iz ove jednačine evidentno je da je brzina proporcionalna stepenu koncentracije supstrata. Naučnici koji proučavaju kinetiku ne prikazuju uvek da li je model koji koriste baziran na teorijskoj ili empirijskoj osnovi, i da li konstante u jednačini imaju fizički smisao ili su samo parametri fitovanja (*Bazin i dr., 1976*).

Biodegradaciona kinetika može se aproksimirati kinetikom prvog reda. Ona dozvoljava da se u bilo koje vreme predviđa koncentracija iz poluvremena biodegradacije. Ako su uspostavljeni optimalni uslovi, remedijacijono vreme zavisi od poluvremena degradacije, početne koncentracije u najzagađenijem zemljištu i krajnje koncentracije koja se želi postići. Mnogi istraživači prihvataju kinetiku prvog reda zbog lakog predstavljanja i analiziranja podataka, jednostavnosti grafičke zavisnosti log preostalih jedinjenja od vremena u vidu prave linije sa malim odstupanjem linije fita od tačaka, i zbog lakog predviđanja koncentracije kada je jednom određeno vreme poluživota. Ovaj pristup je najmanje pouzdan pri veoma visokim i veoma niskim koncentracijama zagađenja. Uzimajući istu početnu vrednost, različiti kinetički modeli će predvideti ogromno različite količine zaostalih jedinjenja na kraju (*Rončević et.al., 2005*).

Promene reda reakcije mogu se sumirati kao:

$$\text{brzina} = - dC/dt = kC^n$$

gde je **k** – konstanta, **C** – koncentracija, **n** – red reakcije.

U reakcijama prvog ili nultog reda, jednačina je:

$$- dC/dt = k \quad \text{za reakciju nultog reda;}$$

$$- dC/dt = kC \quad \text{za reakciju prvog reda.}$$

Kod reakcije drugog reda brzina je proporcionalna drugom uticaju (npr.kvadratnom) koncentracije pojedinog molekula reaktanata ($\text{brzina} = kC^2$) ili u drugim prilikama koncentraciji dva reaktanta ($\text{brzina} = kC_1C_2$). U oba slučaja koncentracija oba jedinjenja uključena je u promene reakcije sa vremenom.

Za in-situ tretman akvifera vreme tretmana se određuje računanjem vremena koje je potrebno za distribuciju nutrijenata i kiseonika kroz zemljište. Uobičajeno je da je limitirajući faktor distribucija kiseonika. U tom slučaju, vreme remedijacije može se proceniti iz ukupne potrošnje kiseonika ("total oxygen demand"-TOD) - 3 kg za svaki kilogram biodegradabilnih organskih jedinjenja, stepena reinjektovanja podzemne vode i koncentracije kiseonika u reinjektovanoj vodi. Za tačniju procenu potrebno je adekvatno modelovanje akvifera i dobro određivanje kontaminirane mase (*Stout et al., 2001; Koussis et al., 2003*). Modeli se takođe

moгу koristiti za razvoj konceptualnog i detaljnog dizajna i uređenje operativnog sistema (Falatico, 1990). Za analize u dubini sedimenta pogodni su detaljniji modeli koji uključuju transport i stepen degradacije (Borden, 1991).

Kod ex-situ tretmana zemljišta, remedijacijono vreme generalno ne zavisi od transporta nutrijenata i kiseonika i može se grubo odrediti iz degradacionog stepena, određenog u laboratorijskim testovima sa uzorcima donešenim sa terena.

Sledeći faktori često ometaju jednostavnu ekstrapolaciju kinetike opisane ovde na prirodne uslove.

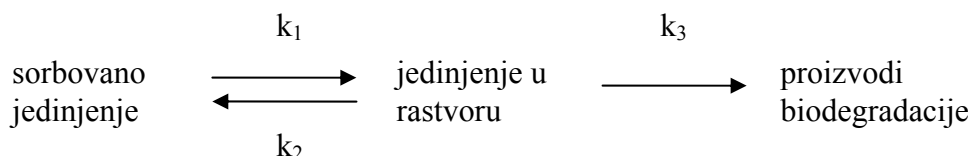
- Različite barijere mogu da ograniče ili spreče kontakt između mikrobioloških ćelija i njihovih organskih supstrata.
- Mnogi organski molekuli sorbuju se na glini ili humusu zemljišta ili sedimenta, i kinetika dekompozicije sorbovanih supstrata može biti potpuno različita od one koju ima isto jedinjenje slobodno u rastvoru.
- Prisustvo drugih organskih molekula, koji mogu da se metaboliziraju od strane biodegradirajućih vrsta, može da umanjii ili poveća konzumaciju ispitivanih jedinjenja.
- Primena neorganskih nutrijenata, kiseonika, ili faktora rasta, može da utiče na brzinu transformacije i onda će proces biti regulisan difuzijom tih nutrijenata ili brzinom njihovog nastajanja ili regeneracije od strane drugih stanovnika zajednice.
- Mnoge vrste mogu da metaboliziraju ista organska jedinjenja simultano.
- Protozoe ili moguće vrste koje parazitiraju na biodegradirajućoj populaciji mogu da upravljaju rastom, veličinom ili aktivnošću populacije odgovorne za biodegradaciju.
- Mnoge sintetičke hemikalije ili polutanti imaju previše nisku rastvorljivost u vodi, i kinetika njihovih transformacija može biti potpuno različita za jedinjenja koja su u vodenoj fazi.
- Ćelije aktivne populacije mogu biti sorbovane ili razvijene u mikrokolonije, i kinetika procesa izazvanih sorbovanim bakterijama ili mikrokolonijama još je nerešiva.
- Mnoga organska jedinjenja nestaju samo posle perioda aklimatizacije, i metoda još ne postoji koja može da predvidi dužinu ovog perioda ili očekivani procenat vremena između pojave jedinjenja i njihove totalne destrukcije. Dakle, skoro sve kinetike koje se primenjuju ignorišu period aklimatizacije (prilagođavanja).

2.3.3.1. Uticaj procesa difuzije i sorpcije na modeliranje kinetike biodegradacije

Pošto je koncentracija supstrata važna promenjiva u modelima kinetike biodegradacije, drugi procesi koji smanjuju koncentraciju supstrata treba da utiču na brzinu degradacije. U zemljištu mogu biti prisutni fizički i hemijski procesi, na primer, difuzija do nepristupačnog zemljišta i sorpcija. Ukoliko se ne razmatra kinetika difuzije i sorpcije mogu se javiti nedostaci u modelu predviđanja sudbine polutanata u simuliranim laboratorijskim merenjima (Van Genuchten i dr., 1974; Davidson i Chang, 1972). Sorpcija je uobičajeno predstavljena kao brzo uravnotežujući, povratni proces, ali kinetičke studije su pokazale da je sorpcija bolje predstavljena kao dvofazni proces sa početnim brzim korakom (<1h) koji je praćen dužom, sporijom fazom (dani) (Cameron i Klute, 1977; Karickhoff, 1980; McCall i Agin, 1985). Brzina sorpcije i difuzije do nepristupačnog zemljišta može biti približna sa

mnogim brzinama biodegradacije i tako se ti abiotički procesi mogu efikasno takmičiti sa mikroorganizmima za supstrat.

Sorpcija hemijskog jedinjenja ima glavni uticaj na biodegradaciju datog jedinjenja. Ipak, veoma mala pažnja je posvećivana kinetici biodegradacije sorbovanih molekula. Brojni modeli su predloženi za biodegradaciju jedinjenja koja su početno sorbovana. Uobičajeno, ovi modeli uzimaju da supstrat mora biti u vodenoj fazi, da bi bio metaboliziran. U nekim ranim modelima, na primer, korišćene su konstante brzine desorpcije (k_1), adsorpcije (k_2) i biodegradacije (k_3) (Furmidge i Osgerby, 1967):



Uz neke jednostavne pretpostavke, kinetiku prvog reda za biodegradaciju i koeficijent raspodele (k_p) za afinitet jedinjenja ka sorbentu, može se očekivati da će polu-život jedinjenja biti jednak k_p/k_3 (Briggs, 1976). Model Dao-a i Lavy-a (1987) takođe koristi konstante brzine za adsorpciju, desorpciju i biodegradaciju, ali njihov model pretpostavlja da je samo supstrat u vodenoj fazi metaboliziran i da su adsorpcija i desorpcija u osnovi trenutne. Ako je desorpcija relativno brza u odnosu na brzinu biodegradacije i ako je brzina degradacije spora, onda će kinetika biodegradacije u prisustvu i u odsustva sorbenta biti slična (Scow and Johnson, 1997). Ukoliko je inicijalna brzina biodegradacije brža nego inicijalna brzina desorpcije, brzina spontane desorpcije ne može biti pogodna za određivanje kinetike biodegradacije. Model sorpcijom-smanjene radialne difuzije, koji uzima u račun uticaj veličine agregata zemljišta je razvijen da opiše degradaciju heksahlorocikloheksana, i taj model, takođe, uzima u obzir difuziju supstrata u i iz malih pora unutar zemljišnih agregata (Rijnaarts i dr., 1990). Nekoliko drugih modela je predloženo za opisivanje brzine biodegradacije sorbovanih jedinjenja (Guerin and Boyd, 1992; Scow and Hutson, 1992; Scow and Johnson, 1997). Ipak primenljivost ovih metoda na raznovrsnost supstrat-sorbent sistema i koliko dobro oni opisuju kinetiku treba još da se odredi.

2.4. Tipovi bioremedijacije

Bioremedijacija se može podeliti na dva osnovna tipa:

- **Pasivnu (eng. passive) bioremedijaciju**, koja se primenjuje kada su prirodni uslovi pogodni za odvijanje bioremedijacije bez ljudske intervencije, i
- **Tehničku (eng. engineered) bioremedijaciju**, koja se primenjuje kada je potrebno dodavati materije koje stimulišu mikroorganizme.

2.4.1. Pasivna bioremedijacija

Pasivna bioremedijacija podrazumeva redukciju koncentracije zagađenja prirodnim procesima. Za opis pasivne bioremedijacije koriste se i termini “prirodno uklanjanje” (eng.

natural attenuation) i “spontana” (eng. intrinsic) bioremedijacija. Pasivna bioremedijacija se primenjuje kada je prirodni stepen biodegradacije zagađenja brži od stepena migracije zagađenja. Ovaj relativni odnos zavisi od tipa i koncentracije zagađenja, mikrobiološke zajednice i hidrogeohemijskih karakteristika zemljišta. Ona se uglavnom koristi za čišćenje akvifera gde je uklonjen izvor zagađenja, mada se može takođe koristiti kada je izvor i dalje prisutan ili ako su uklonjena neke opasne tačke. Prirodno uklanjanje zagađenja može biti posledica destruktivnih (aerobna i anaerobna biodegradacija, abiotička oksidacija, hidroliza) i nedestruktivnih (sorpcija, razblaženje (disperzija i infiltracija), volatilizacija) procesa (Sara, 2003). Prednosti prirodnog uklanjanja su niži troškovi čišćenja i minimalno narušavanje pejzaža. Nedostaci su nemogućnost uklanjanja visokih koncentracija zagađenja, može doći do migracije zagađenja, vreme razgradnje težih frakcija je dugo, ne može se uvek postići ciljna vrednost koncentracije zagađenja za razumno vreme, uslovi na lokalitetu mogu biti nepovoljni, potreban je dugotrajan monitoring. Da bi pasivna bioremedijacija bila favorizovana potrebni su sledeći uslovi: stalan protok podzemne vode, prisustvo minerala koji štite da ne dođe do promene pH sredine, prisustvo visokih koncentracija kiseonika, nitrata, sulfata, gvožđa(III) itd (CISB, 1993).

Pasivna bioremedijacija se oslanja na prirodne sposobnosti prisutnih mikrobioloških zajednica. Sposobnost prirodnih mikroorganizama da izvedu pasivnu bioremedijaciju mora biti dokazana laboratorijskim testovima sprovedenim na specifičnom zemljištu. Ti testovi moraju biti izvedeni pre uspostavljanja pasivne bioremedijacije, da bi je mogli prihvatiti kao legitimnu tehniku čišćenja. Dodatno, efikasnost pasivne bioremedijacije mora biti dokazana terenskim monitoringom koji uključuje hemijske analize zagađenja, krajnjih elektron-donora i/ili drugih reaktanata ili produkata karakterističnih za biodegradacioni proces. Pasivna bioremedijacija može se koristiti sama ili u konjukciji sa drugim remedijacionim tehnikama. Na primer, zemljište može biti iskopano zbog odlaganja ili tretmana putem pasivne bioremedijacije radi uklanjanja rezidualnog zagađenja. Slično, ovaj proces može se primeniti nakon “ispumpaj-i-tretiraj” tehnike ili nakon tehničke bioremedijacije radi sprečavanja migracije zagađenja sa datog lokaliteta.

Primarno kod primene pasivne bioremedijacije je da zemljište mora biti u potpunosti ispitano. Parametri na koje treba obratiti pažnju su: tip, količina i distribucija zagađenja, podložnost zagađenja biodegradaciji mikroorganizmima iz zemljišta, tok podzemne vode kada se ne vrši crpljenje (uključujući sezonske fluktuacije), vremenski period migracije mrlje i bliskost i osetljivost potencijalnih receptora, koji mogu biti štetno naklonjeni ako dođu u kontakt sa zagađenjem. Ako su nam informacije o svim navedenim parametrima dostupne, možemo upotrebiti matematički model da bi smo odredili odnos migracije i biodegradacije. Ključne karakteristike zemljišta pogodnog za spontanu bioremedijaciju:

1. stalan tok podzemne vode (brzina i pravac) kroz sezone:
 - sezonske varijacije u debljini vodene table < 1m,
 - sezonske varijacije u regionalnoj trajektoriji toka <25 stepeni,
2. prisustvo karbonatnih minerala (krečnjak, dolomit, ljuštore, školjke) za puferovanje pH,
3. visoke koncentracije elektron-akceptora kao kiseonika, nitrata, sulfata, gvožđe(III)-jona,
4. prisustvo nutrijenata (azot i fosfor).

Da bi nadležni organi odobrili primenu pasivne bioremedijacije, mora se pribaviti potrebna dokumentacija o tome da će zdravlje stanovništva biti adekvatno zaštićeno. Plan za primenu bioremedijacije mora sadržati program terenskog monitoringa da bi se dokazalo da je

ona ispunila očekivano. Ako nisu ispunjena očekivanja i zagađenje se raširi, moraju se primeniti dalje korektivne mere.

Ukoliko prirodno okruženje na povećanu koncentraciju ugljovodonika odgovori povećanom brojnošću bakterija, posebno naftnooksidujućih i lipolitskih, onda postoji dobar autopurifikacioni potencijal na lokalitetu. Ukoliko, pored toga, dolazi do smanjenja koncentracije zagađenja, može se deo uklonjenog zagađenja pripisati mikrobiološkoj biodegradaciji i biotransformaciji. Pri tome se može zaključiti da na navedenom lokalitetu teče proces prirodne bioremedijacije.

Pasivna bioremedijacija može da se primenjuje kao samostalna tehnika, ili da se kombinuje sa drugim tehnikama (*Brown et al., 1994*). Iako postoje različite procedure za sprovođenje pasivne bioremedijacije, nije propisana standardna procedura koja bi obuhvatila koji sve parametri treba da se prate, kojom frekvencijom i na kom mestu (*Mulligan i Yong, 2004*).

2.4.2. Tehnička bioremedijacija

Drugi termini za tehničku bioremedijaciju su “pojačana” (eng. enhanced) bioremedijacija i “biooporavak” (eng. biorestitution). Tehnička bioremedijacija je brža od pasivne jer se vrši stimulacija mikrobiološke degradacije zagađenja kontrolom koncentracije kiseonika, nutrijenata, vlažnosti, pH, temperature i dr (*Rahman et al., 2003; Yerushalmi et al., 2003*). Tehnička bioremedijacija se primenjuje kada je bitno da se čišćenje izvrši za kratko vreme ili kada se mrlja veoma brzo širi. Njenom primenom smanjuju se troškovi zbog kraćeg tretiranja zemljišta i manjeg broja uzorkavanja i analiza, a ona je važna i zbog političkih i psiholoških potreba jer je zajednica izložena zagađenju. Ona je podložna varijacijama zbog geoloških, hidroloških i hemijskih karakteristika zemljišta i potrebnog biohemijskog procesa, a važan aspekt prilikom uspostavljanja tehničke bioremedijacije je i to da li se tretira zemljište ili voda.

2.4.2.1. Razvoj tehničke bioremedijacije

80-ih godina prošlog veka najviše se koristio “ispumpaj-i-tretiraj” (“pump-i-treat”) sistem za čišćenje podzemne vode (*CISB, 1993*). Serijom bunara se crpi voda na površinu i tretira se (čisti). Na ovaj način može da se kontroliše migracija zagađenja i ako su bunari u srcu zagađene zone može se ukloniti zagađena masa. Dobar deo zagađenja biva zarobljen u podzemlju i za potpuno čišćenje treba ispumpati ekstremno velike količine vode u toku dugog vremenskog perioda. Nakon čišćenja mogu ostati rezervoari sa izdvojenim zagađenjem koje je zapaljivo, gušće od vode i ima nisku rastvorljivost. Izdvajanje i izmeštanje zagađenja predstavlja rizik za radnike, zemljište i okolinu, a i skupo je.

Tretiranjem zagađenja na samom izvoru, bioremedijacija ubrzava desorpciju i rastvaranje zagađenja. Decenije “ispumpaj-i-tretiraj” tehnike mogu se zameniti sa par godina bioremedijacije. Površinskim tretmanom (kao delom “ispumpaj-i-tretiraj” sistema) se zagađenje uklanja iz vode tako što se prenosi u drugi medijum (vazduh ili zemlju) umesto da se uništi, dok primenom bioremedijacije mikroorganizmi ili unište ili imobilizuju zagađenje u zagađenoj zoni. Bioremedijacija potpuno uništava zagađenje do ugljenik(IV)-oksida, vode i nove čelijske mase.

Iako su troškovi bioremedijacije veći, kraće vreme čišćenja rezultira u smanjenju ukupnih troškova. Ne samo da se skraćuje vreme monitoringa, izveštavanja i menadžmenta, već se smanjuju potrebe za održavanjem, laboratorijama i opremom.

U ranom razvoju bioremedijacije, primena kiseonika je smatrana kritičnim faktorom (*Floodgate, 1973; Zobell, 1973*). Tehniku ubacivanja vode obogaćene sa nutrijentima i kiseonikom (uz primenu aeracije kroz bunare), radi promocije biodegradacije, prvi je pokušao da primeni Raymond 1972. godine u Ambleru (*Raymond i dr., 1977*). Ovu tehnologiju Raymond je patentirao 1974.

Od 1975. do 1983. Raymond i saradnici su vodili nekoliko demonstracionih projekata uz podršku Američkog Petroleum Instituta (API) (*Jamison i dr., 1975*). Ove studije su pokazale mogućnosti in-situ bioremedijacije i uočene redukcije zagađenja u zemljištu i podzemnoj vodi su bile dovoljno ohrabrujuće te su podstakle veće interesovanje za datu tehnologiju.

Ovi rani radovi pokazali su da je primena kiseonika izuzetno važna, ako je data tehnologija generalno primenljiva. Kiseonik i nutrijenti u prvoj generaciji ovih tehnika dodavani su putem cirkulacije podzemne vode ali su postupci biodegradacije koji su se odigravali bili ograničeni malom rastvorljivošću i nestabilnošću kiseonika u vodenom rastvoru (*Brown i dr., 1993*). Zbog toga je došlo do upotrebe vodonik-peroksida kao izvora kiseonika (*Brown i dr., 1984*).

Laboratorijski testovi na Teksaskom istraživačkom institutu pokazali su da bi vodonik-peroksid mogao biti izvor kiseonika za bakterije i da bi se mogao podneti u koncentraciji do 1000 mg/dm³ (*TRI, 1982*). API i FMC korporacija podržali su terenske testove u Granger-u, Indiana, koji su pokazali da se vodonik-peroksid može koristiti na terenu (*API, 1987*). Primena vodonik-peroksida kao izvora kiseonika je patentirana (*Brown i dr., 1986*). U toku 1983-86. godine bilo je implementirano nekoliko komercijalnih in-situ bioremedijacionih projekata sa primenom vodonik-peroksida kao izvora kiseonika i u nekim slučajevima je smanjena koncentracija ugljovodonika (*Frankenberger i dr., 1989*) i BTEX-a (*Norris i Dowd, 1993*) ispod granice detekcije. Zbog potrebe za većim količinama kiseonika, vodonik-peroksida se sve više primenjuje. Međutim, iako se primenom vodonik-peroksida značajno povećava količina kiseonika (10-50 puta više kiseonika nego do tada primenjivanim aeracionim sistemima), njegova primena ima nekoliko ograničenja: kod tretmana nezasićenog zemljišta i zbog nestabilnosti vodonik-peroksida u nekim tipovima zemljišta što može da prouzrokuje probleme kao što su prebrza dekompozicija ili obrazovanje začepjenja (*Britton, 1985*).

Do smanjene primene vodonik-peroksida došlo je sa razvojem ekstrakcije isparenja iz zemljišta (eng. soil vapor extraction, SVE) koja sada važi za mnogo uspešniju tehniku dopremanja kiseonika u nezasićeno zemljište i zbog toga zamenjuje primenu vodonik-peroksida (*Brown i Crosbie, 1989*). Dok se SVE kao samostalna tehnika uvek fokusirala na uklanjanje isparljivih jedinjenja, uočeno je da proces vraćanja isparenja može, takođe, povećati stepen biodegradacije (*Thornton i Wooten, 1982; Wilson i Ward, 1986*), te je ona kasnije postala deo bioremedijacione tehnologije (eng. biosparging).

Problem prebrze dekompozicije vodonik-peroksida i začepjenje zemljišta može se izbeći primenom jedinjenja koja polako oslobađaju kiseonik, ORC (Oxygen Release Compound). Ta jedinjenja, u osnovu, predstavljaju zaštićeni oblik umetnutog magnezijum-peroksida, a njihova primena predstavlja "tehniku postupnog oslobađanja elektron-akceptora".

Najnovija inovacija u bioremedijacionoj tehnologiji je upotreba raspršivanja vazduha (eng. air sparging) radi oksigenacije podzemne vode (*Brown i Jasiniewicz, 1992*). Raspršivanje vazduha podrazumeva injektovanje vazduha ispod vodene table radi zasićenja

podzemne vode vazduhom i na taj način se obezbeđuje kiseonik. Raspršivanje vazduha je privuklo veliku pažnju jer je relativno jeftino i kiseonik se može distribuirati kroz sve zemljište odjednom, što je bolje nego osloniti se na front kiseonika koji se kreće kroz zemljište. Tamo gde se može primeniti raspršivanje vazduha njime se zamenjuje upotreba vodonik-peroksida.

Zbog problema sa nestabilnošću vodonik-peroksida, traži se drugi rastvorljivi elektron-akceptor. Sprovedeno je nekoliko testova da bi se razvila primena nitrata kao alternativnih elektron-akceptora u degradaciji monoaromata (izuzev benzena) i poliaromatičnih jedinjenja. Nitrati su jeftini, lako se transportuju kroz zemljište i prouzrokuju manje problema od kiseonika. Međutim, nitrati ne utiču na degradaciju alifatičnih jedinjenja, i njihova upotreba može biti ograničena državnim i lokalnim zakonima i mogućnošću da može doći do eutrofikacije.

Napredak u razvoju bioremedijacionih tehnika postignut je razvojem procesa bioremedijacije hlorovanih ugljovodonika početkom 80-tih godina (hlorovanih rastvarača, pesticida, PCBs), (*McCarty i Semprini, 1994*). Naročitu pažnju privlače biodegradacioni procesi koji su se odigravali pod dejstvom mikroorganizama koji su prirodno prisutni u zemlji i metode koje su zasnovane na tim procesima.

Razvijena je i tehnika agresivne oksidacije zagađenja u podzemnoj vodi ubacivanjem i kruženjem četiri različita reagensa: ozona, vodonik-peroksida, kiseonika i vazduha u preciznim, pred-programiranim dozama (literatura).

Kako ograničenja u konvencionalnim tehnikama prečišćavanja podzemne vode i zemljišta postaju sve izraženija, istraživanja alternativnih tehnika čišćenja se intenziviraju (Li et al., 2000; Margesin i Schinner, 2001; Levin et al., 2003; Venosa i Zhu, 2003; Maki et al., 2003; Ruberto et al., 2003; Bento et al., 2004; Hansen et al., 2004).

2.4.2.2. Osnove dizajna bioremedijacionog procesa

Prilikom dizajniranja bioremedijacionog procesa mora se sprečiti da se zagađenje širi dalje zbog prodiranja u podzemnu vodu. Koja varijanta čišćenja će se primeniti zavisi od vrste zagađenja, prirode terena i dr. Može se primeniti tehnička, spontana bioremedijacija, kombinacija obe, ili mešavina bioremedijacije sa nebiološkim tretmanom. Pošto je obično koncentracija zagađenja u podzemnoj vodi manja nego u zoni izvora zagađenja, onda se mogu primeniti drugačije procedure za izvornu zonu i za raširenu mrlju. Faktori koji utiču na dizajniranje bioremedijacionog procesa su:

- ciljevi koji se žele postići prilikom tretmana zemljišta,
- širenje zagađenja (vrsta, koncentracija i lokacija),
- vrsta biološkog procesa koji efikasno transformiše zagađenje, transportna dinamika zemljišta.

Prema mestu izvođenja bioremedijacija može biti in-situ i ex-situ.

2.4.3. In-situ tehnička bioremedijacija

In-situ bioremedijacija podrazumeva svesnu stimulaciju mikroorganizama u podzemnoj vodi, sedimentu ili zemljištu u cilju degradacije zagađenja. Mikrobiološka aktivnost u zagađenoj zoni se pospešuje upotrebom seta injekcionih i povratnih (eng.

recovery) bunara za cirkulaciju kiseonika i nutrijenata rastvorenih u vodi ili se koristi set kompresora za injektovanje vazduha. Strategija se sastoji u tome da se zemljište izoluje i kontroliše da bi se dobio in-situ bioreaktor. Da bi in-situ tehnička bioremedijacija bila favorizovana potrebno je da zemljište mora biti propustljivo za fluide i ujednačeno, a koncentracija vodonerastvornog zagađenja mora biti relativno mala (<10000 mg/kg zemljišta). Prvi komercijalni in-situ bioremedijacioni sistem je instalisan 1972. godine za čišćenje izlivenog goriva na benzinskoj pumpi u Pensilvaniji (*Raymond i dr., 1977*). In-situ metode su minimalno razorne za zemljište i manji su troškovi. Njima se postiže destrukcija zagađenja pre njegovog transporta u drugi medijum, minimalno izlaganje radnika zagađenju, dugotrajna zaštita javnog zdravlja i moguće smanjenje trajanja procesa čišćenja. Većina bioremedijacionih tehnologija koje su vremenom usavršavane i bile zasnovane na in-situ bioremedijaciji služile su za uklanjanje naftnih ugljovodonika (*CIRT, 1997*). Primenjuje se nekoliko tehnika kao što su in-situ **biostimulacija** autohtone mikroflora (najčešće se primenjuje; može da mikroflora izoluje iz zemljišta, razmnožava u bioreaktorima i zasejava u zagađenoj zoni), **bioaugmentacija** (dodatak adaptirane mikroflora ili genetski modifikovanih mikroorganizama, GMO), **barijere (zidovi) sa mikroorganizmima** i dr.

Postoje, generalno, dve grupe in-situ bioremedijacionih sistema: **sistemi za nezasićeno zemljište i sistemi za podzemnu vodu**.

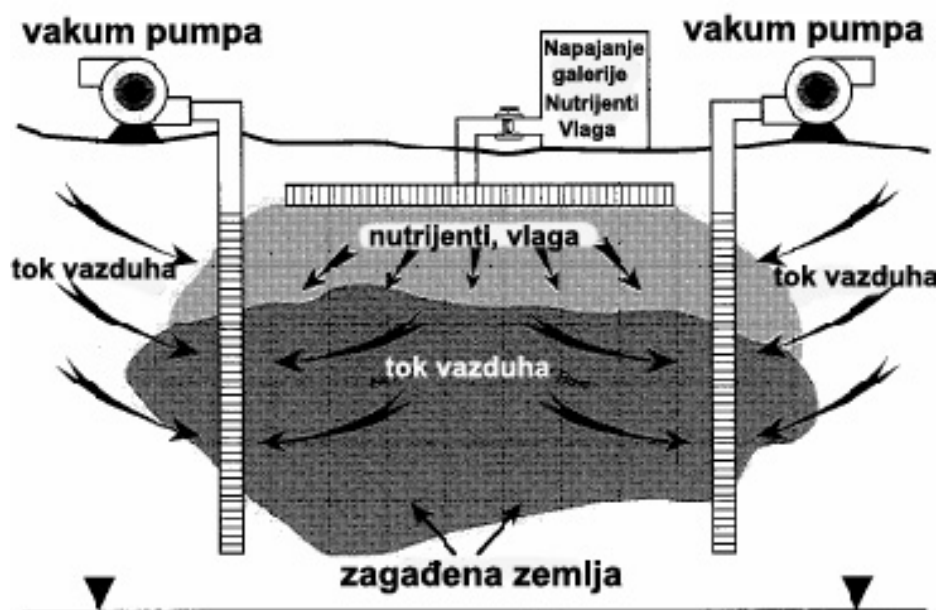
2.4.3.1. Bioremedijacioni sistemi za nezasićeno zemljište

Kada se podzemno zagađenje nalazi delimično ili u potpunosti iznad vodene table (nezasićena zona) tretman se zasniva na transportu materijala kroz gasovitu fazu. Upotrebom aeracionog sistema kiseonik postaje elektron-akceptor izbora za sisteme koji uklanjaju naftno zagađenje. Tri primarna kontrolna parametra su: kiseonik, vlaga i nutrijenti i drugi reaktanti.

Ako se radi o površinskom zagađenju jednostavnom **površinskom obradom** zemljišta može se ubrzati dopremanje kiseonika da bi se ubrzala bioremedijacija. Generalno, tretman se ograničava na površinski sloj zemljišta i to prvih 10 do 35cm. U Kalkaska Kantriju, država Mičigen, zemljište je zagađeno sa naftom da bi se demonstrirala jednostavna forma tehničke bioremedijacije zemljišta. Obradom zemljišta obezbeđen je kiseonik, a periodičnim navodnjavanjem obezbeđena je vlažnost. Zemljište je prekriveno crnim prekrivačem zbog zagrevanja zemljišta radi ubrzanja mikrobiološke aktivnosti, i zaštite od kiše da ne bi zagađenje prodiralo dublje u podzemlje. Čišćenje je počelo u septembru 1991. godine. U toku godine dana ukupni ugljovodonici su opali sa desetina hiljada ppm-a na manje od 400 ppm.

Kod dubinskog zagađenja aeracija se najčešće postiže primenom **vakuuma (bioventing)**, ali može se i **injektovati vazduh (prođuvavanje vazduha, stripping)** (slika 7).

Da bi se dizajnirao i primenio efikasan vakuum ili injektorski sistem za dopremanje kiseonika, mora se poznavati vertikalna i horizontalna pozicija zagađenja i moraju se poznavati geološke karakteristike zagađene zone. Pošto je vazdušni tok proporcionalan propustnim karakteristikama svakog geološkog sloja, aeracione tačke moraju biti pojedinačno instalisane u dubinu tako da korenspodiraju sa svakom zagađenom geološkom jedinicom. Za efikasno dopremanje kiseonika postavljanje aeracionih tačaka u geološkim jedinicama je funkcija propustljivosti zemljišta i primenjenog vakuuma ili pritiska. Određivanje mesta aeracije trebalo bi da je bazirano na podacima o terenu i/ili kompjuterskim modelima. U zemljištu bogatom glinom cirkulacija viška kiseonika je ekstremno otežana zbog relativne nepropustljivosti zemljišta. U takvom zemljištu za protok vazduha mogu se iskoristiti hidrauličke pukotine ili druge pukotine, koje su napravljene.



Slika 7. In-situ tehnički bioremedijacioni sistem za nezasićeno zemljište sa primenom vakuuma - bioventing

Usled prolaska vazduha kroz podzemlje uklanja se vlaga. To dovodi do sušenja zemljišta, usled čega može da se zaustavi biološki proces. Vlaga se dodaje tretiranoj zoni raspršivanjem ili plavljenjem površine (ako je površina propustljiva) ili injektiranjem vode kroz infiltracione galerije, kanale ili suve bunare. Mora se obratiti pažnja na to da se ne doda previše vode, jer će ona odneti zagađenje u podzemnu vodu i smanjiti dotok vazduha u podzemlje.

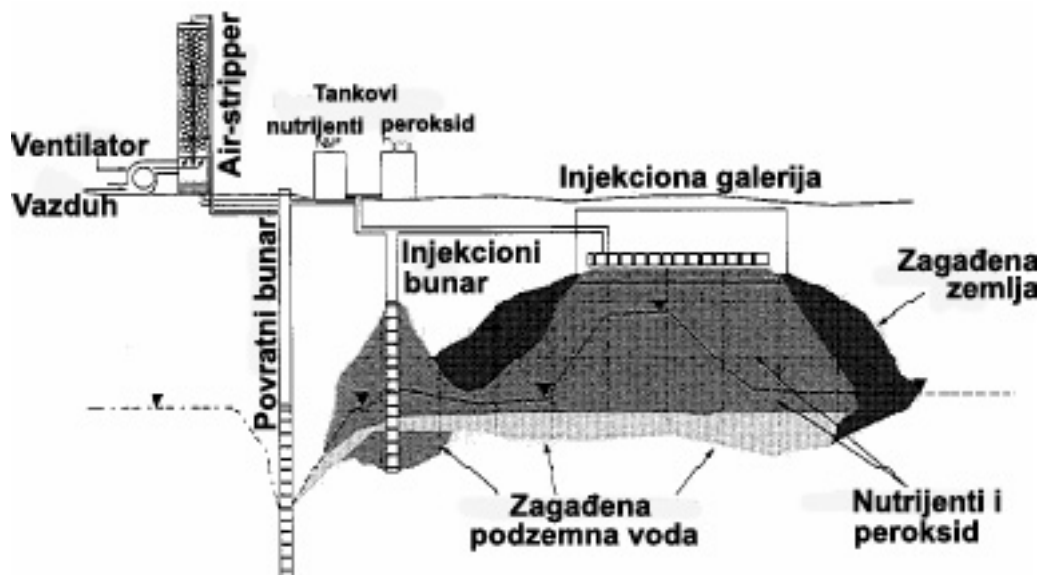
Ako su za proces bioremedijacije potrebni neorganski nutrijenti, oni se mogu dodati u obliku rastvora preko sistema za navodnjavanje. Oni se ponekad mogu dodavati u obliku gasova. Tada se azot dodaje u obliku gasovitog amonjaka. Može se dodati i metan za stimulaciju kometabolizma hlorovanih etena. Gasovi se mogu dodavati kroz bunare ili kanale konstruisane paralelno sa aeracionim sistemom.

2.4.3.2. Bioremedijacioni sistemi za podzemnu vodu

Postoje dva tipa bioremedijacionog sistema za tretiranje podzemne vode ispod vodene table: *sistem sa cirkulacijom vode i sistem sa injektovanjem vazduha*, koji se poslednjih godina mnogo više koristi. Ključne karakteristike zemljišta pogodnog za in-situ tehničku bioremedijaciju su:

1. propustljivost podzemlja za fluide:
 - hidrulička propustljivost $> 10^{-4}$ cm/s (ako voda cirkuliše),
 - spontana propustljivost $> 10^{-9}$ cm² (ako vazduh cirkuliše),
2. relativno uniformno podzemlje,
3. rezidualna koncentracija nevodene faze zagađenja < 10000 mg/kg zemljišta.

Sistem sa cirkulacijom vode – voda sa nutrijentima i drugim supstancama, koje se primenjuju da stimulišu mikrobiološki rast, cirkuliše između injektorskog i povratnog bunara. Raymond-ov metod je sistem koji je dizajniran za tretiranje zagađenja koje se izlilo iz Sun Oill-a 1972. godine. Radi se o inkorporaciji bioremedijacionog sistema za nezasićeno zemljište u bioremedijacioni sistem sa cirkulacijom podzemne vode. Slika 8 prikazuje dijagram cirkulacije vode uz obogaćivanje kiseonikom u vidu vodonik-peroksida i tretiranje povratne vode sa “air-stripper”-om da bi se uklonile zaostale volatilne komponente. U normalnim situacijama, sva podzemna voda se vraća u podzemlje. Ona se reinjektuje odjednom ili u porcijama posle dodatka nutrijenata i krajnjih elektron-akceptora. Ubrizgavanje vode se dobro postiže preko bunara, ali neki sistemi koriste injektione galerije. Ponekad, sva ispumpana voda se smešta u odgovarajući rezervoar, a za injektovanje se koriste i/ili pijaća voda ili nezagađena podzemna voda. Injektovana podzemna voda se kreće kroz zasićen sediment do sistema za crpljenje. Obogaćena voda kretanjem kroz zagađene delove zemljišta povećava mikrobiološku aktivnost jer obezbeđuje elemente koji limitiraju spontanu biodegradaciju. Nutrijenti koji se uobičajeno dodaju su azot i fosfor, a takođe i drugi minerali. Amonijum i nitratne soli su najčešći izvor azota, a ortofosfati i tripolifosfati su najčešći izvor fosfora. Elektron-akceptor je najčešće kiseonik iz vazduha, čist kiseonik ili vodonik-peroksid. Nitrati se mogu takođe koristiti kao elektron-akceptori u nekim komercijalnim tehničkim bioremedijacionim sistemima.



Slika 8. Cirkulacija vode obogaćene kiseonikom pomoću vodonik-peroksida i tretman povratne vode “air-stripper”-om da bi se uklonile zaostale volatilne komponente

U Wexford Country, država Mičigen, na postrojenju za distribuciju goriva instalisan je vodeni cirkulacioni sistem radi čišćenja podzemne vode zagađene benzinom iz tankova, kamiona i sl. Čist kiseonik je raspršivan u vodu koja je zatim kroz cevi dovođena na seriju injeksionih bunara. U početku voda je obogaćivana sa nutrijentima, ali testovi su pokazali da nije bilo povećanja u stepenu biodegradacije sa dodatkom nutrijenata tako da se prestalo sa njihovim dodavanjem. Tretman je počeo u avgustu 1991. godine. Za 14 meseci koncentracija polutanata pala je do nivoa dozvoljenog državnim standardima.

U Hanahan-u, Južna Karolina instalisan je bioremedijacioni sistem sa cirkulacijom vode za čišćenje podzemne vode široko zagađene materijama iscrelim iz pukotina na skladišnim tankovima i iz oštećenja na dnu tankova. Zemljište sadrži mešavinu zagađujućih materija velike raznolikosti od naftnih ugljovodonika, uključujući alifatične ugljovodonike, PAH-ove, i benzinskih komponenti (BTEX). Sistem za tretman sastoji se od infiltracionih galerija korišćenih za cirkulaciju vode obogaćene nitratima, koji služe kao elektron-akceptori. Perforirana cev u šljunkovitom rovu je korišćena za rasprostiranje nutrijenata i vode. Rov je nakon postavljanja cevi napunjen šljunkom i pokriven peskom. Cilj tretmana na ovom zemljištu je da se unište PAH-ovi i alifatični ugljovodonici vezani za zemljište i da se smanji koncentracija BTEX u vodi. Istraživači su koristili kao kontrolnu lokaciju podzemlje u koje je infiltrirana voda bez nitrata. Kontrolno zemljište je korišćeno za određivanje efekta dodavanja nitrata i rezultante stimulacije mikroorganizama na stepen destrukcije zagađenja.

Sistem sa injektovanjem vazduha – Jedno od glavnih ograničenja sistema sa cirkulacijom vode je efikasnost snabdevanja zagađene zone elektron-akceptorom. Dopremanje kiseonika, najčešćeg elektron akceptora, je problematično zbog toga jer je gasoviti kiseonik ograničeno rastvoran u vodi, a drugi izvori kiseonika (kao što su vodonik-peroksid i tečni kiseonik) su skupi i imaju ograničenu efikasnost. Ukoliko se raspršuje vazduh može se obezbediti do 8 mgO₂/l vode, ukoliko se raspršuje čist kiseonik do 40 mgO₂/l vode, a primenom vodonik-peroksida obezbeđuje se i do 100 mgO₂/l. Ponekad upotreba čistog kiseonika može da poskupi troškove i poveća opasnost od eksplozije više nego što se postiže ubrzanje bioremedijacije i smanjuje pumpanje. Limitirajući faktori za vodonik-peroksid su toksičnost za mikroorganizme i mogućnost da se začepi akvifer usled produkcije taloga nastalog oksidacijom organskih i neorganskih materija. Metal-katalizovana ili pomoću mikroorganizama, razgradnja vodonik-peroksida može da proizvede više kiseonika nego što se može rastvoriti u vodi usled čega mogu nastati mehuri i smanjiti se propustljivost akvifera (*Morgan and Watkinson, 1992; Pardieck et al., 1992*). Da bi se smanjila burna reakcija, pre vodonik-peroksida nekad se dodaju fosfati da se istaloži gvožđe i delimično smanji metal-katalizovana degradacija. Precipitacija proizvoda oksidacije i nastanak mehurića limitira koncentraciju vodonik-peroksida koja se može dodavati u podzemnu vodu na 100 mg/l ili manje (47 mgO₂/l ili manje). Začepljenje neće predstavljati problem u zemljištu velike propustljivosti i šljunku. On je toksičan za mikroorganizme, već i u koncentraciji od 3 mg/l, a prema nekim radovima se može koristiti bez nepovoljnih efekata do 270 mg/l. Prilagođavanje mikroorganizama na polagano povećanje koncentracije vodonik-peroksida može biti uspešno i na koncentracije do 2000 mg/l (*Pardieck et al., 1992*). Da bi se odredio tolerantan odnos za prisutnu mikrobiološku zajednicu potrebne su odgovarajuće laboratorijske studije.

Teškoće vezane za dopremanje kiseonika ograničavaju mogućnosti bioremedijacione tehnologije. Najnovija inovacija u bioremedijacionoj tehnologiji je upotreba raspršivanja vazduha ("air sparging") - injektovanja vazduha direktno u podzemnu vodu (*Brown i Jasinlewicz, 1992*) (slika 9). Raspršivanjem vazduha postižu se dva cilja.

Prvo, to je uspešan metod za dopremanje kiseonika radi pospešenja mikrobiološkog rasta. Injektovani vazduh istiskuje vodu u podzemlju, formirajući pore privremeno napunjene vazduhom, koji je lako dostupan mikroorganizmima.

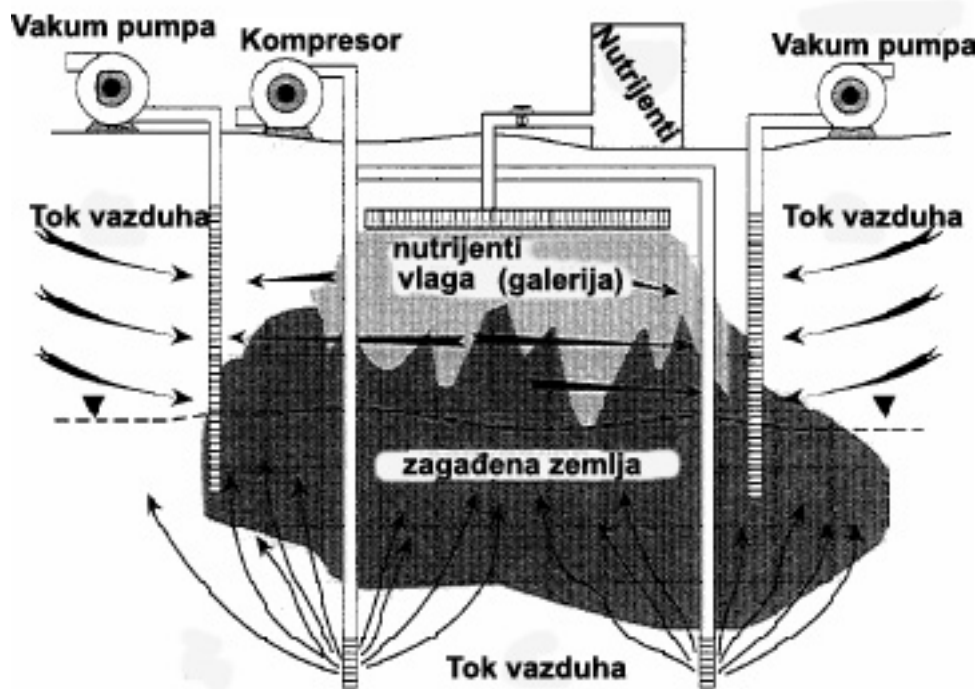
Drugo, raspršivanje vazduha može pomoći u uklanjanju volatilnog zagađenja. Kako se injektovani vazduh kreće kroz zagađenu zonu ka površini, on može da nosi isparljivo zagađenje do sloja zemljišta iznad vodene table i da se hvata uz pomoć sistema za povratne gasove. Za dobru primenu sistema sa raspršivanjem vazduha bitno je skicirati veličinu zagađenja i podzemnog geološkog profila. Ovi zahtevi moraju biti ispoštovani da bi

obezbedili da se vazduh može rasprostirati lako i ujednačeno kroz tretiranu zonu. Ako postoje geološke barijere koje mogu zarobiti ili kanalisati tok vazduha, mora se odustati od upotrebe datog sistema. Pored primene bunara za raspšivanje vazduha potrebno je odrediti i inekcioni pritisak putem terenskih testova i/ili modelovanjem.

Raspršivanje vazduha je privuklo veliku pažnju jer je relativno jeftino i kiseonik se može distribuirati kroz sve zemljište odjednom, što je bolje nego osloniti se na front kiseonika koji se kreće kroz zemljište. Tamo gde se može primeniti raspršivanje vazduha njime se zamenjuje upotreba vodonik-peroksida.

Nutrijenti i druge supstance, ako je potrebno, mogu se dodavati kroz inekcione bunare ili infiltracione galerije (slika 9). Kretanjem vazduha kroz podzemlje dolazi do mešanja koje pomaže da se nutrijenti rasprostiru kroz vodeni sloj. Gasoviti reaktanti kao metan, koji mogu biti upotrebljeni za kometaboličku bioremedijaciju mogu se dodavati kroz bunare za raspršivanje.

U većini situacija sistem raspršivanja vazduha je spojen sa sistemom zahvatanja podzemne vode da bi se sprečila migracija rastvorenog zagađenja. Kada su prisutna isparljiva jedinjenja, sistem za vraćanje vazduha se koristi da bi se sprečilo zagađenje vazduha iznad sistema i transfer zagađenja u susednu zonu.



Slika 9. Sistem raspršivanja vazduha za tretman zagađene podzemne vode

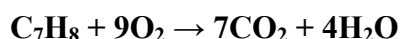
2.4.4. Praćenje procesa in-situ bioremedijacije

Prilikom ocenjivanja uspostavljenog in-situ bioremedijacionog procesa treba pokazati ne samo da je smanjena koncentracija zagađenja, već da je zagađenje razgrađeno mikrobiološkim putem, a ne drugim procesima. Bez evidencije o učešću mikroorganizama,

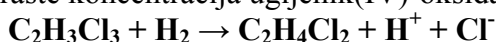
nema načina da se opravdano tvrdi da zagađenje nije jednostavno isparilo, migriralo, vezalo se za podzemlje ili promenilo oblik kroz abiotske hemijske reakcije.

2.4.4.1. Indikatori mikrobiološke aktivnosti

1. Hemijske promene - Kod aerobne bioremedijacije opada koncentracija kiseonika. Kod anaerobne bioremedijacije opada koncentracija nitrata, sulfata, gvožđa(III), mangana(IV), a raste koncentracija azota (N₂), vodonik-sulfida, gvožđa(II) i mangana(II). Koncentracija ugljenika raste (gasoviti CO₂, rastvoreni CO₂, HCO₃⁻). Na primer:



(raste koncentracija ugljenik(IV)-oksida)



(vodonikoksidujuće anaerobne bakterije izazivaju porast koncentracije vodonikovih jona pa opada pH vrednost)

2. Adaptacija prirodnih organizama - Adaptacija prirodnih organizama da degradiraju zagađenje objašnjava se indukcijom enzima, rastom biodegradacijske populacije i genetskim promenama.

3. Porast predatora - Raste broj protozoa koje se hrane bakterijama, što ukazuje da je porastao broj bakterija.

2.4.4.2. Trodelna strategija za dokazivanje in-situ bioremedijacije

Nedvosmislena in-situ bioremedijacija je dokazana samo u izuzetnim prilikama. U većini slučajeva kompleksnost zagađenja i njegove hidrogeohemijske okoline, i konkurencija abiotskih mehanizama na smanjenju zagađenja predstavljaju izazov za dokazivanje procesa biodegradacije. Za razliku od kontrolisanih laboratorijskih eksperimenata u kojima se merenja obično mogu izvesti lako, uzročno-posledične veze se često veoma teško uočavaju na terenu. Dalje, pouzdani podaci koji mogu ubediti autore u uspostavljenju in-situ bioremedijaciju ne mogu ubediti druge. Iako je retko moguće potpuno sigurno dokazati umešanost mikoorganizama u proces uklanjanja zagađenja, veoma je značajno da se dokumentovano ukaže na mikrobe kao ključne aktere u procesu čišćenja. Pošto je jedno merenje retko adekvatno, ocenjivanje bioremedijacije mora biti dosledno sprovedeno, tako da se oslanja na konvergentne linije nezavisne evidencije dobijene sa samog terena. Da bi smo procenili da li nam je uspostavljena uspešna in-situ bioremedijacija na lokalitetu potrebno je učiniti sledeće (CISB, 1993):

1. putem rutinskog monitoringa dokazati smanjenje koncentracije zagađenja,
2. treba sprovesti laboratorijska merenja koja će pokazati da mikroorganizmi na datom lokalitetu imaju potencijal da transformišu zagađenje pod očekivanim uslovima, i
3. treba dokazati da je biodegradacioni potencijal stvarno uspostavljen na lokalitetu.

Trodelna strategija se primenjuje ne samo za bioremedijacione projekte u implementacionoj fazi, već i u fazi testiranja. Ona se ne primenjuje samo u istraživačke svrhe. Svaki dobro dizajniran bioremedijacioni projekat treba da poseduje datu strategiju.

Prvim tipom dokumentacije ukazuje se na smanjenje koncentracije zagađenja, što se postiže standardnim uzorkovanjem podzemne vode i zemljišta u toku vremena, kako napreduje čišćenje. Drugim tipom dokumentacije se ukazuje na potencijal mikroorganizama da degradiraju zagađenje, što je relativno jednostavno dokazati. U mnogim slučajevima to zahteva izolovanje mikroorganizama sa terena i dokazivanje da oni mogu da degradiraju zagađenje kada rastu u dobro kontrolisanim laboratorijskim uslovima. U nekim slučajevima laboratorijske studije nisu potrebne kada većina ispitivanja i objavljenih studija dokumentuju da su komponente lako i jednostavno biorazgradljive.

Mnogo teže je ostvariti evidenciju trećeg tipa, koja pokazuje da je biodegradabilni potencijal demonstriran u laboratoriji postignut i na terenu.

2.4.4.3. Tehnike za demonstraciju biodegradacije na terenu

Cilj tehnika koje služe za demonstraciju terenske biodegradacije je da se predvidi smer u kojem se menjaju hemijske karakteristike terena i mikrobiološke promene u životnoj sredini koje se mere ovim testovima u toku vremena treba da koreliraju sa dokumentovanim smanjenjem zagađenja. U svrhu dokazivanja procesa biodegradacije primenjuje se nekoliko načina ispitivanja. Ni jedan od njih ne može sa potpunom sigurnošću da pokaže da je biodegradacija glavni razlog uklanjanja zagađenja pa treba primenjivati što raznovrsnije tehnike. Tri najznačajnija načina ispitivanja su (*CISB, 1993*):

- ispitivanje uzoraka donetih sa tretiranog lokaliteta,
- eksperimenti sprovedeni na terenu i
- modelovani eksperiment.

2.4.4.3.1. Analiza terenskih uzoraka

Mnogobrojne metode za dokumentovanje in-situ bioremedijacije uključuju uzimanje uzoraka zemljišta i vode sa terena i transport do laboratorije radi hemijske i mikrobiološke analize. Mnoge od ovih metoda obezbeđuju poređenje uslova na terenu koji je pod bioremedijacijom sa baznim uslovima na terenu gde nije primenjena bioremedijacija. Bazni uslovi mogu biti određeni na dva načina. Prvi metod podrazumeva analiziranje uzoraka sa lokacije koja je hidrogeološki slična zoni koja je tretirana ali je ili nezagađena ili je izvan zone uticaja bioremedijacionog sistema. Drugi metod podrazumeva prikupljanje uzoraka pre početka bioremedijacionog procesa i poređenje sa uzorcima uzetim na nekoliko tački posle primene datog procesa. Drugi metod se primenjuje samo kod tehničke bioremedijacije, jer je početno vreme spontane bioremedijacije momenat kada zagađenje prodire u podzemlje i ono ne može biti kontrolisno.

Istraživači sa Stanford Univerziteta demonstrirali su na terenu tehničku bioremedijaciju hlorovanih rastvarača da bi ispitali potencijal upotrebe kometabolizma u in-situ bioremedijaciji hlorovanih rastvarača (*Roberts i sar., 1990; Semprini i sar., 1990*). Istraživanja izvedena na ovom oglednom polju (Moffett Naval Air Station, California) pokazala su kako se mogu kombinovati različiti testovi da bi ispitali kako se novi bioremedijacioni procesi istraženi u laboratoriji mogu uspešno primeniti na terenu. Hlorovani rastvarači su pažljivo dodati da ne migriraju pre istraživanja. Hlorovani rastvarači ne mogu

sami da podrže rast mikroorganizama, ali ako se snabdeju sa metanom, specijalna klasa organizama može da ih razgrađuje putem kometabolizma. Istraživači su stimulisali prirodne organizme dodatkom kiseonika i metana. Primenjena je trodelna strategija za dokazivanje in-situ bioremedijacije:

1. Dokumentovano smanjenje zagađenja: Bilo je transformisano 95% vinil-hlorida, 85% trans-1,2-dihloretilena, 40% cis-1,2-dihloretilena i 20% trihloretilena.
2. Laboratorijska istraživanja koja pokazuju da mikroorganizmi imaju potencijal da razgrađuju zagađenje: Zemljište akvifera prenešeno u laboratoriju bilo je izloženo metanu i kiseoniku, da bi pokazali da matriks sadrži bakterije koje koriste metan (metanotrophs). Raniji istraživači su pokazali da metanotrofi mogu da kometabolišu hlorovane rastvarače.
3. Evidencija da je biodegradacioni potencijal postignut na terenu: Korišćeno je nekoliko metoda. Prvo, pokazali su da je pre stimulacije metanotrofa sa metanom i kiseonikom, destrukcija trihloretilena bila minimalna. Drugo, oni su primenili konzervativni test sa bromidom kao označivačem da bi pokazali da metan i kiseonik koji su dodati nisu nestali fizičkim transportom, već su korišćeni od strane mikroorganizama. Treće, oni su identifikovali mikrobiološki razgrađene proizvode iz rastvarača u akvifer uzorcima. Četvrto, oni su koristili modele da pokažu da terensko smanjivanje biodegradacionog stepena može biti razlog za smanjenje zagađenja na terenu.

Prilikom merenja terenskih uzoraka primenjuje se nekoliko vrsta analiza:

Broj bakterija

Kada mikrobi metaboliziraju zagađenje, oni se uobičajeno razmnožavaju (veći broj mikroorganizama, brža razgradnja zagađenja). Na ovaj način smanjuje se zagađenje a raste broj mikroorganizama. Kada je stepen biodegradacije zagađenja mali, kao kada je koncentracija zagađenja niska ili su biodegradabilna jedinjenja nedostupna, porast broja bakterija ne mora biti visok da bi bio registrovan, uzimajući u obzir grešku u uzorkovanju i tehnikama merenja. Na ovaj način nedostatak velikog povećanja bakterija ne znači da je biodegradacija neuspešna.

Veliki problem predstavlja i šta treba uzorkovati. Treba uzorkovati matriks zemljišta (zemljište i kamenje koje okružuju podzemnu vodu) i vezanu čistu vodu. Ne može se uzorkovati samo voda jer su mnoge bakterije čvrsto vezane za zemljište. Uzorkovanje zemljišta iz podzemlja je veoma teško i skupo. Uzorkovanje se vrši uklanjanjem cilindričnih slojeva. Treba sprečiti zagađenje mikroorganizmima dok se vadi uzorak. Dok uzorci podzemne vode imaju važne nedostatke, oni imaju ulogu semikvantitativnih indikatora broja mikroorganizama. Glavni porast broja mikroorganizama u podzemnoj vodi korelira sa velikim porastom ukupnog broja bakterija u podzemlju. Uzorci podzemne vode mogu biti uzeti sa istog mesta a i uzorkovanje je jeftino.

Bakterije se mogu brojati na sledeće načine:

- ☞ direktno mikroskopsko brojanje;
- ☞ INT test aktiviteta – aktivne respiratorne bakterije transferuju elektrone na tetrazolijum so dajući purpurne INT kristale i oni se broje mikroskopom unutar bakterije;
- ☞ brojanje na pločama – brojanje bakterija sposobnih da rastu na određenim setovima nutrijenata i supstrata, fiksiranih sa agarom u formi gela. Broje se aktivne kolonije.
- ☞ Najverovatniji broj (“the most-probable-number” MPN) – isto se radi o rastu u određenom medijumu, ali je brojanje pod statističkom analizom. MPN koristi veliki

broj inkubacija od razblaženog uzorka do željenog nivoa u nutrijentnom rastvoru. Prema broju u razblaženom uzorku računa se broj u nerazblaženom.

Postoje nove i preciznije tehnike:

- ↗ Oligonukleotidne probe su mali delovi DNA koji mogu identifikovati bakteriju po jedinstvenoj sekvenci molekulskog koda u njihovim genima. Male DNA probe vezuju se sa komplementarnim regionom ciljanih ćelija genetičkog materijala;
- ↗ Analiza masnih kiselina – ona koristi karakterističnu strukturu masnih kiselina prisutnih u membranama ćelija.

Broj protozoa

Pošto se one hrane bakterijama, porast njihovog broja je posledica povećanja broja bakterija. One se broje statističkom MPN tehnikom.

Stepen biološke aktivnosti

Veoma važno merenje uspeha bioremedijacije je da li je potencijal biotransformacije dovoljno veliki da brzo ukloni zagađenje ili da speči migraciju zagađenja.

Treba konstruisati laboratorijski mikrokosmos sa uslovima okruženja što bližim onim odakle je uzet uzorak. Na tom mikrokosmosu su spojeni uzorci sa terena i pridodati mikrobi. Mikrokosmosi su korisni zbog toga što koncentracija substrata i uslovi okruženja mogu biti kontrolisani i smanjenje zagađenja ili drugi markeri biodegradacije mogu biti mereni relativno lako. Mogu se menjati uslovi i tražiti koji su najbolji.

Mikrokosmos je primenjen u Denveru, država Kolorado (*Nelson i sar., 1993*). Iz privremenog tanka korišćenog za servisna vozila iscurilo je ulje, dizel i benzin. Iscurile tečnosti su zagađile okolno zemljište i stvorile mrlju benzena, toluena, etil-benzena i ksilena (BTEX) u podzemnoj vodi koja je ispod lokaliteta. Tehnički bioremedijacioni sistem je uspostavljen 1989. godine. Zemljište je očišćeno uklanjanjem zaostalih barica isteklog zagađenja i ventilacijom da bi se obezbedio kiseonik i podstakla bioremedijacija. Podzemna voda je tretirana cirkulacijom kiseonika (u obliku vodonik-peroksida), fosfora (kao fosfata) i azota (kao amonijum-hlorida). Do marta 1992. godine, posle tri godine tretmana zagađenje je skoro u potpunosti uklonjeno iz podzemne vode. Testovi su pokazali da je akvifer sadržavao mali sloj zagađenja koji je zarobljavao značajne količine BTEX-a. Ovaj sloj je relativno nepropustan i ponegde je bio premošćen fluidima koji su cirkulisali. Kada je bioremedijacioni sistem ugašen 1992. godine, dugotrajni monitoring počeo je da pokazuje da prirodna mikrobiološka zajednica može da deluje dovoljno brzo da razgradi bilo koje zagađenje koje može da iscuri iz ovog sloja. Iako je tehnički bioremedijacioni sistem na ovom lokalitetu bio nemoćan da eliminiše sve zagađenje, on je uspešno smanjio njegovu količinu i rizik od zagađenja je smanjen na prihvatljiv nivo. Značajno je da će mikroorganizmi na periferiji zaostalog zagađenja obezbediti efikasnu pasivnu bioremedijaciju koja će štititi od iznenadnog vraćanja zagađene mrlje. Za praćenje procesa čišćenja uz pomoć tehničke bioremedijacije primenjena je trodelna strategija:

1. Smanjenje zagađenja: Na monitoring bunarima najbližim galeriji za dopremanje kiseonika i nutrijenata, BTEX je opao sa 2030 $\mu\text{g/l}$ pre bioremedijacije na 6 $\mu\text{g/l}$ posle bioremedijacije. Na drugim monitoring bunarima koncentracija je opala na manje od 46 $\mu\text{g/l}$.

2. Laboratorijske probe koje pokazuju da mikroorganizmi imaju potencijal da razgrađuju zagađenje: Studija pokazuje da mikroorganizmi u prenosnom sloju koji se graniči sa zarobljenim zagađenjem mogu da troše 7 mg/l kiseonika dnevno, što rezultuje u potencijalu destrukcije od 2 mg/l ugljovodonika dnevno. Stepenn potrošnje kiseonika određen je stavljanjem osušenog zemljišta u označeni stakleni erlenmajer i merenjem količine kiseonika koji su mikroorganizmi u uzorku upotreбили za 24 časa. Sposobnost podzemnih mikroorganizama da razgrađuju BTEX je dobro razvijena tako da nisu važni direktni laboratorijski testovi za ovo zemljište kao za zemljište zagađeno materijama za koje bioremedijaciona tehnika još nije razvijena.
3. Dokaz da je biodegradacioni potencijal realizovan na terenu: Evidencija o biodegradaciji na ovom terenu je obezbeđena pomoću dva tipa testova. Prvo, stepenn potrošnje kiseonika u mikrokosmosu napravljenom od zemljišta sa terena je bio najveći kada je zemljište donešeno iz sloja blizu zagađene zone. Dakle, mikroorganizmi izloženi najvećem pristizanju zagađenja troše kiseonik mnogo brže, što je u skladu sa očekivanjem da bakterije rastu sa porastom koncentracije ugljovodonika. Drugo, procenat BTEX-a u TPH ("total petroleum hydrocarbons") je bio niži u zoni bioremedijacije nego u izvornom zagađenju. Istraživanja su pokazala da mikroorganizmi preferiraju BTEX ili druge komponente iz TPH, ostavljajući TPH-rezidual koji sadrži, posle uspešne bioremedijacije, relativno nizak procenta BTEX-a.

Bakterijska adaptacija

Kada se pojavi zagađenje bakterije mogu biti nemoćne da ga transformišu ili ga mogu transformisati veoma sporo. U toku vremena bakterije mogu razviti sposobnost da metabolišu zagađenje, tako da metabolička adaptacija može biti dokaz o uspostavljenoj bioremedijaciji na terenu. Adaptacija može biti rezultat povećanja broja bakterija sposobnih da metabolišu zagađenje ili genetičkih i fizioloških promena unutar individualnih bakterija. Mikrokosmos studije su veoma pogodne za procenu bakterijske adaptacije. Dokaz da je adaptacija prisutna i da je bioremedijacija delotvorna predstavlja povećanje stepena kojim mikroorganizmi u uzorku transformišu zagađenje. Stepenn povećanja bakterijske transformacije zagađenja može biti određen poređenjem uzoraka iz zone bioremedijacije sa uzorcima iz susedne lokacije, ili poređenjem uzoraka sa datog lokaliteta pre i posle bioremedijacije. Uređaji koji se koriste u molekularnoj biologiji mogu omogućiti određivanje bakterija koje su se adaptirale za degradaciju prisutnog zagađenja. Mogu se konstruisati genetske probe specifično označenih degradativnih gena, koji se mogu identifikovati ako su prisutni u mešanoj populaciji. Potrebno je poznavati DNA sekvence u degradativnim genima.

U specijalnim slučajevima kada su primenjeni mikroorganizmi adaptirani genetskim inženjeringom da transformišu prisutno zagađenje (bioaugmentacija), oni mogu biti adaptirani sa informativnim genom koji se ispoljava samo kada je prisutan degradativni gen koji nas interesuje. Na ovaj način proteinski produkt informativnog gena signalizira (na primer, emituje svetlo) da je degradativni gen prisutan i da ga in-situ populacija ispoljava.

Koncentracija neorganskog ugljenika

Kada razgrađuju organsko zagađenje bakterije proizvode CO₂, rastvoreni CO₂ ili HCO₃⁻. Gasna hromatografija služi za određivanje gasovitog CO₂. Određivanje može da ometa pozadinska koncentracija HCO₃⁻ ili rastvorenih minerala kalcijuma, i tada se primenjuje izotopska analiza.

Odnos izotopa ugljenika - $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Jedan od načina da se odredi da li su ugljenik(IV)-oksid i ostali neorganski ugljenik krajnji produkti biodegradacije zagađenja ili potiču iz drugog izvora, jeste da se analiziraju izotopi ugljenika. Većina ugljenika je prisutna u obliku izotopa ^{12}C , ali nešto je u obliku izotopa ^{13}C . Odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ u uzorcima varira zavisno odakle potiče ugljenik - od degradacije zagađenja, degradacije drugih organskih materija, ili od rastvaranja minerala. Zavisno od situacije odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ se može koristiti na jedan od dva načina.

Prvi način upotrebe odnosa $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ je pogodan kada ugljenik iz organskog zagađenja poseduje značajno različit odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ nego neorganski ugljenik nastao rastvaranjem minerala. Ova situacija je najčešća jer neorganski ugljenik iz minerala sadrži značajno više izotopa ^{13}C nego ugljenik nastao iz organskog zagađenja. Biodegradacijom organskog zagađenja nastaje više ^{12}C nego rastvaranjem minerala, tako da je odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ značajno niži nego odnos izotopa ugljenika iz mineralnog izvora.

Drugi način koristi fracionisanje izotopa, gde mikroorganizmi metabolizmom kreiraju neorganski ugljenik koji je obogaćen izotopom ^{12}C , dok je preostali izvor organskog zagađenja obogaćen sa ^{13}C . Na primer, mikroorganizmi razgrađuju lakše (^{12}C) izotopske forme naftnih ugljovodonika mnogo brže nego što razgrađuju teže (^{13}C) oblike. Kao rezultat toga, ostatak naftnih ugljovodonika u podzemlju je relativno bogatiji u izotopu ^{13}C . Smanjenje odnosa $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ u neorganskom ugljeniku i povećanje datog odnosa u organskom izvoru, obično ukazuje da li je neorganski ugljenik nastao biodegradacijom zagađenja.

Izuzetak od uobičajenog trenda smanjenja odnosa $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ u neorganskom ugljeniku dešava se u toku metanogeneze, kada krajnji produkt biodegradacije zagađenja nije CO_2 , već metan (CH_4). Metanogenetički organizmi prevode CO_2 u CH_4 . U toku procesa CO_2 sadrži sve manje ^{12}C , dok metan proizveden od strane mikroorganizama postaje sve bogatiji u ^{12}C . Usled toga odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ u neorganskom ugljeniku može da poraste umesto da opada. Međutim, u metanu odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ opada.

Odnos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ može biti određen analiziranjem uzoraka sa masenim spektrometrom, standardnim hemijskim uređajem za odvajanje izotopa i određivanje relativnih masa hemijskih jedinjenja.

Primena odnosa $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ je eksperimentalni metod koji zahteva dalja ispitivanja i razvoj pre nego što se bude mogao koristiti kao definitivni indikator bioremedijacije.

Koncentracija elektron-akceptora

U procesu transformisanja zagađenja, bakterije koriste elektron-akceptore, uobičajeno kiseonik, nitate ili sulfate. Smanjenje koncentracije elektron-akceptora, koje se odvija simultano sa smanjenjem zagađenja je dokaz da je prisutna bioremedijacija. Koncentracija elektron-akceptora može se odrediti standardnim analizama. Uzorkovanje radi određivanja kiseonika zahteva posebnu pažnju da bi se sprečilo povećanje koncentracije rastvorenog kiseonika u uzorcima usled kontakta sa vazduhom.

Nusprodukti anaerobne aktivnosti

Jedni od ključnih organizama koji se koriste u bioremedijaciji su anaerobi, organizmi koji mogu da opstanu bez kiseonika. Anaerobi se primenjuju jer mogu da sprovedu mnoge važne biotransformacije kada je dotok kiseonika ograničen. Sigurno je da anaerobi najbolje mogu da sprovedu korak inicijalne dehlorinacije visoko hlorovanih rastvarača i PCB-a.

Povećanje metaboličkih produkata proizvedenih od strane anaeroba može da signalizira povećanje anaerobne aktivnosti i da ukaže na uspešnu bioremedijaciju.

Ključni nusproizvodi anaerobne respiracije su metan, sulfidi, redukovani oblici gvožđa i mangana i azotni gasovi. Kada je značajna količina hlorovanih jedinjenja biotransformisana, može se uočiti povećanje koncentracije hlorida.

Formiranje intermedijernih metabolita

Mikrobiološkim procesima zagađenje može da se transformiše u unikatne intermedijerne metabolite. Na primer, u toku kometaboličke mikrobiološke transformacije trihloretilena može da nastane trans-dihloretilen oksid. Detektovanje ovakvih metabolita u uzorcima sa terena ukazuje da se odvija in-situ biodegradacija. Intermedijerni metaboliti se mogu odrediti gasnom hromatografijom, HPLC-om, ili jednom od ovih tehnika spojenih sa masenom spektrometrijom. Ovi intermedijeri se ne smeju nalaziti u zagađenju i na lokalitetu pre zagađenja. Nekad se oni veoma brzo razgrađuju tako da ako ih ne detektujemo ne znači da se biodegradacija ne odvija.

Odnos nerazgradljivih i razgradljivih jedinjenja

Ukoliko je na lokalitetu prisutna smeša jedinjenja, smanjenje odnosa biodegradabilnih i nebiodegradabilnih organskih jedinjenja u toku vremena može da ukaže na mikrobiološku aktivnost na terenu. Na primer, fitan, molekul koji je prisutan u nafti, je više otporan na mikrobiološki napad nego oktadekan, jedinjenje koje je takođe prisutno u nafti. Fitan i oktadekan imaju istu molekulsku masu i sličnu isparljivost i transportne karakteristike i prema tome verovatno podležu skoro identičnim abiotičkim reakcijama. Zbog toga, smanjenje odnosa oktadekana i fitana je dokaz da su mikrobi razgradili oktadekan. Moguć nedostatak ovog prilaza je taj da prirodno prisutni mikrobi često eventualno napadaju fitan, što umanjuje značaj odnosa oktadekan/fitan u in-situ biodegradaciji.

Drugi primer ove strategije je različito uklanjanje isparljivih organskih jedinjenja koja imaju, grubo gledano, sličan transport i isparljivost, ali se razgrađuju u različitom stepenu. Dihloretan se ponaša skoro identično kao trihloroetilen, ali, za razliku od trihloretilena, dihloretan se ne razgrađuje rado pod anaerobnim uslovima.

Ovaj pristup je, takođe, upotrebljiv za pojedinačno zagađenje koje poseduje različite forme od kojih je jedna biodegradabilna a ostale su otporne na biodegradaciju. Neko organsko zagađenje sastoji se od smeše stereoizomera- molekula koji se sastoje iz istih elemenata i istih veza, ali poseduju različit prostorni raspored atoma. Heksahlorocikloheksan, na primer, postoji u dva različita oblika, od kojih je samo jedan metaboliziran rado. Dokaz za bioremedijaciju predstavljaju hemijske analize koje ukazuju na selektivno nestajanje degradabilnih formi zagađenja.

2.4.4.3.2. Eksperimenti sprovedeni na terenu

U korisne metode za određivanje da li su mikroorganizmi aktivno razgradili zagađenje spada ne samo uzorkovanje uzoraka sa terena već i sprovođenje aktivnih eksperimenata na samom lokalitetu. Ovi eksperimenti zahtevaju dodavanje različitih hemikalija u podzemlje i striktno kontrolisanje njihovog ponašanja da bi videli da li je ono u skladu sa onim šta očekujemo u toku bioremedijacije.

Stimulacija bakterija unutar podzemlja

Jedna vrsta terenskog eksperimenta podrazumeva dodavanje materija koje stimulišu biodegradaciju u podzemlju unutar zagađene zone. Dodatak stimulanata, kao što su elektron-akceptori, elektron-donori i nutrijenti, trebao bi da ubrza biodegradaciju, a ne abiotički proces uklanjanja zagađenja. Kada su dodati stimulant u jedno podzemlje, a u drugo ne, relativni stepen smanjenja zagađenja treba da se poveća u podzemlju obogaćenom stimulantima. Razlika u smanjenju zagađenja između obogaćenog i neobogaćenog podzemlja može biti posledica mikrobiološke aktivnosti.

Merenje stepena iskorišćenja elektron-akceptora

Drugi terenski eksperiment uključuje alternativno započinjanje i zaustavljanje dopremanja kiseonika, ili drugih elektron-akceptora, na lokalitet da bi odredili stepen u kojem su konzumirani elektron-akceptori. Ovaj pristup se delimično koristi kod raspršivanja vazduha, jer dopremanje kiseonika se može brzo kontrolisati i ne zavisi od protoka vode. Odmah nakon zaustavljanja toka raspršenog gasa, proba na kiseonik se spušta u bunare sa podzemnom vodom da bi izmerili stepen konzumacije kiseonika. Da bi razlikovali kiseonik upotrebljen od strane mikroorganizama koji degradiraju zagađenje, od kiseonika iskorišćenog za običnu mikrobiološku aktivnost, stepen pozadinskog iskorišćenja kiseonika trebao bi da se meri u susednim nezagađenim bunarima. Relativno brz gubitak kiseonika u zagađenoj zoni u odnosu na nezagađenu zonu, spojen sa smanjenjem koncentracije zagađenja, ukazuje na uspešno odvijanje bioremedijacije.

Monitoring konzervativnih označivača

Treći tip terenskih eksperimenata zahteva dodatak konzervativnih označivača. Konzervativni označivači imaju hemijske i transportne karakteristike slične kao i mikrobiološki reaktivne hemikalije, ali oni nisu mikrobiološki reaktivni. Konzervativni označivači mogu da se koriste za razlikovanje abiotičkih hemijskih promena- kao što su isparavanje, sorpcija i rastvaranje- od hemijskih promena prouzrokovanih mikroorganizmima.

Moguća primena konzervativnih označivača je da se odredi u kojoj meri je raspršeni kiseonik konzumiran od strane mikroorganizama a koliko ga je nestalo abiotičkim putevima, kao što je rastvaranje. Za ovo određivanje helijum se može koristiti kao konzervativni označivač za kiseonik. Poznata koncentracija helijuma je ubačena u sistem za raspršivanje kiseonika u zagađenu zonu, i promena koncentracije oba gasa, i helijuma i kiseonika, je merena u toku vremena pomoću prenosnog gasnog hromatografa i kiseonik-metra ili drugog odgovarajućeg instrumenta. Stepem smanjenja kiseonika relativno u odnosu na smanjenje helijuma ukazuje na stepen u kojem mikrobi konzumiraju kiseonik. Ako je kiseonik konzumiran u stepenu kao što je konzumirano zagađenje, verovatnije je da su mikroorganizmi odgovorni za nestanak zagađenja. U nekim slučajevima kiseonik može biti konzumiran abiotički, kao što je oksidacija gvožđa (prevođenje Fe^{2+} u Fe^{3+}). Kada postoji takva mogućnost, merenje utroška kiseonika u poređenju sa označivačem trebalo bi odrediti u nezagađenoj, pozadinskoj zoni, da bi odredili stepen abiotičke konzumacije kiseonika.

Na lokalitetu gde je primenjen elektron-akceptor u vidu rastvora (kao što su NO_3^- , SO_4^{2-} ili rastvoreni kiseonik), bromid se može koristiti kao konzervativni označivač. Kod ovog prilaza bromid se dodaje u vodu koja cirkuliše kroz zemlju da bi dopremila elektron-akceptor.

Iako se konzervativni označivači koji imitiraju ponašanje zagađenja često dodaju na lokalitet, oni takođe mogu biti slučajno prisutni i u zagađenju. Kada koncentracija degradabilnih jedinjenja opada brže nego koncentracija konzervativnih označivača, razlika može poticati od mikrobiološke aktivnosti na lokalitetu.

Označivanje zagađenja

Četvrti tip terenskog eksperimenta uključuje monitoring "označenog" zagađenja. Zagađenje može biti označeno sintetičkom izmenom u kojoj molekuli zagađenja sadrže poznatu količinu stabilnog izotopa, uobičajeno ^{13}C ili deuterijum. Ukoliko nastali nusprodukti metabolizma, kao što su neorganski ugljenik i intermedijerni metaboliti, sadrže istu relativnu količinu ^{13}C ili deuterijuma kao i u označenom zagađenju, bioremedijacija je uspostavljena.

Ova tehnika je pogodna za primarna terenska istraživanja, a ne za komercijalnu bioremedijaciju jer ona podrazumeva sintetičku izmenu u zagađenju, što je skupo, i njegovim dodavanjem povećava se nivo zagađenja. Označavanje zagađenja je korisno samo za situacije kada se može locirati zagađena zona.

2.4.4.3.3. Modelovanje eksperimenta

Modeli su setovi matematičkih jednačina koje kvantifikuju sudbinu zagađenja. Primenjuju se dve strategije modelovanja eksperimenta (CISB, 1993):

- I) Kada je biodegradacija glavni fenomen prati se smanjenje koncentracije zagađenja koje je mnogo veće nego kada se radi o abiotičkim procesima (razblaživanje, transport, isparavanje);
- II) Direktno modelovanje mikrobiološkog procesa radi procene stepena biodegradacije (prate se detaljne interakcije između mikroorganizama i karakteristike zemljišta).

Postoje četiri tipa modela:

- 1) Model zasićenog protoka – prati se kojim pravcem i kojom brzinom protiču voda i rastvoreno zagađenje kroz zagađenu zonu;
- 2) Model multifaznog protoka – primenjuje se za sistem dva ili više fluida koji su prisutni zajedno u podzemlju (voda i nevodena faza zagađenja ili voda i vazduh);
- 3) Geohemijski model – pokazuje kako je zagađenje kontrolisano termodinamikom mnoštva hemijskih i fizičkih reakcija u podzemlju;
- 4) Model stepena biološke reakcije – pokazuje koliko brzo mikroorganizmi transformišu zagađenje.

Bioremedijacioni proces ograničavaju mali protok fluida, fizička heterogenost, nepoznata vrsta i zona zagađenja, podložnost zagađenja mikroorganizmima i dr.

Primenjuju se tri strategije smanjenja nepouzdanosti modela:

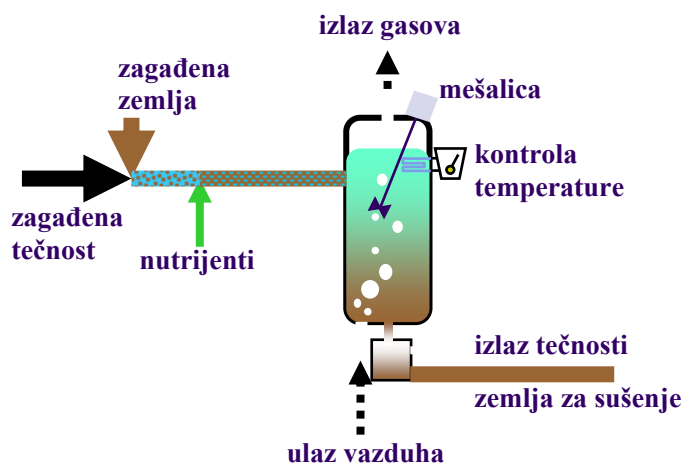
- 1) Povećanje broja uzoraka za dokumentaciju;
- 2) Korišćenje modela tako da su važne promenljive dobro merene a promenljive sa malo pouzdanosti su eliminisane;
- 3) Kompenzacija promenljivih građenjem bezbednosnih faktora i fleksibilnost u izgradnji sistema.

2.4.5. Ex-situ tehnička bioremedijacija

Usavršavanjem i unapređivanjem in-situ bioremedijacionih tehnika razvile su se brojne ex-situ tehnike koje su koristile njihove principe i metode. Ex-situ tehnika podrazumeva iskopavanje zagađenog zemljišta, njegov transport i obradu, što zahteva značajna materijalna sredstva. Kada je zagađena velika površina zemljišta ili kad zagađenje dospe duboko u podzemlje, nemoguće je iskopati sve zagađeno zemljište, tako da dolazi do ograničene primene ex-situ tehnike. Ex-situ tehnikom zemljište se brže očisti, ali ona narušava pejzaž, zagađenje se iznosi na površinu i mora se izmestiti. Zato je ex-situ metod nekad nepraktičan. Primenjuje se nekoliko tehnika kao što su: **bioreaktori (“slurry” bioreaktori)**, **biogomile (biopiles)**, **površinska obrada (landfarming)**, **kompostiranje**, **tretman ispumpane vode (pump and biotreat)**, **biofiltracija i dr.**

2.4.5.1. Bioreaktori -bioremedijacija u suspenziji

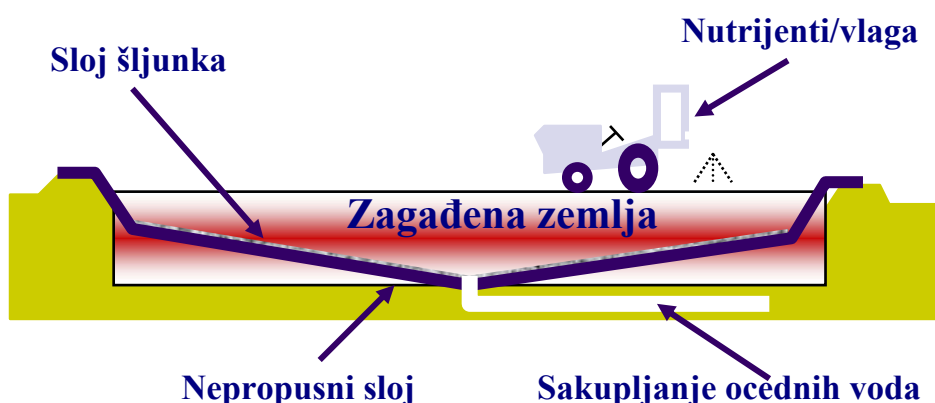
Bioreaktori sa suspenzijom (“slurry” bioreaktori) se koriste za *ex situ* tretman kontaminiranih zemljišta i voda koje se ispumpavaju sa zagađenih prostora. Bioremedijacija u reaktorima podrazumeva procesiranje zagađenih čvrstih materijala (zemljište, sedimenti, mulj) ili vode kroz jedan sistem u kome se skladište ti materijali. “Slurry” bioreaktor se može definisati kao jedan sud i aparat u kome se formiraju trofazni (čvrsti, tečni i gasoviti) uslovi mešanja u cilju povećanja nivoa bioremedijacije zemljišnih i vodorastvorljivih polutanata (slika 10). Generalno, nivo i delovanje biodegradacije je veće u bioreaktorima nego u *in situ* ili sistemima sa čvrstom fazom, jer je sredina u bioreaktorima pogodnija za rukovanje i samim tim bolja za kontrolu i predviđanje. Uprkos prednostima bioreaktora, postoje i nedostaci. Kontaminirano zemljište iziskuje prethodni tretman (npr. ekskavaciju - iskopavanje) ili se kontaminant može istisnuti iz zemljišta putem ispiranja zemljišta ili fizičkom ekstrakcijom (npr. ekstrakcija vakumom) pre nego što se stavi u bioreaktor.



Slika 10. Bioreaktori sa suspenzijom (“slurry” bioreaktori) za *ex situ* tretman kontaminiranih zemljišta i voda

2.4.5.2. Površinska obrada (landfarming)

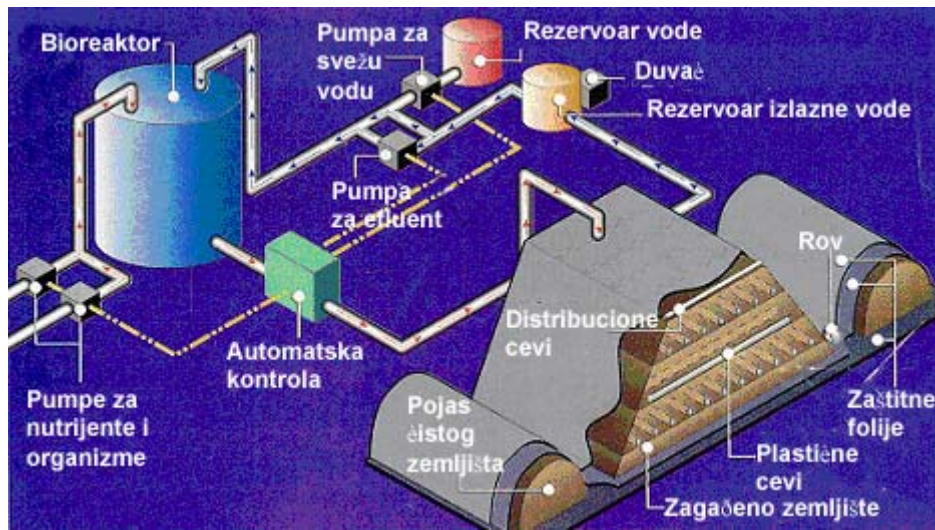
Obrada zemljišta je jednostavna tehnika u kojoj se kontaminirano zemljište iskopa i prostre po već pripremljenoj podlozi i periodično se obrađuje dok se ne razgrade zagađivači. Cilj je da se stimulišu endemični biodegradirajući mikroorganizmi i da se olakša aerobna degradacija kontaminanata. Zagađeno zemljište se raširi u tankom sloju debljine do 45 cm na podlogu sa sistemom za sakupljanje ocednih voda (slika 11). Zemljište se periodično prevrće i meša radi aeracije. Vlažnost zemljišta i sadržaj potrebnih nutrijenata se kontrolišu. Kada se proces izvodi u zatvorenom sistemu isparavanje toksičnih komponenti se može smanjiti na minimum. Problem je u hladnom periodu godine. Ispod i iznad gomile se postavlja zaštitna folija u cilju sprečavanja širenja zagađenja u okolinu, kao i očuvanja potrebne toplote koja se oslobađa u toku mikrobioloških procesa, a potrebna je za optimalnu biodegradaciju. Folije mogu biti od različitih materijala – npr. od polietilena (u obliku gume), polipropilena (krut materijal otporan na ugljovodonike). Pošto obrada zemljišta redukuje cenu održavanja i monitoringa, kao i proces čišćenja, ovaj metod privukao je veliku pažnju kao alternativa odlaganju otpada.



Slika 11. Površinska obrada (landfarming) zagađenog zemljišta

2.4.5.3. Biogomile (biopiles)

Zagađeno zemljište se nagomila u gomile visine nekoliko metara oko sistema za distribuciju vazduha (slika 12). Aeracija se postiže produvanjem vazduha kroz gomilu pomoću duvača ili vakum-pumpe. Vlažnost zemljišta i sadržaj neophodnih nutrijenata se kontrolišu. Gomile se mogu staviti u zatvoren prostor. Isparljiva jedinjenja se nalaze u vazduhu koji se ispumpava vakumom. Ispod i iznad gomile se postavlja zaštitna folija u cilju sprečavanja širenja zagađenja u okolinu, kao i očuvanja potrebne toplote koja se oslobađa u toku mikrobioloških procesa, a potrebna je za optimalnu biodegradaciju. Tipično korišćeni metod za tretiranje površinske kontaminacije benzinskim ugljovodonicima, koji predstavlja rafiniranu verziju obrade zemljišta koja ima za cilj da kontroliše fizičke gubitke zagađivača putem isparavanja i curenja. Biogomile obezbeđuju idealnu sredinu za endemične aerobne i anaerobne mikroorganizme.



Slika 12. Prikaz sistema za ex-situ tretman zagađenog zemljišta u vidu biogomila

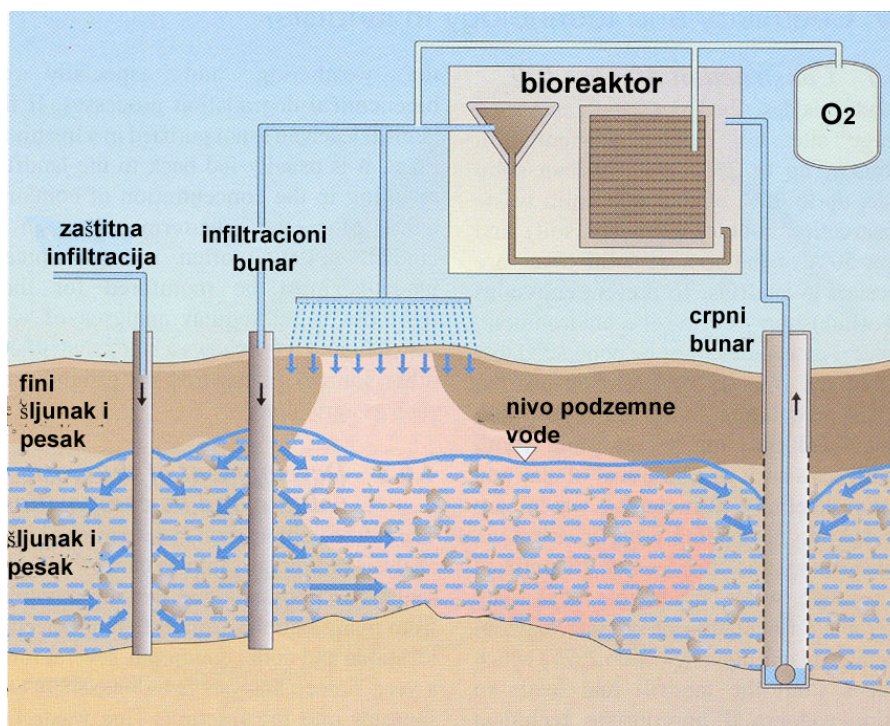
2.4.5.4. Kompostiranje (composting)

Kompostiranje je tehnika koja uključuje kombinovanje kontaminiranih zemljišta sa neškodljivim organskim materijalom kao što su stajnjak ili poljoprivredni otpad (Namkoong *et al.*, 2002). Zagađeno zemljište se meša sa puniocima, kao što su slama, seno, piljevina, kukuruzna kumuša, đubrivo ili druge organske materije (i gips), radi lakšeg dopremanja vazduha, zadržavanja vode i povećanja sadržaja organskih materija. Prisustvo ovih organskih materijala omogućava razvoj bogate mikrobne populacije i povećanje termičkih karakteristika kompostiranja. Tri najčešća dizajna su:

- komposting u dugačkim gomilama (gde se periodično meša traktorima i sl),
- komposting u statičnim gomilama (kompost je u obliku gomile i aeriše se duvačima ili vakum-pumpama) i
- mehanički komposting u posudama (gde se meša i aeriše).

2.4.5.5. Ex-situ tretman podzemne vode (pump-and-biotreat)

Posebna vrsta ispučaj-i-tretiraj (pump-and-treat) tehnike je ispučaj-i-biotretiraj tehnika. Ona podrazumeva biološki tretman ispumpane vode u nadzemnim bioreaktorima, čime se ne samo uklanja zagađenje iz podzemlja, već se istovremeno i degradira do neškodljivih produkata. Time se izbegava problem odlaganja i naknadnog tretmana uklonjenog zagađenja nakon klasične ispučaj-i-tretiraj tehnike. Slika 13 prikazuje kombinaciju podzemnih i nadzemnih postupaka. Svrha faze nadzemne obrade jeste da se ubrzaju degradacioni procesi. Smeša mikroorganizama se dovodi u podzemnu vodu preko bunara za infiltraciju. Zagađena podzemna voda se usmerava na bioreaktor i posle vraća u postupak.



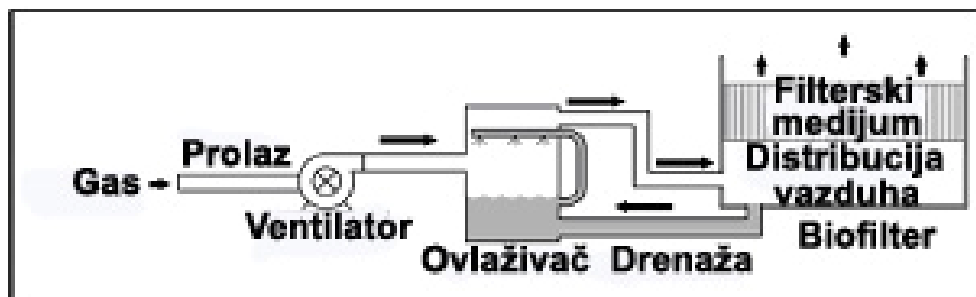
Slika 13. Kombinacija podzemnih i nadzemnih postupaka bioremedijacije

2.4.5.6. Biofiltracija – biosorpcija

Biosorpcija predstavlja pasivno vezivanje metala mikrobiološkim ćelijama, tako da nije potrebna energija. Zapravo, biomasa u biosorpciji je često neživa, neki procesi se zasnivaju na neživim ili ubijenim ćelijama, neki koriste biomasu sa velikim sadržajem živih ćelija. Ona je veoma brza i može da ukloni veliku količinu metalnih jona. Kao adsorbent koristi se jeftina suva biomasa algi, lišajeva, bakterija i različitih biljnih vrsta. Za istu svrhu se može koristiti i živa biomasa. Radi bolje efikasnosti adsorpcije ova masa može biti iseckana ili samlevena, imobilisana na nekoj inertnoj podlozi, na sintetički polimer kao što je gel, npr. od poliakrilamida (Pons i Fuste, 1993) ili pričvršćena na neorganski nosač ili upakovana u kolone. Toksičnost nije bitna jer se onda može koristiti neživa biomasa. Kada se zasiti sa metalima biomasa se regeneriše sa kiselinama ili bazama da bi se ponovo koristila. Metali mogu biti izdvojeni iz biomase i ponovo upotrebljeni. Biofilteri služe za ekstrakciju teških metala iz različitih vrsta industrijskih otpadnih voda. Jedan od mehanizama u biosorpciji je izmena jona između protona i jona metala. Često se ngrade metal-organski kompleksi sa ćelijskim zidovima, kapsulama ili izvanćelijskim polimerima sintetizovanim i izlučenim od strane organizama. Biosorpcija u kolonama omogućuje kompetitivnu izmenu jona u kojoj se čak nekoliko jona toksičnih metala takmiči za ograničen broj mesta za vezivanje na membrani. Metalni joni se mogu elektrostatički vezati za negativne grupe u ćelijskim zidovima, kapsulama ili polimerima. Za uspešno vezivanje jona metala na membranu od velikog značaja je i pH rastvora. Zahvaljujući različitom afinitetu metalnih jona za biomasu moguće je praktično prečistiti vode koje imaju nekoliko različitih metala u svom sastavu. Korišćenje biofiltera otvara potpuno novo polje za efikasno korišćenje različitih biljnih ostataka od poljoprivrede i šumarstva koji su se do sada spaljivali ili bacali. Nastoji se koristiti biomasa koja se može jeftino dobiti kao što su muljevi sa postrojenja za tretman otpadnih

voda, alge i cijanobakterije iz prirodnog ili gajenog vodenog bilja, kvasci kao što je *Saccharomyces cerevisiae* iz alkoholne fermentacije itd. Metalne katjone iz rastvora može da konzumira plivajuća masa sastavljena od algi, cijanobakterija i nefotosintetičkih bakterija (Bender i Phillips, 1994). Neki od organizama koji mogu da akumuliraju značajne količine metala i radionukleotida su *Zoogloea* sp. (Co-25% od suve mase, Ni-13%), *Citrobacter* sp. (Cd-170%, U-900%), *Bacillus* sp. (Cu-15%, Zn-14%), *Chlorella vulgaris* (Au-10%), *Rhizopus arrhizus* (Pb-10%, Ag-5.4%, Hg-5.8%), *Aspergillus niger* (Th-19%).

Za tretman lakoisparljivih uljovodonika (VOC) iz off-gasa SVE tretmana primenjuje se biofilter od bakterija i gljiva (slika 14). Primena biofiltera je bolja od adsorpcije na uglju, jer ne zahteva dalji tretman, jer dolazi do razgradnje ugljovodonika, dok se pri adsorpciji na uglju ugljovodonici moraju desorbovati i naknadno tretirati. Neophodna je primena humidifikator, koji obezbeđuje relativnu vlažnost od 99 %.



Slika 14. Tretman off-gasa na biofilteru

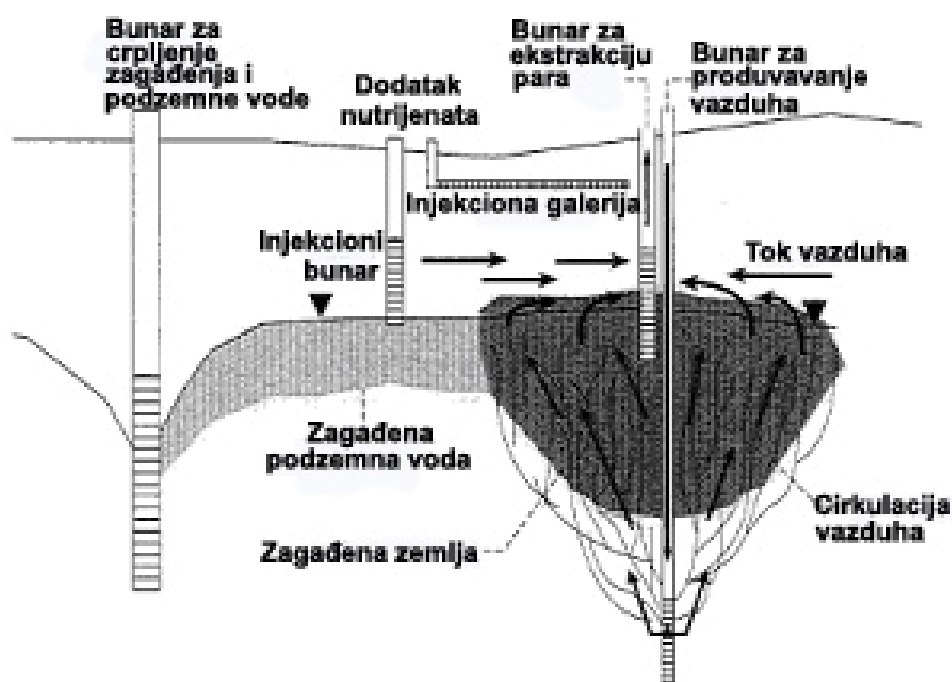
2.4.5.7. Integracija bioremedijacije sa drugim tehnologijama

Kada se zagađeno zemljište tretira procesom bioremedijacije, podsticane biološke reakcije mogu menjati hemijske karakteristike terena u pravcu koji može učiniti zemljište više pogodnim za čišćenje nebiološkim tehnikama. Na primer, biološka aktivnost može da ubrza desorpciju zagađenja sa zemljišta omogućujući lakšu ekstrakciju u toku “ispumpaj-i-tretiraj” tretmana. Slično, ne biološko čišćenje može podstaknuti mikrobiološku aktivnost u zemljištu, ponekad promovišući bioremedijaciju. Na primer, tehnike dizajnirane da ventilišu volatilna jedinjenja mogu povećati dotok kiseonika podstičući mikrobiološki rast. Zbog svega navedenog, bioremedijacija se često primenjuje sa drugim tehnologijama, odvojeno ili simultano (slika 15). Neke od situacija kada se postupa na taj način su:

- ❖ Kada je koncentracija zagađenja visoka i zahvaćena zona nam je lako dostupna, bioremedijacija se primenjuje nakon iskopavanja zemljišta u blizini izvora zagađenja. Iskopano zemljište može biti uklonjeno sa lokacije ili tretirano na površini (ex-situ) bioremedijacionim postupkom ili termalnim metodom. Uklanjanje teško zagađenog zemljišta smanjuje potrebu za in-situ bioremedijacijom i momentalno smanjuje mogućnost da zagađenje prodre u podzemnu vodu.
- ❖ U slučajevima kada su prisutne u podzemlju rezidualne zone zagađenja, one mogu biti prvo uklonjene primenom drugih remedijacionih tehnika procesom poznatim kao povraćaj (“recovery”) slobodnih produkata. Kod prisutnog zagađenja koje je manje gustine od vode, kao benzin ili dizel-gorivo, povraćaj slobodnih produkata se postiže ispumpavanjem tečnosti iz bunara ili jaraka. Ovo uklanjanje zagađenja u najkoncentrovanijem obliku može da umanja potrebu za nutrijentima i elektron-

akceptorima u toku bioremedijacionog procesa. Ne postoji dobar metod povraćaja zagađenja koje je gušće od vode, kao što su hlorovani rastvarači, zbog njihove težnje da prodru duboko u podzemlje gde ih je teško locirati.

- ❖ Bioremedijacija može da sledi nakon “ispumpaj-i-tretiraj” tehnike. “Ispumpaj-i-tretiraj” tehnika može da se primeni radi smanjenja zagađenja, i uz povraćaj slobodnih produkata pomaže uklanjanju zagađenja. Kada se ukloni dovoljna količina zagađenja, “ispumpaj-i-tretiraj” tehnika može biti proširena sa, ili prevedena u in-situ bioremedijacioni sistem.
- ❖ Često se za čišćenje zagađene zone koja je iznad vodene table, primenjuje in-situ bioremedijacija zajedno sa in-situ povraćajem gasova. In-situ sistem sa povraćajem gasova koristi seriju crpnih bunara ili rovova za crpljenje vazduha i isparljivog zagađenja iznad vodene table. Dodatno, povlačeći isparljivo zagađenje, bunari i rovovi dopremaju kiseonik potreban za proces bioremedijacije. Otuda se proces naziva “bioventing”. Kombinacijom volatilizacije i biodegradacije nivo zagađenja iznad vodene table se smanjuje, i na ovaj način se smanjuje mogućnost da zagađenje dospe u podzemnu vodu. Dalje, kako nivo vodene table opada u toku sušnog perioda, dobar deo podzemlja je izložen kretanju vazduha, što prouzrokuje smanjenje zagađenja u zoni fluktuacije vodene table. Alternativno, raspršivanje vazduha može da se koristi uz ekstrakciju isparenja da bi se smanjilo zagađenje ispod vodene table.
- ❖ Moguće je nakon tehničke bioremedijacije primeniti spontanu bioremedijaciju. Nakon uklanjanja slobodnih produkata iz zagađenja, tehnička bioremedijacija se može primeniti za uklanjanje većeg dela zaostalog zagađenja. Onda, nakon asimptotičkog opadanja koncentracije zagađenja, finalno doterivanje može biti postignuto upotrebom spontane bioremedijacije. U tom slučaju bi se stimulisala mikrobiološka aktivnost i proces biodegradacije bi tekao bolje.



Slika 15. Integrisani remedijacioni sistem

2.5. Ekološke crne tačke u Srbiji

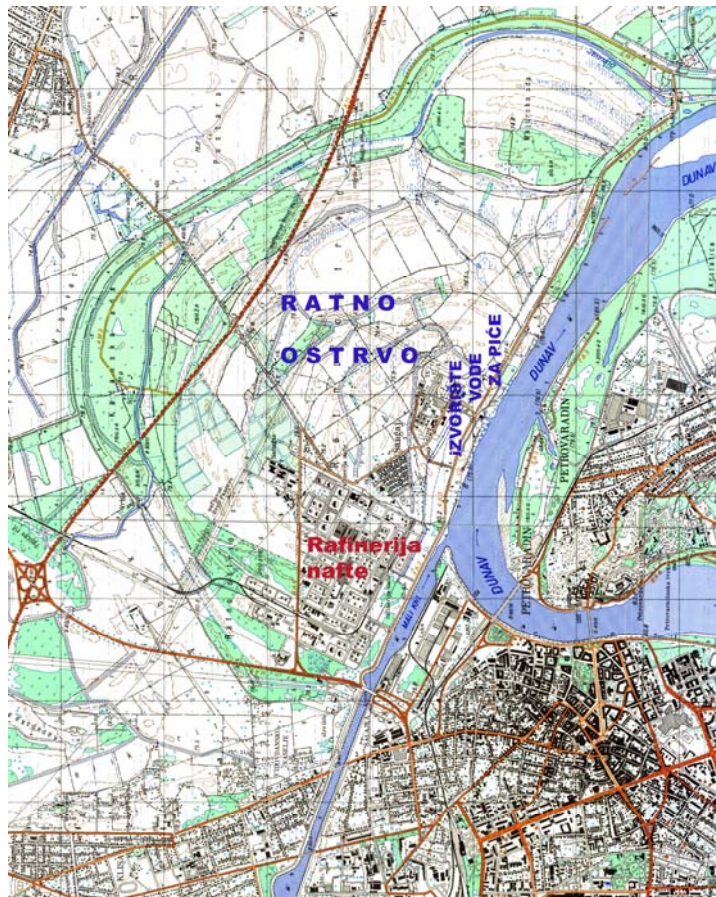
Ekološke crne tačke u Srbiji su Pančevo, Bor, Novi Sad i Kragujevac (slika 16). Osim toga, u pojedinačnim analizama pominju se i Vrbas, Lazarevac, Obrenovac... To su gradovi u kojima je zabeleženo zagađenje vode, zemlje i vazduha iznad određenih granica i pojava većeg broja osoba sa respiratornim oboljenjima. Od 27 sanacionih projekata u Pančevu, Novom Sadu, Boru i Kragujevcu realizovano je 16, jer je obezbeđeno 12, a ne 20 miliona dolara. 2003. godine prvi put u sklopu Zakona o budžetu, Pančevo, Bor, Novi Sad i Kragujevac su dobili posebna sredstva kao ekološke "crne tačke".



Slika 16. "Crne tačke" u Srbiji

2.5.1. Novi Sad - lokalitet "Ratno ostrvo"

Područje Ratno ostrvo je nastalo pomeranjem toka Dunava ka Fruškoj Gori, tako da su se obrazovali aluvijalni peskoviti i šljunkoviti sedimenti bogati vodom. Na slici 17 prikazana je karta Ratnog ostrva i njegov položaj u odnosu na Novi Sad.



Slika 17. Položaj Ratnog ostrva u odnosu na Novi Sad

2.5.1.1. Karakteristike područja Ratno ostrvo

2.5.1.1.1. Hidrogeološke karakteristike područja

Na širem području Ratnog ostrva dominiraju kvartarni aluvijalni sedimenti predstavljeni polifacijalnim peskovitim i šljunkovitim sedimentima koji čine glavni vodonosnik. U podini vodonosnika nalaze se pleistocenske gline. One su u najvećoj meri visoko i srednje plastične. Istražnim bušenjem nije utvrđena moćnost ove serije (*Anon, 1986, 1988*). Prosečna kota pojave masnih pleistocenskih gline je oko 52 m n.v. (nadmorske visine), a generalno kontakt vodonosnika i podinskih sedimenata smanjuje dubinu u pravcu jugoistoka, nizvodno od Ratnog ostrva.

Iznad podinskih vodonepropusnih gline istaložena je šljunkovito-peskovita serija debljine do 8 m, koja prema svojim filtracionim karakteristikama predstavlja glavni vodonosni sloj iz kojeg se vrši eksploatacija podzemnih voda za vodosnabdevanje Novog Sada sa lokacije Ratnog ostrva. Šljunkovito-peskovita serija generalno smanjuje debljinu u pravcu jugoistoka (*Anon, 1988, 2000*). Direktna hidraulička veza ovog sloja sa Dunavom ostvarena je preko sitnozrnih do srednjozrnih peskova, istaloženih na peskovitim šljunkovima. Krupnozrni peskovi su retko zastupljeni, najčešće u vidu sočiva. Peskovita serija ima najveće rasprostranjenje, a na pojedinim lokalitetima nalaze se i na površini terena. Debljina ove serije kreće se od 10-15 m. Nizvodno od Ratnog ostrva, generalno posmatrajući, povećava se učestalost peskova na račun šljunkovitog sloja te samim tim filtracione karakteristike ove serije postaju nepovoljnije sa aspekta eksploatacije.

Prašinasto-peskovita serija koja je mestimično zaglinjena izgrađuje površinske delove aluvijalnih naslaga, a u hidrodinamičkom smislu predstavlja polupropusnu povlatu vodonosnoj sredini. Debljina ovih sedimenata je veoma promenljiva i kreće se od 1-5 m, a najčešće 2-3 m (*Anon, 2000*).

Izdan formirana u okviru šljunkovito-peskovite serije na području Ratnog ostrva prihranjuje se dominantno infiltracijom vode iz Dunava i infiltracijom padavina. Dreniranje izdani se pretežno vrši zahvatanjem vode bunara na izvoristu "Ratno ostrvo", a u manjoj meri preko kanalske mreže pri visokim nivoima podzemnih voda i oticanjem u Dunav pri niskim vodostajima (*Anon, 1989, 2000*).

2.5.1.1.2. Hidrološki uslovi na području

Najznačajniji vodotoci koji utiču na režim voda na području Ratnog ostrva su reka Dunav, kanal DTD Savino Selo - Novi Sad i lokalna kanalska mreža sa glavnim melioracionim kanalom Subić Dunavac u kome se vodostaj reguliše radom crpne stanice "Kalište". U najnižim delovima inundacione ravni, u nasutim meandrima koji omeđuju Ratno ostrvo, sa nadmorskom visinom od 74 m, izdanska voda se zadržava na topografskoj površini. U prošlosti pre izgradnje meliorativne kanalske mreže u sistemu crpnih stanica "Vrbak" i "Kalište" dubina vode u ovim udubljenjima bila je znatno veća, a u okolnim delovima inundacije izdanska voda bila je na manjoj dubini. Analizom pijezometarskih podataka za bunare u ovom delu inundacione ravni nizvodno od grada označenog u pijezometrskoj mreži Vojvodine (136) sa brojem 414, može se konstatovati da se voda, u osmogodišnjem proseku (1981-87) nalazi na prosečnoj dubini 2,9 m, odnosno na 73,82 m n.v. Dovođenje režima freatske izdani u vezu sa režimom Dunava, sa režimom padavina i temperaturom, i tim relacijama vršena analiza, ne bi dala u potpunosti ispravne podatke iz razloga što je rit

ispresican gustom kanalskom mrežom. Crpnim stanicama voda se prebacuje u Dunav i tako vrši drenaža (Bogdanović, 1994).

2.5.1.1.2.1. Dunav

Dunav čini južnu i istočnu granicu gradskog područja. On predstavlja dominantan vodotok koji svojim vodostajem i kvalitetom vode diktira režim voda u kanalu DTD do prevodnice i na podzemne vode na području Ratnog ostrva. Analizom podataka o vodostaju na osmatračkoj stanici Novi Sad, u periodu 1931-1987. godina, registrovano je da je dijapazon oscilacija vodostaja bio skoro 9 m ($H_{\min}=70,83$ m n.v.; $H_{\max}=79,51$ m n.v.). Trajanje visokog vodostaja, $H>77,73$ m n.v. (600 cm), kao i ekstremno niskih vodostaja $H<71,53$ m n.v. (-20 cm) je relativno kratko (oko 5 dana u prosečnoj hidrološkoj godini). Iz krive učestalosti vodostaja proizilazi da vodostaji najčešće variraju u opsegu 100-300 cm (najčešće 250 cm), sa uskim trajanjem oko 50 %. Nivo stogodišnjih velikih voda u Novom Sadu je na koti 79,40 m n.v., dok je mala voda istog povratnog perioda na koti 70,85 m n.v. Režim proticaja analiziran je na bazi proticaja u profilu vodomerne stanice Bogojevo za isti period 1931 - 1987. godina. Analiza krive trajanja proticaja, u posmatranom periodu proticaja oscilovale su između $Q_{\min}=680$ m³/s i $Q_{\max}=8600$ m³/s, sa srednjom višegodišnjom vrednosti od $Q_{sr}=2972$ m³/s. Mala voda $Q=1500$ m³/s, čije je trajanje oko 336 dana u prosečnoj hidrološkoj godini, predstavlja istovremeno najniži plovidbeni proticaj. Najučestaliji proticaji bili su u opsegu od 1700 m³/s do 2700 m³/s (Anon, 1988, 2000).

Konstatovano je na osnovu geometrije rečnog korita u zoni Ratnog ostrva veća dubina uz levu konkavnu obalu. Dno korita je na kotama 62-64 m n.v. Rezultati snimanja strujne slike pokazuju koncentraciju rečnog toka uz levu konkavnu obalu, na značajnoj dužini toka, koja obuhvata zonu izvorišta "Ratno ostrvo" (Anon, 1989a, 2000).

2.5.1.1.2.2. Kanal DTD Savino Selo - Novi Sad

Na obodu Ratnog ostrava u pravcu industrijske zone Sever III i II nalazi se DTD kanal Savino Selo - Novi Sad u literaturi često nazivan i kao Mali bački kanal. On dolazi sa severozapadnog pravca, od Rumenke, ide severnom periferijom grada i uliva se u Dunav na istočnoj periferiji grada, na mestu najisturenijeg dela meandre ka severu na stacionaži oko km 1253+400. Pored toga što je plovni, Kanal je za Novi Sad izuzetno značajan jer je pored njega podignut najveći broj industrijskih objekata i ova lokacija je poznata kao industrijska zona (Bogdanović, 1994). Kanal DTD na delu od 4,3 km od ušća do prevodnice, nema aktivnog tečenja ka Dunavu, izuzev pri radu prevodnice. Na ovom delu on je pod direktnim uticajem režima oscilacije Dunava.

2.5.1.1.2.3. Kanalska mreža sliva crpne stanice "Kalište"

Nisko područje Ratnog ostrva i okoline odvodnjava se meliorativnim kanalima. Vodu u Dunav prebacuje crpna stanica "Kalište" i "Pristanište". Kanalska mreža na prostoru Ratnog ostrva obuhvata desetak kanala paralelnih Dunavu, u središnjem delu i desetak kanala upravnih na Dunav u nizvodnom delu koji se svi ulivaju u glavni kanal Subić Dunavac, koji predstavlja jugoistočnu granicu ovog poteza. Subić je rukavac Dunava dug oko 2 km i dubine od 1-2 m. Na njegovom ušću u Dunav nalazi se crpna stanica (CS) "Kalište". CS "Kalište" održava vodostaj na koti oko 73,5 m n.v. prepumpavanjem viška vode u Dunav (instalirani kapacitet 2 x 2,03 m³/s). U ovaj sistem ubacuje se i voda prikupljena kanalskim sistemom sa

uzvodnog sektora, prepumpavanjem u Subić Dunavac preko crpne stanice "Vrbak" (instalirani kapacitet $1 \text{ m}^3/\text{s}$) (Bogdanović 1994; Anon, 2000).

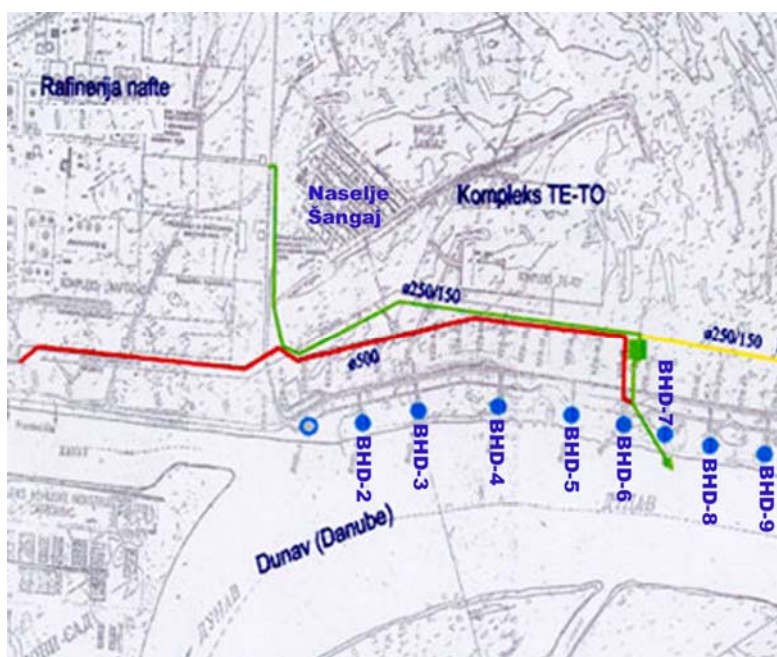
2.5.1.2. Infrastruktura i objekti na području Ratno ostrvo

Na području Ratnog ostrva pored izvorišta vode za piće nalaze se: termoelektrana TE-TO, kompleks naftne industrije NIS - Rafinerija nafte "Novi Sad", tranzitni cevovodi kanalizacije, toplovodi, naselje Šangaj, saobraćajnice i poljoprivredno obradivo zemljište (slika 18).

Kompleks TE-TO (termoelektrana-toplana). Nalazi se u neposrednom zaleđu izvorišta "Ratno ostrvo". U toku rada TE-TO nastaju otpadne vode, ali sami objekti mogu biti izvori zagađenja:

- rezervoari za skladištenje mazuta i hemikalija (kiseline i baze)
- cevovodi za transport mazuta i gasa iz susednog NIS-a, lokalni cevovodi u kompleksu TE-TO i kanalizacioni cevovodi za transport različitih otpadnih voda.

Otpadne vode, atmosferske i prečišćene sanitarne otpadne vode, se izlivaju u melioracioni kanal koji pripada slivu Subića, odnosno CS "Kalište". Rashladne vode se izlivaju u Dunav kod izvorišta "Ratno ostrvo", neposredno uzvodno od bunara BHD-6. Ukupne otpadne vode su manje od $10\,000 \text{ m}^3/\text{god}$.



Slika 18. Raspored infrastrukturnih objekata u zaleđu izvorišta "Ratno ostrvo"

Tranzitni cevovodi. Kroz uže područje izvorišta "Ratno ostrvo" prolaze cevovodi:

- za evakuaciju tehnoloških, atmosferskih i prečišćenih zauljenih voda iz kompleksa Rafinerije NIS, lokalna mreža i zbirni kolektor preko koga se "prečišćene" otpadne

vode iz kompleksa NIS odvođe do crpne stanice "Sever IV" i dalje u Dunav (sl. 18 označen sa zelenom linijom),

- toplovod kojim se topla voda transportuje iz TE-TO do Novog Sada,
- cevovod za transport komunalnih otpadnih voda iz naselja Klisa (sl. 18 označen crvenom linijom),
- cevovod kojim se voda iz Dunava preko crpne stanice doprema do TE-TO i cevovod za ispušt tople vode (hlađenja turbina) u Dunav.

Kolektor atmosferskih i prečišćenih zauljenih voda iz Rafinerije u neposrednom zaleđu izvorišta izgrađen je u okviru peskovitih sedimenata, na dubini od 1-2 m ispod površine.

Naselja i saobraćajnice. Naselje "Šangaj" je "divlje" izgrađeno, ali je legalizovano. Priključeno je na gradsku vodovodnu mežu i na kanalizacionu mrežu (izgrađena je crpna stanica "Šangaj"). Otpadne vode ovog naselja se ispuštaju u Dunav preko izliva kolektora "Sever IV". U neposrednoj blizini izvorišta nalazi se saobraćajnica koja povezuje Novi Sad i Kać, kao i put za naselje Šangaj. Dublje u zaleđu nalazi se autoput Beograd - Novi Sad. U daljem zaleđu nalazi se deponija za odlaganje sadržaja septičkih jama.

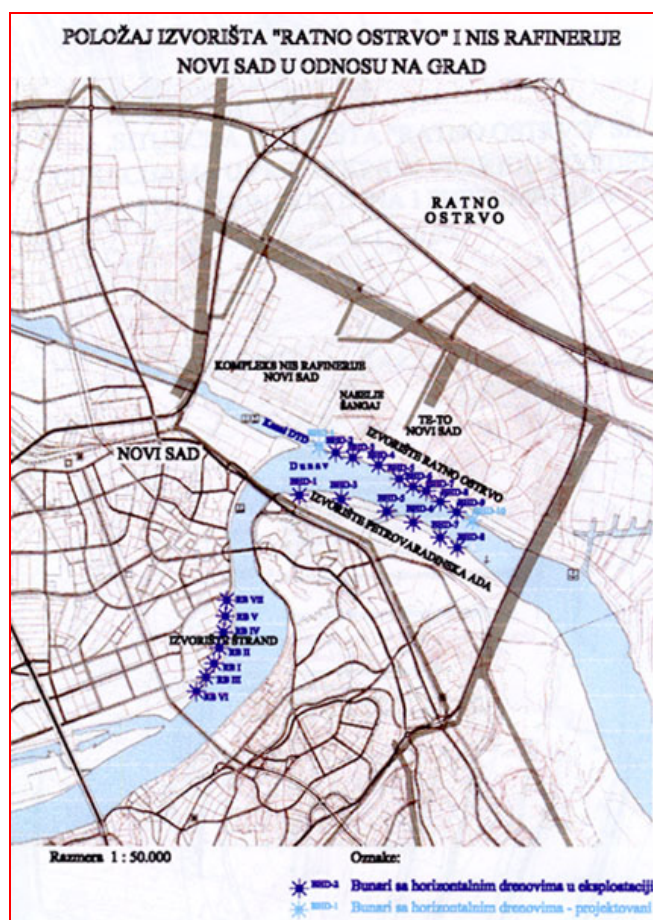
Poljoprivredno zemljište. U dubljem zaleđu izvorišta "Ratno ostrvo" nalaze se značajne obradive površine na kojima su korišćeni i koriste se razne vrste pesticida i veštačkih đubriva.

Kompleks NIS-a. Rafinerija nafte "Novi Sad", locirana je na levoj obali Dunava, na prostoru Ratnog ostrva, odnosno privrednoj zoni grada Sever IV. Ovaj prostor je uz levu obalu kanala DTD, od njegovog ušća u Dunav do magistralnog puta Novi Sad - Zrenjanin. Površina koju zauzima je oko 256 ha, od čega veći deo površine, sa desne strane lokalnog puta Novi Sad - Šangaj, zauzimaju objekti za preradu i skladištenje tečnih derivata nafte, a manji sa leve strane zauzimaju rezervoari za tečni naftni gas i punilište. Na kanalu DTD izgrađena su tri pontona za pretakanje derivata nafte. Veći deo površine, sa procesima i rezervoarima je betoniran. Manji deo površine, ali ne beznačajan, sa pumpnim stanicama, cevovodima za transport i rezervoarima, je bez zaštite izgrađen na refuliranom pesku. Sve betonske površine povezane su na kanalizacioni sistem, kojim se odvođe vode, kišne i zauljene. U krajnjem jugoistočnom delu kompleksa, praktično najbliže izvorištu "Ratno ostrvo", nalazi se skladište privremeno deponovanog čvrstog i polučvrstog otpadnog materijala.

Otpadne vode Rafinerije potiču od prerade nafte i derivata nafte (benzin, dizel gorivo, mazut, bitumen i razna ulja). Postoji uređaj za prečišćavanje otpadnih voda, odakle se prečišćena voda transportuje gravitaciono do crpne stanice "Sever IV", kojom se zatim prepumpava do izlivne građevine i cevovodom u Dunav (*Boškov i sar., 1999*). Ova crpna stanica se nalazi na samom izvorištu Ratno ostrvo, a izlivna građevina u neposrednoj blizini bunara BHD-6. Ispust iz izlivne građevine se dugi niz godina nalazio nizvodno između bunara BHD-6 i BHD-7, a od leta 2004. godine je izmešten 2 km nizvodno, iza svih reni bunara kako bi se zaštitilo izvorište. Iako su oko rezervoara nafte i ostalih derivata izgrađeni zaštitni bazeni (tankvane), moguće je iscurivanje pogotovo iz cevovoda za transport nafte i naftnih proizvoda i za transport zauljenih, tehnoloških i fekalnih otpadnih voda. U kompleksu Rafinerije postoje još i upojni bunari koji služe za prihvatanje sanitarnih otpadnih voda. Ukupna količina otpadne vode je oko 2.000.000 m³/god.

2.5.2. Izvorište "Ratno ostrvo"

"Ratno ostrvo" je najmoćnije i najznačajnije izvorište vodovodnog sistema grada odakle se obezbeđuje 45% vode neophodne stanovništvu Novog Sada. Prostire se duž leve obale Dunava, od ušća kanala DTD nizvodno (slika 19). Ukupna dužina obale na kojoj je izvorište je oko 4000 m. Do danas je na izvorištu izgrađeno osam od deset planiranih bunara sa horizontalnim drenovima. Eksploatacioni kapacitet ovog izvorišta je 700-800 l/s. Cevovodom za sirovu vodu prečnika Ø900 dužine oko 4km, sirova voda se doprema do postrojenja za preradu vode. Sa stanovišta prirodnih uslova, izvorište Ratno ostrvo ima veoma dobru razvojnu perspektivu. U nizvodnom pravcu je moguća izgradnja novih bunara sa horizontalnim drenovima ili vertikalnih bunara, a u zaleđu obalnog niza bunara, veoma su pogodni uslovi za formiranje izvorišta infiltracionog tipa. Sa stanovišta zaštite izvorište se nalazi u nepogodnom okruženju. Kako je napred rečeno u neposrednoj blizini izvorišta nalazi se rafinerija nafte, termo-toplana, naselje Šangaj, a uzvodno je uliv kanala DTD u Dunav i izlivi gradske kanalizacije.



Slika 19. Položaj izvorišta u odnosu na grad Novi Sad

Najveći problem vodosnabdevanja grada sa izvorišta "Ratno ostrvo" predstavlja Rafinerija nafte Novi Sad (RNS). Komponente nafte i njeni derivati su toksični za živi svet i čoveka. Posebno su opasni aromatični ugljovodonići i policiklični aromatični ugljovodonići nafte i naftnih derivata jer imaju kancerogeno delovanje na čoveka.

2.5.3. Razaranje postrojenja Rafinerije nafte i kontaminacija zemljišta

U toku NATO agresije, postrojenja NIS RNS napadnuta su 12 puta, sa preko 250 projektila jake razorne moći.

U toku agresije NATO - alijanse u akcijama gašenja požara i hlađenja rezervoara u Rafineriji nafte "Novi Sad" utrošena je sledeća količina sredstava: 235,00 tona ekstrakta za gašenje požara (185,00 tona ekstrakta "fluoro protein"; 48,00 tona ekstrakta "AFFF"; 2 tone "sintetičkog ekstrakta"), 8,40 tona suvog praha za gašenje požara "MONEX" i oko 95000 m³ vode (Anon, 2000).

NATO agresijom praktično su uništena ili oštećena sva procesna postrojenja u RNS. Pregled oštećenja procesnih postrojenja daje se u tabeli 1. NIS Rafinerija nafte "Novi Sad" raspolagala je i velikim rezervoarskim prostorima za skladištenje sirove nafte, proizvoda, pomoćnih komponentata itd. U toku NATO agresije uništeno je preko 51%, a ozbiljno oštećeno preko 34% raspoloživih rezervoarskih kapaciteta. U tabeli 2 daje se pregled raspoloživih, uništenih i oštećenih rezervoarskih kapaciteta NIS Rafinerije Novi Sad. Uništene količine nafte i naftnih proizvoda u toku NATO agresije na Rafineriju nafte "Novi Sad" date su tabeli 3.

Tabela 1. Pregled oštećenja NIS RNS procesnih postrojenja

Procesna postrojenja	Kapacitet	% oštećenja
Atmosferska destilacija AT-500	500.000 t/g	95
Atmosferska destilacija sa stabilizacijom benzina U-2100	2.000.000 t/g	70
Vakuum destilacija U-2200	1.200.000 t/g	60
Hidrotriting benzina U-2300	560.000 t/g	15
Platforming U-2400	430.000 t/g	25
Obrada gasa (TBG proseca) U-2500	60.000 t/g	95
Hidrodosulfurizacija kerozina/VGU U-2600	240.000 t/g	5
Proizvodnja ulja i bitumena		
Atmosferska destilacija U-100	500.000 t/g	10
Vakuum destilacija U-200	550.000 t/g	60
Duvalište bitumena U-300	200.000 t/g	20
Hidrofinišing U-400	240.000 t/g	90
Kisela rafinerija U-500	89.000 t/g	20
Blending ulje	56.000 t/g	95

Prema proceni stručnjaka iz RNS od 73.569 tona nafte i derivata izgorelo je oko 90%, izliveno na zemljište oko 9,9 %, izliveno u kolektor "Sever IV" 0,1 %, a od izlivenene nafte u kolektor deo je vraćen ispumpavanjem iz crpne stance i izlivne građevine kolektora "Sever IV" u Dunav (Anon, 2000).

U tabeli 4 dat je pregled uništenih objekata NIS – Rafinerije "Novi Sad" (Anon, 2000).

Tabela 2. Pregled uništenih i oštećenih NIS RNS rezervoarskih kapaciteta

Vrsta fluida	Zapremina (m ³)	% Uništeno	% oštećeno
Sirova nafta	195500	46.80	21.13
TNG	10000	90.00	0.00
Benzini	80000	78.70	17.50
Srednji destilat	135500	64.58	34.69
Mazut	103000	34.95	39.81
Uljni proizvod	108000	56.48	41.67
Bazna ulja	16100	100.00	0.00
Vakuum ostatak	20600	2.91	97.09
Bitumen	8900	0.00	100.00
Ukupno	677600	51.46	34.06

Tabela 3. Uništene količine nafte i proizvoda

Vrsta sirovine/poluproizvoda/proizvoda	Uništene količine
sirova nafta	18.680 t
TNG	17 t
primarni benzin	4.338 t
komponente za MB	1.749 t
srednji destilati	2.951 t
destilati i rafinatti	10.419 t
bazna ulja	980 t
trafo ulja	82 t
maziva	520 t
lož ulja (mazut)	10.333 t
Ukupno u RNS	50.069 t
NAP - deriviti	5.000 t
JU-NA - nafta	18.500 t
UKUPNO	73.569 t

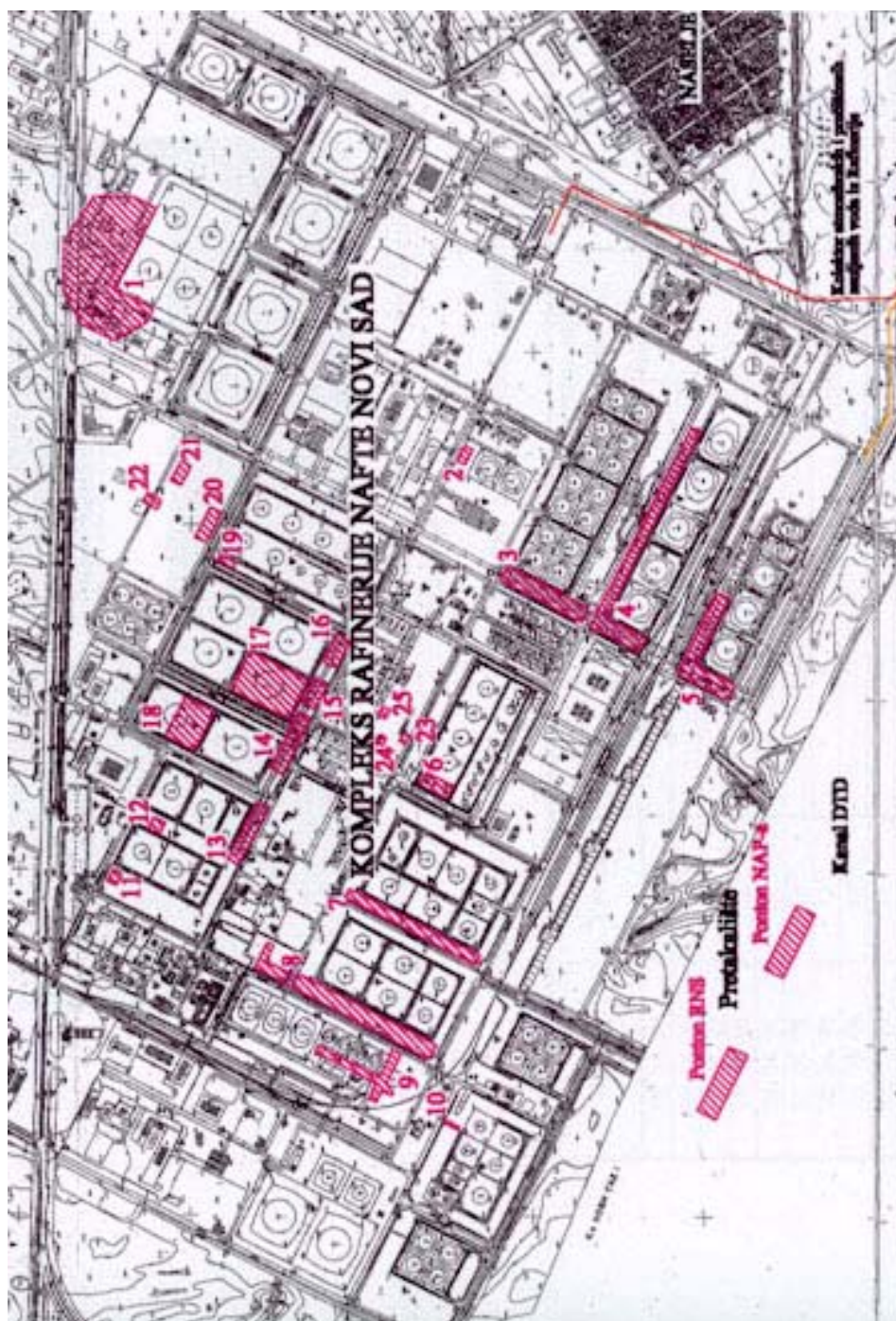
Posle prestanka NATO bombardovanja izvršena je identifikacija lokaliteta i površine zemljišta u NIS-RNS koje je zagađeno usled nekontrolisanog izlivanja nafte i derivata nafte. Pregledi lokaliteta zagađenog zemljišta dati su na slici 20 (zaokružene crvene površine), a procenjene kontaminirane površine sa količinama izlivenih nafte i derivata u tabeli 5. Na slici 21 prikazana je specifična kontaminiranost (m³ nafte/m² prostora) lokacija izlivenom naftom i derivatima u Rafineriji nafte "Novi Sad", a na slici 22 prikazani su podaci o ukupnoj količini sirove nafte i derivata koji su izliveni na zemljište u Rafineriji nafte "Novi Sad".

Tabela 4. *Specifikacija uništenih objekata NIS RNS sistema zaštite životne sredine*

Objekat	% oštećenja
Atmosferska kanalizacija	70
Uljna kanalizacija	60
Sistem za tretman otpadnih voda	40
Tankvana	80
Akvatorijum za utovar/istovar sirove nafte i derivata	75
Peć za spaljivanje rafinerijskih muljeva	45
Sistem za spaljivanje otpadnih gasova	60
Blending postrojenja za proizvodnju ekološki prihvatljivih maziva	100
Tehnološka linija za proizvodnju eko dizela evropskog kvaliteta	90
Sistem za hlađenje i gašenje rezervoara	85
Cevovodi za povezivanje unutar Rafinerije	50

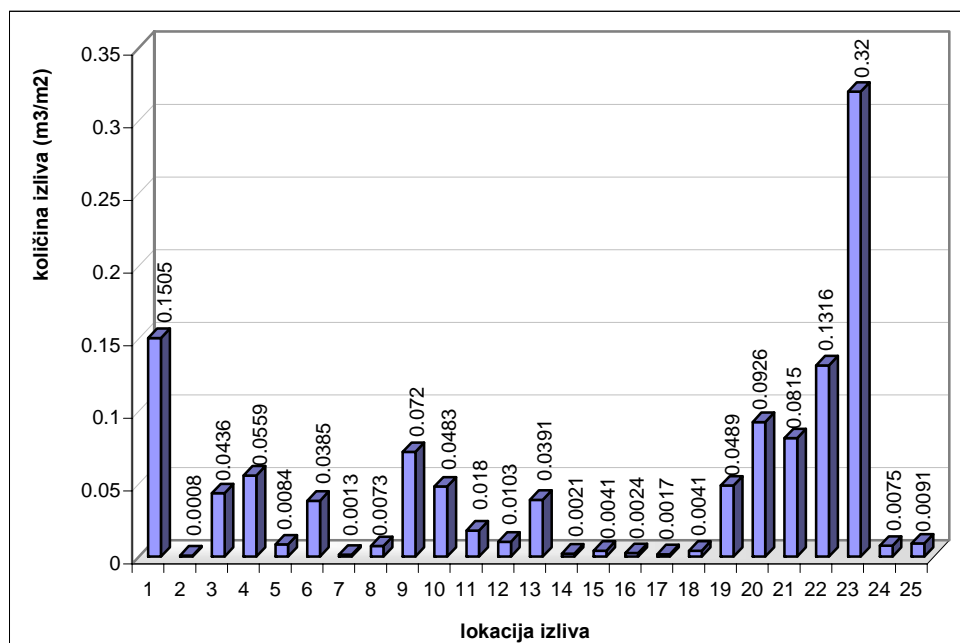
Tabela 5. *Procena kontaminirane površine i količine izlivena nafte i naftnih derivata u Rafineriji nafte "Novi Sad"*

Oznaka lokacije	Kontaminirana površina (m ²)	Nafta i naftni derivati (m ³)											
		Sirova nafta	Mazut	Dizel	Srednji destilati	Teški destilati	Slop	Kerozin	Sirovi benzin	Mlazno gorivo	Ulje	Etilizirani benzin	Vakuum ostatak
1	23250	3500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	630	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
3	3720	-	14,5	-	142,6	-	-	5,2	-	-	-	-	-
4	6100	-	-	-	337,9	-	0,2	-	3,0	-	-	-	-
5	4250	0,5	34,5	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-
6	1300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
7	4450	-	-	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	8200	22,0	14,5	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	1805	-	-	70	-	-	-	-	-	-	-	60	-
10	315	-	-	5,1	-	7,6	-	-	-	2,5	-	-	-
11	300	4,2	-	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-
12	310	3,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	1590	38,5	7,1	-	-	-	16,6	-	-	-	-	-	-
14	2280	2,7	1,5	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-
15	535	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	930	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	5860	10,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	2940	11,7	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-
19	190	-	-	-	-	9,3	-	-	-	-	-	-	-
20	540	50,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	920	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	570	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	250	80,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-
25	220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-
Suma	71655	3872,8	76,5	103,8	480,5	16,9	19,0	5,2	3,5	2,5	3,9	60,0	50,0

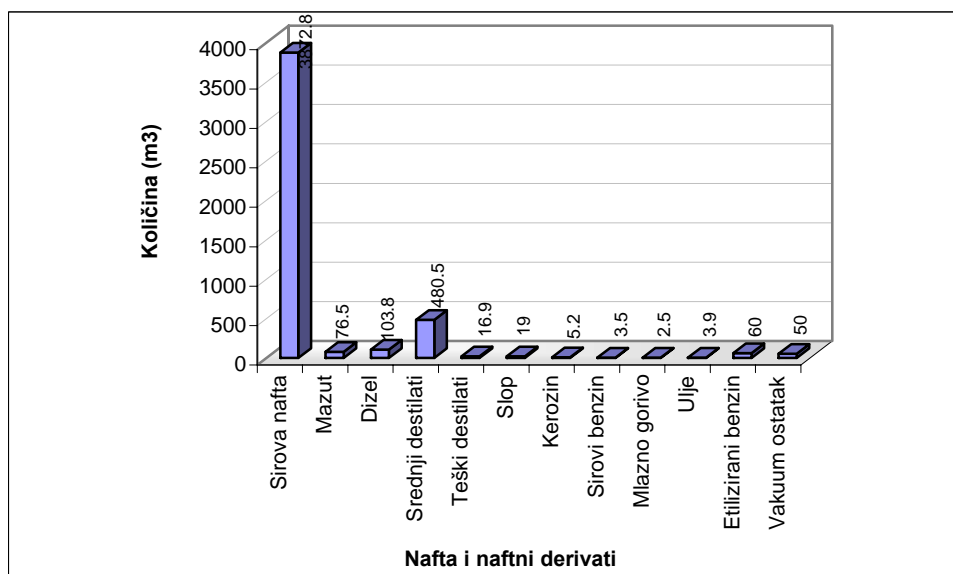


Slika 20. Položaj zagađenih površina naftom i derivatima u RNS

Na osnovu podataka, utvrđeno je da prostor zagađen benzinima iznosi oko 8.500 m², što je veoma značajno imajući u vidu brzinu prodora benzina kroz pesak i mogućnost zagađenja podzemne vode. Sirova nafta se izlila na mnogo veću površinu od 51000 m², ali ona sporo prodire kroz zemljište i time predstavlja manju opasnost po zagađenje podzemne vode. Ostali naftni derivati (kerozin, dizel, mazut i goriva), koji su se izlili na površinu od oko 35000 m² mogu predstavljati problem, s obzirom da pojedine komponente ovih derivata brzo prodiru kroz zemljište, posebno kroz pesak. Takođe se može konstatovati da elucija nafte i derivata padavinama predstavlja veliku opasnost za kvalitet podzemnih voda.



Slika 21. Kontaminiranost lokacija izlivenom naftom i derivatima u Rafineriji nafte "Novi Sad"



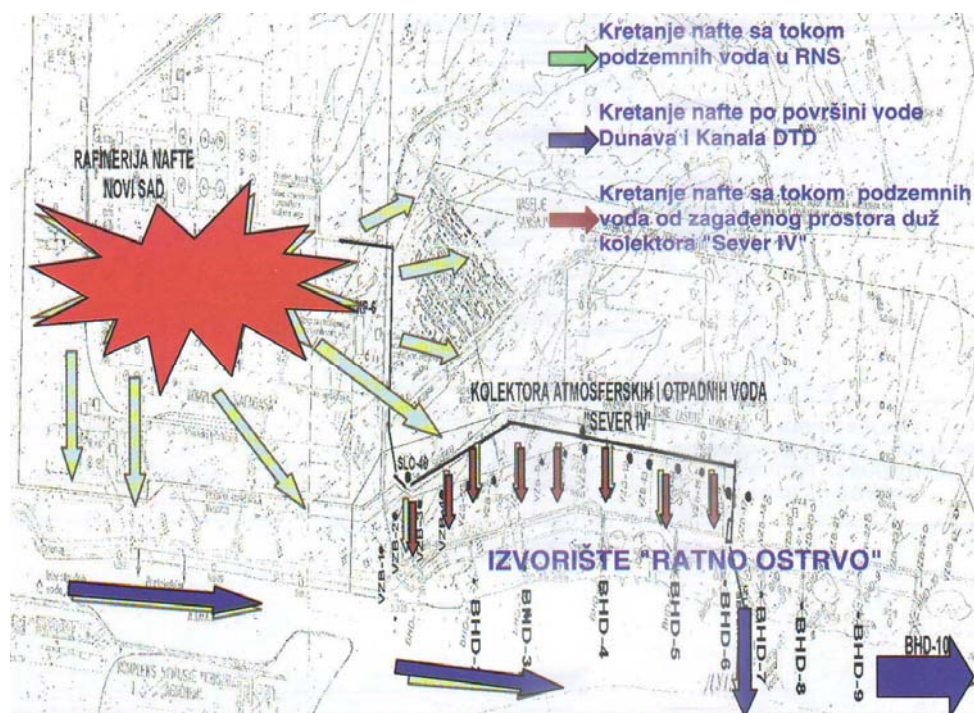
Slika 22. Količine izlivenih nafte i derivata na zemljište u Rafineriji nafte "Novi Sad"

2.6. Monitoring kontaminiranog područja Ratno ostrvo

Akcident u Rafineriji je naročito nepovoljno uticao na izvorište podzemne vode "Ratno ostrvo" za snabdevanje Novog Sada vodom za piće (*Dalmacija i sar., 1999 i 1999a*). Prvi preduslov za uspostavljanje pasivne bioremedijacije lokaliteta Ratno ostrvo bio je uklanjanje izvora zagađenja. U skladu s tim, sanirani su oštećeni rezervoari i instalacije, uklonjena je

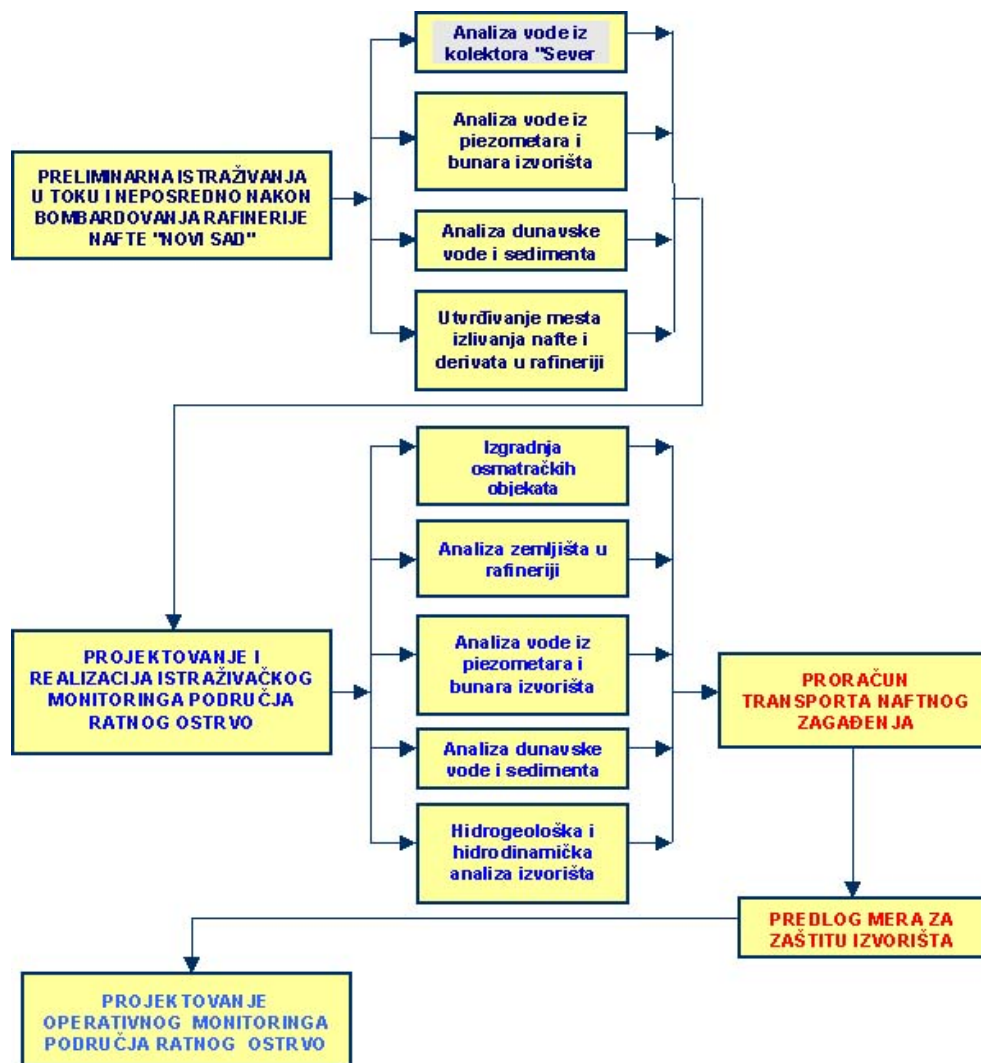
skoro u potpunosti sva površinski zagađena zemlja, međutim, zagađenje koje je prodrlo dublje u podzemlje, adsorbovalo se za matriks akvifera i rastvorilo se u podzemnoj vodi nije uklonjeno.

Kretanje nafte i derivata kanalom DTD i Dunavom i mogućnost migracije nafte i naftnih derivata iz prostora RNS i zagađenog prostora duž oštećenog kolektora "Sever IV" zbog kretanja podzemnom vodom, prikazano je na slici 23. Kako se vidi sa slike, kretanje nafte i derivata, bilo podzemnim vodama sa prostora Rafinerije ili iz oštećenog kolektora, bilo površinskim tokovima, bi moglo uticati na kvalitet voda u izvoru "Ratno ostrvo"



Slika 23. Mogući pravci transporta nafte i naftnih derivata podzemnom vodom i izliveno ulje u Dunav i Kanal DTD površinskom vodom

Nakon uvida u stanje na terenu u toku bombardovanja Rafinerije nafte i potrebe za informacijom koja će ukazati koje mere treba preduzeti da se ublaži ili umani nastala ekološka šteta projektovan je monitoring područja Ratnog ostrva. Početni projektovani monitoring svakodnevno je menjan u zavisnosti od toka dešavanja, tj. nastalih šteta u toku bombardovanja. Početni monitoring je obezbedio informacije o stanju kvaliteta podzemnih voda i zemljišta na lokalitetu Rafinerije nafte, stanju kvaliteta površinskih voda i sedimenta, kao i kvalitetu zemljišta u inducionom pojasu i omogućio da se predvidi pravac transporta zagađenja. Na osnovu podataka početnog monitoringa po principu tzv. "spiralnog monitoringa" projektovan je istraživački monitoring, a kasnije na isti način projektovan je operativni (dugoročni) monitoring područja Ratnog ostrva. Šematski prikaz plana istraživanja je dat na slici 24.



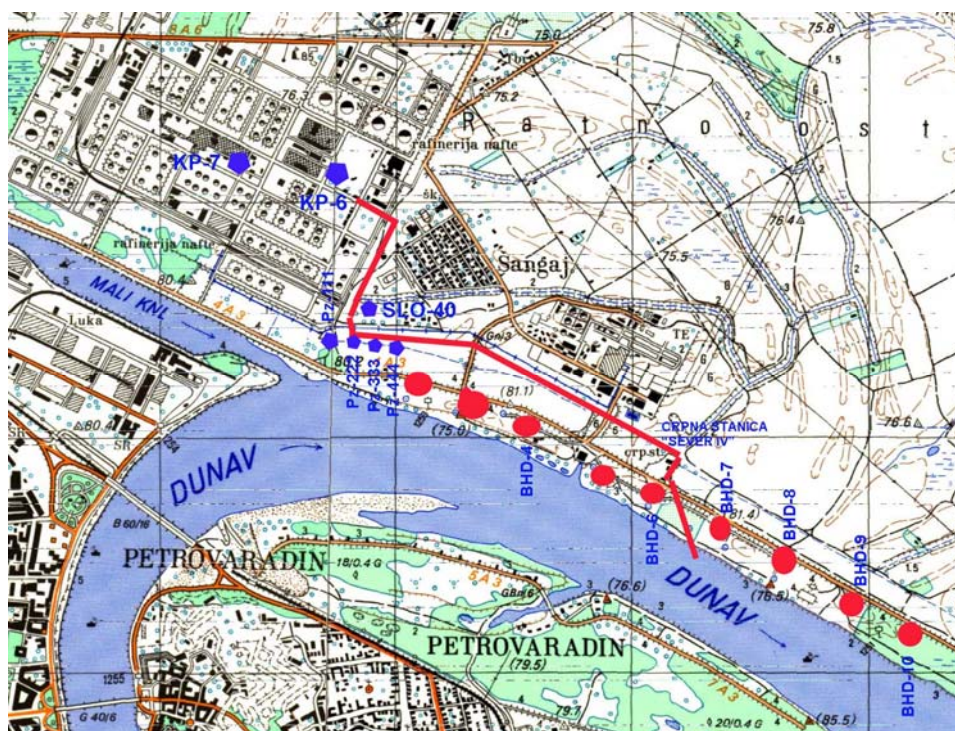
Slika 24. Plan istraživanja sproveden u cilju dobijanja podataka neophodnih za zaštitu izvorišta "Ratno ostrvo"

2.6.1. Monitoring područja "Ratno ostrvo" u toku i neposredno posle bombardovanja

U toku i neposredno nakon bombardovanja Rafinerije nafte "Novi Sad", u periodu april-jun 1999. godine, po posebnom prioritetnom programu izvršeno je uzorkovanje i analiza (slika 25):

- otpadnih voda rafinerije nafte i atmosferskih voda iz kolektora "Sever IV";
- podzemne vode uzorkovane iz jedino postojećih pijezometara unutar kompleksa Rafinerije: KP-6 i KP-7 i duž kolektora "Sever IV" (u pravcu moguće migracije nafte i derivata iz oštećenog kolektora): SLO-40, Pz-111, Pz-222, Pz-333, Pz-444 i SLO-35;
- vode iz reni bunara na izvorištu;
- vode iz Dunava na lokacijama kod BHD-7, BHD-8, BHD-9 i bunara u izgradnji BHD-10;
- sedimenta iz Dunava na lokacijama BHD-6, BHD-7, BHD-8 i bunara u izgradnji BHD-10 i

- zemljišta pored bunara BHD-7 nakon opadanja vodostaja Dunava krajem juna.



Slika 25. Položaj pijeziometara i bunara koji su korišteni za uzorkovanje podzemnih voda u toku monitoringa (crvenom linijom je obeležen kolektor "Sever IV")

U ispitivanim uzorcima je određivan sadržaj naftnog zagađenja, odnosno mineralnih ulja, vršena je identifikacija naftnih ugljovodonika i određivan sadržaj policikličnih aromatičnih ugljovodonika (Anon, 1999).

Rezultati preliminarnih istraživanja su omogućili sagledavanje neposrednih efekata izlivanja nafte i naftnih derivata u kolektor "Sever IV" i preko njega u Dunav, odnosno na zemljište u Rafineriji i zoni inundacije u kojoj su locirani reni bunari izvorišta "Ratno ostrvo".

2.6.2. Istraživački monitoring

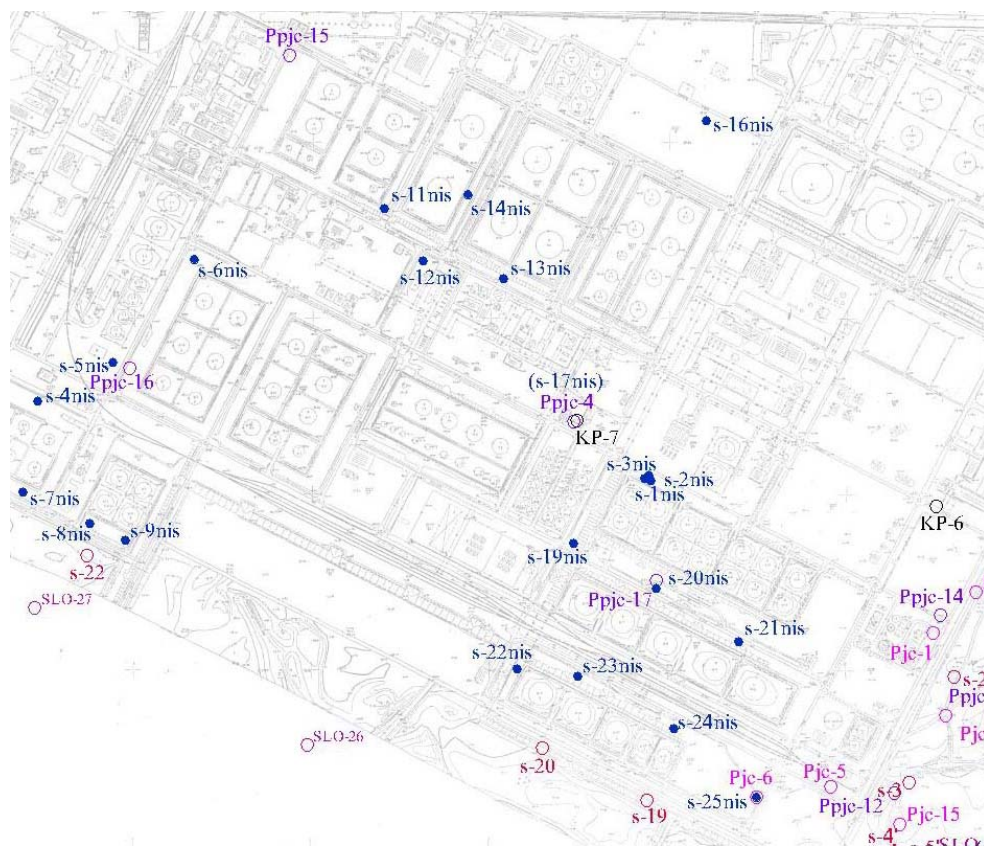
Dobijeni rezultati analiza su usloveli urgentno projektovanje i realizaciju istraživačkog monitoringa područja Ratno ostrvo, kako bi se utvrdilo trenutno stanje područja, odredile i fokusirale kritične tačke i dao pregled aktivnosti i mera za zaštitu izvorišta "Ratno ostrvo".

Istraživački monitoring je realizovan u periodu avgust-oktobar 1999. godine i obuhvatio je ispitivanje kvaliteta (Anon, 1999; Dalmacija i sar., 2000d, 2000e, 2000f, 2001):

- podzemnih voda na teritoriji Rafinerije i u zaleđu izvorišta "Ratno ostrvo";
- dunavske vode i sedimenta i
- zemljišta u Rafineriji.

Za potrebe istraživačkog monitoringa, u cilju ispitivanja kvaliteta podzemnih voda na širem području izvorišta "Ratno ostrvo", izgrađen je velik broj osmatračkih objekata. Novi osmatrački objekti su locirani na rastojanju od oko 100 m, dubini do 6-8 i 25 m, između

izvora naftnog zagađenja i reni bunara izvorišta, odnosno unutar kompleksa Rafinerije na mestima izlivanja dizel goriva, benzina i sirove nafte, duž jugoistočne ograde Rafinerije, između ograde Rafinerije i kanala DTD, duž kolektora "Sever IV" i u neposrednoj blizini reni bunara BHD-6, BHD-7 i BHD-9, a u pravcu strujanja podzemnih voda. Jednokratno ispitivanje vode i zemljišta na teritoriji RNS je rađeno na sledećim lokacijama (sl. 26): s-4nis, s-5nis, s-6nis, s-7nis, s-8nis, s-9nis, s-10nis, s-11nis, s-12nis, s-13nis, s-14nis, s-15nis, s-16nis, s-17nis, s-18nis, s-19nis, s-20nis, s-21nis, s-22nis, s-23nis, s-24nis, s-25nis. Jednokratno ispitivanje vode i zemljišta izvan Rafinerije rađeno je na sledećim lokacijama: s-4, s-5, s-6, s-8, s-10, s-13, (sl. 27) i s-19, s-20 i s-22 (sl. 26). Dubina bušotina je bila 0,5-5,3 m, a najčešće oko 2 m.



Slika 26. Lokacije u RNS gde je vršeno ispitivanje sadržaja ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u vodi i zemljištu

Jednom mesečno podzemna voda u RNS je ispitivana iz plitkog pijezometra (od 6-8 m) Ppjc-4, dubokih pijezometara (oko 25 m): Pjc-1, KP-6 i KP-7. Na prostoru između RNS i kolektora "Sever IV" jednom mesečno je ispitana podzemna voda iz dubokih pijezometara: Pjc-2 i Pjc-3. Na prostoru duž kolektora "Sever IV" i izvorišta "Ratno ostrvo" jednom mesečno je ispitana podzemna voda u plitkim pijezometrima: Ppjc-5, Ppjc-6, Ppjc-7, Ppjc-8, Ppjc-9 i Ppjc-10 i u dubokim pijezometrima: Pjc-4, Pjc-9, PZ-222, PZ-333, PZ-444, PZ-555, PZ-666, PZ-777, PZ-888, PZ-999, PZ-17, SLO-40 i SLO-42. Na prostoru oko bunara BHD-6 do BHD-9 jednom mesečno je ispitana podzemna voda u plitkim pijezometrima: Ppjc-1, Ppjc-2, Ppjc-3 i dubokim pijezometrima: Pjc-7 i Pjc-8. U zaleđu izvorišta jednom mesečno je

ispitana podzemna voda iz dubokih pijezometara: ROPZ-3, ROPZ-10 i ROPZ-12. U toku izvođenja terenskih istražnih radova analizirani su dobijeni rezultati i u zavisnosti od utvrđenog trenutnog stanja usmeravana su dalja terenska i laboratorijska istraživanja.



Slika 27. Lokacije koje se nalaze izvan RNS gde je vršeno ispitivanje sadržaja ukupnih ugljovodonika u vodi i zemljištu

Rezultati monitoringa prostora u Rafineriji nafte ukazali su da se u trenutku ispitivanja veći deo nafnog zagađenja zadržao u plićim zonama zemljišta.

Sadržaj mineralnih ulja u podzemnoj vodi bio je nizak. Jedino kod dubokog pijezometra Pjc-1 bili su značajno prisutni polarni ugljovodonici što je ukazivalo na početak mikrobiološke oksidacije mineralnih ulja. Na ovo su ukazivala i identifikovana jedinjenja u vodi iz pijezometra Pjc-1, jer su najzastupljeniji alifatični i aromatični alkoholi i estri karboksilnih kiselina koji mogu nastati mikrobiološkom oksidacijom ugljovodonika (Đurendić, 2001; Dalmacija i sar., 2003).

Rezultati analiza otpadnih voda iz kanalizacionog sistema u RNS pokazali su da je zbog oštećenosti kanalizacije unutar Rafinerije deo nafte i naftnih derivata dospevao u atmosfersku kanalizaciju, a zatim u kolektor "Sever IV".

Koncentracija nafte i derivata u vodi plitkih i dubokih pijezometara van Rafinerije i duž kolektora "Sever IV" u većini slučajeva bila je nešto viša u odnosu na pijezometre u RNS. Ovi početni podaci istraživačkog monitoringa su ukazali na mogućnost prodora nafte i derivata iz kolektora "Sever IV" pri tečenju nafte i derivata kroz njega za vreme razaranja instalacija u RNS (Dalmacija i sar., 1999).

Prvi rezultati analize sadržaja mineralnih ulja u vodi i sedimentu Dunava (uzorci od 5. maja 1999.) pokazali su najviši sadržaj ispitivanih materija na lokalitetima izliva kanalizacije i u blizini reni bunara BHD-7, s tim da je u dubljim slojevima sedimenta (oko 30 cm) sadržaj mineralnih ulja znatno manji, a sadržaj u vodi Dunava prati vrednosti dobijene za sediment (Ivančev-Tumbas i sar., 1999). Utvrđeno je da je koncentracija nafte i naftnih derivata u dunavskoj vodi snižena u odnosu na vreme akcidenta (5. maj). Analize sedimenta Dunava na sadržaj nafte i derivata pokazale su da je najveća koncentracija detektovana na lokalitetu kod reni bunara BHD-7, i to kako na površinskom delu mulja tako i u dubljem sloju, za vreme bombardovanja Rafinerije. Podaci ukazuju da se koncentracije nafte i derivata u sedimentu smanjuju u periodu nakon prestanka bombardovanja Rafinerije. Kod sedimenata kao i kod dunavske vode u seriji merenja od 4. oktobra utvrđeno je blago povećanje koncentracije nafte i derivata, posebno opet na lokalitetu kod bunara BHD-7, što je verovatno posledica naknadnog izlivanja nafte koje se dešavalo zbog intezivnih radova u Rafineriji.

Rezultati ispitivanja sadržaja nafte i derivata u sedimentu i zemljištu u inundaciji pored bunara su pokazali da je u tom periodu samo sloj od 10 cm bio zagađen naftom i derivatima.

Poređenjem koncentracija mineralnih ulja u vodi iz reni bunara, analiziranoj u toku istraživačkog monitoringa izvorišta "Ratno ostrvo", uočavaju se najveće koncentracije u vodi iz bunara BHD-6.

Pijezometri u zaleđu izvorišta su odabrani kao kontrolni kako bi se utvrdila zagađenost prostora u blizini Rafinerije i da se odredi fon mineralnih ulja na "nezagađenom" prostoru Ratnog ostrva. U odnosu na sve ostale ispitivane lokalitete na ovom području je detektovana najniža koncentracija mineralnih ulja (Anon, 1999).

Značajna činjenica je visoka brojnost lipolitskih i naftnooksidujućih bakterija, posebno u vodi pijezometara, što svakako upućuje na mogućnost pasivne bioremedijacije prostora. Lipolitske bakterije su detektovane u bunaru BHD-6, dok su naftnooksidujuće bakterije bile prisutne u sva tri bunara. Zastupljenost naftnooksidujućih bakterija je bila najveća kod bunara BHD-8. Zastupljenost bakterija indikatora specifičnog zagađenja, posebno lipolitskih i ugljovodonikooksidujućih bakterija, je visoka u svim uzorcima vode pijezometara, što upućuje na zaključak da su vode u kontaktu sa materijama tipa nafte ili masti.

2.6.2.1. Analiza transporta naftnog zagađenja tokom podzemnih voda

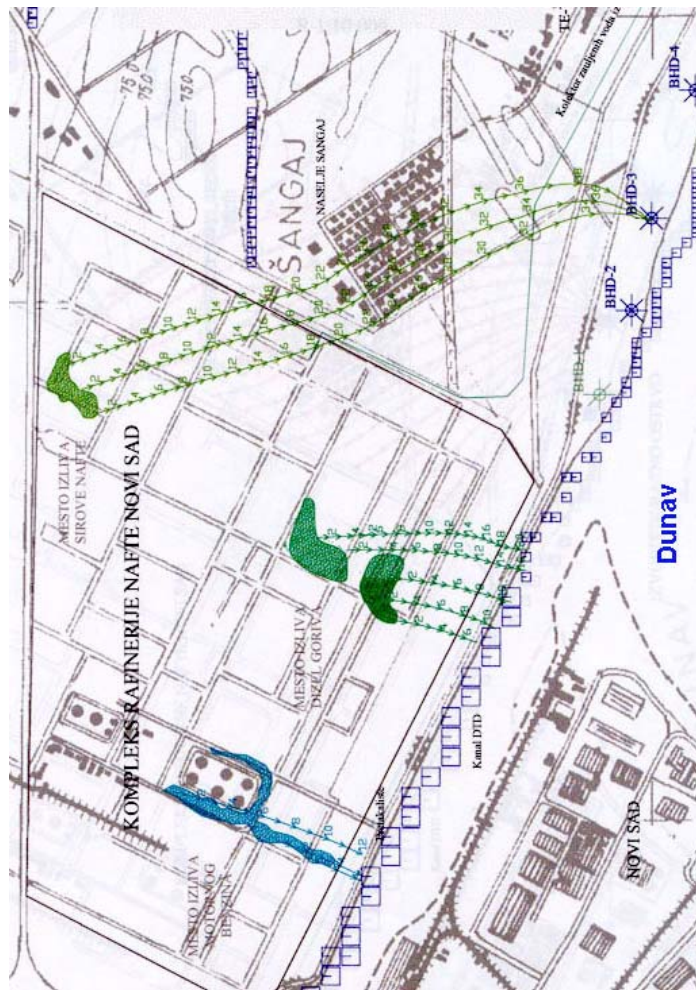
Analizom transporta naftnog zagađenja Instituta za vodoprivredu "Jaroslav Černi", na hidrodinamičkom modelu posmatranog područja definisana je strujna slika, odnosno zone prihranjivanja svakog od reni bunara izvorišta "Ratno ostrvo", a na osnovu mesta izlivanja nafte i naftnih derivata određeno je vreme nailaska fronta zagađenja do vodozahvatnih objekata (Anon, 1999). Na taj način je bilo moguće dati ocenu stepena ugroženosti pojedinih reni bunara u izvorištu "Ratno ostrvo", kao i ugroženosti ostalog područja Ratnog ostrva. Na osnovu dobijenih podataka mogao se dati predlog mogućih potrebnih mera za sprečavanje zagađenja izvorišta i prostora Ratnog ostrva, kao i tačnijeg projektovanja operativnog monitoringa. Time je ostvaren i poslednji korak u projektovanju sistema monitoringa - dokumentovanje procedura za izvođenje i objavljivanje informacije. U procesu izrade hidrodinamičkog matematičkog modela i modela transporta zagađujućih materija, izvršena je sinteza svih geoloških, hidrogeoloških, hidroloških i meteoroloških karakteristika područja Ratnog ostrva (Anon, 1999).

Transportom rastvorenih ugljovodonika iz Rafinerije kroz podzemlje, potencijalno mogu biti ugroženi bunari najbliži Rafineriji, BHD-2 i BHD-3 (slika 28), obzirom da je pravac strujanja podzemnih voda na tom području preko mesta izlivanja nafte i naftnih derivata. Na osnovu proračuna se može zaključiti da ovi bunari mogu biti ugroženi izlivenom sirovom naftom u severoistočnom delu Rafinerije i dizel gorivom u centralnom delu. Vreme transporta zagađenja (dobijeno proračunom), od mesta izlivanja sirove nafte i dizel goriva do vodozahvatnih objekata, u zavisnosti od lokacije izliva, iznosi od 8 do 40 meseci.

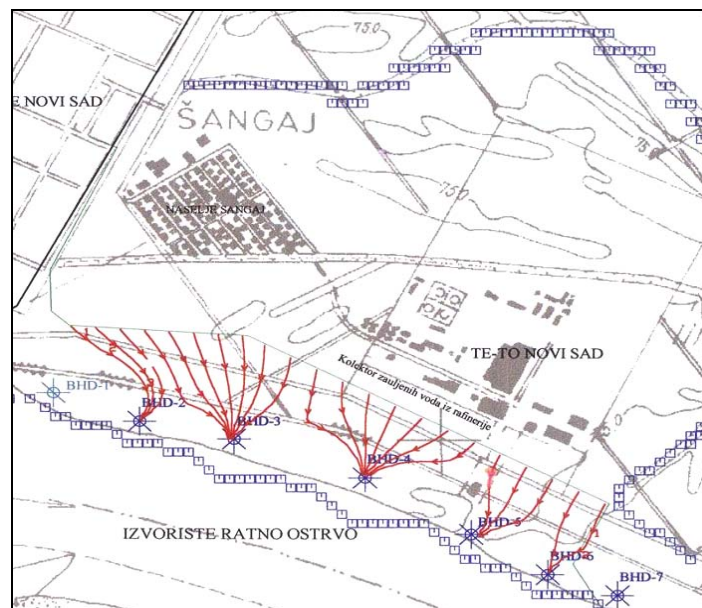
Utvrđeno je da ne postoji direktna opasnost od zagađenja motornim benzinom i vakuum destilatima, obzirom da je pravac strujanja podzemnih voda u tom delu Rafinerije ka kanalu DTD. U zavisnosti od vodostaja u kanalu DTD (tj. Dunavu) i nivoa podzemnih voda na posmatranom prostoru, smer strujanja je ka kanalu ili od kanala prema zaleđu. Eventualno zagađenje podzemnih voda iz ovog dela Rafinerije se može očekivati posredno, prihranjivanjem bunara vodom iz Dunava.

Moguće zagađenje iz kolektora "Sever IV" je hipotetičko i predstavlja opasnost za sve bunare u čijem je zaleđu lociran. Zbog svoje blizine vodozahvatnim objektima, zagađenje se iz ovog izvora može najpre pojaviti ukoliko je kolektor oštećen, pošto postoji mogućnost infiltracije transportovanog sadržaja. Pri niskom vodostaju Dunava ($Z_{10\%}=72,60$ mm), vremenski period (dobijen proračunom) za koji zagađenje može stići iz kolektora do bunara iznosi od 2,5 do 7 meseci (slika 29), a zavisi od udaljenosti mesta oštećenja kolektora u odnosu na bunar. Imajući u vidu da je vodonosni sloj heterogen, zagađenje se može pojaviti i za kraće vreme.

Neophodno je napomenuti da vreme transporta polutanata do vodozahvatnih objekata dobijeno proračunom, predstavlja prognozu sa određenim koeficijentom sigurnosti. Razlozi za to su pre svega u hidrodinamičkoj šematizaciji, gde je kompleks slojeva različitih filtracionih karakteristika u prirodi zamenjen jednim slojem sa karakteristikama dobijenim tariranjem na hidrodinamičkom modelu. Takođe, pretpostavka da nema razmene materije između rastvorene supstance i porozne sredine, dodatno utiče na brzinu kretanja fronta zagađenja dobijenu proračunom, pošto se time zanemaruje uticaj prečišćavajućeg potencijala sredine. Ovako simulirano kretanje polutanata se svodi na posmatranje kretanja čestice, tj. određivanje pravca i vremena kretanja čestice kroz poroznu sredinu (Anon, 1999). Dobijeni podaci iz modela su poslužili da se projektuje nadzorni monitoring zaleđa izvorišta "Ratnog ostrva" u periodu 2000-2001. godina, a zatim nakon provere i operativni monitoring celog prostora Ratnog ostrva.



Slika 28. Prikaz pravca i vremena (meseći) transporta zagađenja iz RNS (Anon, 1999)



Slika 29. Prikaz pravca i vremena (meseći) transporta zagađenja iz kolektora "Sever IV" pri niskom vodostaju Dunava $Z_{10\%}=72,60$ m n.v. (Anon, 1999)

2.6.3. Nadzorni i operativni monitoring

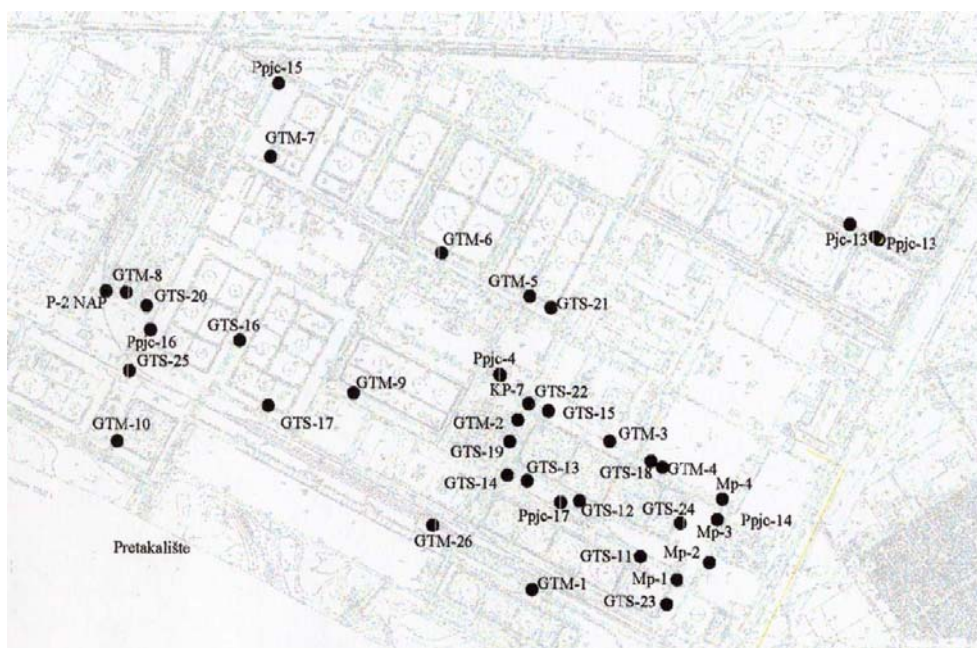
Na osnovu podataka istraživačkog monitoringa u periodu januar-oktobar 2000. godine projektovan je nadzorni monitoring koji je jednom mesečno obuhvatio ispitivanja (*Dalmacija i sar., 2000a, 2000b, 2000c; Đurendić, 2001; Agbaba i sar., 2001; Ivančev-Tumbas i sar., 2002*):

- podzemne vode u pijezometrima između ograde RNS i kolektora "Sever IV";
- podzemne vode u pijezometrima duž kolektora "Sever IV" i izvorišta "Ratno ostrvo" (slika 28);
- podzemne vode u pijezometrima u blizini reni bunara na potezu od BHD-6 do BHD-9;
- vode iz reni bunara od BHD-2 do BHD-9;
- podzemne vode u pijezometrima u zaleđu izvorišta "Ratno ostrvo";
- vode Dunava kod izliva kanalizacije "Sever IV" i
- vode i mulja u melioracionim kanalima na obodu i unutar prostora Ratnog ostrva.

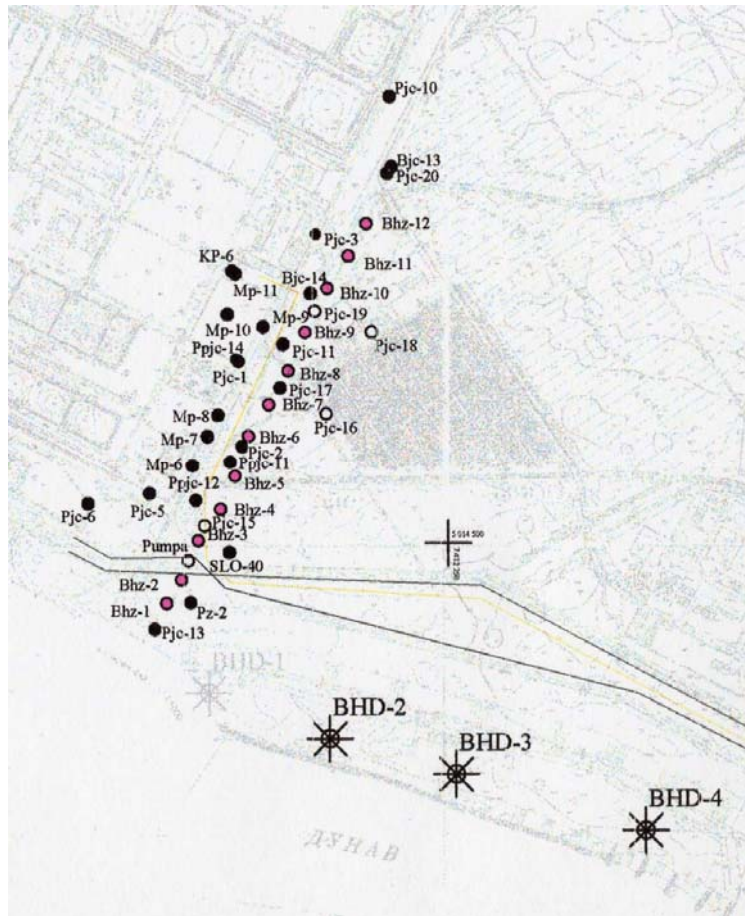
Operativni monitoring je organizovan na lokalitetu Rafinerije nafte "Novi Sad" i van njene teritorije, tj. na prostoru koji nije bio direktno pod uticajem izlivena nafte od novembra 2000. godine. Raspored mesta uzorkovanja dat je na slikama 30-34. Uzorkovanje i analiza podzemne vode je rađeno jednom mesečno.

Lokacije na kojima je praćen kvalitet vode tokom monitoringa podeljene su u nekoliko grupa:

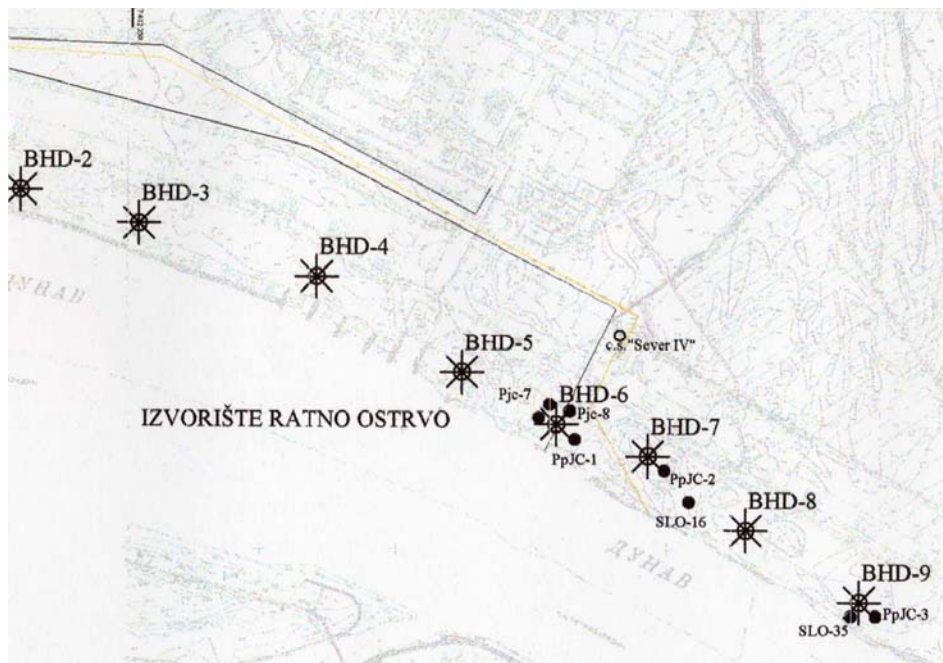
1. pijezometri locirani uz jugo-istočnu granicu Rafinerije,
2. pijezometri duž kolektora kišnih i prečišćenih zauljenih voda Rafinerije "Sever IV",
3. pijezometri u blizini bunara,
4. bunari,
5. reka Dunav i kanal DTD Savino Selo - Novi Sad,
6. zaleđe izvorišta.



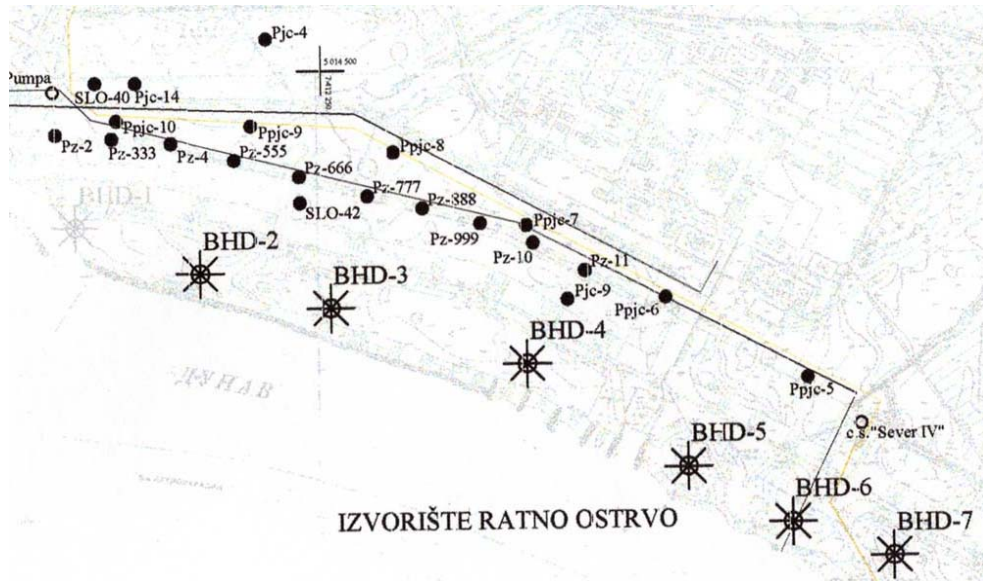
Slika 30. Pijezometri u Rafineriji nafte "Novi Sad"



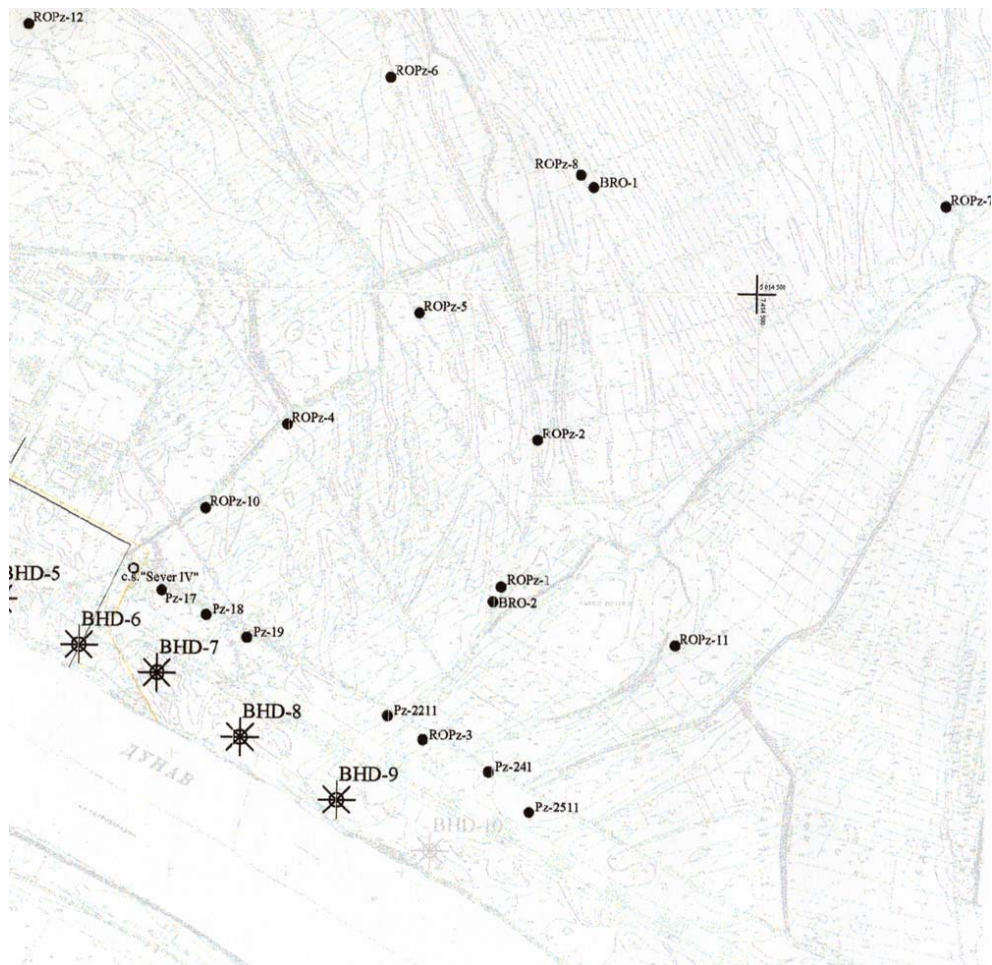
Slika 31. Pijezometri locirani duž južno-istočne granice Rafinerije. Na slici su prikazani i bunari hidrauličke barijere i deo pijezometra koji se nalaze u RNS



Slika 32. Pijezometri locirani pored reni bunara



Slika 33. Pijezometri locirani duž kolektora kišnih i prečišćenih zauljenih voda Rafinerije "Sever IV",



Slika 34. Pijezometri u zaleđu izvorišta

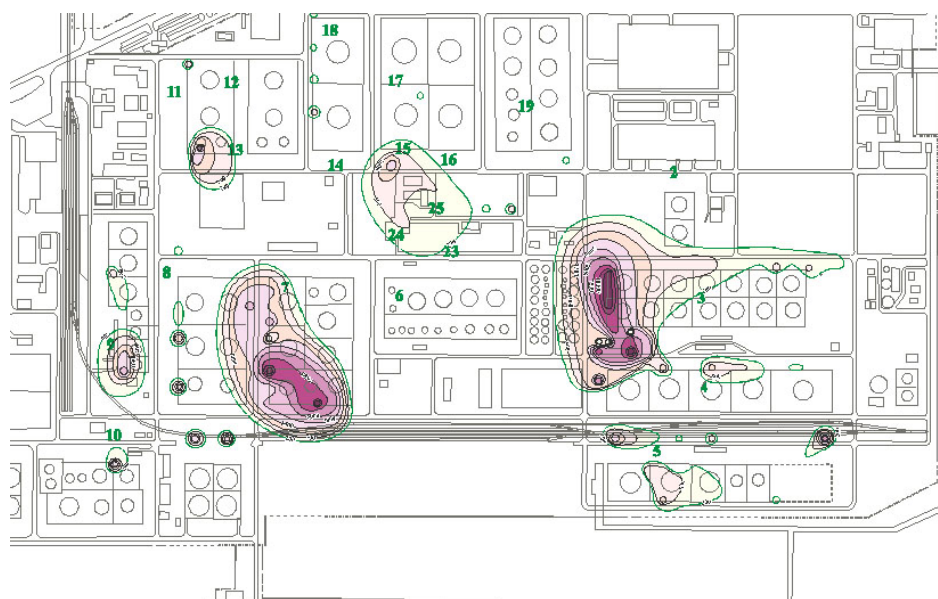
Konstatovano je fluktuiranje sadržaja mineralnih ulja u podzemnoj vodi dubokih pijezometara na teritoriji Rafinerije nafte. Pojava nešto viših vrednosti uočena je u Md-6, Md-7, Md-8 i Pjc-1 u odnosu na Kp-6, Pjc-5, Pjc-6 i Pjc-13. Najviše vrednosti ukupnih ugljovodonika su detektovane u vodi dubokih pijezometara Pjc-1, Md-6 i Md-7. Poznavajući način analitičkog određivanja ukupnih ugljovodonika, da ove vrednosti ustvari predstavljaju sadržaj ugljovodonika sa polarnim funkcionalnim grupama tipa $R=C=O$, $R-COOH$, $R-CHO$, $R-CH_2OH$ itd, može se pretpostaviti da je u zoni ovih pijezometara došlo do delimične mikrobiološke razgradnje nafte i derivata. Svi prikazani pijezometri se nalaze na obodu prostora koji je veoma zagađen naftom i derivatima.

Na lokaciji plitkih pijezometara koji se nalaze u unutrašnjosti Rafinerije a udaljeni su od jugo-istočne granice Rafinerije više od 400 m detektovane su visoke koncentracije ukupnih ugljovodonika i komponenti BTEX, naročito u vodi pijezometra Ppjc-16 (srednja vrednost oko 30 mg/l nafte i derivata i 10 g/l BTEX). Naravno da je u ovim pijezometrima detektovana i slobodna naftna faza. Ovi pijezometri se nalaze na mestima gde je došlo do izlivanja nafte i derivata.

U plitkim pijezometrima koji se nalaze na 200 m udaljenosti od jugo-istočne granice Rafinerije detektovani su nafta i derivati u koncentracijama koje su se kretale od 14 - 245 $\mu\text{g/l}$ (srednje vrednosti od 36 - 100 $\mu\text{g/l}$). Najviša koncentracija je bila u vodi pijezometra Mp-2, 245 $\mu\text{g/l}$ (avgust 2003). U ovom pijezometru su detektovane i najveće koncentracije BTEX od 140 $\mu\text{g/l}$ (avgust 2002), a kreću se u granicama od 93-140 $\mu\text{g/l}$. U ostalim pijezometrima u ovoj liniji nisu detektovane značajne koncentracije komponenti BTEX.

U pijezometrima koji su udaljeni 100 m od jugo-istočne granice Rafinerije, a najudaljeniji su od mesta gde je izlivena nafta i derivati, detektovane su nešto niže koncentracije nafte i derivata u odnosu na one koje se nalaze na 200 m.

Rezultati ovih ispitivanja su u saglasnosti sa ispitivanjima "Geotest" (Anon, 2001). Rezultati ispitivanja gasne faze i sadržaja isparljivih ugljovodonika u gasnoj fazi su prikazani na slikama 35 i 36. Ispitivanja ukazuju na moguće pravce kretanja nafte, a u skladu s time detektovana je pojava isparljivih ugljovodonika na dubini od 1 m ili 1,5 m u pravcu pijezometara Pjc-1 i Mp-9.

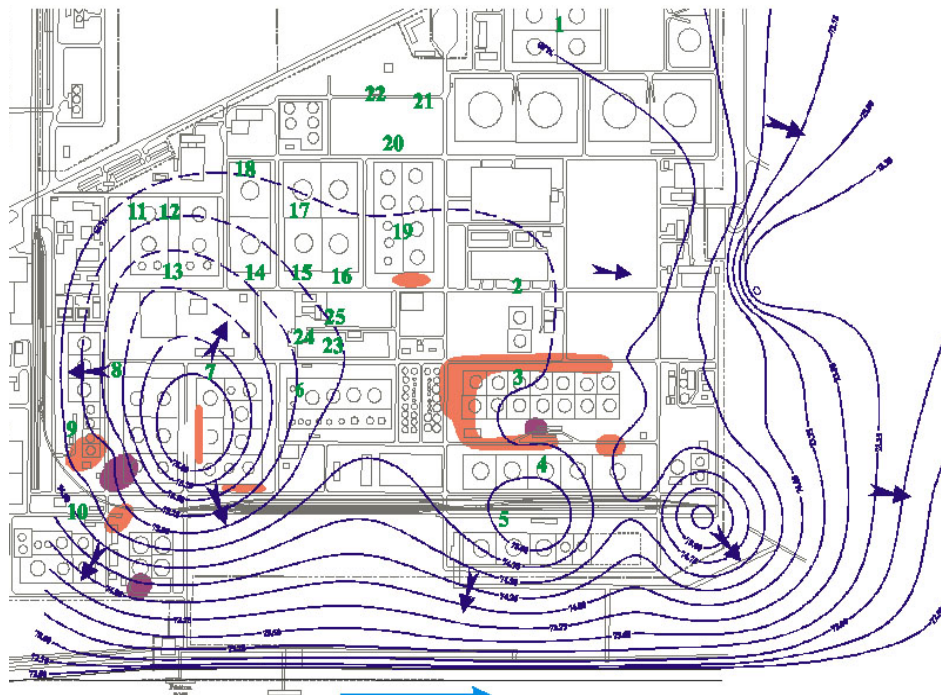


Slika 35. Sadržaj volatilnih ugljovodonika u gasnoj fazi na dubini od 1 m (Anon, 2001)



Slika 36. Sadržaj volatilnih ugljovodonika u gasnoj fazi na dubini od 1,5 m (Anon, 2001)

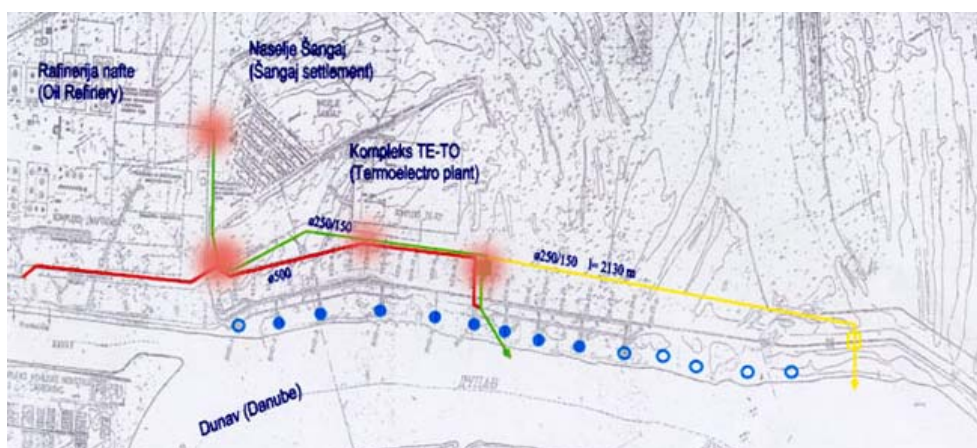
Po istraživanjima "Geotesta" mogući pravci kretanja nafte i derivata su prikazani na slici 37. Na osnovu ovih podataka i prvobitno postavljenog modela, slika 28 (Anon, 1999) može se zaključiti da je najugroženiji deo oko kanal DTD i pravac prema izvorištu i reni bunarima.



Slika 37. Mapa nivoa podzemnih voda sa konturama prostora koji je zagađen sa naftom. Strelice pokazuju moguće pravce kretanja zagađenja (Anon, 2001)

Uz jugo-istočnu granicu Rafinerije praćen je kvalitet vode u šest dubokih pijezometara: Pjc-2, Pjc-3, Pjc-10, Pjc-11, Pjc-16 i Pjc-20 i dva plitka Ppjc-11 i Ppjc-12. Više maksimalne vrednosti su detektovane u vodi Pjc-2 i Pjc-3 u januaru 2002. godine. Ove više vrednosti najverovatnije su posledica zagađenja koje je dospelo iz oštećenog kolektora "Sever IV" nego da su posledica zagađenja koje je transportovano podzemnom vodom iz Rafinerije. Na ovo ukazuju i podaci određivanja organohlornih VOC koje su mobilnije u vodenoj fazi u odnosu na naftu i derivate. Njihova pojava u ovoj zoni je bila sve do sanacije kolektora "Sever IV".

Kod pijezometara lociranih duž kolektora kišnih i prečišćenih zauljenih voda Rafinerije najviša srednja vrednost mineralnih ulja detektovana je na lokalitetu Ppjc-8 i Ppjc-9, najviša koncentracija komponenti BTEX na lokalitetu Ppjc-7 i SLO-40, a organohlornih VOC na lokalitetima pijezometara Ppjc-7, Ppjc-8, SLO-40 i PZ-2. Dobijene vrednosti ukazuju na moguća oštećenja kolektora "Sever IV" (sl. 38). Nakon ovih istraživanja kolektor je saniran u periodu februar 2002. do septembra 2003. godine. Još sedam meseci nakon prestanka rada kolektora pojavljivale komponente BTEX u podzemnoj vodi u blizini kolektora.



Slika 38. Moguća mesta prodora zagađenja iz kolektora "Sever IV"

Kod pijezometara lociranih u blizini bunara najviša koncentracija mineralnih ulja u podzemnoj vodi detektovana je na lokaciji Pjc-8 u blizini reni bunara BHD-6, zatim SLO-35 u blizini reni bunara BHD-9. Niske vrednosti mineralnih ulja su detektovane u plitkim pijezometrima (Ppjc-1 i 2) koji se nalaze između Dunava i reni bunara. Komponente BTEX su detektovane na lokaciji Pjc-8 sve do novembra 2002. godine.

Na osnovu prikazanih podataka i uvida u pojedinačne podatke (*Dalmacija i sar.*, 2000a, 2000b, 2000c; SDC/SDR, 2002) zaključeno je da je nakon izliva nafte kroz kolektor "Sever IV" u periodu 1999-2001. godine ovaj lokalitet bio ugrožen od nafte i derivata. Nakon toga, bilo zbog mehaničkog čišćenja ovog prostora, kako je to napred rečeno, bilo zbog ispiranja vodom Dunava usled oscilacija nivoa Dunava ili zbog bioremedijacionih procesa u ovom lokalitetu se smanjio sadržaj naftnih komponenti i organohlornih VOC.

Detektovane su neočekivano visoke vrednosti mineralnih ulja u podzemnoj vodi na lokacijama pijezometara koji se nalaze u zaleđu izvorišta, a dovoljno su udaljeni od mesta izlivanja nafte i derivata. Visoke vrednosti su detektovane u vodi ROPz-12 i ROPz-5. Komponente BTEX su detektovane 5 puta na lokaciji sva tri pijezometra. Pojava nafte i derivata može biti posledica korišćenja ovih pijezometara kao izvorišta vode jer se nalaze na

privatnim imanjima (ROPz-5), ne sme se zanemariti neovlašćeno izlivanje sadržaja septičkih jama ili nekog drugog otpada na prostoru Ratnog ostrva, a i na ivici ovog prostora prolazi naftovod prema Pančevu.

Srednja vrednost sadržaja mineralnih ulja u vodi ispitivanih reni bunara (izvorišta "Ratno ostrvo", zbirnih voda svih izvorišta ("Ratno ostrvo", "Petrovaradinska ada" i "Štrand") i prečišćene vode sa postrojenja "Štrand") se kretala od 12-29 $\mu\text{g/l}$, komponenti BTEX od 0-1,1 $\mu\text{g/l}$ i organohlornih VOC od 0-0,9 $\mu\text{g/l}$. Najčešće detektovana komponenta BTEX je toluen. Samo u jednom slučaju u zbirnoj vodi se pojavio benzen u februaru 2003. godine (1,5 $\mu\text{g/l}$). Uzrok pojave benzena u zbirnoj vodi su bunari koji se nalaze ispod izliva kolektora "Sever IV". U otpadnoj vodi iz kolektora povremeno je detektovan benzen.

U zbirnoj vodi svih izvorišta detektovane su niske vrednosti mineralnih ulja. U osam merenja srednja vrednost je iznosila 13 $\mu\text{g/l}$. U prečišćenoj vodi nakon filtracije srednja vrednost sadržaja mineralnih ulja je bila ispod MDK vode za piće, tj. 9 $\mu\text{g/l}$. Samo u jednom slučaju od šest ispitivanja ova vrednost je bila iznad MDK i to 16 $\mu\text{g/l}$ (novembar 2003). Samo u jednom slučaju detektovan je toluen 0,3 $\mu\text{g/l}$ (decembar 2003) daleko ispod MDK za vodu za piće. Od organohlornih VOC detektovan je samo hloroform, maksimalna vrednost 11 $\mu\text{g/l}$, srednja vrednost 2,7 $\mu\text{g/l}$. MDK za hloroform u vodi za piće je 40 $\mu\text{g/l}$.

Na osnovu napred izloženog može se zaključiti, da dolazi do povremenih proboja komponenti BTEX i organohlornih VOC u vodu za piće kao posledica ukupnog dešavanja na lokalitetu izvorišta "Ratno ostrvo", ali da su ove vrednosti najčešće ispod preporučenih vrednosti za vode za piće.

U toku dvogodišnjeg monitoringa (2001-2002) praćen je kvalitet sedimenta i vode u tri tipa vodotoka na području Ratnog ostrva:

1. reka Dunav kod:
 - Ratnog ostrva kod reni bunara BHD-2,
 - Ratnog ostrva nakon izliva prečišćenih zauljenih voda iz Rafinerije i atmosfere kanalizacije "Sever IV", kod reni bunara BHD-7,
 - Koviljskog rita, 1240 rkm,
 - kao reperi analizirani su profili kod Futoga i "Štranda".
2. kanal Dunav-Tisa-Dunav-Savino selo (kanal DTD) kod:
 - DTD-Ušće, 0+550 rkm,
 - DTD-Ponton, 0+650 rkm,
 - DTD-Kački most, 0+800 rkm.
3. melioracioni kanali na samom području Ratnog ostrva kod:
 - kanala kod ROPz-7,
 - kanala kod deponije sadržaja septičkih jama,
 - kanala crpne stanice "Kalište" i
 - Čuvarev kanal.

S obzirom na koncentraciju mineralnih ulja najkritičnijom se pokazala lokacija kanala kod deponije sadržaja septičkih jama i Čuvarev kanal naročito u 2002. godini.

Smanjenje sadržaja mineralnih ulja u vodi kod izliva kolektora "Sever IV" u toku 2002. godini je posledica prestanka ispuštanja otpadnih voda Rafinerije kroz ovaj kolektor i njihovo usmeravanje u Čuvarev kanal.

U 2001. godini koncentracija mineralnih ulja je u svim vodotocima ujednačena, dok se u 2002. godini opaža znatno veća koncentracija u vodi melioracionih kanala (posebno od II do

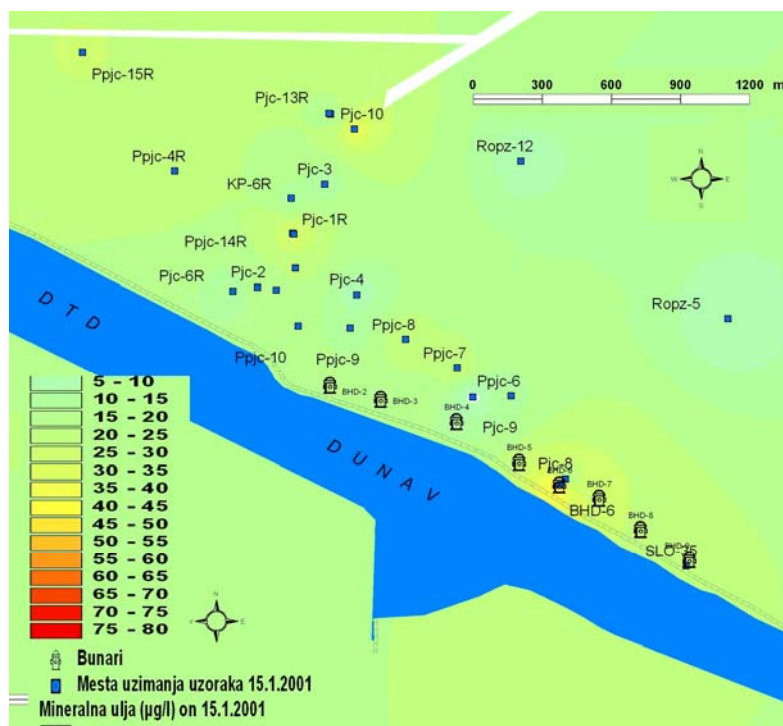
IV kvartala) kada je ona iznad vrednosti propisane Pravilnikom (*Sl. glasnik SRS, 31/82*) za I/II klasu ($50 \mu\text{g/l}$), do čega je možda došlo usled izmeštanja otpadnih voda Rafinerije NIS sa lokacije "Sever IV" u Čuvarev kanal.

Srednja dvogodišnja vrednost koncentracije mineralnih ulja je najveća u melioracionim kanalima i kanalu DTD i to oko dva puta veća od koncentracije u sedimentu Dunava. U 2002. godini došlo je do povećanja koncentracije na svim lokacijama, a posebno u sedimentu melioracionih kanala i kanala DTD.

Povećane vrednosti koncentracije svih jedinjenja sa ugljovodoničnom grupom i mineralnih ulja praćene su i povećanim koncentracijama polarnih jedinjenja sa ugljovodoničnom grupom u sedimentu melioracionih kanala u toku obe godine monitoringa, što ukazuje na prisustvo organskog zagađenja i dešavanje pasivne bioremedijacije na tom prostoru.

Rezultati monitoringa ukazuju na činjenicu da postoje trendovi pogoršanja kvaliteta podzemne vode sa izvorišta "Ratno ostrvo" u zoni kolektora i u zoni granice sa Rafinerijom. Pogoršanje kvaliteta vode Dunava je registrovano u zoni izlivanja otpadnih voda Rafinerije, što je povremeno uticalo na povećanje sadržaja mineralnih ulja u nizvodnim bunarima. Nakon sanacije kolektora "Sever IV" stanje u zoni između kolektora i bunara izvorišta se poboljšalo.

Na slikama od 39 - 42 prikazan je sadržaj mineralnih ulja u podzemnoj vodi na prostoru Ratnog ostrva u toku 2001. do kraja 2002. godine do perioda sanacije kolektora "Sever IV". Podaci prikazani na slikama potvrđuju da su radovi na sanaciji kolektora doprineli poboljšanju kvaliteta vode, bez obzira na kratkotrajno pogoršanje, uglavnom u pogledu sadržaja mineralnih ulja, registrovano uz kolektor. Prosečni sadržaj mineralnih ulja je nešto viši (iznad $30 \mu\text{g/l}$) kod objekata smeštenih uz kolektor nego u objektima duž jugoistočne granice sa Rafinerijom (gde se vrednosti kreću oko $20 \mu\text{g/l}$). Sličan sadržaj je i u pijezometrima uz bunare, a nešto niži u samim bunarima, Dunavu i zaleđu izvorišta.

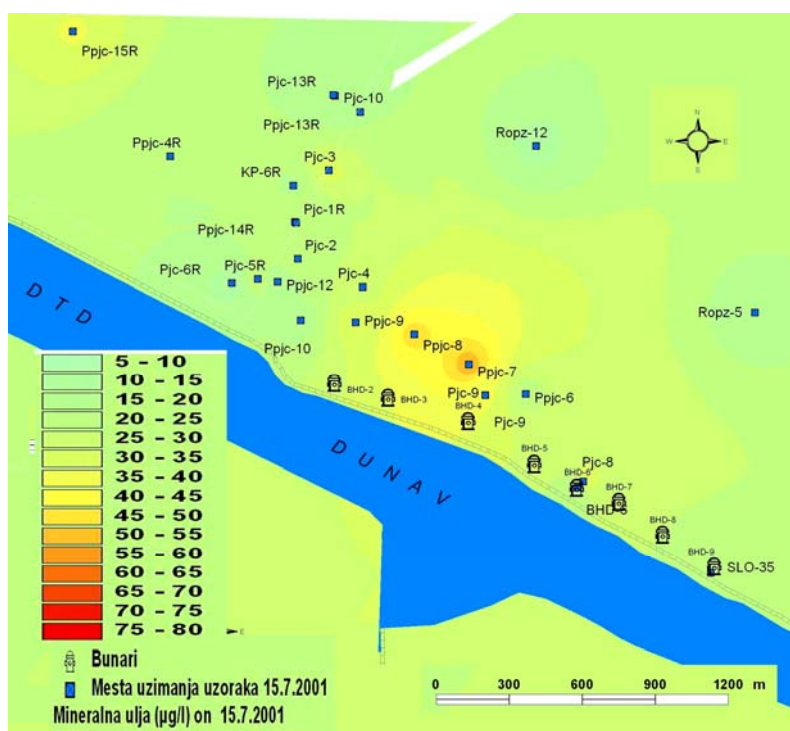


Slika 39. Sadržaj mineralnih ulja u podzemnoj vodi na prostoru Ratnog ostrva na početku 2001. godine

Kao polutanti koji se pojavljuju u dozvoljenim koncentracijama najčešći su benzen, 1,1,1-trihloretan, hloroform, povremeno 1,2-dihloretan i ostali predstavnici BTEX.

Kancerogeni benzo(a)piren detektovan je nekoliko puta i to na lokaciji PJC-2 u koncentraciji od 0,29 $\mu\text{g/l}$ u januaru 2001. godine, na PJC-9 u martu 2001. godine (0,21 $\mu\text{g/l}$), na PPJC-10 u julu 2002. godine (0,001 $\mu\text{g/l}$), u Dunavu u februaru 2001. godine ispod MDK vode za piće (0,003 $\mu\text{g/l}$), trag na bunaru BHD-6 u avgustu 2002. godine, i na SLO-35 u martu 2001. godine u koncentraciji od 0,011 $\mu\text{g/l}$.

Iznad MDK detektovani su i benzen, etilbenzen (koji prati zagađenje benzenom), 1,2-dihloretan i hloroform.



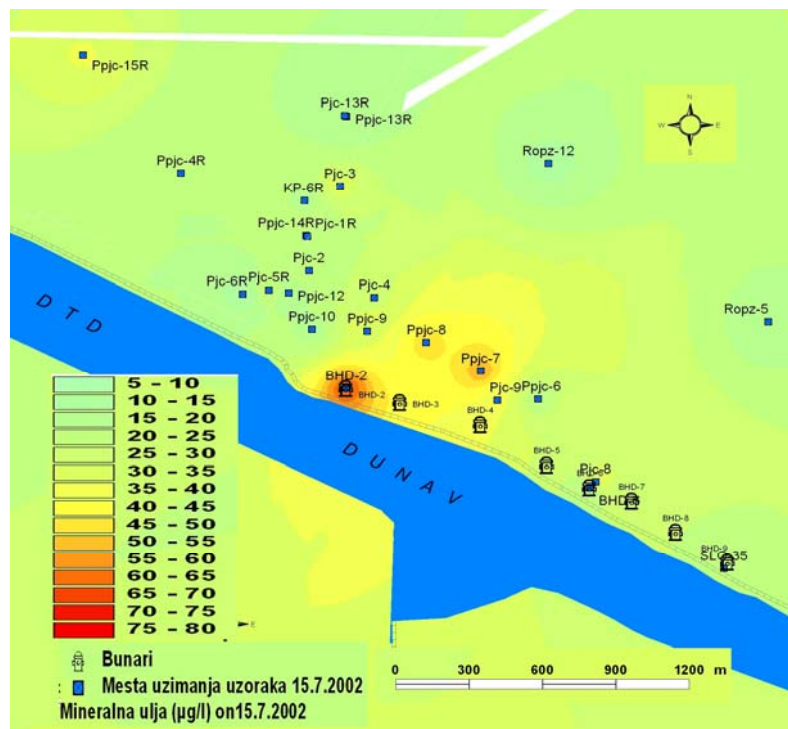
Slika 40. Sadržaj mineralnih ulja u podzemnoj vodi na prostoru Ratnog ostrva u julu 2001. godine

2.7. Mikrobiološko-ekološka ispitivanja podzemnih voda iz piježometara - mogućnost pasivne bioremedijacije

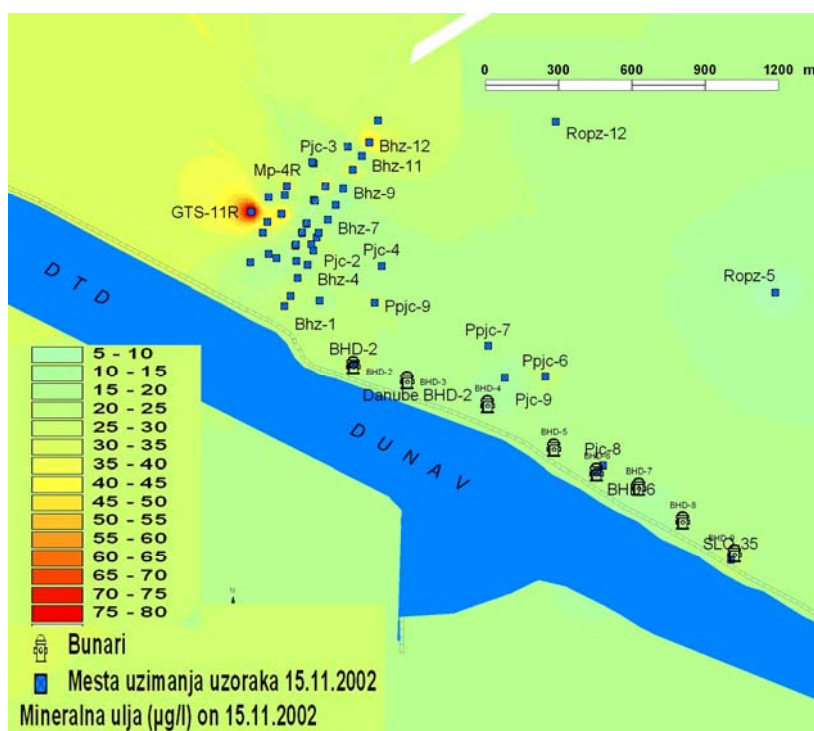
Da bi se dokazalo prisustvo procesa prirodne bioremedijacije treba pokazati ne samo da je smanjena koncentracija zagađenja, već da je zagađenje razgrađeno mikrobiološkim putem, a ne drugim procesima. Bez evidencije o učešću mikroorganizama, nema načina da se opravdano tvrdi da zagađenje nije jednostavno isparilo, migriralo, vezalo se za podzemlje ili promenilo oblik kroz abiotičke hemijske reakcije.

Na lokalitetu Ratno ostrvo su u ispitivanjima decembar 2000. - novembar 2001. godine uočene zavisnosti broja bakterija od koncentracije supstrata (*Dalmacija i sar.*, 2004). Utvrđeno je da postoji linearna zavisnost između broja aerobno mezofilnih bakterija, s jedne

strane, i sadržaja ukupnog organskog ugljenika (TOC), mineralnih ulja, ukupnih ugljovodonika i komponenti BTEX (samo pri visokim koncentracijama), s druge strane. U vodi dubokih pijezometara u većem broju slučajeva postoji zavisnost između TOC i broja organotrofa. Zavisnost IFA od sadržaja organskih materija u podzemnoj vodi je konstatovana samo na lokaciji plitkih pijezometara i to za odnos IFA i TOC, IFA i komponenti BTEX i IFA i sadržaja mineralnih ulja i ukupnih ugljovodonika. Posmatrajući odnos broja ugljovodonikoksidujućih bakterija na podlozi MSWYE i sadržaja TOC, komponenti BTEX i mineralnih ulja u vodi na lokaciji plitkih pijezometara utvrđeno je da pri visokim vrednostima ovih zagađenja u podzemnoj vodi raste i brojnost ugljovodonikoksidujućih bakterija kultivisanih na MSWYE podlozi. Takođe, uočeno je da postoji zavisnost broja ovih mikroorganizama od koncentracije mineralnih ulja, ali samo za duboke pijezometre koji su se nalazili duž kolektora "Sever IV". Posmatrajući odnos broja bakterija kultivisanih na specijalnoj podlozi Tauson koja sadrži u susprstratu kao izvor ugljenika samo naftu i derivate uočeno je da zavisnost postoji samo između broja ovih mikroorganizama i koncentracije mineralnih ulja u vodi na lokacijama dubokih pijezometara koji su u blizini kolektora "Sever IV". Podzemna voda u dubokim pijezometrma u Rafineriji nije sadržavala bakterije koje su mogle rasti na Tauson podlozi. Ovi podaci ukazuju da se na prostoru Rafinerije pojavilo sveže zagađenje sa ugljovodonicima (u toku 1999.-2000. godine) te prisutna autohotna mikroflora u dubokim pijezometrma nije se dovoljno adaptirala na ovu vrstu zagađenja. Ova adaptacija se već desila u toku ovog vremena u vodi plitkih pijezometara, jer su mineralna ulja dospela do te dubine u većim količinama već u prvim trenucima izlivanja nafte i derivata na tlo u Rafineriji. Na prostoru oko kolektora "Sever IV" zbog ranijih oštećenja kolektora i procurivanja nafte i derivata dublje u podzemlje adaptacija bakterija u tim slojevima je mnogo ranije postignuta.



Slika 41. Sadržaj mineralnih ulja u podzemnoj vodi na prostoru Ratnog ostrva u julu 2002. godine



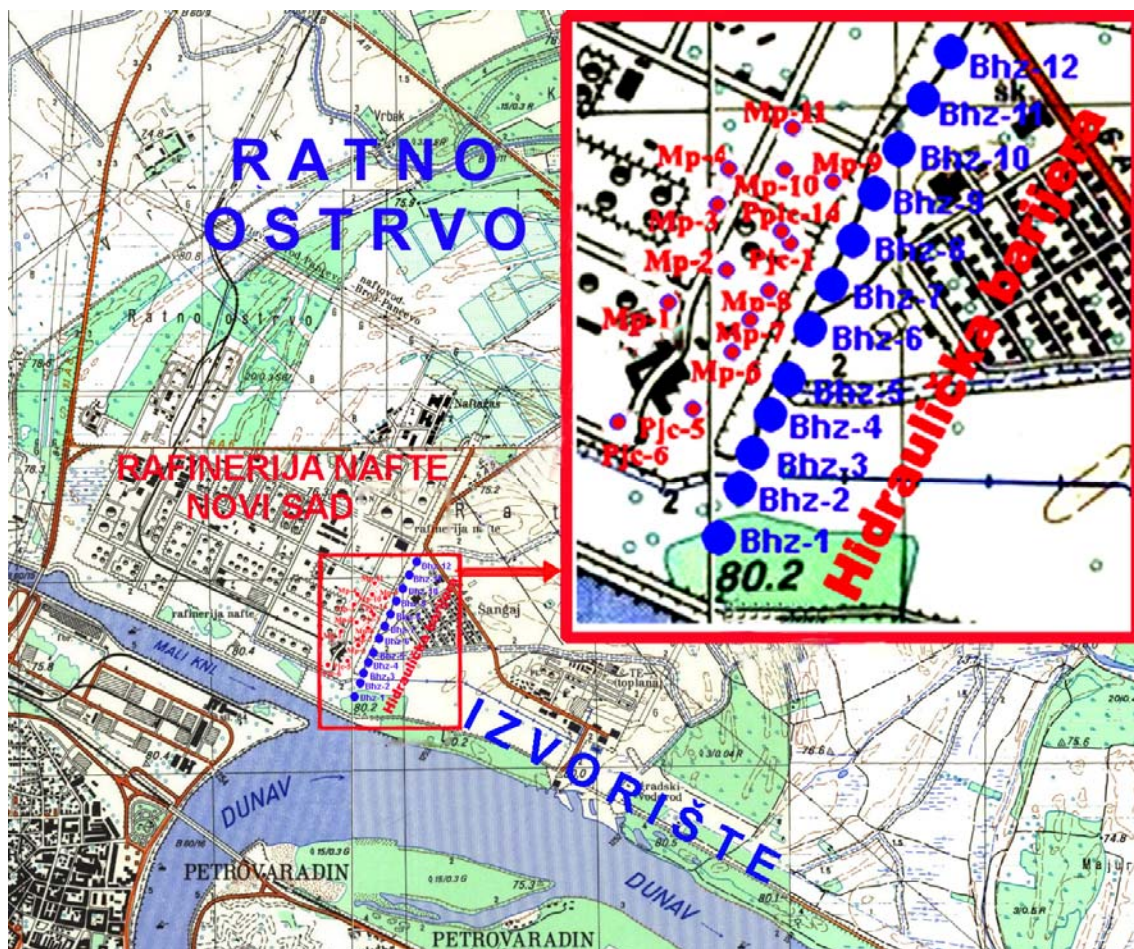
Slika 42. Sadržaj mineralnih ulja u podzemnoj vodi na prostoru Ratnog ostrava na kraju 2002. godine

U narednim ispitivanjima (januar 2002. - novembar 2002. godine) nije konstatovana zavisnost između sadržaja mineralnih ulja i ukupnih ugljovodonika sa brojem mezofilnih bakterija i TOC u vodi plitkih pijezometara. Ovo može biti posledica prestanka tečenja otpadnih voda Rafinerije nafte kroz kolektora "Sever IV" u februaru 2002. Na taj način je smanjen konstantan priliv zagađenja u područje oko kolektora, kroz njegova oštećenja. Jedino je konstatovano kao u predhodnom vremenskom periodu da postoji određena zavisnost između sadržaja BTEX i broja aerobnih mezofila pri višim koncentracijama komponenti BTEX u podzemnoj vodi. U podzemnoj vodi na lokaciji dubokih pijezometara dobijene su bolje zavisnosti između sadržaja TOC i ukupnih ugljovodonika sa brojem aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na predhodni period, posebno kada su u pitanju pijezometri koji su bili još pod uticajem zagađenja. Nije konstatovana ni zavisnost između broja organotrofa i sadržaja ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u podzemnoj vodi na lokacijama plitkih i dubokih pijezometara. Najverovatnije niske koncentracije mineralnih ulja i ukupnih ugljovodonika (opseg nekoliko desetina $\mu\text{g/l}$) u odnosu na ostale organske materije (opseg oko nekoliko mg/l) ne utiče presudno na rast organotrofa u podzemnoj vodi. U navedenom periodu ni za ugljovodonik-oksidujuće bakterije nisu uočene zavisnosti od koncentracije supstrata.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Ispitivanje prirodne bioremedijacije podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo

Pošto se u ranijim ispitivanjima lokaliteta Ratno ostrvo (1999.-2002. godina) došlo do saznanja da je koncentracija ugljovodonika u široj zoni izvorišta, nakon sanacije kolektora zauljenih otpadnih voda Rafinerije nafte, u visini prirodnog fona, sprovedeno je ispitivanje granične zone izvorišta i Rafinerije nafte, gde su i dalje registrovane povišene koncentracije ugljovodonika (*Dalmacija i sar., 2004; slika 43*).



Slika 43. Granična zona izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte Novi Sad

Cilj je utvrditi da li podzemna voda izvorišta poseduje autopurifikacionu moć, odnosno, da li teče proces prirodne bioremedijacije pod dejstvom abiotičkih i biotičkih faktora sredine, da bi definisali da li pasivna bioremedijacija može uspešno da ukloni zagađenje.

Sadržaj ukupnih ugljovodonika, mineralnih ulja, komponenti BTEX, VOC, brojnost određenih grupa bakterija (organotrofi, fakultativni oligotrofi, lipolitske bakterije, ugljovodonik-oksidujuće bakterije), kao i indeks fosfatazne aktivnosti u podzemnoj vodi u plitkim i dubokim pijezometrima u jugoistočnoj zoni Rafinerije nafte nizvodno od izvora zagađenja u pravcu izvorišta, u bunarima hidrauličke barijere smeštene u graničnoj zoni izvorišta i Rafinerije nafte, u pijezometrima duž kolektora zauljenih i otpadnih voda Rafinerije nafte i u pijezometrima u zaleđu izvorišta praćeni su u periodu od avgusta 2002. do februara 2006. godine (slike 30-34, 43 i 44, tabela 6).

Ispitivanje podzemnih voda je uglavnom obuhvatilo gornji akvifer, čija je dubina do 25 m, sa vrhom blizu površine tla. Praćen je kvalitet vode sledećih objekata:

1. Hidraulička barijera - niz 12 cevastih bunara opremljenih potapajućim bunarskim pumpama, sa ulogom da onemoguće eventualni prodor zagađenja iz pravce Rafinerije ka vodozahvatnim bunarima prepumpavanjem zagađene vode u Dunav. Barijera je postavljena uz istočnu granicu Rafinerije u dužini od oko 740 m, uz međusobno rastojanje bunara 50-70 m. Dubina bunara iznosi prosečno oko 27 m, a nazivni prečnik konstrukcije je Ø300 mm. Filterski deo je postavljen duž kompletnog profila vodonosne serije. Oznake bunara hidrauličke zavese su: Bhz-1, Bhz-2, Bhz-3, Bhz-4, Bhz-5, Bhz-6, Bhz-7, Bhz-8, Bhz-9, Bhz-10, Bhz-11 i Bhz-12.
2. Pijezometri u Rafineriji nafte - oko 100-300 m ispred hidrauličke barijere u blizini jugoistočne granice Rafinerije - duboki: Pjc-1, Pjc-5, Pjc-6, Md-6, Md-7, Md-8 i Kp-6; plitki: Mp-1, Mp-2, Mp-3, Mp-4, Mp-5, Mp-6, Mp-7, Mp-8, Mp-9, Mp-10, Mp-11, Ppjc-14, GTS-11, GTS-23, GTS-24
3. Pijezometri u široj zoni Ratnog ostrva - duboki Pjc-12 i ROPZ-12.
4. duž kolektora "Sever IV" i izvorišta "Ratno ostrvo" - duboki: Pjc-2, Pjc-3, Pjc-4, Pjc-8, Pjc-9, PZ-333, PZ-17, ROPZ-3; plitki: Ppjc-7, Ppjc-10, Ppjc-11 i Ppjc-12

Duboki pijezometri (sa oznakom Pjc i Md) su prosečne dubine oko 18 m, uz prečnik cevne konstrukcije 50 ili 80 mm. Filterska konstrukcija dužine oko 3 m, tako da filter ne doseže do nivoa podzemne vode, se nalazi u šljunkovito peskovitom sloju u kome su i drenovi bunara izvorišta. U ovim pijezometrima se ne može konstatovati pojava slobodne faze (plivajuća faza) naftnih zagađivača.

Plitki pijezometri su dubine od 6 do 12 m. Razlikujemo dve grupe:

- sa oznakom Ppjc - dubine 8-12 m sa filterskom konstrukcijom pri dnu pijezometra, bez perforacije u zoni oscilacije podzemne vode (ne može konstatovati pojava slobodne faze)
- sa oznakom Mp i GTS - za istraživanje prisustva slobodne faze, dubine 6 m sa perforacijom u zoni oscilacije nivoa podzemne vode (ne mogu poslužiti za detektovanje zagađenja u akviferu iz koga se uzima voda za vodosnabdevanje)

Da bi se procenila pasivna bioremedijacija na lokalitetu Ratno ostrvo neophodno je pokazati ne samo da dolazi do smanjenja koncentracije zagađujućih materija ili da je

zagađenje lokalizovano i da ne prodire u nezagađenu zonu, već je neophodno pokazati da su bakterije odgovorne za te procese.



Slika 44. Položaj kolektora zauljenih i otpadnih voda Rafinerije nafte

Procedura uzorkovanja je bila takva da je pre uzimanja uzoraka vršeno merenje nivoa podzemne vode. Nakon toga ispumpano je tri do pet zapremina pijezometra tj. pupano je do konstantne temperature vode. Uzorkovanje je vršeno pomoću GRUNDFOS PB-048 pumpe.

Tabela 6. Mesta uzorkovanja podzemne vode i frekvencija uzorkovanja

Merna mesta i frekvencije uzorkovanja bunara hidrauličke barijere i pijezometara na prostoru Ratnog ostrva		Pijezometri u Rafineriji plitki		Pijezometri u Rafineriji duboki	
		Mp-1	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003.	Md-6	1m: XI 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003. 2m: III 2005.-I 2006.
Mp-2	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003.	Md-7	1m: XI 2002.-VIII 2003. 2m: X 2003.-I 2005.		
Mp-3	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003.	Md-8	1m: XI 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003. 2m: IV 2005.-II 2006.		
Mp-4	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003.	Pjc-1	1m: VIII 2002.-III 2003. 2m: IX 2003.-I 2006.		
Mp-5	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003. 2m: IV 2005.-II 2006.	Pjc-5	1m: VIII 2002.-III 2003. 2m: X 2003.-II 2006.		
Mp-6	1m: VIII 2002.-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	Pjc-6	1m: VIII 2002.-IX 2003. 2m: XI 2003.-II 2005.		
Mp-7	1m: VIII 2002.-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2005.	Kp-6	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: VI-VIII 2003.		
Bunari hidrauličke barijere		Mp-8	1m: VIII 2002.-IX 2003. 2m: XI 2003.-II 2006.	Pijezometri duž kolektora	
BHZ-1	1m: VIII 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	Mp-9	1m: VIII 2002.-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2005.	Ppjc-12	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003.
BHZ-2	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: IV-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2006.	Mp-10	1m: V-VIII 2003.	Ppjc-11	1m: VIII 2002.-II 2003. 3m: IV-XII 2004.
BHZ-3	1m: VIII 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	Mp-11	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: V-VIII 2003.	Ppjc-10	2m: IX-XI 2002. 3m: IV 2004.-I 2005.
BHZ-4	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: IV-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2006.	Ppjc-14	1m: VIII 2002.-III 2003. 2m: III 2005.-I 2006.	Ppjc-7	2m: IX 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 3m: XI 2003.-I 2006.
BHZ-5	1m: VIII 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	GTS-11	1m: VIII 2002.-II 2003.	Pjc-9	2m: IX-XI 2002. 1m: III 2003. 1m: X-XI 2003. 3m: I 2004.-I 2005.
BHZ-6	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: IV-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2006.	GTS-23	1m: VIII 2002.-II 2003.	Pjc-8	2m: IX-XI 2002.
BHZ-7	1m: VIII 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	GTS-24	1m: VIII 2002.-II 2003.	Pjc-4	2m: IX-XI 2002.
BHZ-8	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: IV-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2006.	Šira zona Ratnog ostrva		Pjc-3	1m: VIII 2002.-II 2003.
BHZ-9	1m: VIII 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	Pjc-12	4m: X 2003.-XII 2005.	Pjc-2	2m: IX-XI 2002.
BHZ-10	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: IV-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2006.	Ropz-12	2m: IX-XI 2002. 1m: V-VIII 2003. 3-6m: X 2003.-II 2006.	Pz-17	3m: III-XII 2005.
BHZ-11	1m: VIII 2002.-III 2003. 1m: V-IX 2003. 2m: XI 2003.-I 2006.	Zbirni uzorak		Ropz-3	3m: III-XII 2005.
BHZ-12	1m: VIII 2002.-II 2003. 1m: IV-VIII 2003. 2m: X 2003.-II 2006.	R.ostrvo	1m: VIII 2002.-II 2006.	Pz-333	2m: I-III 2003. 2m: IX 2003.-I 2004.

Legenda:

1m – mesečno

2m - svaka 2 meseca

3m – svaka 3 meseca

4m – svaka 4 meseca

Hemijski parametri kvaliteta podzemne vode su analizirani prema frekvenciji datoj u tabeli 7.

Tabela 7. Frekvencija analize hejjskih parametara kvaliteta podzemne vode

Naziv parametra		Frekvencija analiza
ukupni ugljovodonici i mineralna ulja		- svaki put
benzo(a)piren		- 1 x godišnje u plitkim pijezometrima u Rafineriji i po potrebi
BTEX	benzen	- dvomesečno u bunarima zavese i pijezometrima u Rafineriji, u zbirnoj vodi sa izvorišta Ratno ostrvo - 2 x godišnje u pijezometrima duž kolektora - 1 x godišnje u pijezometrima u široj zoni RO
	etilbenzen	
	toluen	
	ksilen	
VOC	1,2 dihloretan (EDC)	
	1,1,1 trihloretan	
	dihlormetan	
	hloroform	
	tetrahloretalen	
	trihloretalen	
Organskih profil vode		- 1 x godišnje u plitkim pijezometrima u Rafineriji i po potrebi

3.2. Ispitivanje tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode sa lokaliteta Ratno ostrvo na laboratorijskom postrojenju

Ispitivana je tehnička in-situ bioremedijacija zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte, koja podrazumeva in-situ biostimulaciju u sloju zemljišta sa i bez ex-situ tretmana podzemne vode (“ispumpaj i biološki tretiraj”, eng. pump-and-biotreat).

Za ispitivanje tehničke bioremedijacije zemljišta zagađenog naftom i derivatima nafte korišćena je mešavina zagađenog zemljišta iz kruga Rafinerije nafte Novi Sad, koje je odloženo na deponiju formiranu u tankvani N 8.

Tehnička bioremedijacija se sastojala iz tri varijante:

1. zasićenje vode sa maksimalnom količinom kiseonika,
2. dodatak kiseonika u obliku magnezijum-peroksida i
3. razgradnja nafte u vodenoj fazi, proizvodnja mikroorganizama i zasićenje vode kiseonikom.

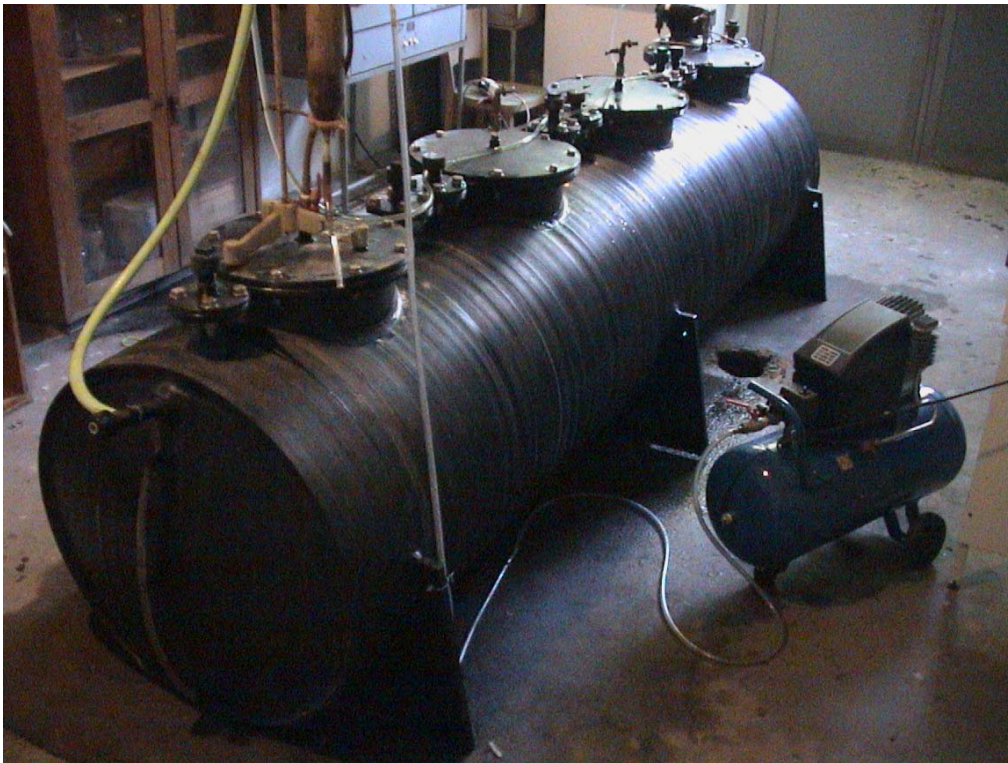
3.2.1. Opis laboratorijskog istraživačkog postrojenja

Za ispitivanje korišćen je REAKTOR cilindričnog oblika dužine 3,2 m i prečnika 0,8 m (u daljem tekstu: reaktor, slika 45). U sastav reaktora ulazi 5 pijezometara za praćenje stanja podzemne vode, tri otvora za uzorkovanje zemljišta i 4 tuša za nalivanje vode po površini zemljišta (slika 46).

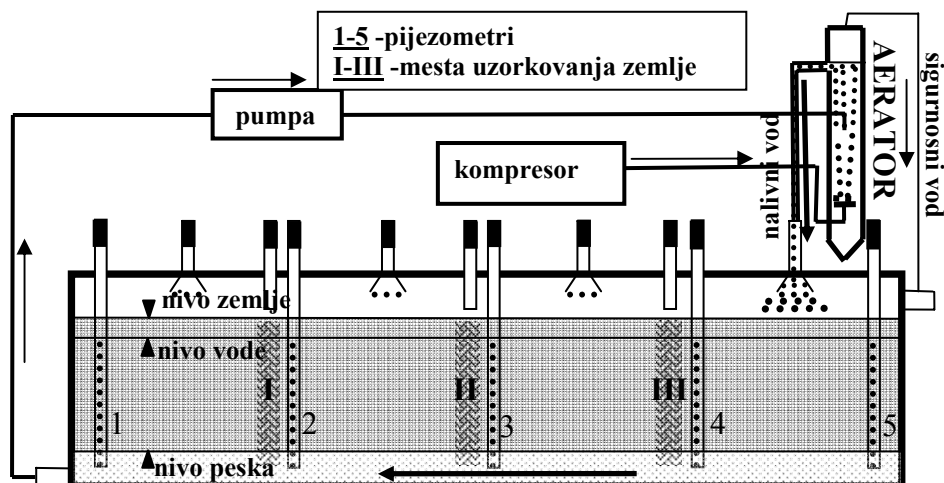
U reaktor je prvo postavljen sloj peska debljine 10-15 cm, a potom sloj zemlje zagađene naftom i derivatima debljine 45-50 cm (oko 1150 kg zemlje). Dodato je 250 litara podzemne vode sa lokaliteta odakle potiče zemlja, ali iz nezagađene zone. Za recirkulaciju vode korišćena je membranska pumpa.

U prvoj varijanti tehničke bioremedijacije voda iz reaktora se odvodi u AERATOR zapremine 2,7 litara (u daljem tekstu: aerator, slika 47), gde se zasićuje sa maksimalnom količinom kiseonika, i naliva se po površini zemlje na početku reaktora, kako bi se obezbedio front kiseonika koji se kreće kroz zagađeno zemljište i time ubrzala biodegradacija (slika 46) - *in-situ biostimulacija nalivanjem aerisane vode*.

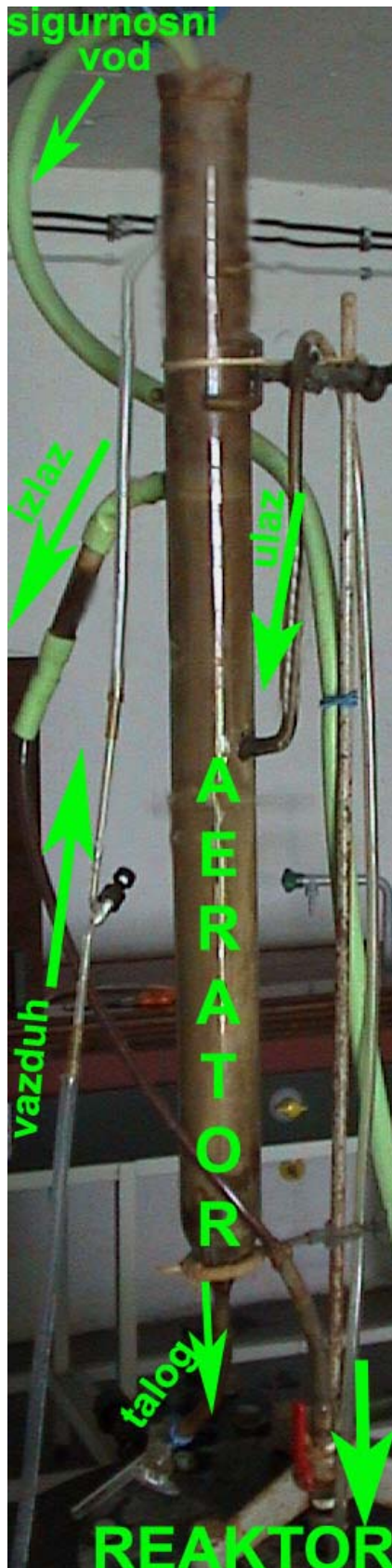
U drugoj varijanti tehničke bioremedijacije u zemlju u reaktoru postavljen je PIJEZOMETAR SA MAGNEZIJUM-PEROKSIDOM, čijom razgradnjom bi se obezbedio kiseonik u sloju zemljišta (slika 48) - *in-situ biostimulacija magnezijum-peroksidom*.



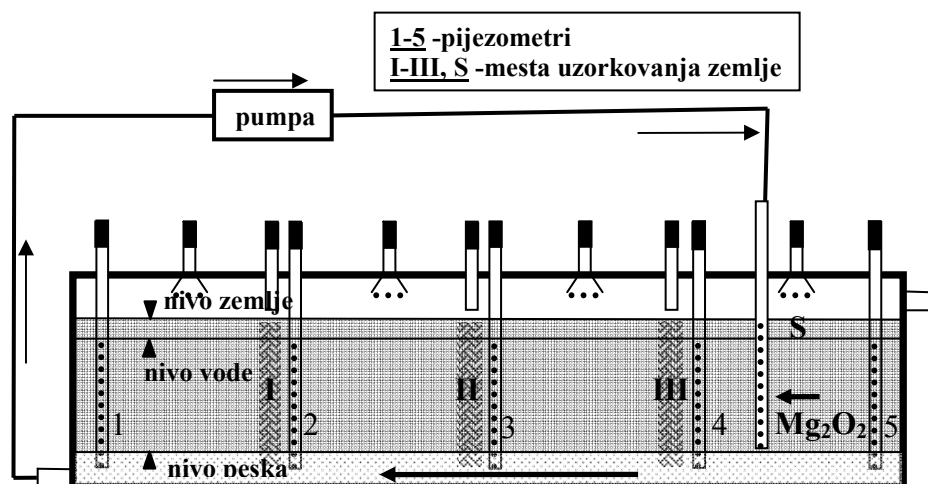
Slika 45. Reaktor za ispitivanje tehničke in-situ bioremedijacije zemljišta



Slika 46. Laboratorijski uređaj za ispitivanje bioremedijacije zemljišta zagađenog naftom i derivatima nafte – I varijanta



Slika 47. Reaktor sa aeratorom i membranskom pumpom

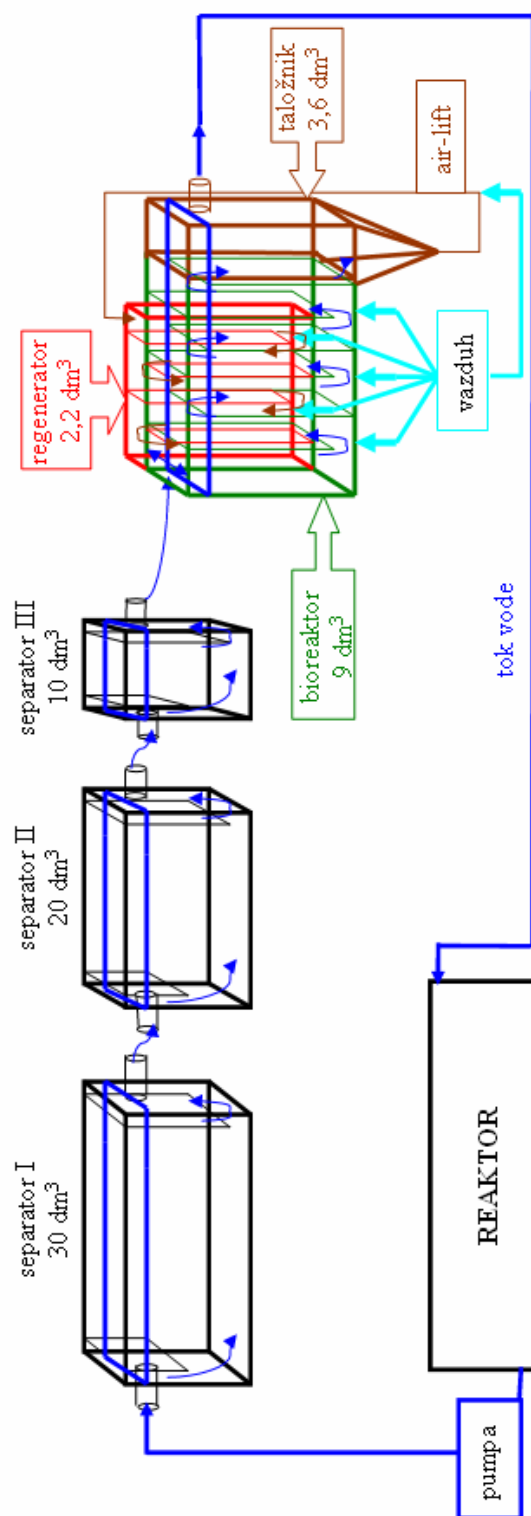


Slika 48. Laboratorijski uređaj za ispitivanje bioremedijacije zemljišta zagađenog naftom i derivatima nafte – II varijanta

U trećoj varijanti tehničke bioremedijacije voda iz reaktora se odvodi na postrojenje sastavljeno od 3 separatora slobodne faze (10, 20 i 30 litara), BIOREAKTORA (u daljem tekstu: bioreaktor; 9 litara, slika 49), taložnika (3,6 litara) i regeneratora mulja (2,2 litra) i naliva se po površini zemlje na početku reaktora (slika 50) - *in-situ* biostimulacija nalivanjem aerisane vode bogate bakterijama uz *ex-situ* biološki tretman podzemne vode.



Slika 49. Bioreaktor za tretman ispumpane vode zagađene naftom i derivatima



Slika 50. Laboratorijski uređaj za ispitivanje bioremedijacije zemljišta zagađenog naftom i derivatima nafte – III varijanta

3.2.2. Plan eksperimenta

U tabeli 8 prikazan je plan eksperimenta. Varijante su podeljene na faze, pri čemu fazu karakteriše dnevna količina recirkulisane vode. Primenjene su brzine kretanja vode kroz zemlju u opsegu $1,5-22 \times 10^{-7}$ m/s, pošto su infiltracione karakteristike zemljišta na zagađenom lokalitetu $1,3-9,6 \times 10^{-7}$ m/s (*Studija, 1999*).

Brzina kretanja vode kroz zemlju izračunava se prema formuli:

$$v = \frac{Q}{A} \text{ [m/s]}$$

gde je: Q – količina protekle vode (m^3/s), A = $0,35 \text{ m}^2$ – površina poprečnog preseka zemlje

Tabela 8. Varijante i faze eksperimenta

Varijante	Faze	Dani eksperimenta	Trajanje faze (br.dana)	Količina recirkulisane vode [l/dan]	Brzina kretanja vode kroz zemlju $\times 10^{-7}$ [m/s]
I AERATOR	I-1	0-54	54	5,3	1,75
	I-2	54-107	53	17	5,5
	I-3	107-173	66	23	7,5
	I-4	173-306	133	58	19
II Mg ₂ O ₂	II-1	306-453	147	68	22
III BIOREAKTOR	III-0	453-498	45	7,5	2,5
		498-546	48	48	16
	III-1	546-566	20	9,5	3
	III-2	571-587	16	18,5	6
	III-3	587-631	44	32,5	11
	MAX	631-685	54	16,5-27	5,5-9

III-0 - početna adaptacija mikroflora

MAX - period uspostavljanja maksimalno mogućeg protoka, koji opada zbog smanjenja propustljivosti zemljišta za fluide

U trećoj varijanti primenjena je inicijalna bioaugmentacija – bioreaktor je zasejan mikroflorom komunalne otpadne vode i sojevima izolovanim iz vode API separatora postrojenja za tretman otpadnih voda Rafinerije nafte Novi Sad, Dunava kod CS Sever IV (izliv otpadnih voda Rafinerije nafte), pijezometara u Rafineriji nafte gde su detektovani ugljovodonici (Pjc-5, Mp-7) i iz aeratora primenjenog u I varijanti tehničke bioremedijacije.

Sve vreme trajanja eksperimenta voda iz reaktora, koja je trošena za analize ili se gubila isparavanjem, je nadoknađivana kroz nalivne tuševе, čime su simulirane padavine, a i eliminisan je uticaj koncentrisanja zagađenja u vodi usled smanjenja zapremine.

Parametri mereni u toku eksperimenta, kao i broj merenja po mernim mestima i varijantama su prikazani u tabeli 9. Vrednosti prikazane u disertaciji uglavnom predstavljaju srednje vrednosti merenih parametara po fazama eksperimenta.

Tabela 9. Mereni parametri i broj merenja po merrim mestima i varijantama
BROJ MERENJA "n"

MERENI PARAMETRI	I varijanta						II varijanta						III varijanta						
	reaktor			aerator			reaktor			aerator			reaktor			bioreaktor			
	zemlja I,II,III	zemlja S	voda Pz 1-5	voda talog	zemlja I,II,III	zemlja S	voda Pz 1-5	zemlja	zemlja S	voda Pz 1-5	aerator voda	zemlja	zemlja S	voda	zemlja	voda	ulaz	bio-reaktor	izlaz
Temperatura	-	-	17	-	-	-	16	-	-	-	9	-	-	-	-	1	-	9	-
Aktivna kiselost (pH u H ₂ O)	6	4	18	-	3	4	17	-	3	4	11	5	-	-	-	3	11	11	11
Supstituciona kiselost (pH u KCl)	6	4	-	-	3	4	-	-	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Elektroprovodljivost	-	-	18	-	-	-	17	-	-	-	11	5	-	-	-	3	11	11	11
Rastvoreni kiseonik	-	-	15	-	-	-	21	-	-	-	14	3	-	-	-	3	11	11	11
Amonijak	6	4	14	-	3	4	13	-	3	4	4	3	-	-	2	11	-	-	11
Nitrati	6	4	14	-	3	4	14	-	3	4	3	3	-	-	2	11	-	-	11
Nitriti	sa NO ₃	sa NO ₃	14	-	sa NO ₃	sa NO ₃	14	-	sa NO ₃	sa NO ₃	3	2	-	-	2	11	-	-	11
Organski azot	6	4	9	-	3	4	8	-	3	4	3	2	-	-	-	-	-	-	-
Ukupan fosfor	6	4	14	-	3	4	14	-	3	4	3	2	-	-	2	11	-	-	11
Orto-fosfati	-	-	8	-	-	-	8	-	-	-	4	3	-	-	-	2	11	-	11
Survi ostatak i vlaga	6	4	-	-	3	5	-	4	3	5	-	-	-	-	5	-	11	10	11
Zareni ostatak i sagorljive materije	6	4	-	-	3	5	-	4	3	5	-	-	-	-	2	-	11	10	11
Indeks mlulja (SVI)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-
HPK	6	4	12	-	2	3	12	-	2	3	3	2	-	-	-	2	11	-	11
BPK	-	-	4	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	11
Ukupni ugljovodonici	6	4	12	-	3	5	12	-	3	5	4	3	-	-	5	-	11	-	11
Mineralna ulja	6	4	12	-	3	5	12	-	3	5	4	3	-	-	5	-	11	-	11
Kvalitativna FTIR analiza	6	4	-	-	3	5	-	-	3	5	-	-	-	-	3	-	-	-	-
Kvalitativna GC/MSD analiza	6	4	2 (Pz4)	-	3	3	2	-	3	3	2 (Pz4)	1	-	-	-	1 (Pz4)	-	1	-

4 nastavak tabele 9.

PAH (16 jedinjenja, USEPA)	5	5	-	-	-	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kadmijum	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hrom	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bakar	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nikal	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Olovo	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cink	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mangan	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gvožđe	6	4	11	10	4	3	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gvožđe (II)	-	-	7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Površinski aktivne materije	-	-	5	7	-	-	-	4	3	-	-	2	11	-	-	-	-	-	11
Organotrofi	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	6	-	-	-	-	-	-	6
Fakultativni oligotrofi	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	6	-	-	-	-	-	-	6
Lipolitske bakterije (TWEEN)	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	6	-	-	-	-	-	-	6
Lipolitske bakterije (tributirin)	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	6	-	-	-	-	-	-	6
Ugljovodonik-oksidišuće bakterije (MSWYE)	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	6	-	-	-	-	-	-	6
Ugljovodonik-oksidišuće bakterije (Tauson)	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	6	-	-	-	-	-	-	6
Fosfatna aktivnost	5	3	6	7	-	4	4	3	3	3	2	5	-	-	-	-	-	-	5
Dehidrogenazna aktivnost	5	3	-	-	-	4	4	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
UKUPNO	513	113	1617	328	48	291	122	627	73	54	39	206	73	206	73	206	73	206	206

4310

3.3. Metode analize

Korišćene su standardne metode analize vode i zemljišta, kao i njihove modifikacije razvijene u Laboratoriji za hemijsku tehnologiju i zaštitu životne sredine Departmana za hemiju i Laboratoriji za mikrobiologiju Departmana za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu.

3.3.1. Metode analize vode

Temperatura vode je merena živinim termometrom.

pH vrednost vode je merena terenskim pH metrom WTW model pH340i/set (metodi 4500-H⁺ i 2580 B, *APHA, 1995*).

Elektroprovodljivost vode je merena terenskim konduktometrom *Hanna* model HI 933000 (metod 2510 B, *APHA, 1995*).

Koncentracija rastvorenog kiseonika u vodi je merena terenskim oksimetrom *Hanna* model HI 9142 (metod 4500-O G, *APHA, 1995*).

Ukupni suvi ostatak uzorka vode je određivan gravimetrijski sušenjem uzorka na 105 °C (metod 2540 B, *APHA, 1995*).

Sadržaj organske materije u vodi je određivan gravimetrijski žarenjem na 550 °C.

Hemijska potrošnja kiseonika u vodi je određivana preko dihromata, titrimetrijski (metod P-V-10, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Biohemijska potrošnja kiseonika u vodi je merena pomoću Lovibond[®] BOD mernog sistema.

Sadržaj ukupnih ugljovodonika, mineralnih ulja i ugljovodonika adsorbovanih na aluminijum-oksidu (polarna jedinjenja) u vodi je određivan standardnom metodom kvantitativne IR spektrofotometrije (metod P-V-47/A, *Škunca-Milovanović i dr., 1990*).

Sadržaj amonijaka u vodi je određivan spektrofotometrijski sa Nesslerovim reagensom (metod P-V-2/B, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Sadržaj nitrata u vodi je određivan kolorimetrijski sa brucinom (metod P-V-31/B, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Sadržaj nitrita u vodi je određivan kolorimetrijski sa sulfanilnom kiselinom (metod P-V-32/B, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Sadržaj organskog azota u vodi je određivan spektrofotometrijski sa Nesslerovim reagensom nakon mineralizacije po Kjeldahlu (metod P-V-6/A, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Ukupan azot u vodi predstavlja zbir amonijačnog, nitratnog, nitritnog i organskog azota.

Sadržaj ortofosfata i ukupnog fosfora u vodi je određivan spektrofotometrijski sa amonijum-molibdatom i askorbinskom kiselinom (metod P-V-16/A, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Sadržaj površinski aktivnih materija u vodi (izražen kao mgDBS/l, natrijum-p-dodecilbensensulfonat) je određivan spektrofotometrijski na osnovu reakcije sa metilenskim plavim (modifikovan metod P-V-13/B, *Škunca-Milovanović i sar., 1990*).

Sadržaj metala (Cd, Cu, Cr, Zn, Ni, Pb, Fe, Mn) u vodi je određivan metodom plamene atomske apsorpcione spektrofotometrije (metod 3111B, *APHA, 1995*).

Sadržaj Fe³⁺/Fe²⁺ u vodi je određivan kolorimetrijski sa fenantrolinom (metod 3500-Fe D, *APHA, 1995*).

Indeks fosfatazne aktivnosti (IFA – $\mu\text{mol pNP/s/l}$) je određivan kao srednja vrednost aktivnosti kiselih, neutralnih i alkalnih fosfomonoestar-hidrolaza, pri podešenim pH optimumima i temperaturi od 30°C , na transformaciji para-nitrofenilfosfata u para-nitrofenol (Matavulj, 1986).

Brojnost bakterija u vodi određivana je posrednom (odgajivačkom) metodom na čvrstim, agarizovanim, podlogama (Rodina, 1972., Petrović i sar., 1998).

Zapreminski indeks mulja (SVI) je određivan na osnovu zapremine staloženog mulja (određene volumetrijski sa Imhoff-om (2540 F, APHA, 1995)) i mase organske materije mulja (gravimetrijski žarenjem na 550°C (2540 E, APHA, 1995)).

3.3.2. Metode analize zemlje

Rezultati za zemljište su dati u odnosu na masu suvog zemljišta.

Sadržaj vode (%vlage) u zemljištu je određivan gravimetrijski sušenjem uzorka na 105°C .

Sadržaj organske materije u zemljištu je određivan gravimetrijski žarenjem na 550°C (2540 E, APHA, 1995).

Aktivna kiselost u zemljištu je merena u vodenoj suspenziji pomoću terenskog pH metra WTW model pH340i/set.

Supstitucionu kiselost u zemljištu je merena u suspenziji 1 N KCl pomoću terenskog pH metra WTW model pH340i/set.

Hemijska potrošnja kiseonika u zemljištu je određivana preko dihidromata, titrimetrijski.

Biohemijska potrošnja kiseonika u zemljištu je merena pomoću Lovibond[®] BOD mernog sistema.

Sadržaj ukupnih ugljovodonika, mineralnih ulja i ugljovodonika adsorbovanih na aluminijum-oksidu (polarna jedinjenja) u zemljištu je određivan standardnom metodom kvantitativne IR spektrofotometrije (Škunca-Milovanović i dr., 1990; APHA, 1995).

Sadržaj amonijaka u zemljištu je određivan spektrofotometrijski sa Nesslerovim reagensom nakon destilacije.

Sadržaj nitrata i nitrita u zemljištu je određivan spektrofotometrijski u obliku amonijaka nakon digestije Dewardovom legurom i destilacije (Anon., 1965).

Sadržaj organskog azota u zemljištu je određivan spektrofotometrijski u obliku amonijaka nakon mineralizacije po Kjeldahlu.

Ukupan azot u zemljištu predstavlja zbir amonijačnog, nitratnog, nitritnog i organskog azota.

Sadržaj fosfora u zemljištu je određivan spektrofotometrijski sa amonijum-molibdatom i askorbinskom kiselinom nakon digestije uzorka sa kalijum-persulfatom u kiseloj sredini.

Metali (Cd, Cu, Cr, Zn, Ni, Pb, Fe, Mn) su određivani metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije nakon digestije zemljišta u akva-regiji (metod ISO 11466).

Indeks fosfatazne aktivnosti (IFA – $\mu\text{mol pNP/s/g}$) je određivan kao srednja vrednost aktivnosti kiselih, neutralnih i alkalnih fosfomonoestar-hidrolaza, pri podešenim pH optimumima i temperaturi od 30°C , na transformaciji para-nitrofenilfosfata u para-nitrofenol (Matavulj, 1986; Tabatabai i Bremner, 1969).

Dehidrogenazna aktivnost je određivana spektrofotometrijski merenjem sadržaja Trifenil-formazana nastalog iz 2,3,5-Trifeniltetrazolijumhlorida (TTC) nakon inkubacije

zemljišta sa TTC 24 časa na 30 °C (metod Lenhard-a modifikovan po Thalmann-u, *Petrović i sar., 1998*).

Brojnost bakterija u zemlji određivana je posrednom (odgajivačkom) metodom na čvrstim, agarizovanim, podlogama (*Rodina, 1972., Petrović i sar., 1998*).

3.3.3. FTIR-spektrofotometrijska karakterizacija naftnih ugljovodonika u vodi i zemlji

FTIR-spektrofotometrijska karakterizacija naftnih ugljovodonika na FTIR spektrofotometru Thermo Nicolet Nexus 670 izvršena je:

- u vodi nakon dvostruke ekstrakcije 20 ml vode sa po 10 ml CCl₄,
- u zemljištu nakon šestočasovne ekstrakcije (Soxhlet) 5 g zemlje sa 100 ml CCl₄.

3.3.3.1. Kvalitativna FTIR-spektrofotometrijska analiza

Kvalitativna FTIR-spektrofotometrijska analiza zemlje je obavljena snimanjem ekstrakata u ZnSe kivetama u opsegu 4000-900 cm⁻¹ i njihovim poređenjem sa Aldrich-ovom listom uzoraka kondezovane faze, kao i OMNIC-ovom IR spektralnom interpretacijom.

3.3.3.2. Kvantitativna analiza na sadržaj ugljovodonika

Sadržaj ukupnih ugljovodonika, mineralnih ulja i ugljovodonika adsorbovanih na aluminijum-oksidu (polarna jedinjenja) je određivan u uzorcima vode i zemljišta standardnom metodom kvantitativne IR spektrofotometrije (*Škunca-Milovanović i dr., 1990; APHA, 1995*). Sadržaj ugljovodonika je određivan na osnovu IR spektara pomoću standardne prave - osnovni standardni rastvor je referentna smeša izo-oktan:cetan:benzen (1,5:1,5:1). Mineralna ulja su razdvajana od polarnih jedinjenja eluiranjem ekstrakta kroz kolonu sa aluminijum-oksidom. Sadržaj ugljovodonika adsorbovanih na aluminijum-oksidu je određivan iz razlike koncentracija ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja.

3.3.4. GC/MSD karakterizacija naftnih ugljovodonika u vodi i zemlji

Analiza vode i zemljišta na sadržaj semivolatilnih organskih jedinjenja je vršena na gasnom hromatografu Hewlett Packard 5890 GC Series II sa masenim detektorom 5971 MSD nakon prethodne pripreme uzoraka.

Uzorci vode su podvrgnuti kiseloj i baznoj ekstrakciji metilenhloridom.

Uzorci zemljišta su podvrgnuti ekstrakciji smešom rastvarača metilenhlorid – heksan (1:1) jedan čas na sobnoj temperaturi (*Desideri i dr., 1984*). Elementarni sumpor je uklonjen dodatkom praša bakra (*Cowan i Riley, 1987*). Ekstrakti su frakcionisani hromatografski na koloni silika gela prema proceduri EPA 3630C. Čistoća rastvarača je prethodno proverena na GC/MSD.

3.3.4.1. Kvalitativna GC/MSD analiza

Kvalitativna (SCAN) analiza uzoraka vršena je skeniranjem masa u opsegu 35-550 atomskih jedinica. Dobijeni spektri poređeni su sa spektrima komercijalne baze podataka Wiley, a identifikovana jedinjenja su ona čiji je identitet određen sa verovatnoćom većom od 70%. Uslovi hromatografisanja su: kolona Ultra-2 (25 m x 0.2 mm x 0.3 μ m), protok helijuma 1 ml/min, temperatura injektora 250 $^{\circ}$ C, temperatura detektora 280 $^{\circ}$ C. Postavljen je temperaturni program: 40 $^{\circ}$ C 5 min, 4 $^{\circ}$ C/min do 130 $^{\circ}$ C, drži 2,2 min, 12 $^{\circ}$ C/min do 180 $^{\circ}$ C, drži 2,2 min, 7 $^{\circ}$ C/min do 300 $^{\circ}$ C, drži 11,79 min.

3.3.4.2. Kvantitativna analiza na sadržaj PAH

Kvantitativna (SIM) analiza uzoraka zemljišta je vršena pri identičnim uslovima hromatografisanja navedenim za SCAN analizu. Kao interni standard je korišćen 1-fenilnonan. Kalibraciona kriva je dobijena snimanjem serije standardnih rastvora smeše ispitivanih policikličnih aromatičnih ugljovodonika. U uzorcima je određivan sadržaj 16 PAH propisanih od strane USEPA i EU: naftalena, acenaftilena, acenaftena, fluorena, fenantrena, antracena, fluorantena, pirena, benz(a)antracena, krizena, benzo(b)fluorantena, benzo(k)fluorantena, benzo(a)pirena, dibenzo[a,h]antracena, benzo[g,h,i]perilena i indeno[1,2,3-cd]pirena.

3.3.5. Brojnost bakterija u vodi i zemlji

Brojnost bakterija u kontaminiranom zemljištu i vodi određivana je posrednom (odgajivačkom) metodom na čvrstim, agarizovanim, podlogama (*Rodina, 1972, Petrović i sar., 1998*). Za analizu zemljišta prvo je napravljena serija razblaženja uzoraka u 0.1% natrijum-pirofosfatu uz energično mućkanje na Vortex-u.

Zasejavanje je vršeno inokulacijom određenih razređenja na hranljive podloge. Nakon inkubacije (5-7 dana na 26-28 $^{\circ}$ C) vršeno je prebrojavanje izraslih kolonija. Brojnost je izražena kao broj bakterija na gram suvog zemljišta. Ispitivanje je obuhvatilo nekoliko značajnijih grupa bakterija: organotrofi, fakultativni oligotrofi, lipolitske bakterije i ugljovodonik-oksidujuće bakterije. Lipolitske bakterije su određivane na dve različite podloge – TWEEN i TRIBUTIRIN. Ugljovodonik-oksidujuće bakterije određivane su na dve različite podloge uz dodatak nafte parafinske baze: MSWYE podloga, sa primesama lakousvojivih organskih materija (*Walcker et al., 1976*) i TAUSON podloga, čisto mineralna podloga kod koje je dodata nafta jedini izvor ugljenika za mikroorganizme (*Rodina, 1972*), kao i na njihovim modifikovanim formama MSWYE+TTC i Tauson+TTC, gde je osnovna podloga obogaćena TTC reagensom (2,3,5-Trifeniltetrazolijumhlorid) da bi pojava crveno obojenih kolonija ukazivala na enzimsku aktivnost, odnosno na aktivne kolonije.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Rezultati ispitivanja prirodne bioremedijacije podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo

Nivo podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo prati nivo Dunava: u ravni je sa Dunavom ili 1-2 m (ponekad do 3 m) niži. Nivo Dunava se menja u intervalu 72-78 mm, a nivo vode u bunarima hidrauličke barijere i pijeziometrima 72-75,5 mm (što su objekti udaljeniji od Dunava opseg fluktuacije nivoa podzemnih voda je manji, npr. od Bhz-6 do Bhz-12 promene nivoa su 72,5-74,5 mm) (Prilog 1). Nivo vode u bunarima se kreće od nule do 3,32 m ispod nivoa tla, a u pijeziometrima u Rafineriji od 2,5 do 6,5 m, jer je prilikom izgradnje Rafinerije na originalan teren nasut sloj peska (Prilog 2a i 2b). Na osnovu ovih podataka možemo da zaključimo da Dunav ima dominantan uticaj na podzemne vode lokaliteta Ratno ostrvo i samim tim na migraciju naftnih ugljovodonika sa prostora Rafinerije nafte.

pH vrednost podzemne vode na lokalitetu Ratno ostrvo se kreće u intervalu koji pogoduje mikrobiološkoj aktivnosti, od 6,8 do 7,4. Koncentracija rastvorenog kiseonika uglavnom iznosi 1-3,5 mg/l, mada su ponekad zabeležene i niže koncentracije. Prema studiji Barkera, pod aerobnim uslovima se podrazumeva kada je prisutno 0,7 mgO₂/l vode, a razgradnja BTEX počinje već pri 0,5 mg/l, a prisutni su i drugi elektron-akceptori. Koncentracija nitrata je uglavnom niska, do 3 mg/l, kao i nitrita, do 0,04 mg/l, dok je uglavnom prisutno do 3 mg/l amonijaka. Međutim, u pojedinim pijeziometrima u Rafineriji nafte, kao što su Mp-5, 6, 7, 8 i 9, zabeležene su više koncentracije nitrata, čak do 66 mg/l, kao i nitrita, do 0,4 mg/l, a niže koncentracije amonijaka od 0,2 mg/l, što ukazuje na procese nitrifikacije.

4.1.1. Zagađenje podzemne vode ugljovodonicima

Koncentracija ugljovodononika u pijeziometrima u Rafineriji se kretala u opsegu 7-632 µg/l (srednja vrednost za pijeziometre: 33-213 µg/l), u bunarima barijere <2-372 µg/l (srednja vrednost za bunare: 35-125 µg/l), a u zaleđu izvorišta (Ropz-12) 11-75 µg/l (srednja vrednost 32 µg/l) (tabele 10-12). Od toga mineralna ulja su prisutna u sledećim koncentracijama: u pijeziometrima u Rafineriji u opsegu <2-245 µg/l (srednja vrednost za pijeziometre: 16-100 µg/l), u bunarima barijere <2-123 µg/l (srednja vrednost za bunare: 19-23 µg/l), a u Ropz-12 4-57 µg/l (srednja vrednost 18 µg/l) (tabele 10-12). Najviše vrednosti za ukupne ugljovodnike su registrovane u bunarima barijere: Bhz-5, Bhz-7 i Bhz-8, kao i u

pijezometrima u Rafineriji: Mp-1, Mp-2, Mp-3, Mp-4, Mp-6, Md-6, Md-7 i Pjc-1, što ukazuje na mogući pravac prodora zagađenja. Uočeni pravac prodora zagađenja odgovara pravcu kretanja podzemnih voda od Rafinerije ka izvorištu i poklapa se sa ranijim ispitivanjima baziranim na merenju koncentracije lakoisparljivih ugljovodonika u gasnoj fazi zemljišta Rafinerije, kada je uočen prodor zagađenja u pravcu pijeziometra Pjc-1 i Mp-9 (*Dalmacija i sar.*, 2004). Koncentracije mineralnih ulja retko kad prelaze 40 µg/l, ali su u pijeziometrima u Rafineriji detektovane veće koncentracije nego u bunarima barijere. Generalno, registrovane su više koncentracije ugljovodonika u graničnoj zoni nego u zaleđu izvorišta, te se stoga mora i dalje pratiti stanje u graničnoj zoni, a posebno uočeni pravac mogućeg prodora zagađenja.

Tabela 10. Koncentracija ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u vodi bunara i pijeziometara u graničnoj zoni za period avgust 2002. – februar 2006. godine

Lokacija	Broj merenja	Ukupni ugljovodonici (µg/l)			Mineralna ulja (µg/l)		
		Min. vrednost	Max. vrednost	Srednja vrednost	Min. vrednost	Max. vrednost	Srednja vrednost
Zona hidrauličke barijere							
Bhz-1	27	16	107	35	7	74	20
Bhz-2	27	5	140	39	<2	123	23
Bhz-3	27	14	94	40	3	60	21
Bhz-4	27	19	132	63	5	59	22
Bhz-5	27	21	372	125	6	52	23
Bhz-6	27	9	79	38	4	42	19
Bhz-7	27	33	152	78	5	50	22
Bhz-8	27	10	243	94	<2	67	21
Bhz-9	27	14	86	36	3	60	21
Bhz-10	27	4	86	37	2	50	20
Bhz-11	27	14	120	39	4	75	22
Bhz-12	27	<2	120	39	<2	60	23
Pjc-2	2	23	39	31	12	15	14
Pjc-3	6	12	47	27	8	25	16
Ppjc-11	11	12	50	27	2	38	16
Ppjc-12	11	17	86	38	5	51	20

Sa porastom nivoa podzemnih voda usled porasta nivoa Dunava ili suficita padavina uglavnom su detektovane niže vrednosti za mineralna ulja i ukupne ugljovodonike, što se može objasniti efektom razblaženja. Ipak, u jednom broju bunara barijere sve vreme su visoke koncentracije ukupnih ugljovodonika (Bhz-5, Bhz-7, Bhz-8), kao i u pijeziometrima Rafinerije Mp-1, Mp-2, Mp-3, Mp-4, Mp-6, Md-6, Md-7 i Pjc-1. S jedne strane, moguće je da su obilne padavine spirale ugljovodonike iz gornjeg sloja zemljišta Rafinerije i transportovale ga uočenim mogućim pravcem širenja iz Rafinerije ka barijeri. Poznato je da se u dubljim slojevima nalazi pesak, a u gornjim slojevima ima huminskih materija i gline na kojima mogu da se adsorbuju ugljovodonici i da se odatle spiraju. Navedeni mehanizam nam ukazuje na mogućnost primene fitoremedijacije navedenog područja, jer se deo zagađenja nalazi u gornjim slojevima i dostupan je korenskom sistemu. S druge strane, moguće je da su se pored kolektora formirali džepovi sa zauljenom vodom u periodu pre popravke kolektora i da sa

padavinama dolazi do širenja zagađenja difuzijom i dospevanja do zone pijezometara. Razlog za visoke vrednosti ukupnih ugljovodonika, a ne i mineralnih ulja može biti, s jedne strane, da je u navedenim džepovima vremenom došlo do biotransformacije mineralnih ulja u polarna jedinjenja, a sa druge strane ne treba zanemariti ni procese raspadanja prirodnih organskih materija, koji mogu dati navedene produkte. Deficit padavina se poklapa sa porastom koncentracije ugljovodonika usled efekta koncentrisanja.

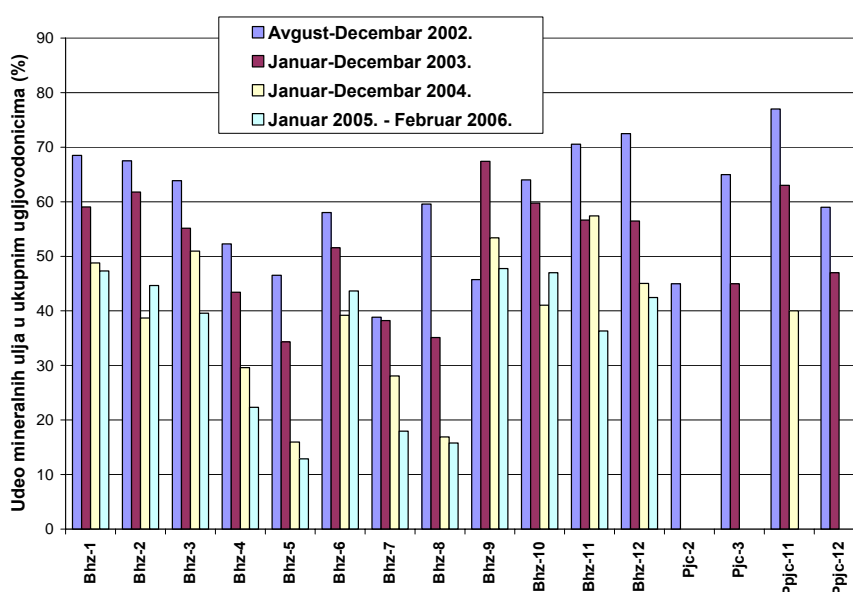
Tabela 11. Koncentracija ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u vodi pijezometara u Rafineriji nafte za period avgust 2002. – februar 2006. godine

Lokacija	Broj merenja	Ukupni ugljovodonici (µg/l)			Mineralna ulja (µg/l)		
		Min. vrednost	Max. vrednost	Srednja vrednost	Min. vrednost	Max. vrednost	Srednja vrednost
Mp-1	11	67	337	213	33	115	52
Mp-2	11	69	326	172	42	245	100
Mp-3	11	37	134	84	14	71	36
Mp-4	11	67	295	172	30	111	58
Mp-5	17	22	115	47	2,5	75	23
Mp-6	27	23	632	135	8	216	44
Mp-7	21	9	143	55	3	99	26
Mp-8	27	7	112	35	4	97	20
Mp-9	21	13	115	44	4	89	22
Mp-10	5	38	124	66	22	73	39
Mp-11	11	7	120	38	2	101	28
Md-6	14	30	480	113	7	199	34
Md-7	18	44	302	123	6	84	34
Md-8	14	8	104	35	<2	82	22
Pjc-1	22	35	290	111	10	87	32
Pjc-5	20	12	155	54	4	78	25
Pjc-6	22	21	98	42	5	78	25
Ppjc-14	13	11	108	33	4	35	16
Kp-6	10	22	130	52	15	98	28
Gts-11	7	366	1900	934	87	520	235
Gts-23	7	16	42	32	10	29	19
Gts-24	7	14	53	35	4	42	23

Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima široko varira, međutim, uočava se trend opadanja, što ukazuje na intenziviranje procesa transformacije mineralnih ulja u polarna jedinjenja: u bunarimna barijere do leta 2004. godine udeo mineralnih ulja se nalazi uglavnom u intervalu 20-90 %, a nakon toga u intervalu 0-70 %; u pijezometrima u Rafineriji do leta 2003. godine udeo mineralnih se nalazi u intervalu 20-90 %, do leta 2004. je 20-70 %, a nakon toga je 0-70 % (Prilog 3). Na slikama 51-54 prikazane su srednje vrednosti udela mineralnih uglja u ukupnim ugljovodonicima na godišnjem nivou.

Tabela 12. Koncentracija ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u vodi pijezometara u zaleđu izvorišta i duž kolektora za period avgust 2002. – februar 2006. godine

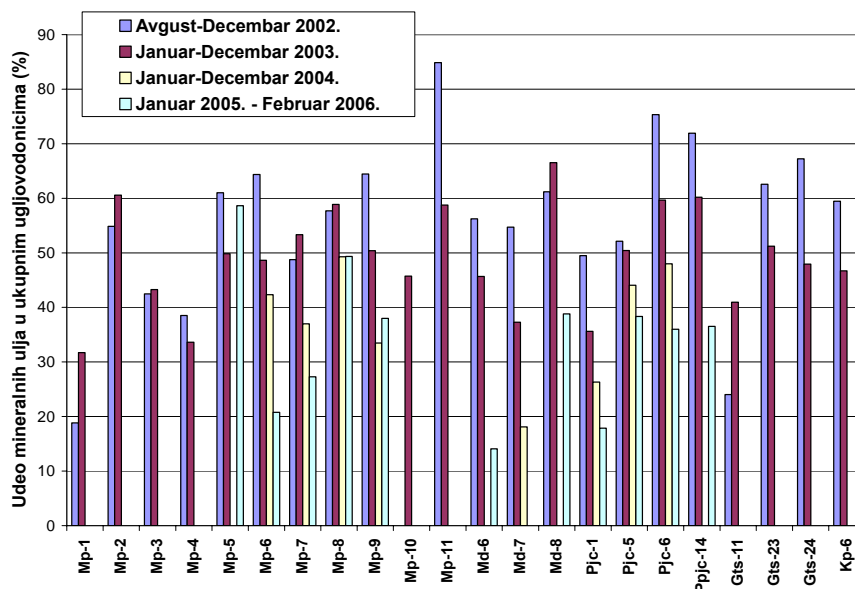
Lokacija	Broj merenja	Ukupni ugljovodonici ($\mu\text{g/l}$)			Mineralna ulja ($\mu\text{g/l}$)		
		Min. vrednost	Max. vrednost	Srednja vrednost	Min. vrednost	Max. vrednost	Srednja vrednost
Zaleđe izvorišta							
Ropz-12	14	11	75	32	4	57	18
Pjc-12	8	38	126	86	5	39	24
Duž kolektora							
Pjc-4	2	21	55	38	15	19	17
Pjc-8	2	16	56	36	14	20	17
Pjc-9	14	13	91	35	4	58	16
Ppjc-7	19	12	89	42	4	64	24
Ppjc-10	10	13	64	35	5	38	16
Pz-333	5	28	66	46	12	44	23
Pz-17	4	18	43	27	3	30	11
Ropz-3	4	16	120	46	7	99	31



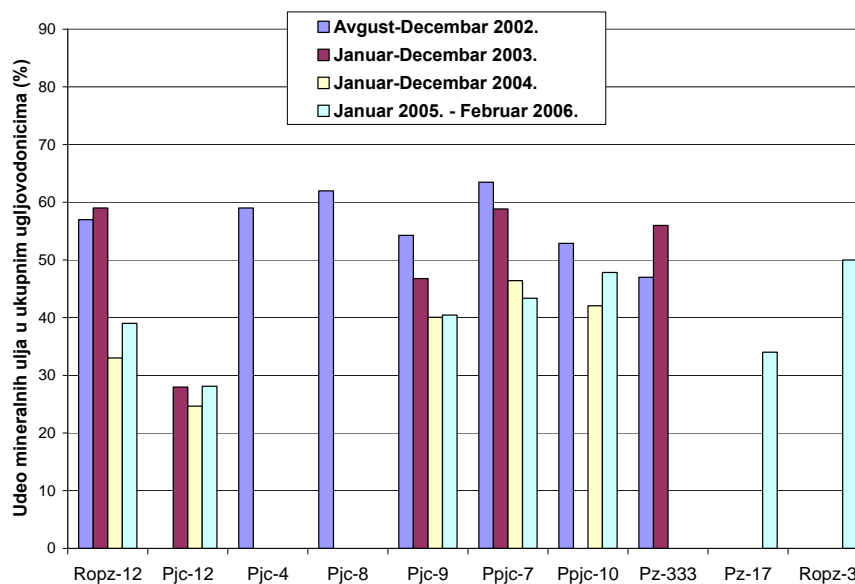
Slika 51. Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodicima u vodi u zoni hidrauličke barijere

U bunarima hidrauličke barijere su povremeno detektovani benzen, toluen i ksileni, uglavnom u tragovima ili u koncentraciji do $2 \mu\text{g/l}$, sve do februara 2005. godine, kada su registrovane sledeće vrednosti: Bhz-2 - $100 \mu\text{g/l}$ benzena, $2,4 \mu\text{g/l}$ toluena i $11 \mu\text{g/l}$ ksilena; Bhz-6 - $38 \mu\text{g/l}$ benzena, $4,4 \mu\text{g/l}$ toluena, $3 \mu\text{g/l}$ ksilena i etilbenzen u tragovima; Bhz-8 - $8,5 \mu\text{g/l}$ ksilena; Bhz-10 - $1 \mu\text{g/l}$ benzena. Nakon ovih povišenih vrednosti u februaru, u martu su ponovo detektovane komponente BTEX u Bhz-3 ($1,5 \mu\text{g/l}$ benzena, $1,3 \mu\text{g/l}$ toluena i $4,3 \mu\text{g/l}$ ksilena) i u Bhz-6 ($6,8 \mu\text{g/l}$ benzena). U maju je uočen toluen u većini uzoraka u

niskim koncentracijama. U narednom periodu benzen je uglavnom bio prisutan u Bhz-8, Bhz-9 i Bhz-10 u koncentraciji do 2,8 $\mu\text{g/l}$, izuzev avgusta, kada ga je u Bhz-8 bilo 9,4 $\mu\text{g/l}$ i novembra, kada ga je u Bhz-9 bilo 23 $\mu\text{g/l}$.



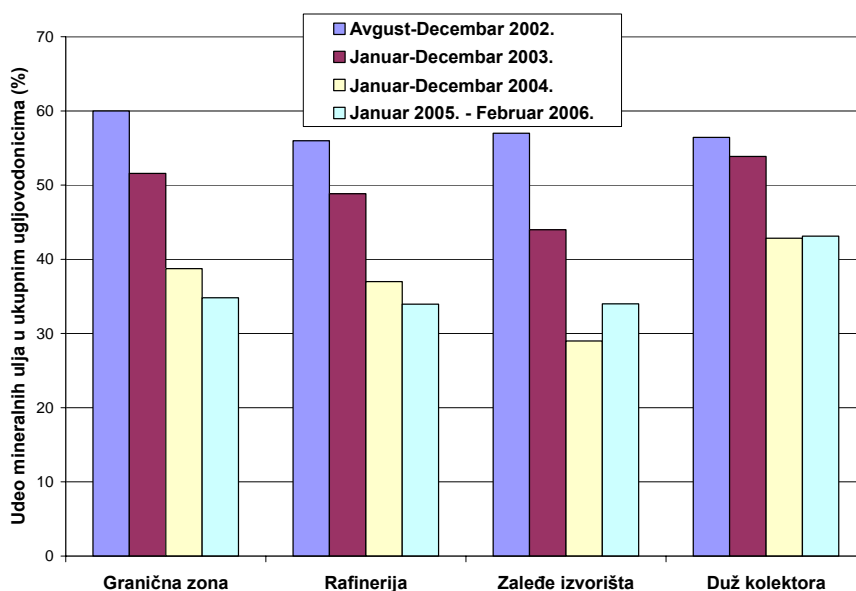
Slika 52. Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u vodi u pijezometrima u Rafineriji nafte



Slika 53. Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u vodi pijezometara u zaleđu izvorišta i duž kolektora Rafinerije nafte

U vodi piježometara smeštenih u Rafineriji povremeno se pojavljuju komponente BTEX, hloroform, trihloreten, tetrahloreten, 1,1,1-trihloreten, 1,2-dihloreten i to u tragovima, eventualno u koncentraciji do 1 $\mu\text{g/l}$, izuzev Mp-1 (ispitivani period: avgust 2002. – avgust 2003.), gde koncentracija benzena se kreće u intervalu 10-140 $\mu\text{g/l}$, srednja vrednost 40 $\mu\text{g/l}$, a ksilena do 5 $\mu\text{g/l}$ i Mp-6, gde benzen često dostiže 10 $\mu\text{g/l}$ (čak i 43 $\mu\text{g/l}$), a ksileni 5 $\mu\text{g/l}$.

Pojavu benzena često prati toluol i ksilen što ukazuje na poreklo iz benzina. Treba napomenuti da najveću rastvorljivost iz benzina u vodi upravo ima toluol, zatim benzen, pa ksileni, a najmanju etilbenzen, bez obzira na činjenicu što je rastvorljivost čistih supstanci u vodi sasvim drugačija. Najisparljivija komponenta je benzen, dok ostale komponente imaju 4-10 puta manji napon pare, dok je stepen biorazgradljivosti za sve četiri komponente približno isti. Ovim podacima bi se mogle objasniti brze promene u koncentraciji benzena kroz vreme i često zaostajanje toluola i ksilola u vodi i nakon što benzen verovatno ispari.



Slika 54. Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u podzemnoj vodi lokaliteta Ratno ostrvo

Praćenjem kvaliteta podzemnih voda granične zone izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte utvrđeno je sledeće:

- nivo Dunava, kao i pojava suficita i deficita padavina, utiču na nivo podzemnih voda, a samim tim i na koncentraciju ugljovodonika usled efekata razblaženja i koncentrisanja,
- najviše vrednosti za ukupne ugljovodnike su registrovane u bunarima barijere: Bhz-5, Bhz-7 i Bhz-8, kao i u piježometrima u Rafineriji: Mp-1, Mp-2, Mp-3, Mp-4, Mp-6, Md-6, Md-7 i Pjc-1, što ukazuje na mogući pravac prodora zagađenja,
- registrovane su više koncentracije ugljovodonika u graničnoj zoni nego u zaleđu izvorišta,

- koncentracije mineralnih ulja retko kad prelaze 40 µg/l, ali su u pijezometrima u Rafineriji detektovane veće koncentracije nego u bunarima barijere,
- uočava se trend opadanja udela mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima, što ukazuje na intenziviranje procesa transformacije mineralnih ulja u polarna jedinjenja, odnosno na pojavu procesa samoprečišćavanja, tj. prirodne bioremedijacije,
- povremeno se pojavljuju komponente BTEX, hloroform, trihloreten, tetrahloreten, 1,1,1-trihloreten, 1,2-dihloreten, ali njihove koncentracije se veoma brzo menjaju, s obzirom na njihovu pokretljivost, isparljivost i razgradljivost,
- visok nivo podzemnih voda kao i pojava spiranja zagađenja padavinama, odnosno, prisustvo dela zagađenja u gornjim slojevima adsorbovanog na huminskim materijama i glini ukazuje nam na mogućnost primene fitoremedijacije navedenog područja, jer je deo zagađenja dostupan korenskom sistemu.

4.1.2. Mikrobiološka ispitivanja podzemne vode

Zastupljenost pojedinih grupa bakterija varirala je u zavisnosti od lokacije i meseca ispitivanja. U tabeli 13 date su minimalne, maksimalne i prosečne brojnosti ispitivanih grupa bakterija u vodi bunara hidrauličke barijere, pijezometara u Rafineriji nafte i zaleđu izvorišta za period decembar 2002. – januar 2006. godine.

Dominantnu mikrofloru čine fakultativni oligotrofi kao fiziološka grupa, što upućuje na zadovoljavajuće procese samoprečišćavanja vode. Ono što je karakterisalo vodu svih bunara hidrauličke barijere bilo je prisustvo lipolitskih i ugljovodonikoksidujućih bakterija. Ovakvi nalazi sugerišu da je u vodi ili u okruženju ovih pijezometara prisutan (ili bio prisutan) supstrat koji omogućuje pojavu ovih grupa bakterija. Visoka zastupljenost lipolitske mikroflore posredno ukazuje da postoje mogućnosti mikrobiološke degradacije takvog supstrata (*Petrović i dr., 2003, 2005*).

Tabela 13. Brojnost ispitivanih grupa bakterija u vodi bunara hidrauličke barijere, piježometara u Rafineriji nafte i zaleđu izvorišta za period decembar 2002. – januar 2006. godine

Lokacija	Grupe bakterija		Organotrofi MPA	Fakultativni oligotrofi 1:10	Lipolitičke bak. TWEEN	Lipolitičke bak. Tributrin	Ugljovodonič. oks. bak. MSWYE	Ugljovodonič. oks. bak. Tauson	Ugljovodonič. oks. bak. MSWYE+TTC	Ugljovodonič. oks. bak. Tauson+TTC	R2A	IFA μmol pNFBMl
	min-max	prosek										
Bhz 1	55-2060	437	70-3560	2-1590	5-1620	30-997	0-90	5-730	0-7	977-49700	3.0-11	
Bhz 2	35-3290	547	90-4482	2-1285	3-1200	40-200	0-40	10-1423	0-35	2160-61640	3.6-6.4	
Bhz 3	2-895	224	80-3150	0-430	2-990	0-163	0	0-318	0-4	1257-40150	4.7-13	
Bhz 4	15-670	201	91-1430	4-112	3-402	42-375	0-120	9-69	0-5	640-9670	4.4-7.0	
Bhz 5	13-141	59	92-1360	0-40	0-54	2-1400	0	0-61	0-7	322-42250	5.0-10	
Bhz 6	10-663	170	97-3820	0-527	2-1000	2-320	0-127	20-107	0-6	1250-16580	5.3-9.8	
Bhz 7	9-256	116	89-1450	1-120	0-430	20-457	0-60	0-60	0	470-47600	3.5-10	
Bhz 8	5-450	174	122-1540	3-40	0-50	7-70	0-250	0-208	0-7	467-38320	5.1-8.2	
Bhz 9	62-990	226	143-3410	1-110	5-373	67-2720	22-53	0-320	0-7	990-30200	4.4-13	
Bhz 10	60-5932	1338	30-6400	0-970	10-1100	167-500	0-170	13-310	0-12	2890-55000	4.0-8.7	
Bhz 11	48-1560	352	205-3100	0-192	5-96	107-2300	0-27	0-347	0-11	1340-50000	3.2-8.4	
Bhz 12	37-210	108	161-1180	0-70	4-660	0-170	0-50	0-227	0-27	917-3980	4.4-7.1	
			469	21	149	111	13	70	6	2200	5.9	

nastavak tabele 13

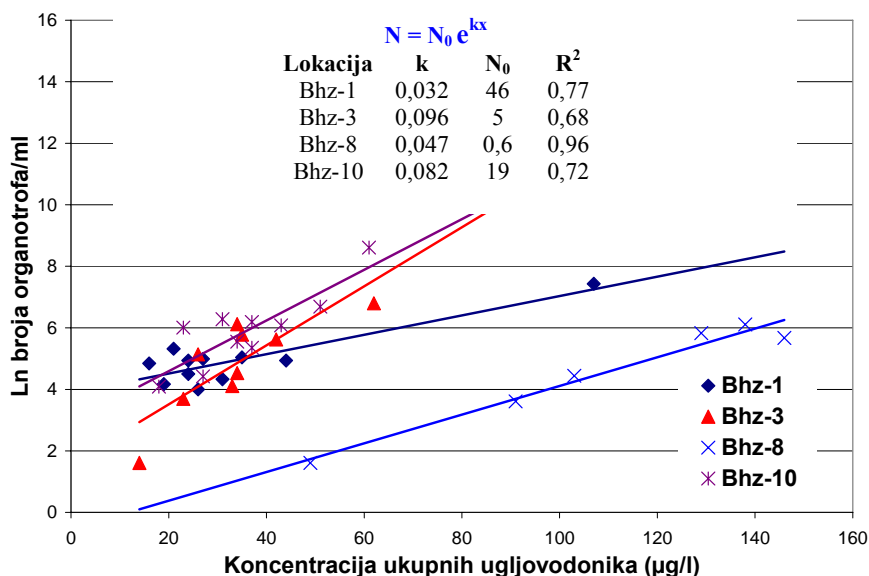
Lokacija	Grupe bakterija	Organotrofi MPA	Fakultativni oligotrofi 1:10	Lipolitske bak. TWEEN	Lipolitske bak. Tributrin	Ugijovodnik oks. bak. MSWYE	Ugijovodnik oks. bak. Tauson	Ugijovodnik oks. bak. MSWYE+TTC	Ugijovodnik oks. bak. Tauson+TTC	R2A	IFA µmol PNP/ML
Mjp 5		8-14 11	28-113 63	0-5 2	0-5 2	- -	- -	0-2 1	0 0	455-1050 655	2.9-3.5 3.2
Mjp 6		19-4000 430	50-3920 509	0-90 21	0-312 46	17-243 130	0-15 8	0-40 6	0 0	635-45000 8802	1.3-6.6 3.3
Md 6		30-585 179	44-959 320	4-60 23	3-60 26	- -	- -	0-85 24	0-6 2	585-4200 2335	5.7-8.4 6.8
Mjp 7		3-70 26	25-357 114	0-20 6	1-132 34	32-5200 2616	0-3850 1925	0-5 2	0 0	77-148 113	1.2-6.7 3.5
Md 7		9-87 45	48-300 207	1-20 11	5-35 14	0 0	0 0	0-5 2	0 0	362 362	7.5-8.7 8.2
Mjp 8		9-280 72	21-1440 283	0-150 31	0-220 54	210-640 425	0-30 15	0-240 45	0 0	150-1200 663	2.4-4.1 2.9
Md 8		17-61 42	100-126 115	0-1 0	2-16 8	- -	- -	0-19 6	0 0	300-777 547	7.2-8.8 8.0
Mjp 9		2-65 34	21-665 343	0-25 13	0-60 30	0-70 35	0-35 18	- -	- -	30 30	3.3-5.2 4.2
Pjc 1		6-57 22	36-438 159	1-35 8	0-3 2	20 20	0 0	2-45 9	0-5 1	720-1910 1187	6.3-10 7.5
Pjc 5		11-535 160	20-800 169	0-100 14	0-20 10	5-57 27	0-50 17	2-97 24	0-1 0	460-1790 858	4.1-8.7 6.2
Ropz 12		1-5000 480	5-6600 941	0-580 68	2-25 7	0-70 20	0-17 2	0-9 2	0 0	1487-5637 2885	0.1-1.4 6.9

4.1.3. Ispitivanje funkcionalne zavisnosti bakterijske brojnosti od koncentracije ugljovodonika (XII 2002. – I 2006.)

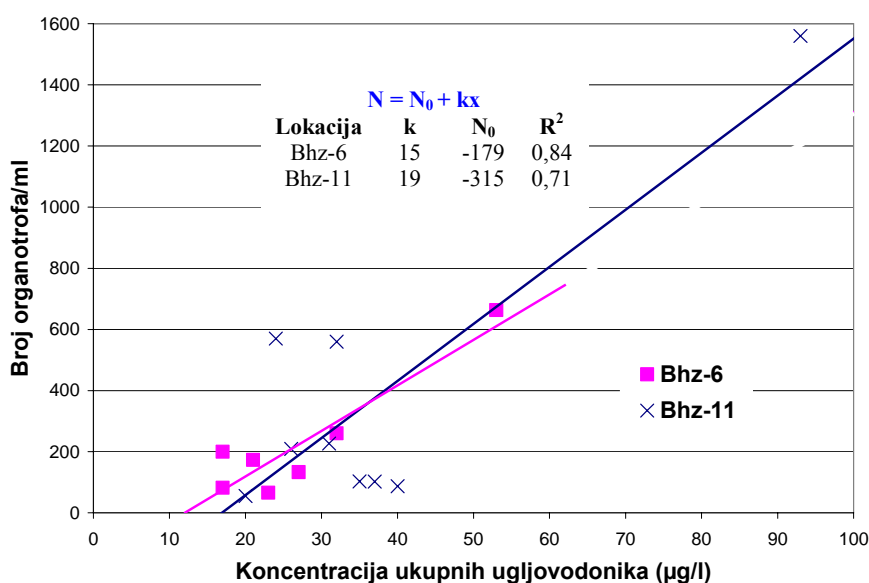
4.1.3.1. Organotrofi

Mada na brojnost organotrofa utiče prvenstveno sadržaj ukupnih organskih materija (TOC), koji je znatno viši od ugljovodoničnog supstrata (nekoliko miligrama u odnosu na desetke mikrograma u litru vode), ipak su uočene određene korelacije.

Na slikama 55 i 56 su predstavljene su funkcije zavisnosti broja organotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere.



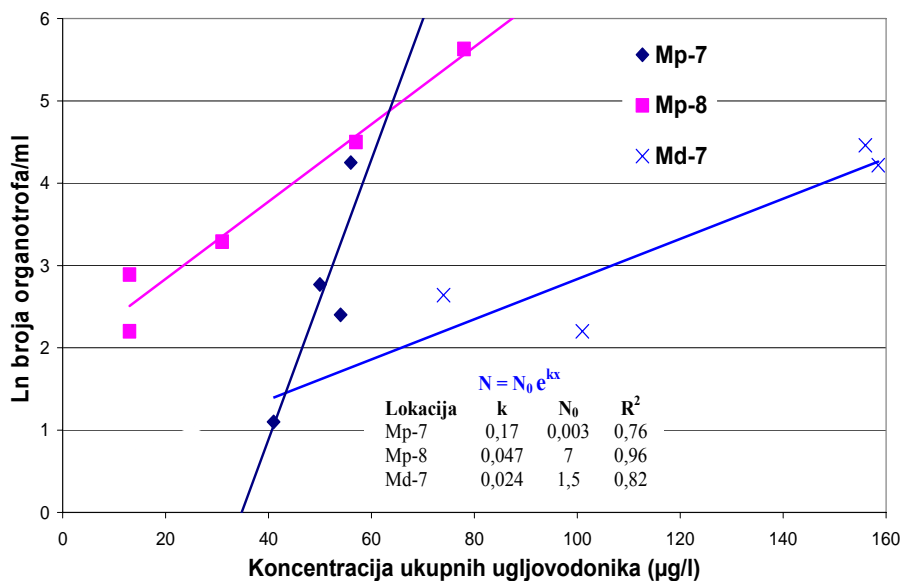
Slika 55. Zavisnost broja organotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1, 3, 8 i 10



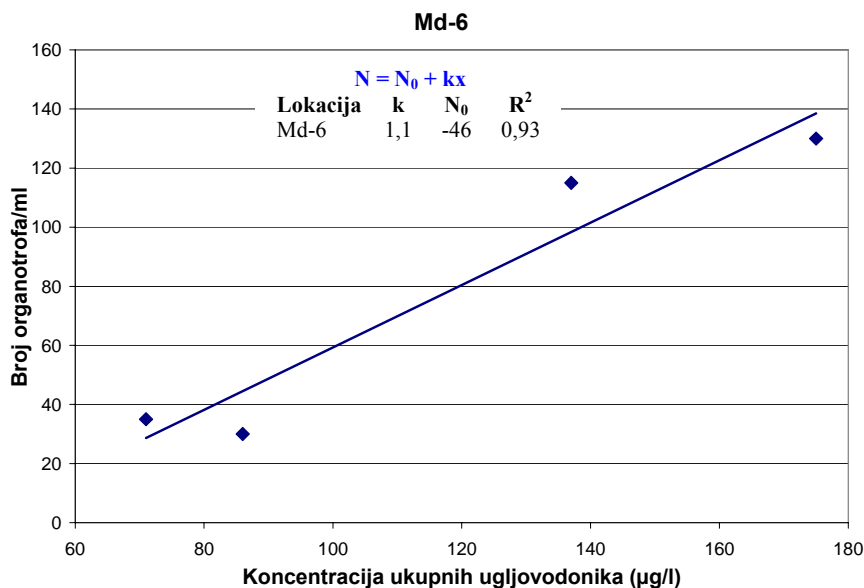
Slika 56. Zavisnost broja organotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-6 i 11

U bunarima Bhz-1, 3, 8 i 10 sa povećanjem koncentracije ugljovodonika eksponencijalno raste broj organotrofa, a u Bhz-6 i 11 linearno. Kod ostalih bunara nisu uočene značajne linearne ili eksponencijalne zavisnosti.

Na slikama 57 i 58 su predstavljene su funkcije zavisnosti broja organotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Rafineriji nafte. Kod pijezometara Mp-7, 8 i Md-7 sa povećanjem koncentracije ugljovodonika eksponencijalno raste broj organotrofa, a u Md-6 linearno, sa visokim koeficijentima determinacije, R^2 . Kod pijezometra Mp-6 i Md-8 nisu uočene značajne korelacije.



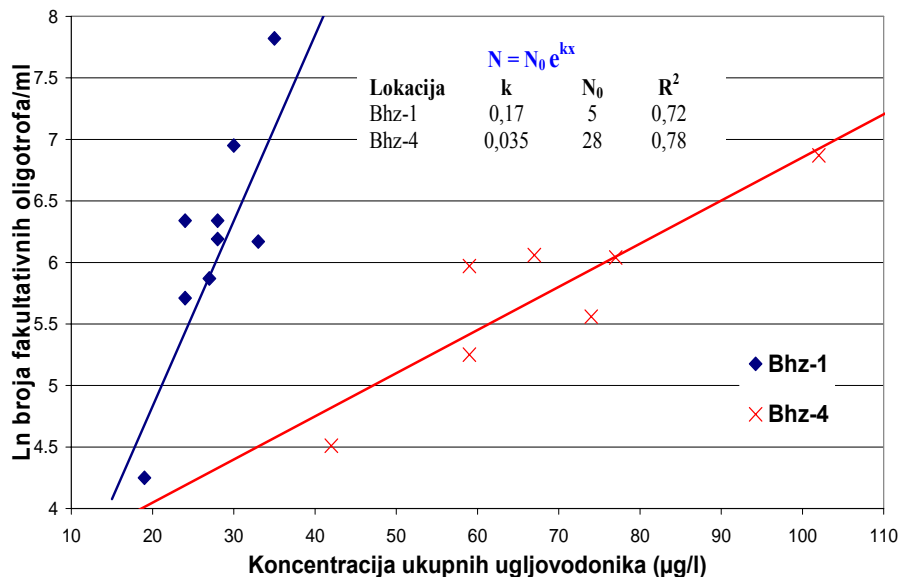
Slika 57. Zavisnost broja organotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Mp-7, 8 i Md-7



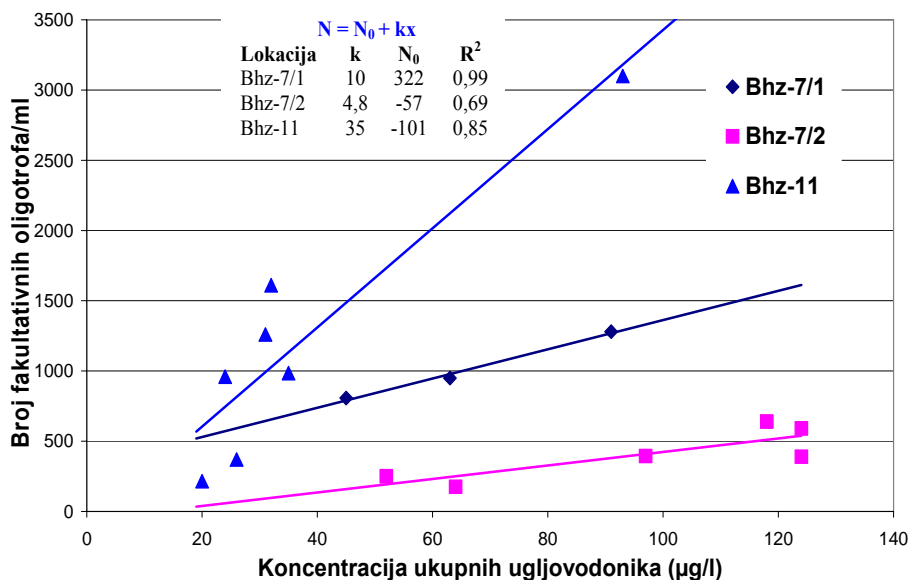
Slika 58. Zavisnost broja organotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometra Md-6

4.1.3.2. Fakultativni oligotrofi

Na slikama 59 i 60 su predstavljene su funkcije zavisnosti broja fakultativnih oligotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere. U bunarima Bhz-1 i 4 sa povećanjem koncentracije ugljovodonika eksponencijalno raste broj fakultativnih oligotrofa, a u Bhz-7 i 11 linearno. Kod ostalih bunara nisu uočene značajne korelacije.



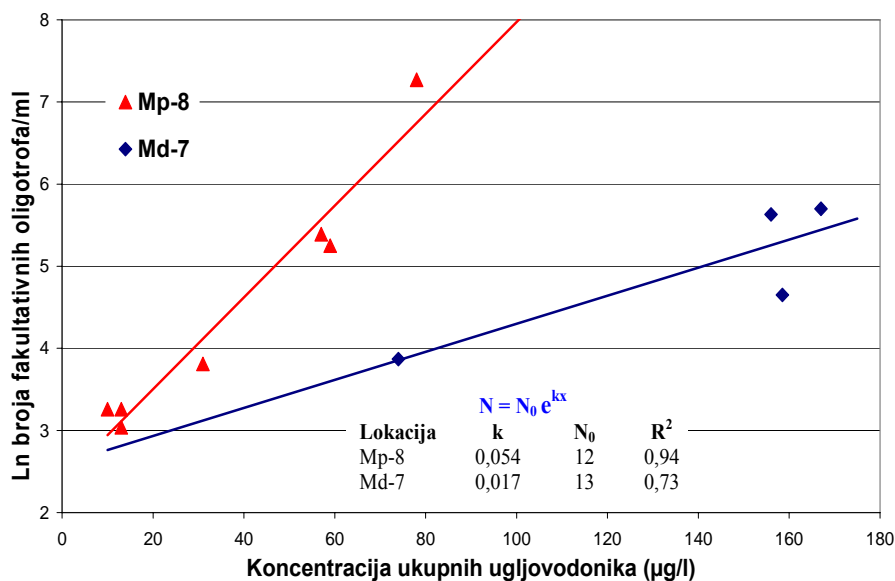
Slika 59. Zavisnost broja fakultativnih oligotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1 i 4



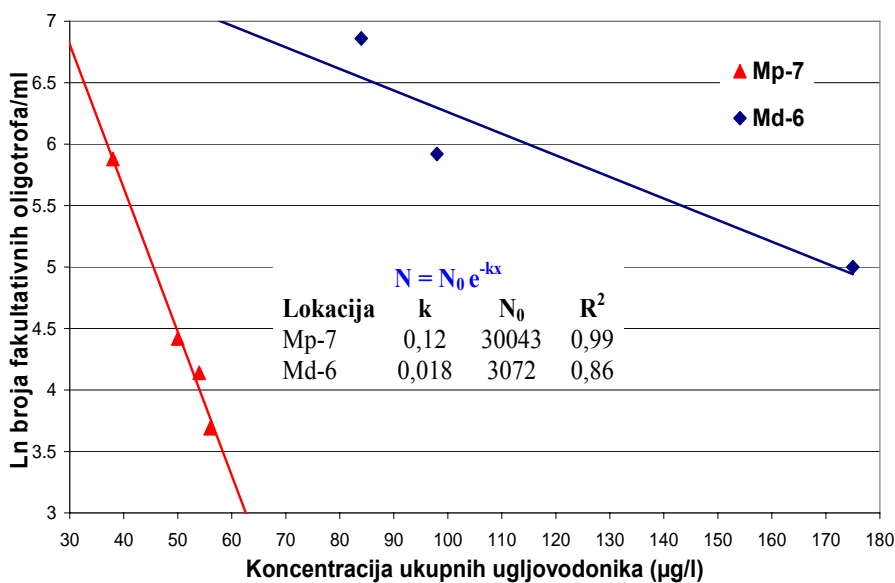
Slika 60. Zavisnost broja fakultativnih oligotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-7 (1: XII 2002. - III 2003.; 2: VI 2003. - VII 2005.) i 11

Na slikama 61 i 62 su predstavljene su funkcije zavisnosti broja fakultativnih oligotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Rafineriji nafte. U

pijezometrima Mp-8 i Md-7 sa povećanjem koncentracije ugljovodonika eksponencijalno raste broj fakultativnih oligotrofa, a u Mp-7 i Md-6 opada, sa visokim koeficijentima determinacije, R^2 .



Slika 61. Zavisnost broja fakultativnih oligotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi pijeziometara Mp-8 i Md-7

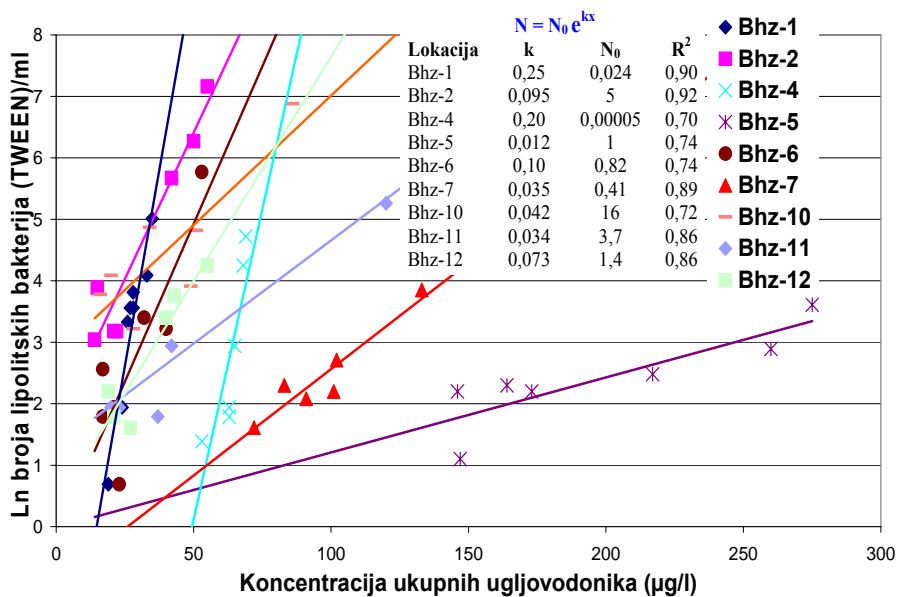


Slika 62. Zavisnost broja fakultativnih oligotrofa od koncentracije ugljovodonika u vodi pijeziometara Mp-7 i Md-6

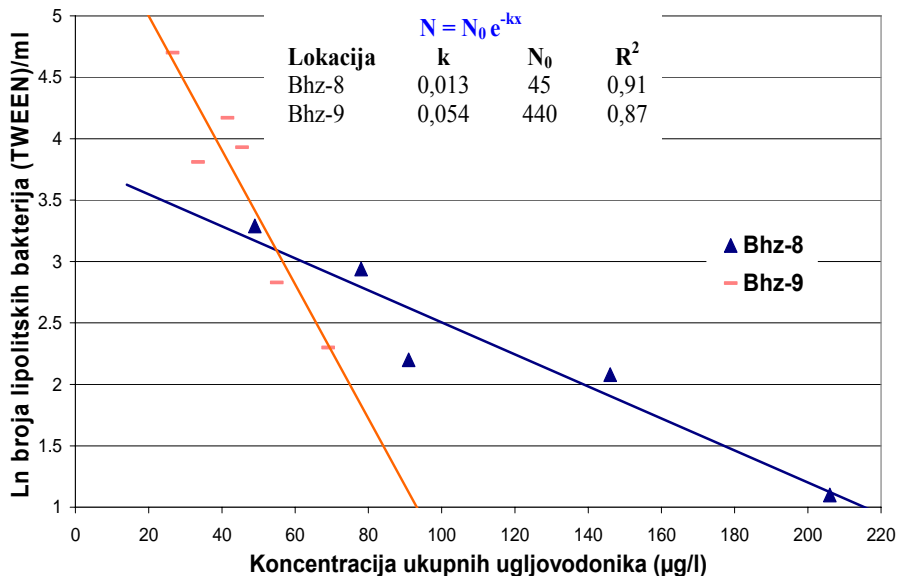
4.1.3.3. Lipolitske bakterije

Na slikama 63-67 predstavljene su funkcije zavisnosti broja lipolitskih bakterija (podloge TWEEN i tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere.

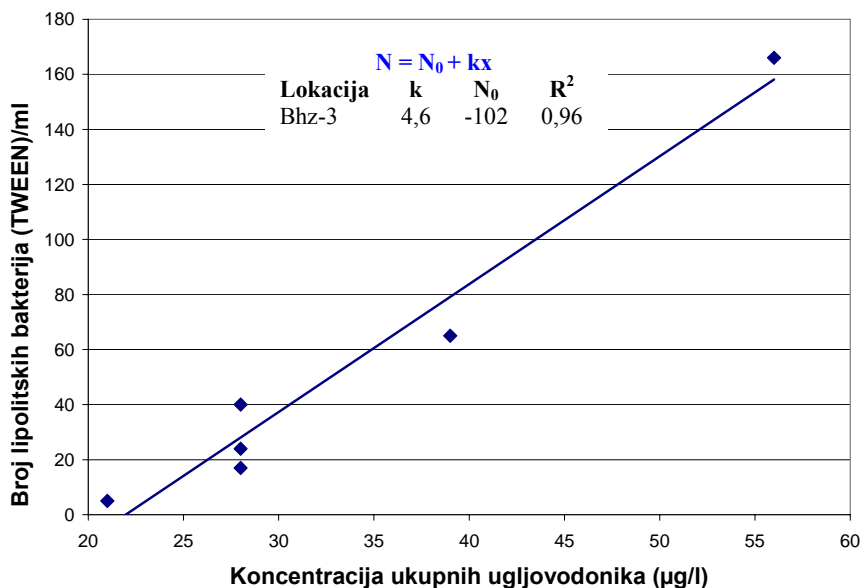
Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj lipolitskih bakterija (podloga TWEEN) raste eksponencijalno u bunarima Bhz-1, 2, 4-7, 10-12, linearno raste u Bhz-3, a opada eksponencijalno u Bhz-8 i 9.



Slika 63. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (TWEEN) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1, 2, 4-7, 10-12

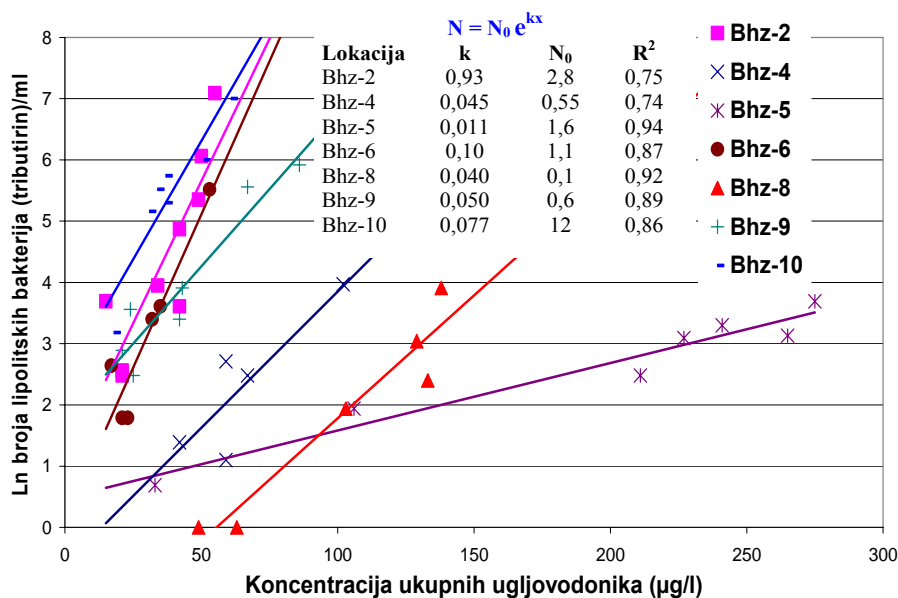


Slika 64. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (TWEEN) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-8 i 9

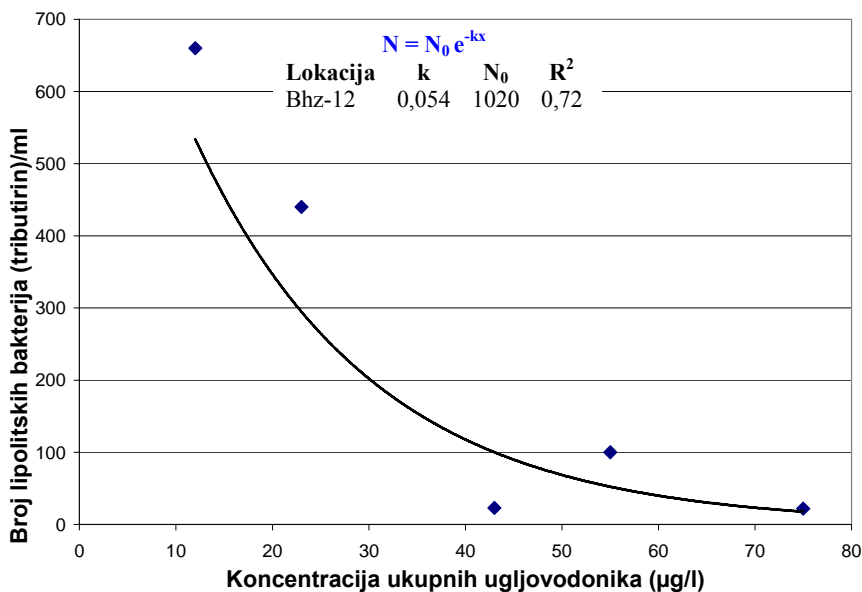


Slika 65. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (TWEEN) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-3

Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj lipolitskih bakterija (podloga tributirin) raste eksponencijalno u bunarima Bhz-2, 4-6, 8-10, a opada eksponencijalno u Bhz-12. Kod bunara Bhz-1, 3, 7 i 11 nisu uočene značajne korelacije.



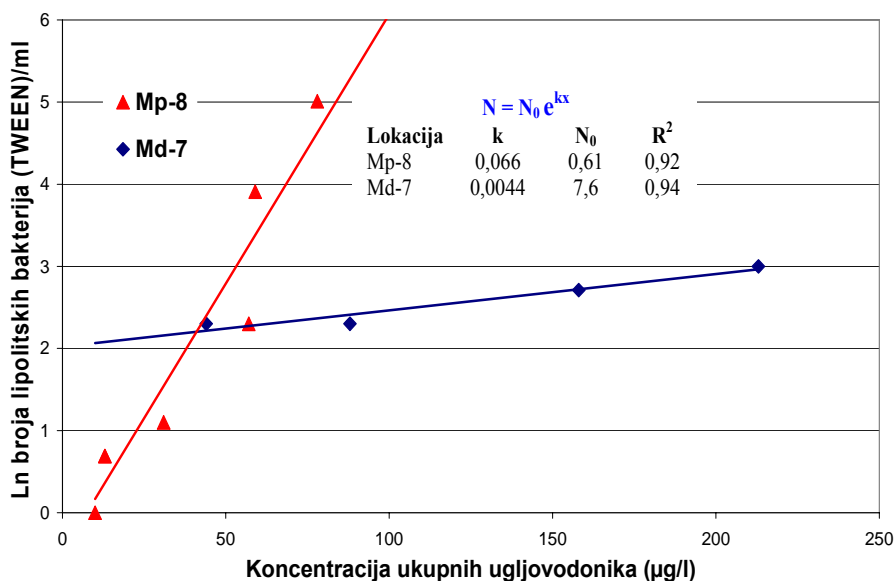
Slika 66. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-2, 4-6, 8-10



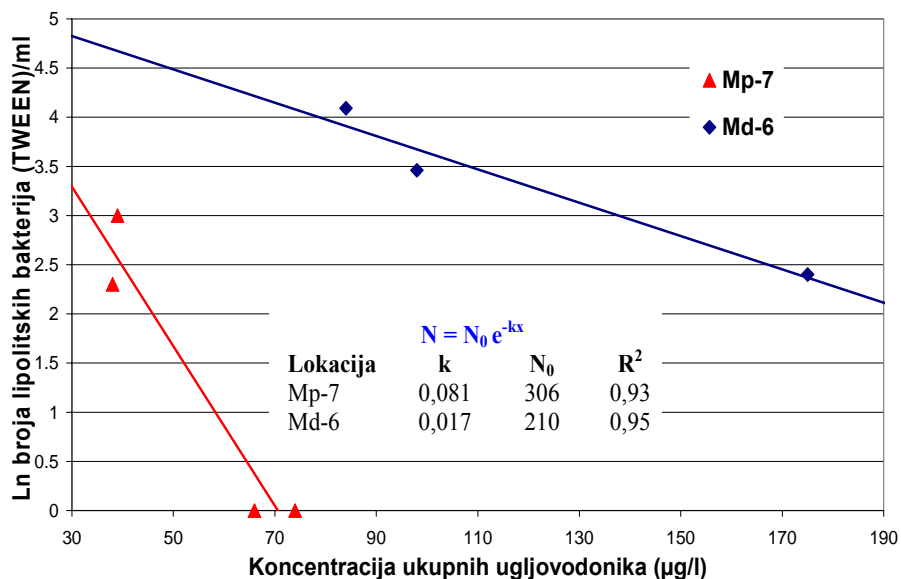
Slika 67. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-12

Na slikama 68-72 predstavljene su funkcije zavisnosti broja lipolitskih bakterija (podloge TWEEN i tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Rafineriji nafte. Kod pijezometra Mp-5 i Md-8 za obe podloge i kod Mp-6 za podlogu TWEEN nisu uočene značajne korelacije.

U pijezometrima Mp-8 i Md-7 sa povećanjem koncentracije ugljovodonika eksponencijalno raste broj lipolitskih bakterija (podloga TWEEN), a u Mp-7 i Md-6 opada, sa visokim koeficijentima determinacije, $R^2 > 0,9$.

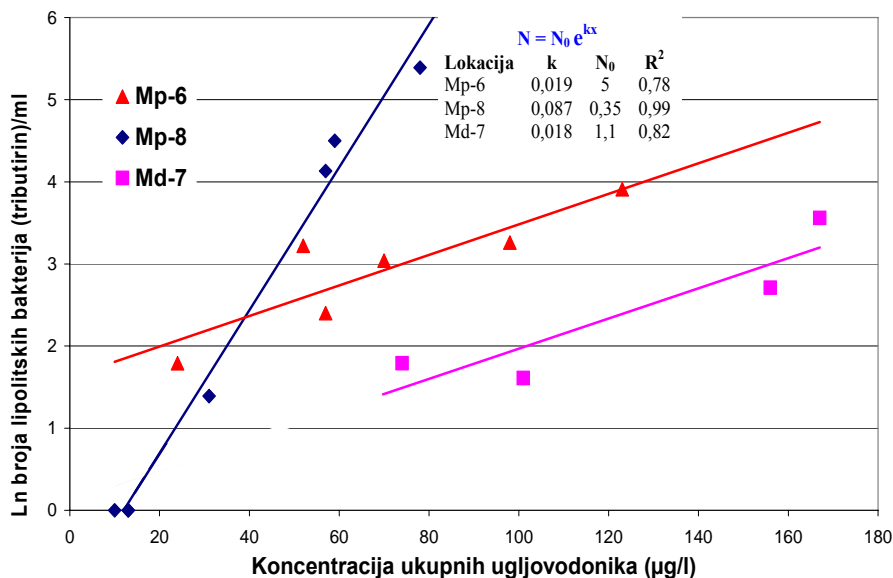


Slika 68. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (TWEEN) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-8 i Md-7

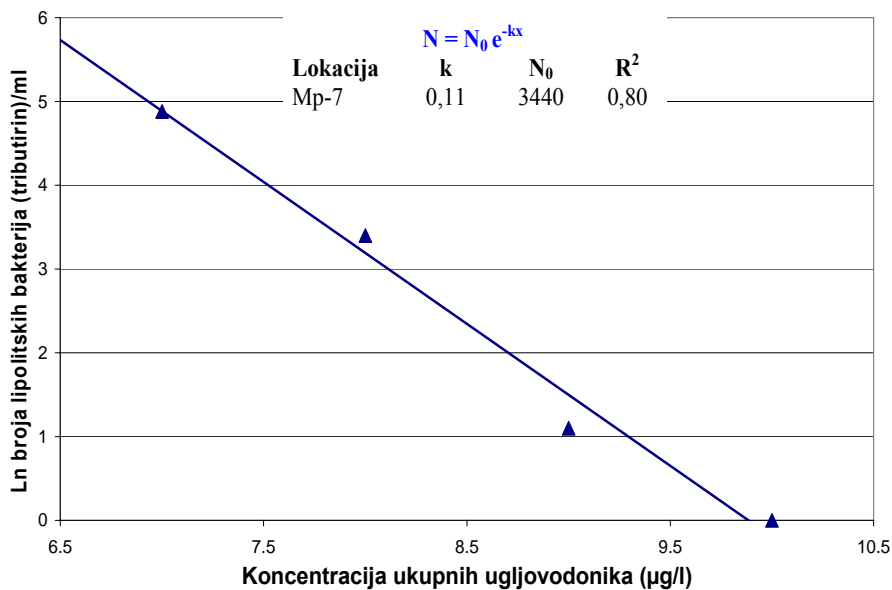


Slika 69. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (TWEEN) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-7 i Md-6

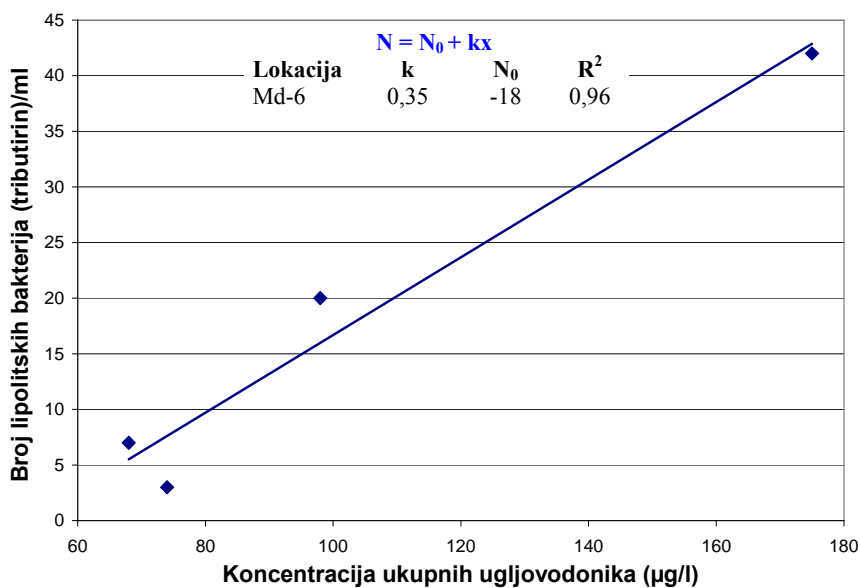
Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj lipolitskih bakterija (podloga tributirin) raste eksponencijalno u pijezometrima Mp-6, Mp-8 i Md-7, linearno raste u Md-6, a opada eksponencijalno u Mp-7.



Slika 70. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-6, 8 i Md-7



Slika 71. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-7

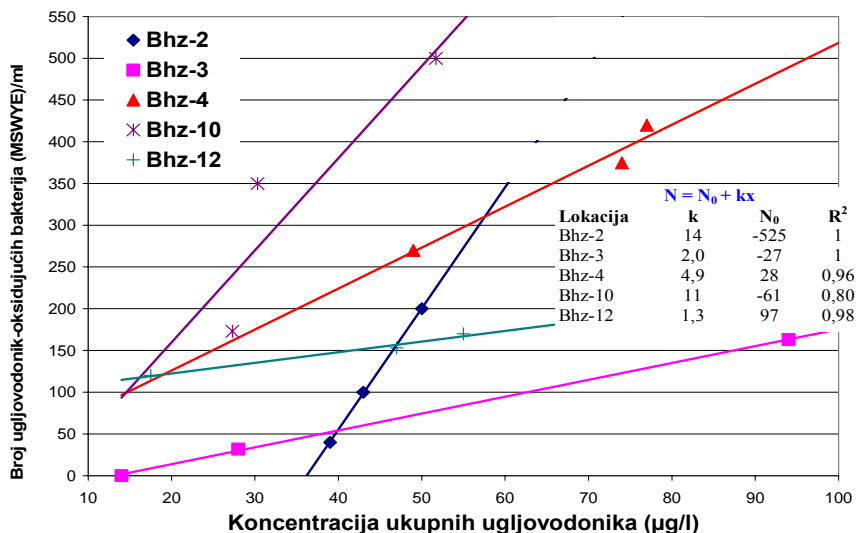


Slika 72. Zavisnost broja lipolitskih bakterija (tributirin) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Md-6

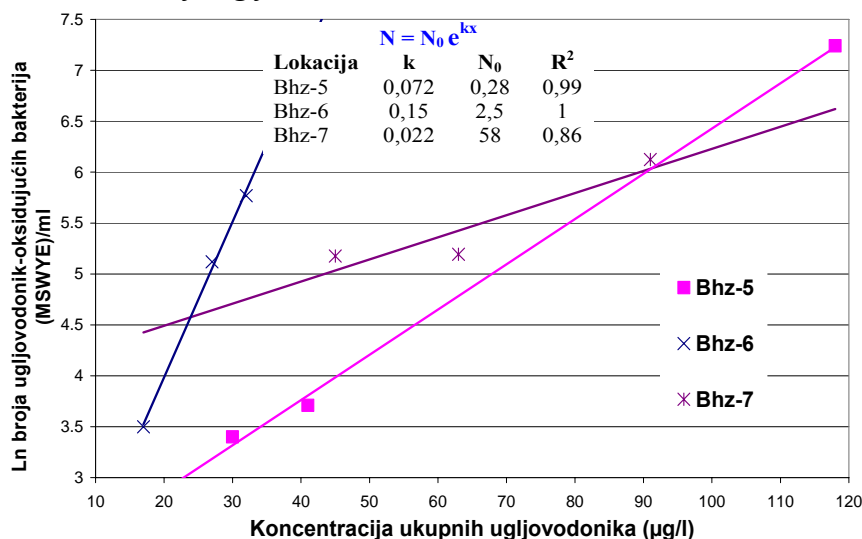
4.1.3.4. Ugljovodonik-oksidujuće bakterije

Na slikama 73-78 predstavljene su funkcije zavisnosti broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga MSWYE i MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere.

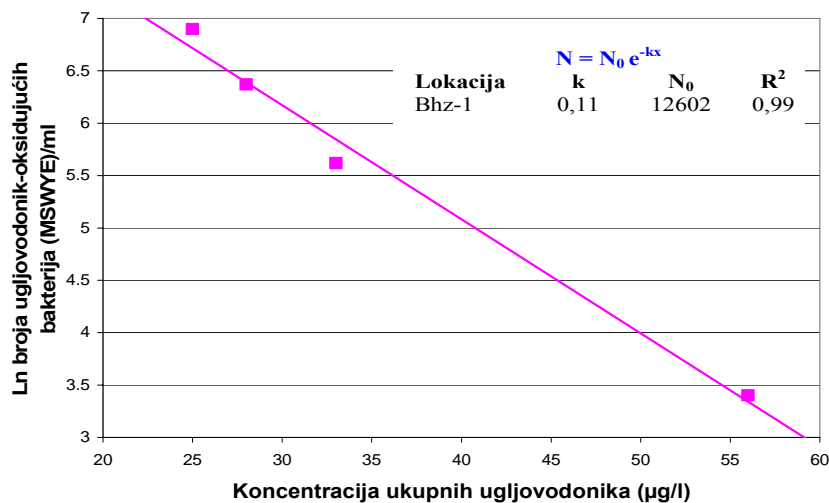
Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga MSWYE) raste linearno u bunarima Bhz-2-4, 10 i 12, eksponencijalno raste u Bhz-5, 6 i 7, a opada u Bhz-1.



Slika 73. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (MSWYE) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-2, 3, 4, 10, 12

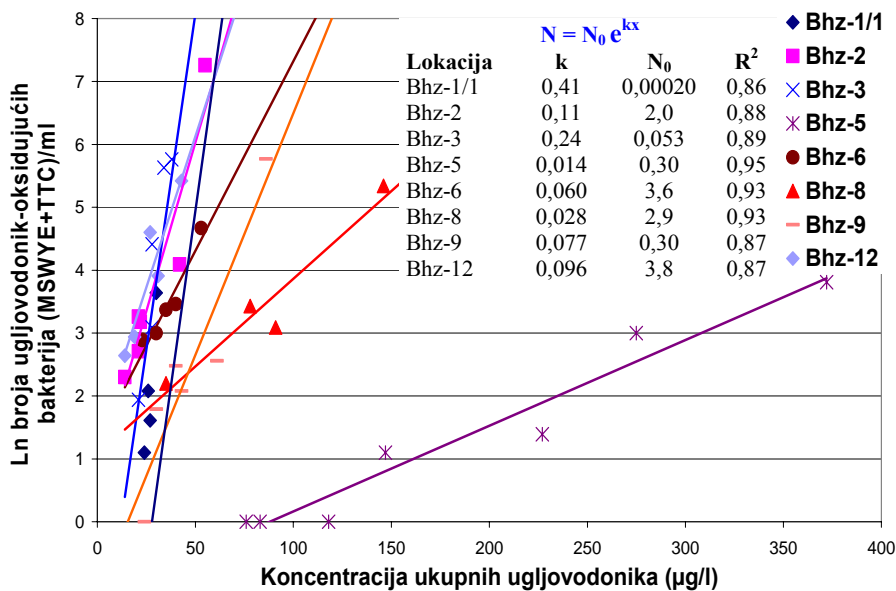


Slika 74. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (MSWYE) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-5, 6, 7

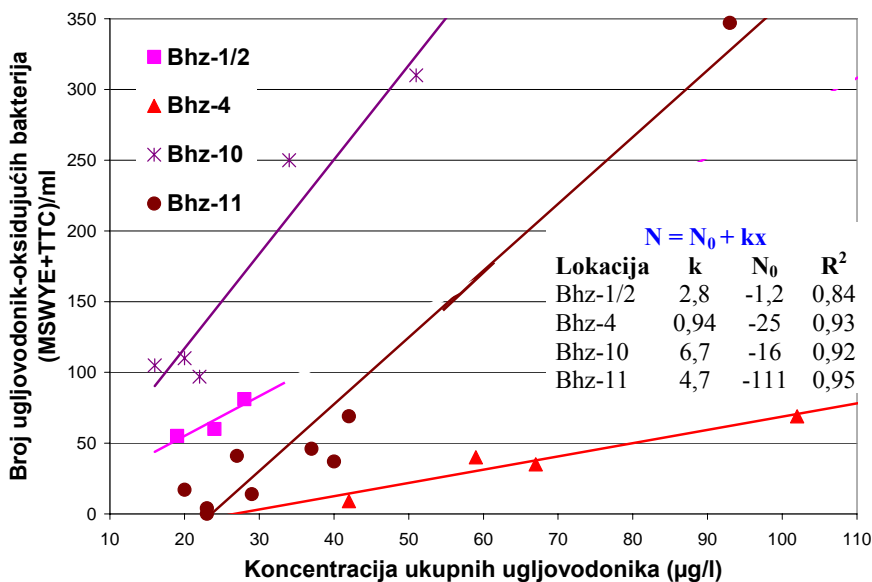


Slika 75. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (MSWYE) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1

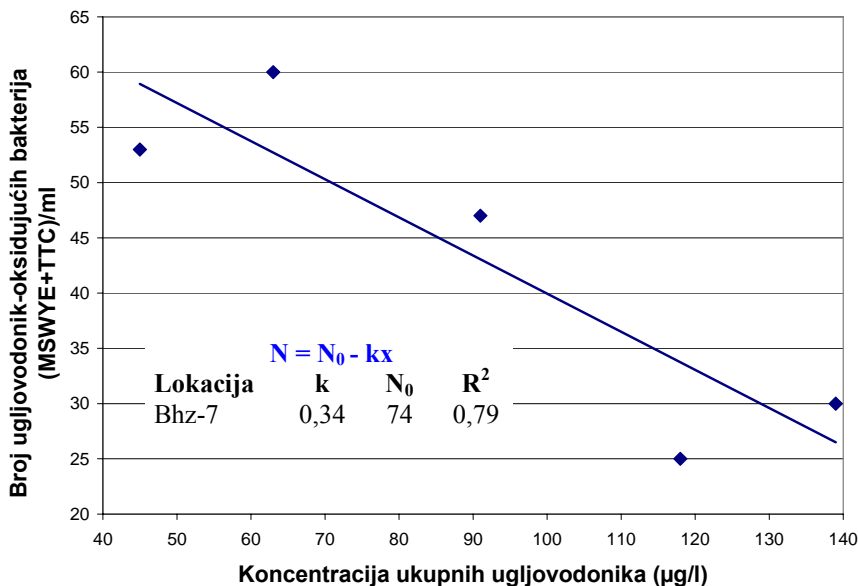
Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (podloga MSWYE+TTC) raste eksponencijalno u bunarima Bhz-1/1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 12, linearno raste u Bhz-1/2, 4, 10 i 11, a opada u Bhz-7.



Slika 76. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1 (V 2004.–V 2005.), 2, 3, 5, 6, 8, 9, 12



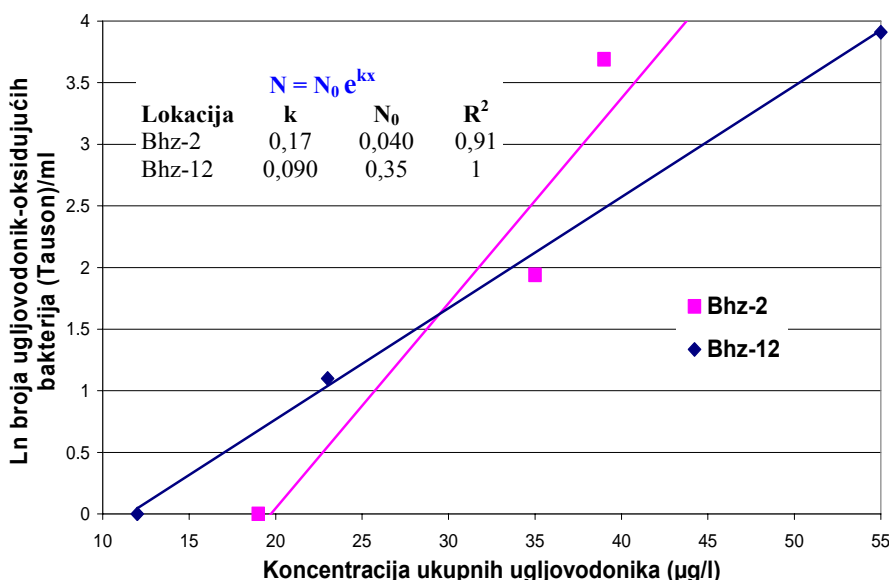
Slika 77. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1 (VII 2005.–I 2006.), 4, 10, 11



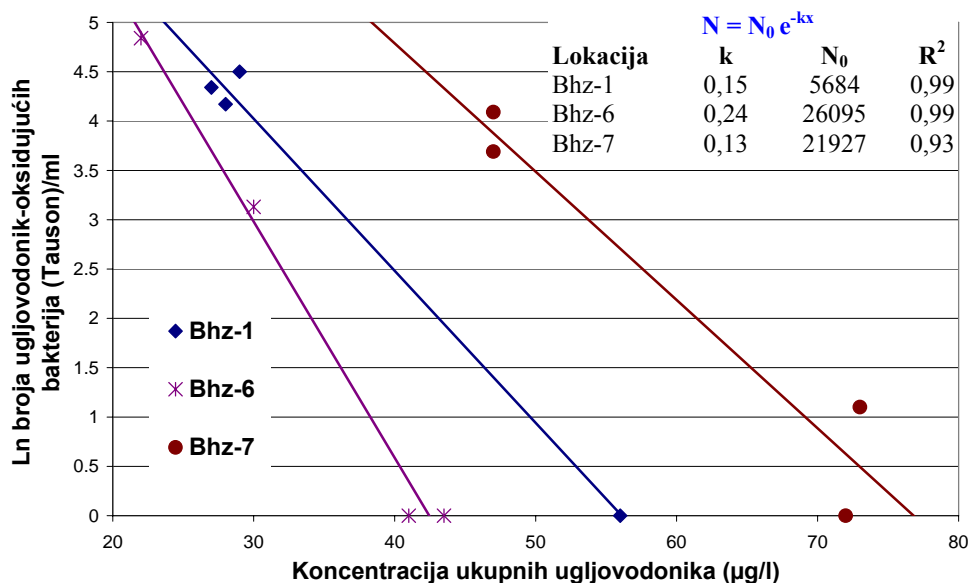
Slika 78. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-7

Na slikama 79-81 predstavljene su funkcije zavisnosti broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga Tauson) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere.

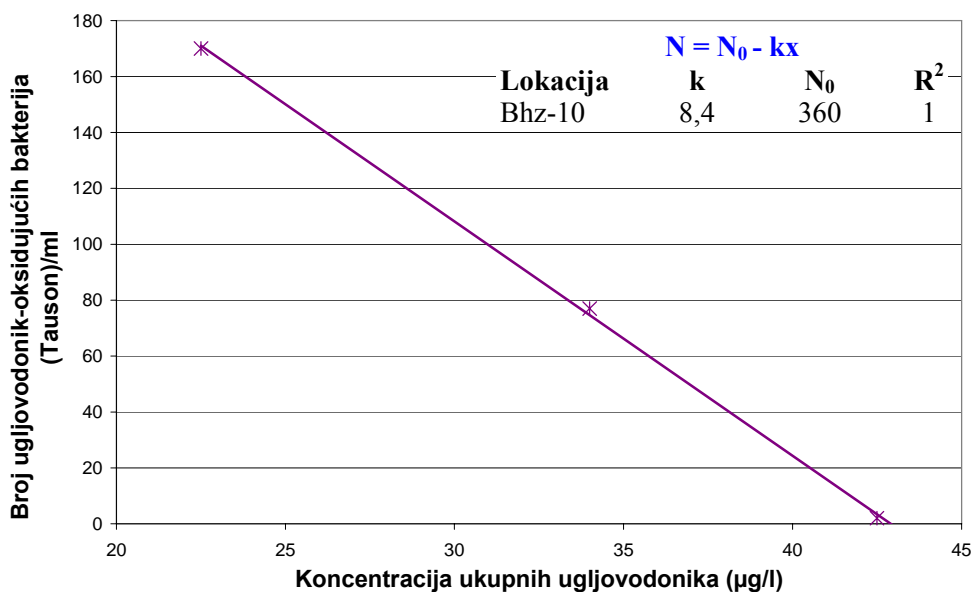
Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga Tauson) raste eksponencijalno u bunarima Bhz-2 i 12, a opada eksponencijalno u Bhz-1, 6 i 7 i linearno iz Bhz-10. Kod bunara Bhz-3, 4 i 5 nisu uočene značajne korelacije.



Slika 79. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (Tauson) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-2 i 12



Slika 80. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (Tauson) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1, 6, 7

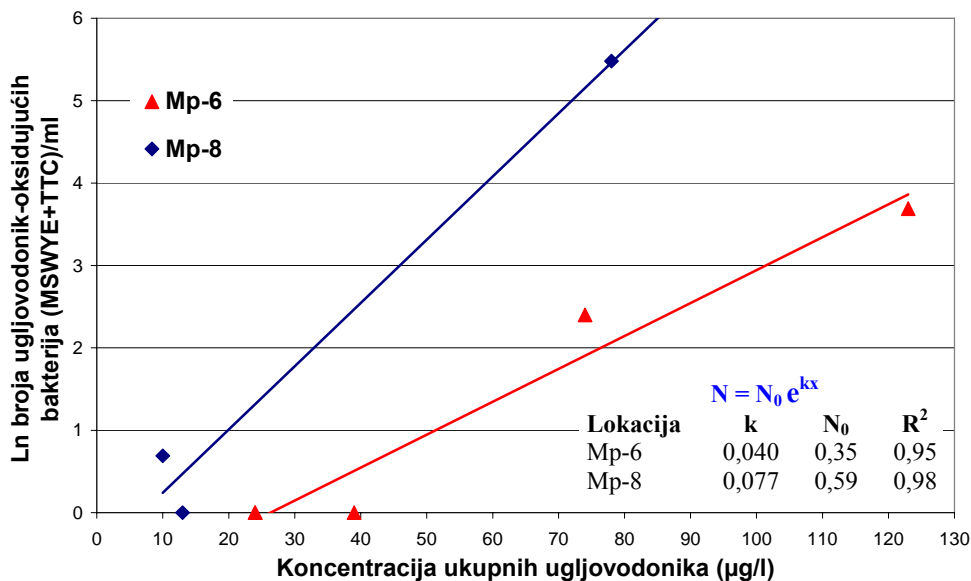


Slika 81. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (Tauson) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-10

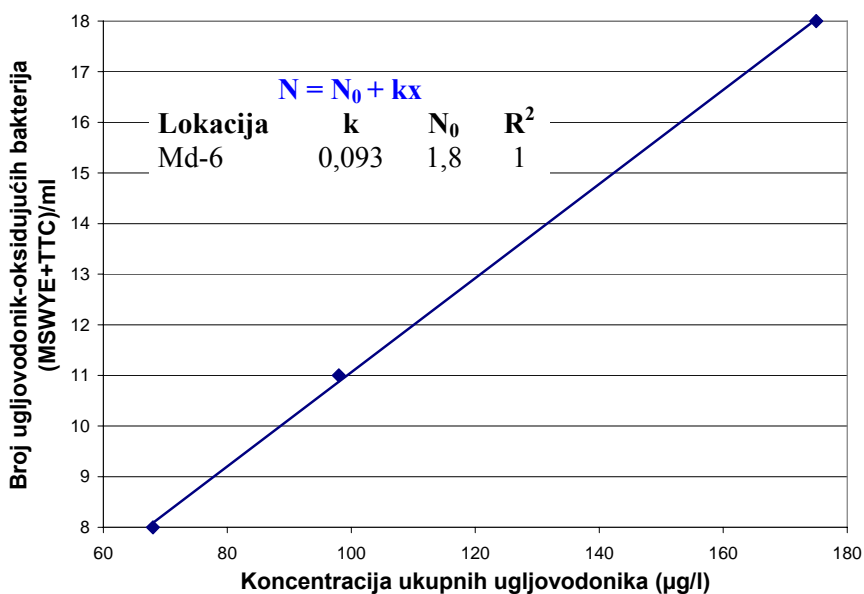
Brojnost bakterija na podlogama MSWYE i Tauson nije merena u vodi pijezometara Mp-5, Md-6, Md-7 i Md-8, a za Mp-6, Mp-7, Mp-8 i Mp-9 nije bilo dovoljno podataka za značajno statističko izračunavanje.

Na slikama 82 i 83 predstavljene su funkcije zavisnosti broja ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (podloga MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Rafineriji nafte. Kod pijezometara Mp-5, Md-8 i Md-9 nema značajnih korelacija, a u Mp-9 nije merena brojnost na datoj podlozi.

Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj ugljovodonik-oksidiujućih bakterija (podloga MSWYE+TTC) raste eksponencijalno u Mp-6 i 8, i linearno u Md-6.

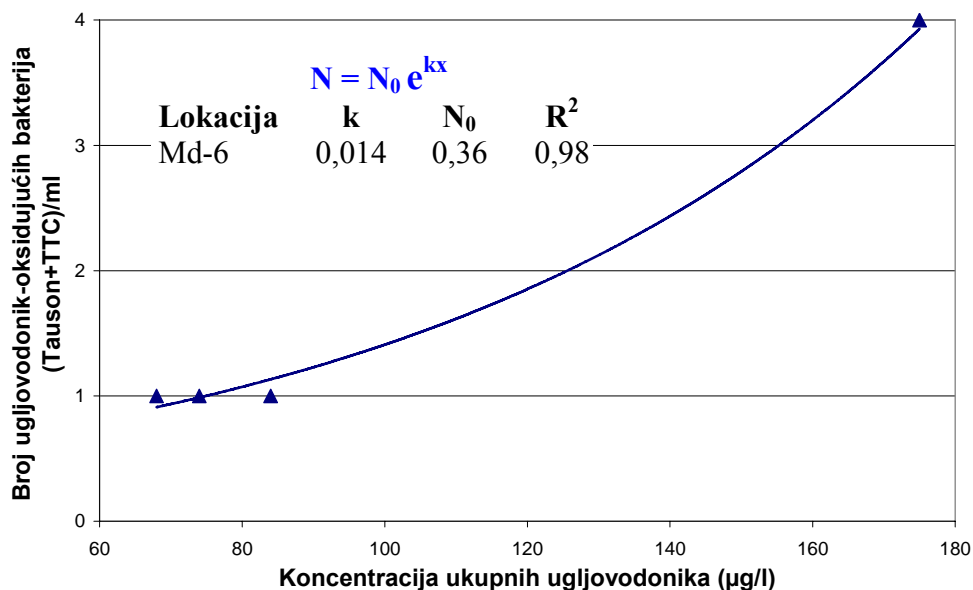


Slika 82. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-6 i 8



Slika 83. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Md-6

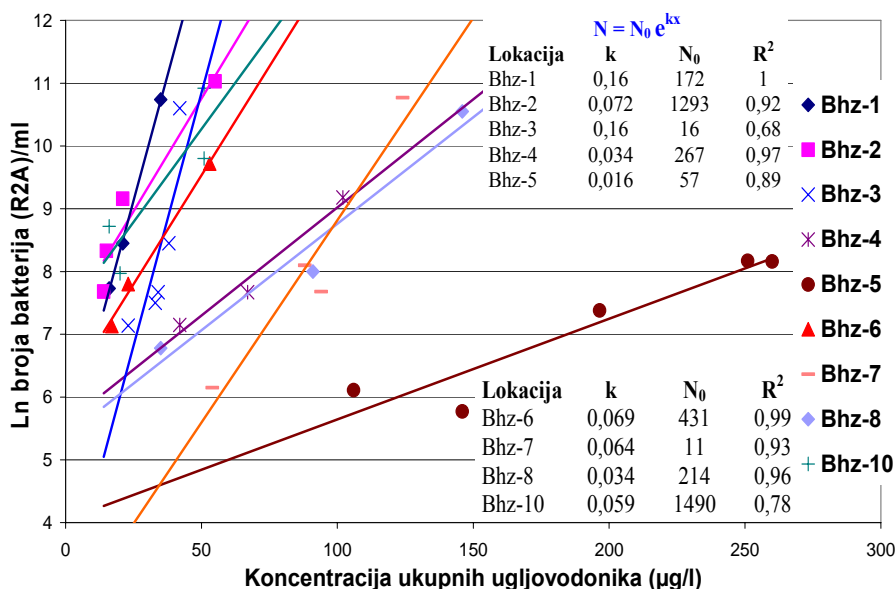
Na slici 84 predstavljen je eksponencijalni rast broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga Tauson+TTC) usled porasta koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometra Md-6. Kod pijezometra Mp-9 nije primenjena data podloga, a kod ostalih nisu uočene značajne korelacije.



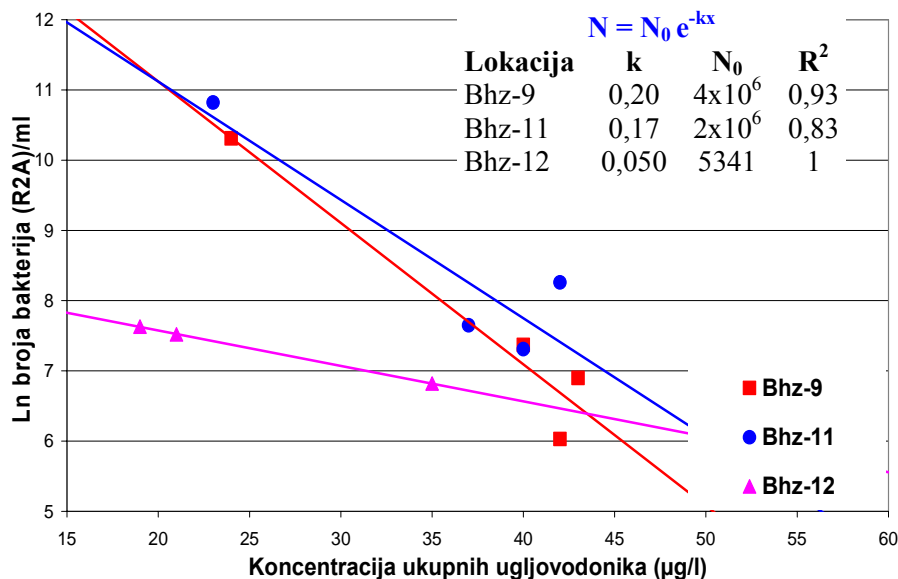
Slika 84. Zavisnost broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (Tauson+TTC) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Md-6

4.1.3.5. Bakterije na niskonutritivnoj R2A podlozi

Na slikama 85 i 86 predstavljene su funkcije zavisnosti broja bakterija (podloga R2A) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere. Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj bakterija (podloga R2A) raste eksponencijalno u Bhz-1-8 i 10, a opada u Bhz-9, 11 i 12.

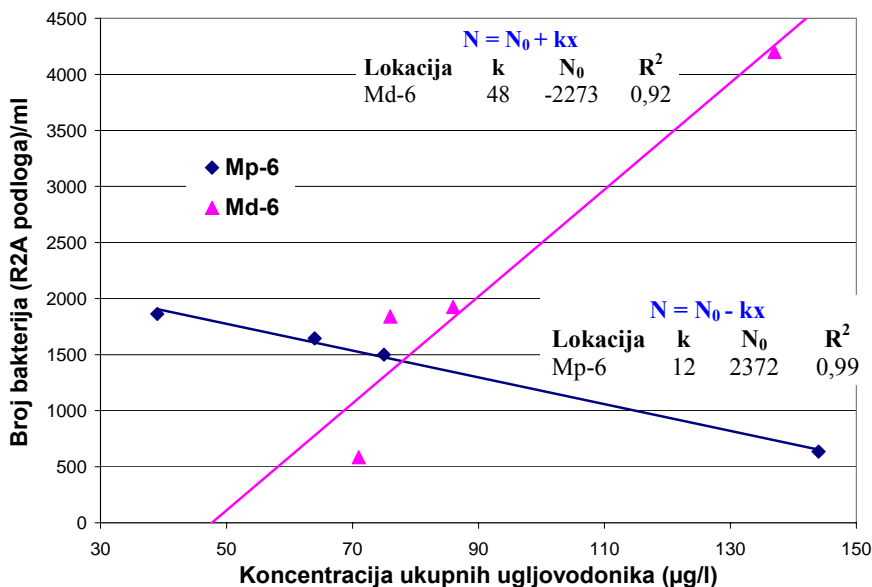


Slika 85. Zavisnost broja bakterija (podloga R2A) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-1-8 i 10



Slika 86. Zavisnost broja bakterija (podloga R2A) od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-9, 11, 12

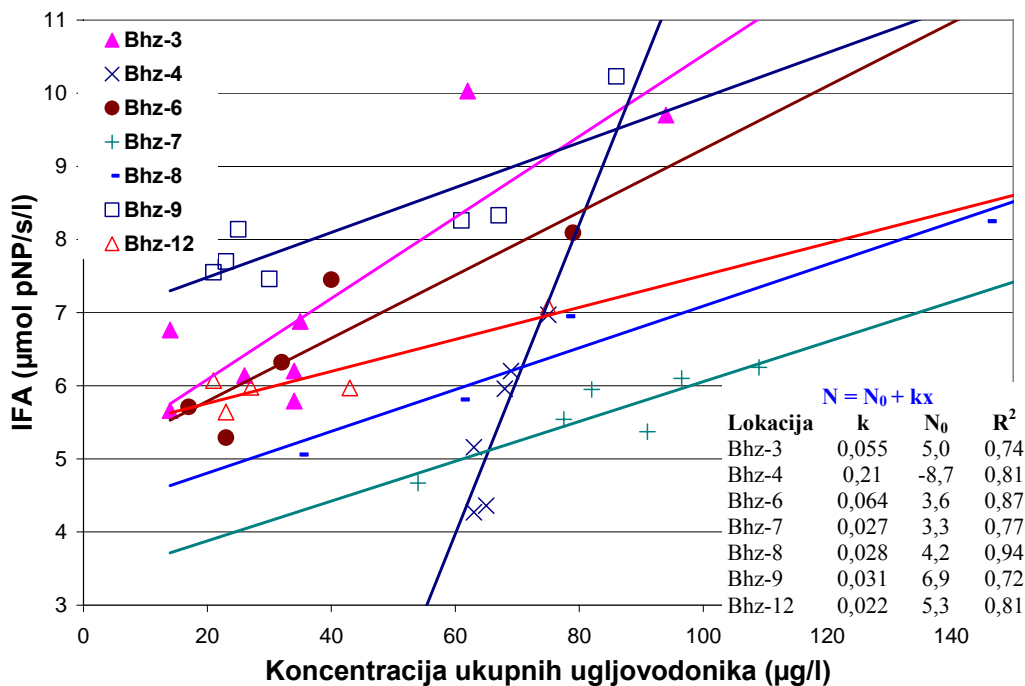
Na slici 87 predstavljene su funkcije zavisnosti broja bakterija (podloga R2A) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Rafineriji nafte Mp-6 i Md-6. Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika broj bakterija (podloga R2A) linearno raste u Md-6, a opada u Mp-6. Kod pijezometara Mp-5, Mp-8 i Md-8 nisu uočene značajne korelacije.



Slika 87. Zavisnost broja bakterija (podloga R2A) od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-6 i Md-6

4.1.3.6. Fosfatazna aktivnost

Na slici 88 predstavljene su funkcije zavisnosti indeksa fosfatazne aktivnosti od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara hidrauličke barijere. Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-3, 4, 6-9 i 12 linearno raste indeks fosfatazne aktivnosti.



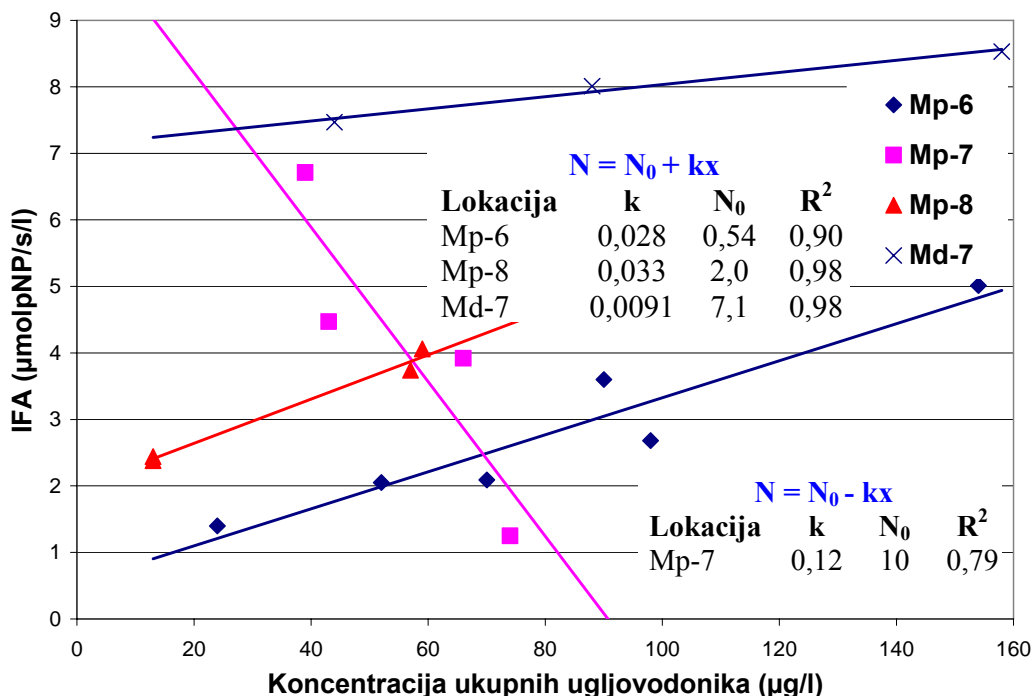
Slika 88. Zavisnost indeksa fosfatazne aktivnosti od koncentracije ugljovodonika u vodi bunara Bhz-3, 4, 6-9, 12

Na slici 89 predstavljene su funkcije zavisnosti indeksa fosfatazne aktivnosti od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara u Rafineriji nafte. Kod pijezometra Md-6 nema značajnih korelacija. Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika indeks fosfatazne aktivnosti linearno raste u Mp-6, 8 i Md-7, a opada u Mp-7, što može biti posledica prodora toksičnih ugljovodonika.

U vodi većine praćenih objekata uočene su funkcionalne zavisnosti bakterijske brojnosti od koncentracije ugljovodoničnog zagađenja. Utvrđeno je sledeće:

- prisutne funkcionalne zavisnosti bakterijske brojnosti od koncentracije ugljovodoničnog supstrata uglavnom su pozitivne, odnosno, sa povećanjem koncentracije ugljovodonika raste broj bakterija;
- zavisnosti veoma visokog koeficijenta determinacije, uglavnom $R^2 > 0,80$, su uočene između koncentracije ukupnih ugljovodonika, s jedne strane, i ugljovodonik-oksidujućih (MSWYE i MSWYE+TTC) i lipolitskih bakterija, s druge strane - zavisnost broja lipolitskih bakterija od koncentracije ugljovodonika je eksponencijalna, a ugljovodonik-oksidujućih bakterija eksponencijalna i linerana;
- u vodi bunara hidrauličke barijere utvrđena je eksponencijalna zavisnost između broja bakterija na niskonutritivnoj R2A podlozi i koncentracije ugljovodonika, sa visokim koeficijentima determinacije, uglavnom $R^2 > 0,90$;

- u podzemnoj vodi uočena je linearna zavisnost indeksa fosfatazne aktivnosti (kao glavnog pokazatelja prisutnog biodegradabilnog zagađenja) i koncentracije ugljovodonika (uglavnom $R^2 > 0,80$);
- korelacije između broja organotrofa i fakultativnih oligotrofa, jedne strane, i koncentracije ugljovodonika, s druge strane, ređe su uočene, nešto češće su eksponencijalne nego linearne i nižih su koeficijenata determinacije: pošto su u podzemnoj vodi lokaliteta Ratno ostrvo prisutne prirodne organske materije u količini značajno većoj od količine ugljovodonika, njihov uticaj na brojnost organotrofa i fakultativnih oligotrofa je dominantan i to je osnovni razlog nižeg stepena korelacije;
- uočeni su slučajevi da sa porastom koncentracije ugljovodonika eksponencijalno ili linearno opada brojnost bakterija i to sa visokim koeficijentima determinacije (uglavnom $> 0,90$), iako nisu prisutne visoke koncentracije ukupnih ugljovodonika - pretpostavka je da su drugi činioci uticali na smanjenje broja bakterija, kao što je eventualni priliv visoko toksičnih komponenti zajedno sa prilivom ugljovodonika.



Slika 89. Zavisnost indeksa fosfatazne aktivnosti od koncentracije ugljovodonika u vodi pijezometara Mp-6, 7, 8 i Md-7

Potrebno je napomenuti da su date korelacije dobijene za koncentracije ukupnih ugljovodonika $< 400 \mu\text{g/l}$ (najčešće $< 200 \mu\text{g/l}$).

Može se zaključiti da je u podzemnoj vodi granične zone izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte Novi Sad prisutan proces pasivne bioremedijacije, odnosno, da na pojavu ugljovodoničnog zagađenja u vodi sredina odgovara povećanjem brojnosti bakterija i bakterijske enzimske aktivnosti, pre svega ugljovodoničnog zagađenja, koje potom degradacijom zagađenja stvaraju supstrat koji pogoduje povećanju brojnosti lipolitskih bakterija.

4.2. Rezultati ispitivanja tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode sa lokaliteta Ratno ostrvo na laboratorijskom postrojenju

4.2.1. Karakteristike zagađenog zemljišta

Osobine zemljišta koje je podvrgnuto tretmanu na laboratorijskom postrojenju su date u tabeli 14.

Tabela 14. Karakterizacija zagađenog zemljišta podvrgnutog tretmanu

Parametar	Jedinice	Vrednost	Parametar	Jedinice	Vrednost
Vlaga	% H ₂ O	4,3	Naftalen	µg/kg	< 5
Ostatak žarenja	%	83,7	Acenaftilen	µg/kg	< 5
Gustina	g/cm ³	2,24	Acenaften	µg/kg	< 5
Organska materija	%	16,3	Fluoren	µg/kg	7
HPK	gO ₂ /kg	190	Fenantren	µg/kg	34
BPK ₅	gO ₂ /kg	1,6	Antracen	µg/kg	< 5
Ukupni ugljovodonici	g/kg	32,3	Fluoranten	µg/kg	n.d.
Mineralna ulja	g/kg	27,3	Piren	µg/kg	78
Aktivna kiselost	pH	7,65	Benzo(a)antracen	µg/kg	28
Supstitucionna kiselost	pH	6,83	Krizen	µg/kg	156
Ukupan fosfor	mg/kg	153	Benzo(b)fluoranten	µg/kg	27
NH ₄ ⁺	mg/kg	5,2	Benzo(k)fluoranten	µg/kg	
NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	mgN/kg	61	Benzo(a)piren	µg/kg	104
Organski azot	mg/kg	506	Dibenzo(a,h)antracen	µg/kg	n.d.
Ukupan azot	mg/kg	570	Benzo(g,h,i)perilen	µg/kg	10
Fe	g/kg	5,4	Indeno(1,2,3-c,d)piren	µg/kg	24
Ni	mg/kg	18	Suma PAH	µg/kg	468
Cu	mg/kg	5,4	Kvalitativna GC/MS analiza: Pentadekan 2,6,10,14-Tetrametil-pentadekan Heptadekan 2,6,10,14-Tetrametil-heksadekan Oktadekan 2,6,10,15-Tetrametil-heptadekan Nonadekan 9-Metil-nonadekan Eikosan 11-Butil-dokosan Heneikosan 11-Butil-dokosan Dokosan Heksadekanska kiselina Trikosan Nonaheksakontanska kiselina Pentatriakontan		
Zn	mg/kg	75			
Pb	mg/kg	25			
Cd	mg/kg	1,5			
Cr	mg/kg	21			
Mn	mg/kg	167			
DHA	mgTPF/g	0,22			
IFA	µmol pNP/s/g	15,6			

4.2.2. Ispitivanje biostimulacije na laboratorijskom postrojenju

4.2.2.1. Temperatura

Temperatura u reaktoru je pratila promenu temperature okoline i nalazila se u opsegu koji ne limitira proces biodegradacije, jer je u hladnom periodu godine prostorija zagrevana

na 15-20°C (kratkotrajno min. 10°C), dok u toplom periodu nije prelazila 27°C (tabela 15). U toku faza I-1 i I-2 temperature u aeratoru bile su više od temperature okoline, što se može objasniti dužom aeracijom komprimovanim, odnosno, toplim vazduhom.

Tabela 15. Promena temperature u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Temperatura (°C)		
		vazduh	reaktor	aerator
I	I-1	17,7	15,6	23,7
	I-2	18,6	16,0	22,8
	I-3	20,2	19,2	20,8
	I-4	21,0	20,6	21,1
II	II-1	18,5	15,6	15,7
III	III-0	19,1	17,4	bioreaktor 20,3
	III-1	25,5	-	25,5
	III-2	25,8	-	26,8
	III-3	25,3	-	25,8

4.2.2.2. Vlažnost zemlje

Pošto je za metabolizam bakterija neophodna voda, u toku procesa mora se obezbediti odgovarajuća vlažnost zemljišta. Takođe, bakterije mogu da razgrađuju samo rastvorenu i emulgovanu naftu. Međutim, veliki dodatak vode može dovesti do spiranja zagađenja, tako da treba biti obazriv sa primenom navodnjavanja zagađenih lokaliteta.

Vlaga u zemlji u reaktoru se kretala, uglavnom, u opsegu 15-20% (min. 10%, max. 30%) (tabela 16). Na mernom mestu S vlažnost se kretala u opsegu 27-35%, s obzirom da je to mesto nalivanja tretirane vode, gde je došlo i do obrazovanja vodene faze, koja se zadržala sve vreme trajanja eksperimenta.

Može se zaključiti da su bakterije imale dovoljno vode za svoju mikrobiološku aktivnost, kao i da je merno mesto S zbog stalnog dotoka vode imalo drugačije mikroslove od ostala tri merna mesta.

Tabela 16. Promena vlažnosti zemlje u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Vlaga (%)	
		I-III	S
I	I-1	16,9	-
	I-2	15,3	30,3
	I-3	22,2	27,9
	I-4	13,7	33,0
II	II-1	19,8	30,6
III	III-0	15,5	27,0
	III-1	15,0	-
	III-2	-	-
	III-3	15,2	-

4.2.2.3. Promena pH vrednosti

pH vrednost zemljišta se sve vreme trajanja eksperimenta kretala u opsegu koji pogoduje mikrobiološkoj aktivnosti prisutne mikroflore - 7,1-8,4 pH jedinice za aktivnu kiselost i 6,5-7,7 pH jedinice za supstitucionu kiselost (tabela 17). U toku prve dve faze I varijante aktivna kiselost se razlikovala od supstitucione za više od jedne pH jedinice, međutim, nakon povećanja brzine recirkulacije dolazi do značajnog porasta aktivne kiselosti (pada pH vrednosti) i malog pada supstitucione kiselosti, tako da su se one skoro izjednačile – pretpostavka je da dolazi do jonske izmene odnosno desorpcije H^+ -jona sa zemljišnog matriksa usled adsorpcije drugih jona. Poznato je da je pad pH vrednosti zemljišnog rastvora definisan kada koncentracija rastvorenih soli poraste ($NaCl$, $CaSO_4$ i sl.). Dalje, porast aktivne kiselosti može biti posledica nitrifikacije, zatim oksidacije pirita (do sulfata), kao i dekompozicije organske materije i mikrobiološkog disanja pri čemu nastaju kiseline, posebno ugljena kiselina. Nakon ponovnog povećanja brzine recirkulacije (faza I-4) obe kiselosti opadaju do kraja eksperimenta i zemljište je ponovo blagoalkalno. Iako je nakon postavljanja magnezijum-peroksida (varijanta II) zabeležen pad koncentracije amonijaka i porast koncentracije nitrata (što ukazuje na nitrifikaciju), ipak pH vrednost nastavlja da raste, što ukazuje da drugi procesi utiču značajnije na kiselost od nitrifikacije i denitrifikacije.

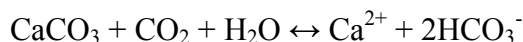
Tabela 17. Promena pH vrednosti zemlje i vode u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda			
		pH vrednost					
		Aktivna (H_2O)	Supstitucionna ($CaCl_2$)	Reaktor	Aerator		
I	I-1	7,85	6,81	6,74	7,66		
	I-2	7,88	6,83	6,82	7,16		
	I-3	7,16	7,06	7,21	7,22		
	I-4	7,26	6,91	6,61	6,85		
II	II-1	8,03	7,54	7,08	7,81		
III	III-1	-	-	6,89	Ulaz	Bio-reaktor	Izlaz
					6,81	7,98	7,95
				III-2	-	-	7,19
III-3	-	-	-	6,71	7,88	7,91	

I pH vrednost podzemne vode u reaktoru se sve vreme trajanja eksperimenta kretala u opsegu koji pogoduje mikrobiološkoj aktivnosti prisutne mikroflore – 6,2-7,5 pH jedinice. pH vrednost u podzemnoj vodi se menjala slično kao i supstitucionu kiselost u zemljištu.

U aeratoru pri dužem vremenu zadržavanja vode u njemu (faza I-1 i II-1) i u bioreaktoru (varijanta III) su zabeležene više pH vrednosti u odnosu na podzemnu vodu za 0,7-1,3 pH jedinice. Normalno je očekivati pri dužem vremenu aeracije pad pH vrednosti vode u aeratoru i bioreaktoru zbog nitrifikacije amonijaka i oksidacije organskih materija (i ugljovodonika) do kiselina (*Mędrzycka et al, 2004*), međutim, moguće je da je navedeni porast pH vrednosti posledica isterivanja viška ugljenik(IV)-oksida u karbonatnoj ravnoteži.

Naime, organska materija u reaktoru se razgrađuje do ugljenik(IV)-oksida i vode. Nastali ugljenik(IV)-oksid rastvara karbonate iz zemljišta i gradi hidrokarbonate:



Slobodna ugljena kiselina i hidrokarbonatni-jon predstavljaju osnovni karbonatni sistem koji ispoljava puferske osobine i stabilise pH vode:



pH vrednost vode zavisi od različitih oblika ugljene kiseline. Interval pH vrednosti na kojima je zastupljena ravnoteža između slobodne ugljene kiseline i hidrokarbonata je 4,2-8,3. U toku procesa aeracije isteruje se višak, odnosno, nepripadajući CO_2 što ima za posledicu redukovanje aciditeta i povećanje pH vrednosti. Postignuta slabobazna i neutralna sredina u aeratoru i bioreaktoru je pogodna za veći deo bakterija aktivnog mulja.

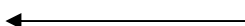
4.2.2.4. Promena elektroprovodljivosti vode

Elektroprovodljivost vode reaktora u početku raste kao rezultat desorpcije jona iz zemljišta, a potom opada postupno u toku eksperimenta sa povećanjem brzine recirkulacije i pomeranjem dinamičke ravnoteže ka nižim koncentracijama usled kraćeg vremena zadržavanja vode u kontaktu sa zemljištem (tabela 18).

Tabela 18. Promena elektroprovodljivosti vode u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Elektroprovodljivost ($\mu\text{S}/\text{cm}$)			
		Reaktor	Aerator		
I	I-1	2363	1853		
	I-2	2397	2353		
	I-3	2133	1965		
	I-4	1678	1645		
II	II-1	1882	1216		
III	III-1	1470	Ulaz	Bio-reaktor	Izlaz
			1365	1033	1028
	III-2	1470	1510	1027	1023
	III-3	-	1418	1153	1048

Elektroprovodljivost vode aeratora i bioreaktora je sve vreme trajanja eksperimenta niža od elektroprovodljivosti vode reaktora, što ukazuje na pozitivan uticaj procesa aeracije i prevođenja rastvornih jonskih vrsta u nerastvorno oksidovano stanje. Pretpostavka je da isterivanje nepripadajućeg ugljenik(IV)-oksida dovodi do pomeranja karbonatne ravnoteže u pravcu karbonata što snižava elektroprovodljivost:



Elektroprovodljivost zavisi od koncentracije svih jona, ali pošto je elektroprovodljivost vode u aeratoru i bioreaktoru niža od vode u reaktoru, a pH vrednost je viša, očito je da je elektroprovodljivost proporcionalna promeni H^+ -jona.

4.2.2.5. Poređenje primenjenih tehnika za obezbeđenje kiseonika potrebnog bakterijama

U tabeli 19 predstavljena je promena koncentracije rastvorenog kiseonika u vodi reaktora, aeratora i bioreaktora u toku eksperimenta.

U I varijanti eksperimenta kiseonik neophodan bakterijama nastojao se obezbediti prodivavanjem vazduha kroz vodu u aeratoru u toku njene recirkulacije i potom nalivanjem aerisane vode po zemlji u reaktoru. Aeracijom vode u aeratoru može se postići koncentracija rastvorenog kiseonika do 8 mg/l, a uobičajeno se kretala od 2,5 do 6 mg/l, zavisno od vremena zadržavanja i ispravnosti aeracionog sistema.

Tabela 19. Koncentracija rastvorenog kiseonika u vodi u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Rastvoreni kiseonik (mg/l)			
		Reaktor	Aerator		
I	I-1	0,4	5,0		
	I-2	0,4	3,5		
	I-3	0,4	4,3		
	I-4	0,7	4,5		
II	II-1	0,7	8,3		
III	III-1	0,9	Ulaz	Bio-reaktor	Izlaz
			0,2	7,6	6,0
	III-2	0,1	0,1	7,1	4,3
	III-3	-	0,1	7,4	5,4

U II varijanti nakon odvajanja aeratora postavljen je u reaktor pijezometar sa magnezijum-peroksidom. Erlenmajer-testom je dobijen porast koncentracije kiseonika u vodi od 2 mg/l nakon dodatka magnezijum-peroksida.

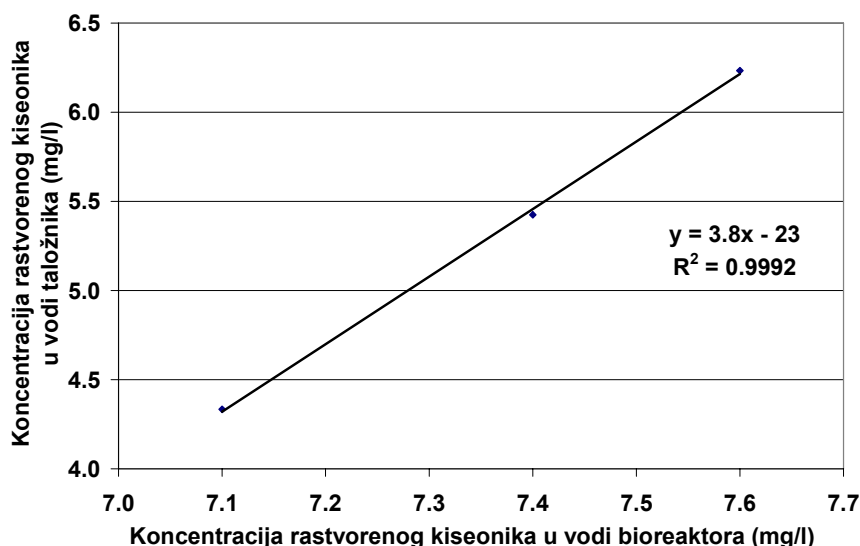
Međutim, bez obzira na koncentraciju kiseonika postignutu u vodi aeratora i u erlenmajer-testu nakon dodatka magnezijum-peroksida, postignute koncentracije rastvorenog kiseonika u podzemnoj vodi se značajno razlikuju od njih.

U prve tri faze I varijante koncentracija kiseonika u vodi pijezometara je bila oko 0,4 mg/l. Niska koncentracija kiseonika u vodi pijezometara ukazuje na pretpostavku da sav kiseonik biva potrošen odmah, u površinskom sloju zemlje, zbog velike koncentracije zagađenja i da ne može da proдре u dublje slojeve, dok koncentracija zagađenja ne opadne na niži nivo. Međutim, nakon povećanja protoka u fazi I-4 dolazi do porasta koncentracije kiseonika u pijezometrima i prosečna koncentracija je iznosila 0,7 mg/l. Dalje povećanje recirkulacije može dovesti do spiranja zagađenja, što može da ugrozi nezagađene zone, a

zahteva i ulaganje energije, odn. povećanje troškova radi ubrzanja pasivne bioremedijacije. Zato je u nastavku istraživanja ispitana primena magnezijum-peroksida.

U II varijanti prosečna koncentracija kiseonika je bila oko 0,7 mg/l. S obzirom da je brzina recirkulacije vode u I-4 i II-1 fazi bila ista, obe tehnike su pokazale podjednaku efikasnost u dopremanju kiseonika u podzemnu vodu. Prednost primene magnezijum-peroksida pri sličnoj efikasnosti obe tehnike je u nižim troškovima u odnosu na troškove aeracije vode, kao i u nedostatku potrebe za recirkulisanjem vode zbog prirodnog kretanja podzemne vode. Za veoma zagađene lokalitete ipak se moraju primeniti intenzivnije tehnike od primene ORC preparata i od nalivanja aerisane vode po površini lokaliteta. Verovatno bi se veća efikasnost postigla postavljanjem infiltracionih galerija u dublje slojeve zemljišta, kao i uduvavanjem vazduha u akvifer, kao i primenom kombinovanih tehnika sa ozonom i vodonik-peroksidom.

U III varijanti u bioreaktoru je prisutna efikasna aeracija koja je obezbedila nivo rastvorenog kiseonika u opsegu oko 7-8 mg/l, bez obzira na protok vode. Održavana koncentracija rastvorenog kiseonika je dovoljna za normalnu životnu delatnost mikroorganizama aktivnog mulja u procesu prečišćavanja. U vodi taložnika, generalno, je prisutno 2 mg/l manje kiseonika nego u bioreaktoru (tabela 19), što nam ukazuje na to da se u taložniku nastavlja i dalje razgradnja organskih materija. Međutim, ova koncentracija kiseonika je dovoljna da spreči degradaciju aktivnog mulja, koji je sedimentirao u njemu, pod delovanjem striktnih anaeroba. Na slici 90 prikazana je zavisnost koncentracije rastvorenog kiseonika u vodi taložnika od koncentracije kiseonika u vodi bioreaktora.



Slika 90. Zavisnost koncentracije rastvorenog kiseonika u vodi taložnika od koncentracije kiseonika u vodi bioreaktora

Koncentracija kiseonika u vodi reaktora na početku III varijante (faza III-1) je bila veća nego u prve dve varijante i iznosila je oko 0,9 mg/l, međutim, kasnije dolazi do potpune potrošnje kiseonika, što ukazuje na intenziviranje mikrobioloških procesa u zemljištu i što se slagalo sa podacima o smanjenju koncentracije ugljovodonika u zemljištu u toku III varijante.

4.2.2.6. Sadržaj nutrijenata u zemlji i vodi u toku eksperimenta

4.2.2.6.1. Azot

Azot u zemljištu je preko 90 % vezan u organskoj materiji, dok je ostatak u obliku amonijum-jona, nitrata i nitrita.

4.2.2.6.1.1. Amonijak

Koncentracija amonijum-jona u zemljištu je najveća u toku faza I-4 i II-1, što može da ukaže na proces amonifikacije organske materije (tabela 20).

U aeratoru u toku I varijante koncentracija amonijaka se ne razlikuje značajno od koncentracije u podzemnoj vodi. Nakon odvajanja aeratora u II varijanti koncentracija amonijaka u vodi aeratora opada usled dužeg perioda aeracije.

Sadržaj amonijaka u vodi na izlasku iz bioreaktora (varijanta III) je sve vreme niži od ulaznog, što ukazuje na proces nitrifikacije amonijaka u bioreaktoru.

Tabela 20. Koncentracija amonijaka u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Koncentracija amonijaka			
		Zemlja (mgNH ₄ ⁺ /kg)	Voda (mgNH ₄ ⁺ /l)		
			Reaktor	Aerator	
I	I-1	9,2	11	10	
	I-2	11	20	22	
	I-3	13	19	19	
	I-4	26	27	23	
II	II-1	21	18	6,3	
III	III-1	14	11	Bioreaktor	
				Ulaz	Izlaz
	III-2	14	-	7,9	2,5
	III-3	-	-	12	3,1

4.2.2.6.1.2. Nitrati i nitriti

Koncentracija nitrata i nitrita je značajno varirala u toku procesa u opsegu od 10 do preko 120 mgN/kg (pojedinačne vrednosti), što se može objasniti intezivnim oksidoredukcionim procesima (tabela 21). Uglavnom se maksimumi koncentracije nitrata i nitrita u zemljištu poklapaju sa minimumima koncentracije amonijaka i obrnuto, što ukazuje na procese nitrifikacije i denitrifikacije.

Nitrati u podzemnoj vodi uglavnom nisu prisutni, izuzev visoke koncentracije u aeratoru u toku II varijante, kada dolazi do duže aeracije vode u njemu, što, uz pad koncentracije amonijaka, potvrđuje pojavu nitrifikacije. Nitriti su prisutni u podzemnoj vodi u veoma niskim koncentracijama.

Koncentracija nitrata i nitrita u vodi bioreaktora nije visoka. U toku faze III-3 dolazi do pada vrednosti nitrata na nulu, a koncentracija nitrita raste - zbog kraćeg zadržavanja vode

u biorektoru nije došlo do potpune oksidacije, već se deo amonijaka oksidovao samo do nitrita.

Na izlasku iz bioreaktora povišenje koncentracije nitrata ne odgovara apsolutnom smanjenju koncentracije amonijačnog azota, što ukazuje na druge procese koji utiču na smanjenje koncentracije amonijaka, kao što je usvajanje od strane mikroorganizama i ugradnja u biomasu.

Tabela 21. Koncentracija nitrata i nitrita u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Koncentracija nitrata i nitrita						
		Zemlja (mgN/kg)	Voda (mgN/l)					
			Reaktor		Aerator			
			NO ₃ +NO ₂	NO ₃	NO ₂	NO ₃	NO ₂	
I	I-1	50	0,0	0,0026	0,0	0,0030		
	I-2	74	0,0	0,0000	0,0	0,0000		
	I-3	34	0,0	0,0000	0,0	0,0000		
	I-4	42	1,0	0,0010	1,0	0,1090		
II	II-1	57	0,0	0,0016	120	0,0063		
III					Bioreaktor			
					Ulaz		Izlaz	
					NO ₃	NO ₂	NO ₃	NO ₂
					3,3	0,0084	3,4	0,0053
					III-1	34	0,0	0,0075
III-2	34	-	-	0,75	0,0050	3,5	0,20	
III-3	-	-	-					

4.2.2.6.1.3. Organski azot

U zemljištu se nalazi između 500 i 1500 mg/kg organski vezanog azota (uglavno oko 1 g/kg, tabela 22).

Tabela 22. Koncentracija organskog azota u toku eksperimenta

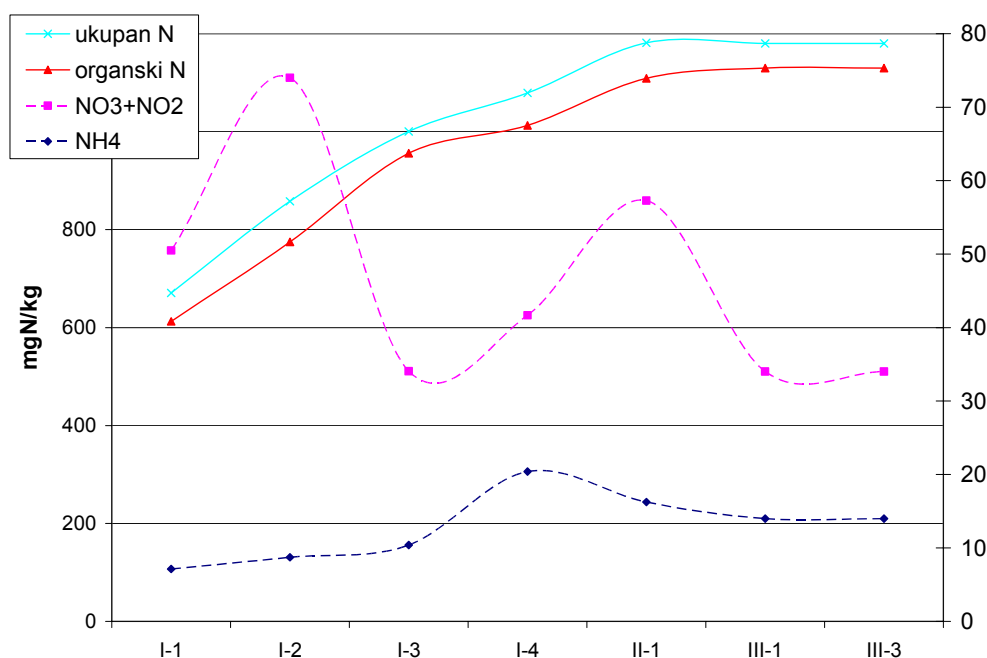
Varijanta	Faza	Koncentracija organskog azota		
		Zemlja (mgN/kg)	Voda (mgN/l)	
			Reaktor	Aerator
I	I-1	610	13	4,0
	I-2	775	13	13
	I-3	960	14	15
	I-4	1010	2,6	8,6
II	II-1	1110	7,0	42
III	III-1	1130		
	III-2	1130		
	III-3	-		

Koncentracija organskog azota u podzemnoj vodi je ujednačena u toku I varijante sve do faze I-4, kada dolazi do pada vrednosti, ali istovremeno dolazi do porasta koncentracije amonijaka, što ukazuje na procese amonifikacije, odnosno degradacije organske materije i oslobađanja amonijaka.

U aeratoru dolazi do porasta koncentracije organskog azota nakon odvajanja od reaktora, što ukazuje na procese degradacije nataloženih organskih materija na dnu i zidovima aeratora.

4.2.2.6.1.4. Ukupni azot

Koncentracija ukupnog azota u zemljištu je uglavnom ujednačena (tabela 23). Sadržaj ukupnog azota prati promene sadržaja organskog azota, jer on dominira u odnosu na amonijačni, nitratni i nitritni azot (slika 91).

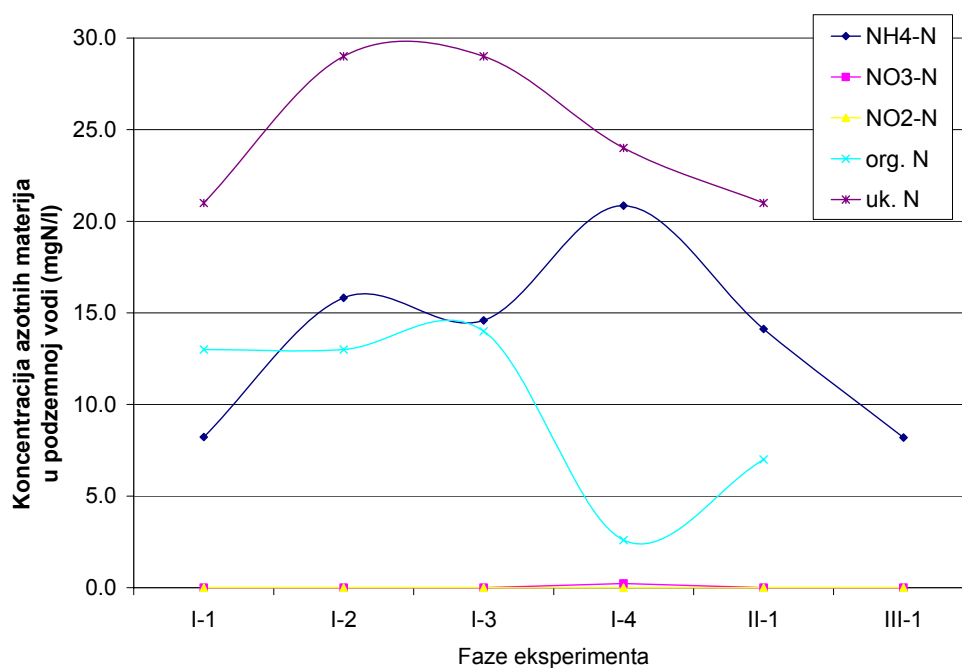


Slika 91. Promena koncentracije azotnih materija u zemljištu u toku eksperimenta

Za razliku od zemljišta, gde je dominantna koncentracija organskog azota u odnosu na amonijačni, nitratni i nitritni, u vodi dominiraju amonijačni i organski azot, dok su nitratni i nitritni zanemarljivi (slika 92).

Porast koncentracije amonijaka je praćen smanjenjem koncentracije organskog azota, što ukazuje na amonifikaciju organske materije. Kasnije dolazi i do smanjenja koncentracije amonijaka usled mikrobiološke degradacije. Na kraju ponovo dolazi do porasta koncentracije organskog azota, verovatno zbog rastvaranja iz zemljišta.

U aeratoru je situacija nešto drugačija nakon odvajanja od reaktora – isto dolazi do porasta koncentracije organskog azota i pada koncentracije amonijaka, ali dolazi i do porasta koncentracije nitrata usled dugotrajne aeracije.



Slika 92. Promena koncentracije azotnih materija u vodi u toku eksperimenta

Tabela 23. Koncentracija ukupnog azota u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Koncentracija azota		
		Zemlja (mgN/kg)	Voda (mgN/l)	
			Reaktor	Aerator
I	I-1	670	21	20
	I-2	860	29	26
	I-3	1000	29	29
	I-4	1080	24	28
II	II-1	1180	21	81
III	III-1	1180		
	III-2	1180		
	III-3	-		

4.2.2.6.2. Fosfor

U toku eksperimenta koncentracije fosfora u zemlji se kretala u opsegu od 123 do 266 mgP/kg (tabela 24).

Koncentracija fosfora u podzemnoj vodi raste u toku eksperimenta. Fosfor u vodi je uglavnom u obliku ortofosfata, osim na kraju eksperimenta pri značajnom porastu koncentracije ukupnog fosfora, kada su prisutni i drugi oblici fosfora.

U toku III varijante eksperimenta se ne menja koncentracija ortofosfata, ali koncentracija ukupnog fosfora se menja. U početnom periodu pored ortofosfata prisutni su i drugi oblici fosfora, međutim, udeo ortofosfata dominira u ukupnom fosforu. Pri većem protoku samo rastvorini ortofosfati se ispiraju iz zemljišta i dospevaju na tretman, a pri nižim protocima spiraju se i druge forme fosfora.

Tabela 24. Koncentracija fosfora u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Koncentracija fosfora			
		Zemlja (mgP/kg)	Voda (mgP/l//mgPO ₄ /l)		
			Reaktor	Aerator	
I	I-1	171	0,46//-	0,26//-	
	I-2	123	0,31//0,25	0,26//0,21	
	I-3	140	0,48//0,48	0,39//0,39	
	I-4	229	1,69//1,11	2,03//1,40	
II	II-1	254	5,31//2,68	8,35//4,42	
III				Bioreaktor	
				Ulaz	Izlaz
	III-1	266	1,5//0,9	1,6//1,1	1,4//0,9
	III-2	246	-	1,0//0,9	0,8//0,8
	III-3	-	-	1,1//1,1	1,0//1,0

4.2.2.7. Promena organskih materija i kinetika uklanjanja u toku tretmana

U toku eksperimenta u zemljištu je bilo oko 87 % mineralnih materija i oko 13 % organskih materija (tabela 25). To je u skladu sa činjenicom da je osnova Rafinerije refulisani sloj peska i da se samo na površini obrazovao tanak sloj humusa.

Tabela 25. Sadržaj organske i mineralne materije u toku eksperimenta

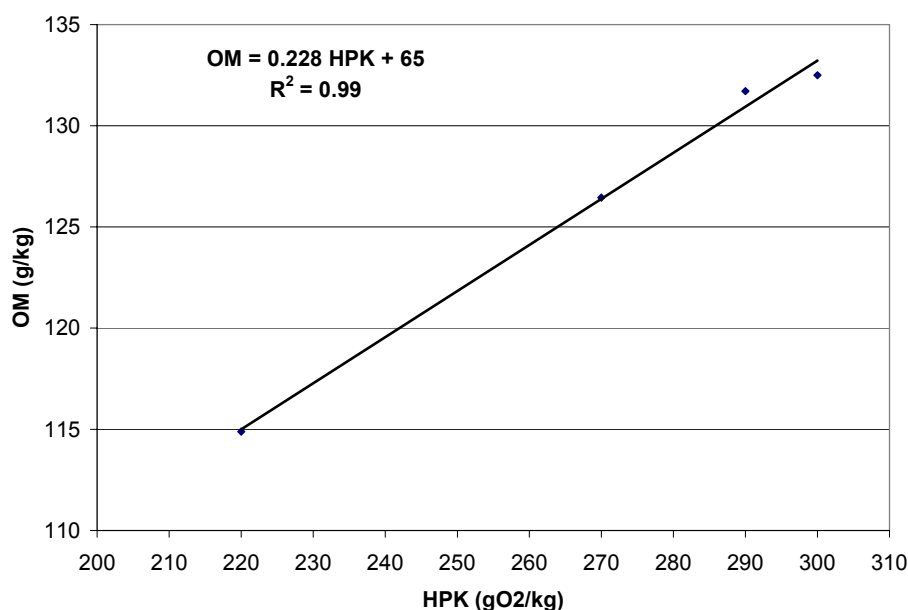
Faza	Sadržaj mineralne materije u zemlji (ostatak žarenja)	Sadržaj organske materije u zemlji (gubitak žarenjem)
	(%)	
I-1	88,5	11,5
I-2	87,4	12,6
I-3	86,6	13,4
I-4	86,8	13,3
II-1	86,8	13,2
III-1	87,7	12,4

HPK zemlje u toku eksperimenta je u proseku oko 260 gO₂/kg (tabela 26). Prema literaturnim podacima za većinu ugljovodonika može se aproksimirati da je potrebno 3 g kiseonika za oksidaciju 1 g razgradljivih ugljovodonika - datih 260 gO₂/kg zemlje može da oksiduje 90 g organske materije/kg zemlje, što predstavlja sadržaj organske materije od 9 %, a to je približno sadržaju organske materije određene sagorevanjem (13 %).

Tabela 26. Promena HPK zemlje u toku eksperimenta

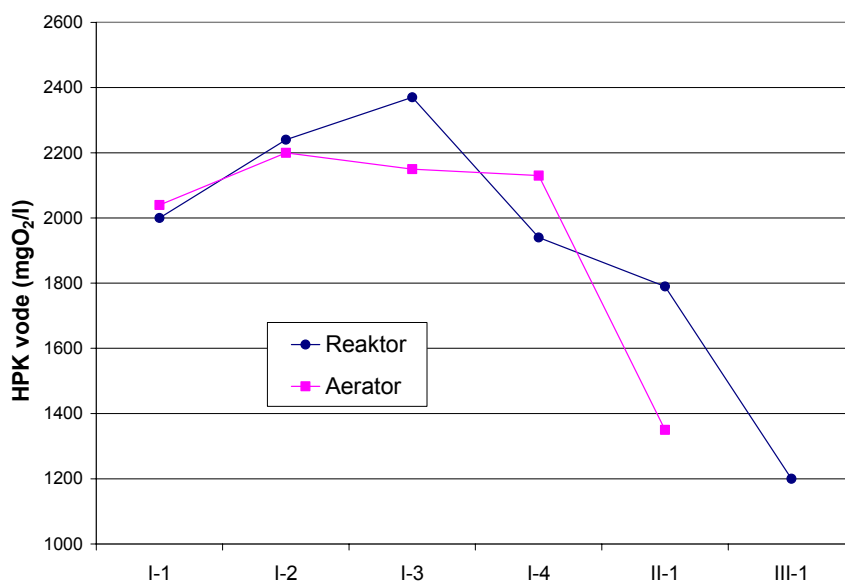
Varijanta	Faza	HPK (mgO ₂ /kg zemlje)
I	I-1	220
	I-2	270
	I-3	210
	I-4	300
II	II-1	290

Na slici 93 je predstavljena zavisnost sadržaja organskih materija određenih potrošnjom kiseonika u toku hemijske oksidacije organskih materija i sadržaja organskih materija određenih sagorevanjem organskih materija na 550 °C. Prema datim eksperimentalnim podacima, za oksidaciju 1 g organske materije potrebno je oko 2 g O₂.



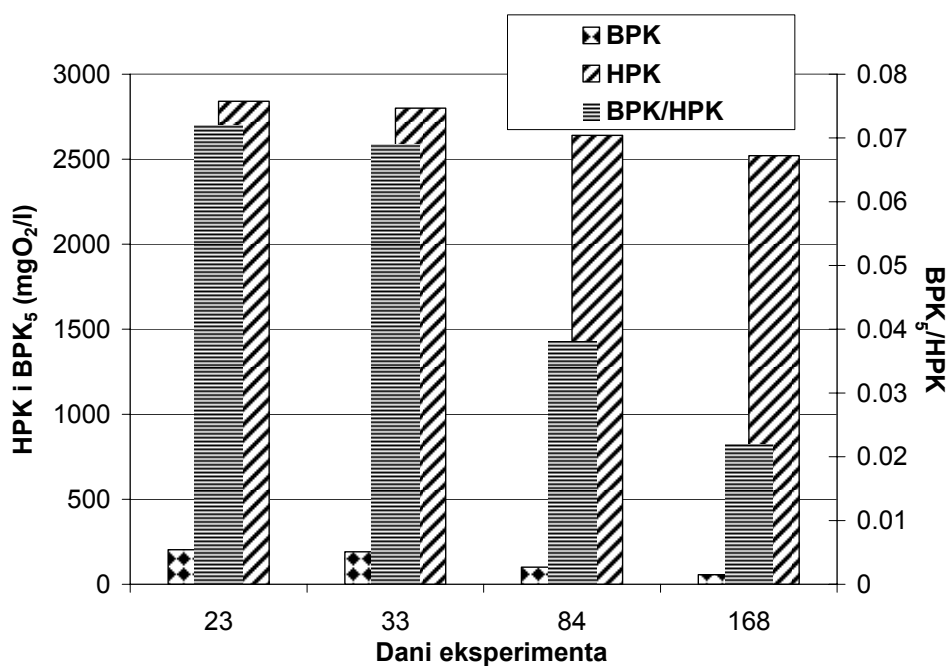
Slika 93. Zavisnost sadržaja organskih materija (OM) određenih sagorevanjem na 550 °C i sadržaja organskih materija određenih kao HPK

HPK podzemne vode je pod najvećim uticajem okolnog zemljišta i procesa adsorpcije i desorpcije organskih materija. Do značajnijeg smanjenja vrednosti dolazi tek u toku III varijante (slika 94). HPK vode u aeratoru je uglavnom bio ujednačen do II varijante kada dolazi do pada vrednosti, jer je odvojen od reaktora i nema priliva novog zagađenja već teče samo proces degradacije.



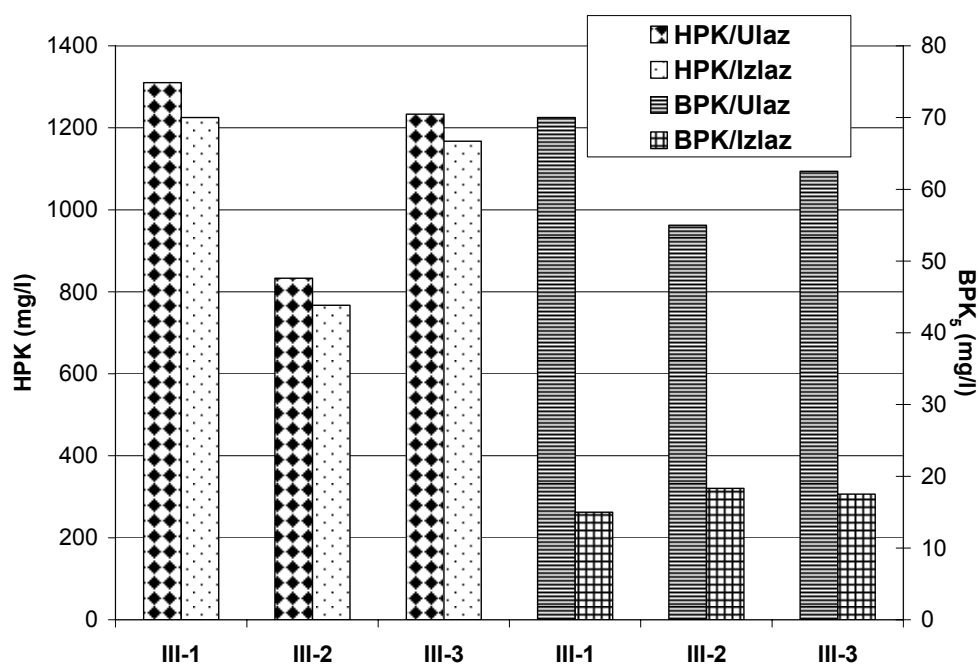
Slika 94. Promena HPK vode aeratora i reaktora u toku eksperimenta

BPK₅ vode u reaktoru je praćena četiri puta u toku I varijante eksperimenta (23., 33., 84. i 168. dana) i uočeno je opadanje odnosa BPK₅/HPK, odnosno udela lakorazgradljivih organskih materija u prisutnoj organskoj materiji (slika 95). Pošto lakorazgradljiva organska materija (iskazana kao BPK₅) brže opada od ukupnog sadržaja organskih materija (iskazanih kao HPK), to može da ukaže na prisustvo procesa mikrobiološke degradacije.

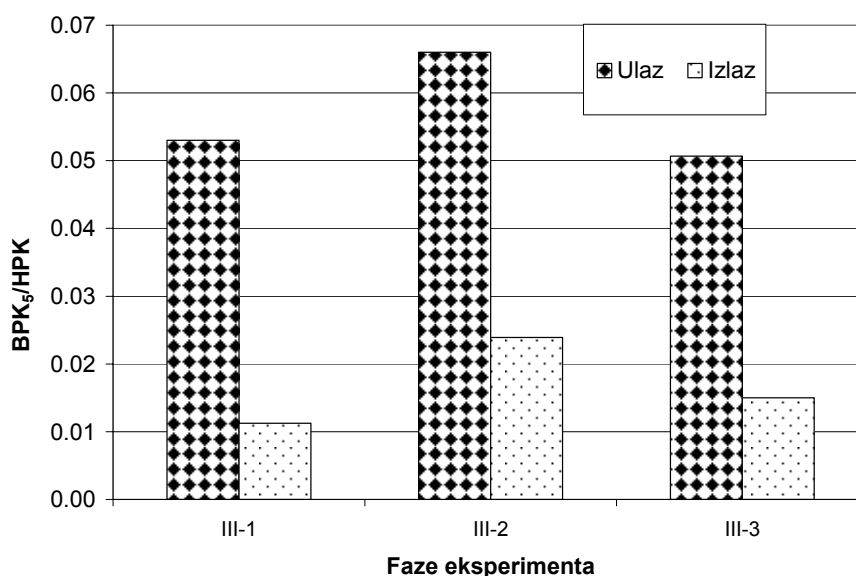


Slika 95. Promena udela lakorazgradljivih organskih materija u ukupnoj organskoj materiji u podzemnoj vodi u toku I varijante

Na slici 96 prikazana je promena HPK i BPK₅ u podzemnoj vodi zagađenoj naftom i derivatima nafte nakon tretmana u bioreaktoru (III varijanta). Vrednost HPK se neznatno smanjuje primenjenim tretmanom i efikasnost tretmana u sve tri faze se ne razlikuje bitno: uklonjeno je po fazama 6,5 %, 7,9 % i 5,4 % ulazne vrednosti HPK. Nasuprot tome, vrednost BPK₅ se značajno smanjuje primenjenim tretmanom: u fazi III-1 uklanja se 79 %, u fazi III-2 67 %, a u fazi III-3 72 % ulazne vrednosti BPK₅, što je u skladu sa činjenicom da BPK₅ predstavlja sadržaj lako razgradivih organskih materija u vodi koje se mogu ukloniti mikrobiološkom degradacijom. Pošto je odnos BPK₅/HPK u vodi veoma nizak, nije došlo do bitne promene HPK jer je zagađenje teško biorazgradivo (slika 97).



Slika 96. Promena HPK i BPK₅ podzemne vode nakon tretmana u bioreaktoru



Slika 97. Promena odnosa BPK₅/HPK u vodi u toku III varijante

Najveća količina organskih materija uklanjana je dnevno u toku faze III-3, pri najvećem organskom opterećenju bioreaktora (tabela 27).

Tabela 27. Apsolutna količina dnevno uklonjenog BPK₅ u toku tretmana

BPK ₅						
Faza	Protok l/dan	Organsko opterećenje		Izlaz		Uklonjeno mg/dan
		mg/l	mg/dan	mg/l	mg/dan	
III-1	9,5	70	665	15	142	523
III-2	18,5	55	1018	18,3	339	679
III-3	32,5	62,5	2031	17,5	569	1462

Određena je brzina uklanjanja organskog supstrata u bioreaktoru (varijanta III):

$$Sr/(X_v * t) = kSe$$

gde je:

Sr – koncentracija uklonjenog supstrata, mgO₂/l

Se – koncentracija supstrata u prečišćenoj vodi, mgO₂/l

X_v – koncentracija aktivnog mulja, mg/l

t – hidrauličko vreme zadržavanja, dan

k – koeficijent brzine uklanjanja supstrata, dan⁻¹

Određeno je organsko opterećenje aktivnog mulja, odnosno brzina hranjenja mikroorganizama:

$$F/M = So/(X_v * t)$$

gde je:

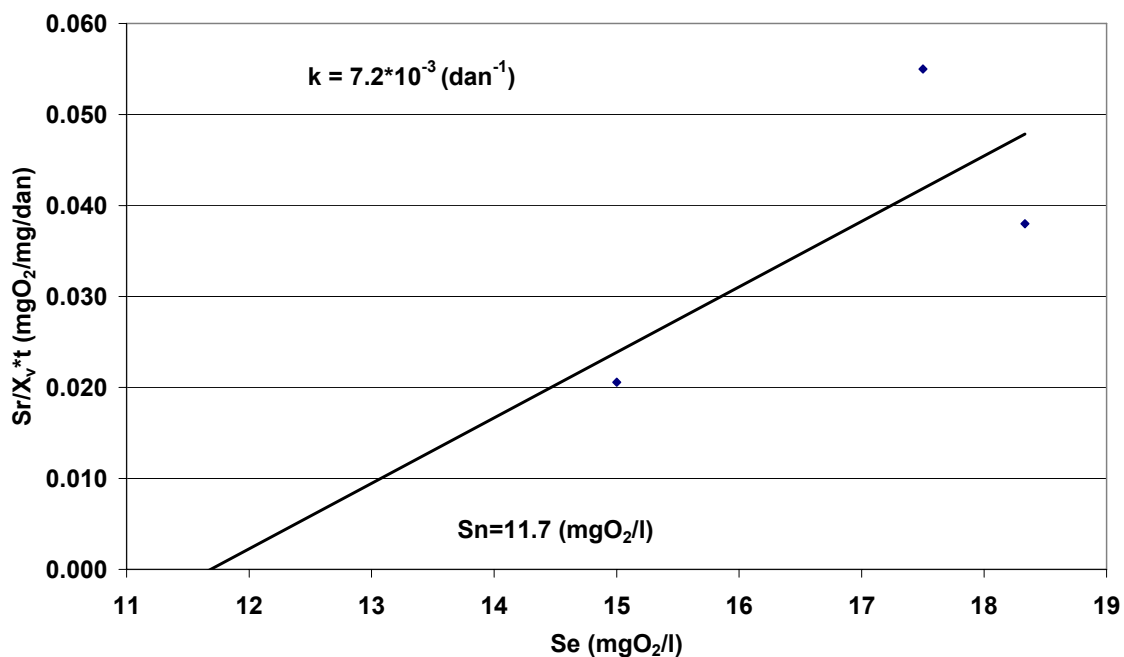
So – koncentracija supstrata u zagađenoj vodi, mgO₂/l.

Rezultati određivanja kinetike uklanjanja organskog zagađenja u bioreaktoru dati su u tabeli 28 i na slici 99.

Tabela 28. Kinetika uklanjanja zagađenja

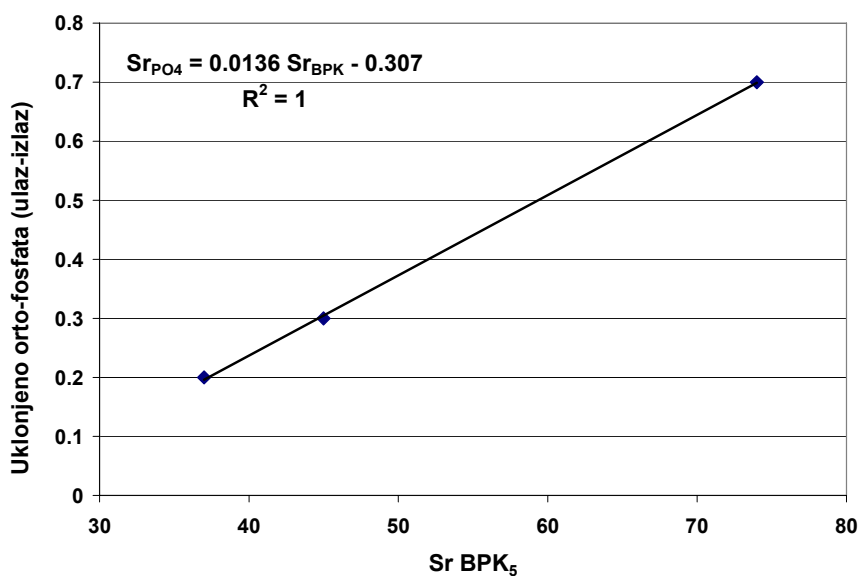
Faza	BPK ₅ Ulaz So (mgO ₂ /l)	BPK ₅ Izlaz Se (mgO ₂ /l)	Koncentracija aktivnog mulja X _v (mg/l)	Protok Q (l/dan)
III-1	70	15	2813	9,5
III-2	55	18,3	2013	18,5
III-3	62,5	17,5	2825	32,5
Faza	Vreme zadržavanja t=V/Q (dan)	Uklonjen BPK ₅ Sr=So-Se (mgO ₂ /l)	Brzina uklanjanja Sr/(X _v *t) (mgO ₂ /mg/dan)	Organsko opterećenje aktivnog mulja F/M=So/(X _v *t) (mgO ₂ /mg/dan)
III-1	0,95	55	0,021	0,026
III-2	0,49	36,7	0,037	0,056
III-3	0,29	45	0,055	0,076

Na slici 98 prikazana je zavisnost BPK_5 vode na izlasku iz bioreaktora (Se) od brzine uklanjanja i iz nagiba dobijene prave određen je koeficijent brzine uklanjanja supstrata, k , i on iznosi $7,2 \cdot 10^{-3} \text{ dan}^{-1}$. Odsečak na apscisi je koncentracija biorazgradivih organskih materija (BPK_5) u prečišćenoj vodi koja se ne može mikrobiološki oksidovati pri datim uslovima prečišćavanja, Sn .



Slika 98. Grafičko izračunavanje brzine uklanjanja zagađenja

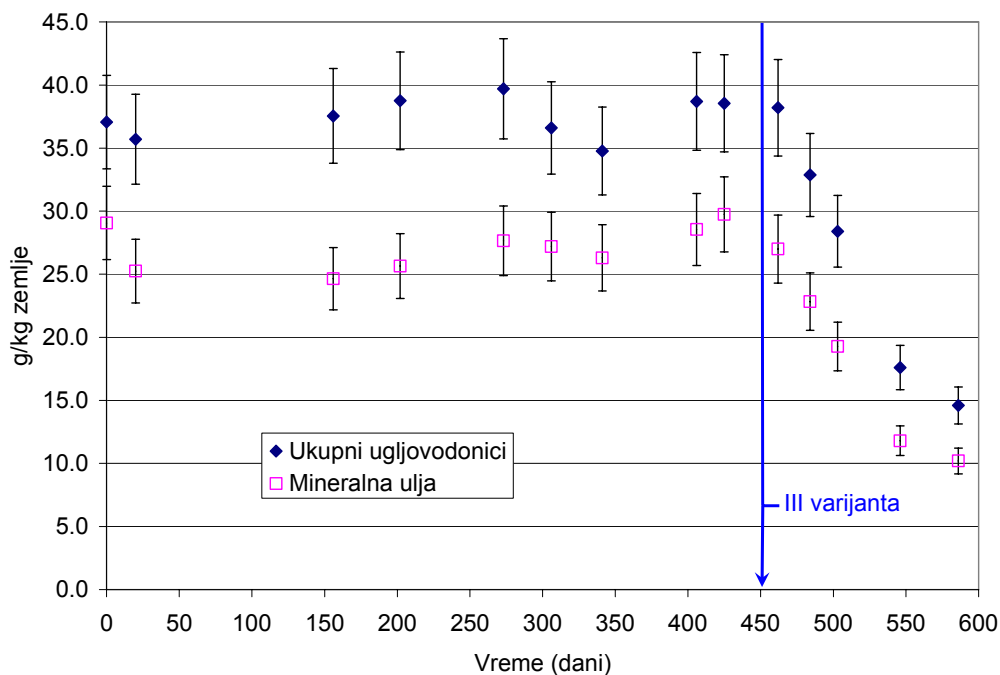
Na slici 99 prikazana je zavisnost smanjenja koncentracije ortofosfata od smanjenja BPK_5 tretirane vode u bioreaktoru. Na osnovu visokog koeficijenta korelacije vidi se da su ortofosfati utrošeni od strane mikroorganizama za razgradnju organskih materija.



Slika 99. Zavisnost smanjenja koncentracije ortofosfata od smanjenja BPK_5 tretirane vode u bioreaktoru

4.2.2.8. Karakterizacija ugljovodoničnog zagađenja u toku tretmana

U zagađenom zemljištu je prisutna visoka koncentracija ugljovodonika, preko 30 g/kg, pri čemu je prisutan značajan udeo mineralnih ulja, 85%. Izuzetno visoka koncentracija naftnog zagađenja bitno utiče na karakteristike zemljišta (permeabilnost) i viša je od vrednosti koja je u literaturi poznata kao granica iznad koje je veoma teško uspešno primeniti bioremedijaciju (10 g/kg). U toku I i II varijante eksperimenta sadržaj ukupnih ugljovodonika u zemljištu se kreće u opsegu 35-40 g/kg, a mineralnih ulja u opsegu 25-30 g/kg, što je posledica, pored heterogenosti zemljišta i greške metode (10 %), migracije zagađenja usled recirkulacije vode, kao i procesa biodegradacije (slika 100).



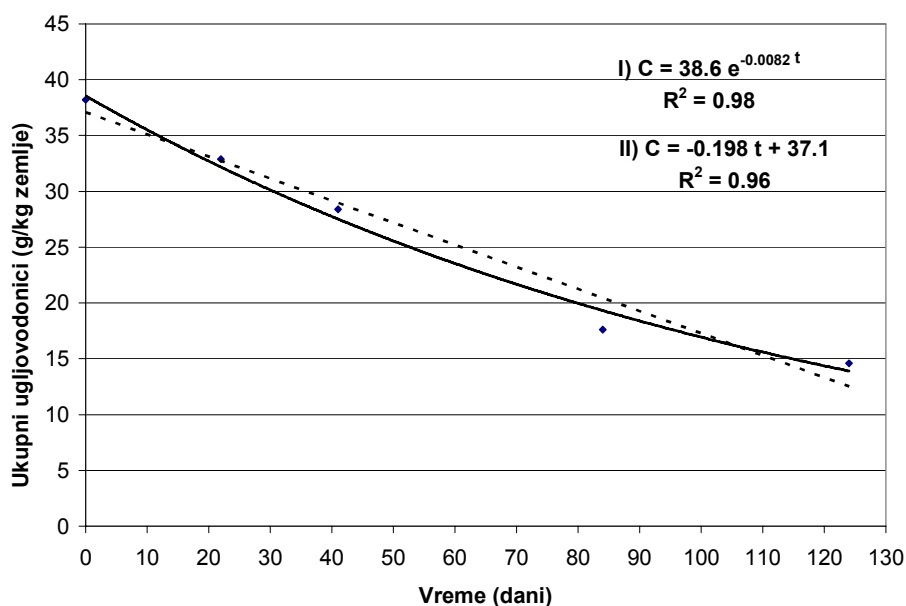
Slika 100. Promena koncentracije ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u zemlji u toku eksperimenta

Tek u toku III varijante dolazi do opadanja koncentracije ukupnih ugljovodonika sa 38,2 na 14,6 g/kg i mineralnih ulja sa 27 na 10,2 g/kg (62%) u zemljištu, što se može prikazati eksponencijalnom ($C=C_0e^{-kt}$, gde je k - konstanta brzine degradacije ugljovodonika, $k=0,0082 \text{ dan}^{-1}$) i linearnom funkcionalnom zavisnošću od proteklog vremena ($C=C_0-kt$, $k = 0,20$ odn. $0,14 \text{ g/kg/dan}$) sa visokim koeficijentima determinacije ($R^2 > 0,95$) (slike 101 i 102).

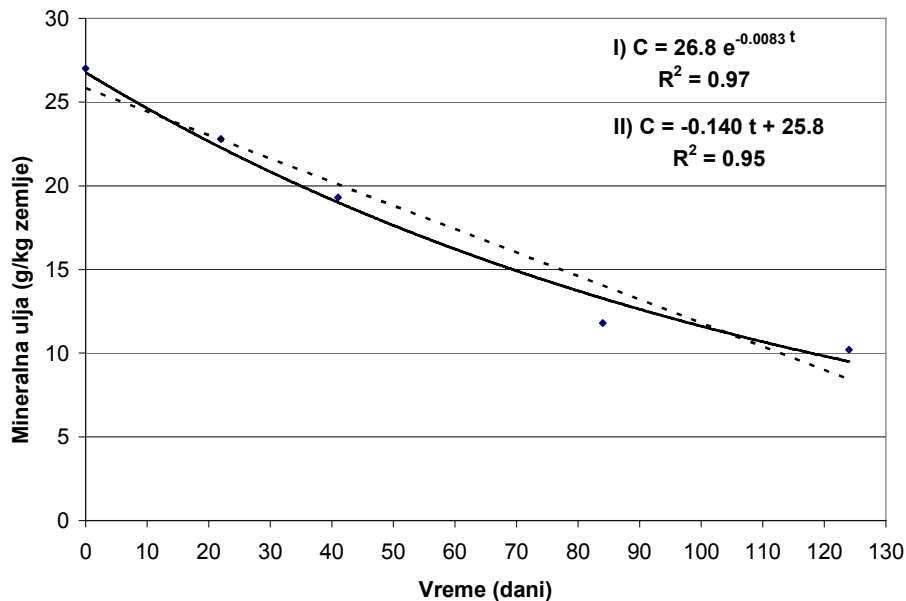
Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima zagađenog zemljišta u toku eksperimenta je iznosio 71 % u proseku (tabela 29) i sve vreme je niži od udela mineralnih ulja u originalnom zagađenom zemljištu.

Tabela 29. Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima zemljišta u toku eksperimenta

Dani eksperimenta	originalno zemljište	0	20	156	202	273	306	341	406	425	462	484	503	546	586
% mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima	85	78	71	66	66	70	74	76	74	77	71	69	68	67	70



Slika 101. Promena koncentracije ukupnih ugljovodonika u zemlji u toku III varijante



Slika 102. Promena koncentracije mineralnih ulja u zemlji u toku III varijante

Konstanta brzine degradacije ugljovodonika u jednostavnoj eksponencijalnoj funkciji iznosi $0,0082 \text{ dan}^{-1}$ – vrednosti u literaturi široko variraju: za sirovu naftu se kreće u opsegu $0,0051$ do $0,0074 \text{ dan}^{-1}$ (Seabra et al. 1999), odnosno, za ukupne ugljovodonike i mineralna ulja u opsegu $0,027$ - $0,049 \text{ dan}^{-1}$ (Rončević et al., 2005).

Radi procene procesa biodegradacije neophodno je sagledati i kvalitativnu i kvantitativnu gasno-hromatografsku i FTIR-spektrofotometrijsku analizu.

4.2.2.8.1. GC/MSD kvalitativna analiza zemlje i vode

U uzorcima analiziranog zemljišta detektovani su ugljovodonici u značajnom broju i njihovo prisustvo jasno ukazuje na zagađenje naftne prirode (tabela 30). U skladu sa visokom koncentracijom ugljovodonika u zemljištu u toku trajanja eksperimenta, određenom FTIR-spektrofotometrijski, sve vreme su detektovani ugljovodonici, međutim, na kraju eksperimenta, detektovan je manji broj jedinjenja. Brojnost detektovanih jedinjenja prvo počinje da opada na mernom mestu S. Uglavnom su prisutni normalni i razgranati alkani dužeg lanca (C_{11-36}). Od razgranatih derivata uglavnom su prisutni metil, dimetil, trimetil i tetrametil derivati, a povremeno su detektovani i njihovi etil, propil i butil derivati. Brojnost ugljovodonika ravnog lanca opada pri kraju varijante I, a naročito početkom varijante III. Razgranati ugljovodonici su postojaniji, naročito tetrametil-derivati penta- i heksadekana. Na početku je detektovano nekoliko karboksilnih kiselina nastalih oksidacijom n-alkana C_{10-19} . Povremeno su detektovani pregnan, holestan i hopan (naročito kasnije, faze I-4 i II-1). Pošto se nafta sastoji uglavnom od ugljovodonika, 95-98 %, dominacija ugljovodonika u organskom profilu zagađenog zemljišta je očekivana. Normalni alkani su manje postojani od razgranatih i dolazi do njihove transformacije i degradacije, što je u skladu sa ranijim istraživanjima (Ivančev-Tumbas *et al.*, 2004). Oksidacijom alkana nastaju karboksilne kiseline. Razlika u sastavu i brojnosti detektovanih jedinjenja u zemljištu na početku i u toku eksperimenta ukazuje na procese transformacije i degradacije.

U tabeli 31 dat je rezultat kvalitativne GC/MS analize vode iz pijezometra 4, aeratora i bioreaktora. U uzorku vode iz pijezometra na početku tretmana su prisutni u velikom broju normalni alkani (C_{13-36}), međutim, kasnije oni nestaju. Sve vreme u vodi je prisutan veliki broj karboksilnih kiselina nastalih oksidacijom alkana (C_{10-19}) i njihovih metil-derivata ($C_{11,13,17}$), zatim, alkena ($C_{16,18}$) (moguće je da je prvo došlo do dehidrogenacije pa potom do oksidacije do kiseline), kao i aromata (benzoeva kiselina, kao i benzaldehid). Prisutni su i ftalati, koji su inače prirodno prisutni u zemljištu, tako da se očekuju i u podzemnoj vodi. Prisustvo navedenih karboksilnih kiselina ukazuje na proces biooksidacije ugljovodonika, koji se intenzivno odvija baš u vodenoj sredini, gde je koncentracija ugljovodonika niža nego u zemljištu i gde su oni u rastvorenom obliku tako da su biodostupni, pa mogu mikroorganizmi da ih koriste u svom metabolizmu.

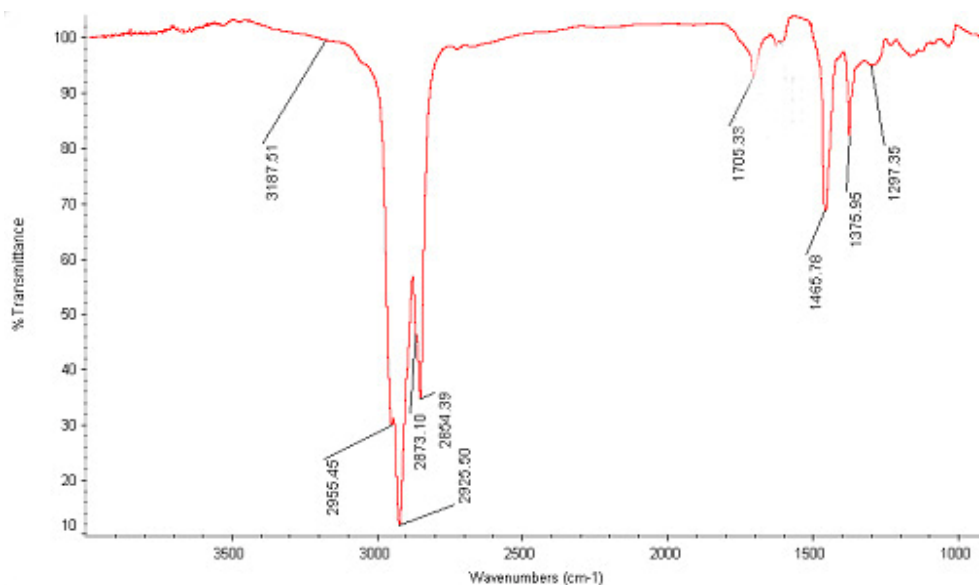
4.2.2.8.2. FTIR-spektrofotometrijska kvalitativna analiza zemlje

Rezultati FTIR kvantitativne analize zemlje i vode prikazani su u vidu koncentracije ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja dobijenih praćenjem CH_3 , CH_2 i CH traka u ekstraktima ispitivanih uzoraka. Kvantitativnom FTIR analizom detektovani su ugljovodonici u svim uzorcima zemlje i vode.

I FTIR kvalitativnom analizom zemlje su detektovani ugljovodonici i to alifatični ugljovodonici (slika 103, tabela 32). Pored njih nađene su i alifatične karboksilne kiseline, koje su detektovane i gasnohromatografskom analizom, što potvrđuje prisustvo procesa biotransformacije i biodegradacije prisutnih ugljovodonika. Međutim, sadržaj kiselina u odnosu na sadržaj ugljovodonika je toliko nizak da se ne može pouzdano odrediti relativna promena inteziteta trake karbonilne ($C=O$) grupe u odnosu na intezitet trake metilenske (CH_2) grupe u toku eksperimenta. Poređenjem spektara sa bazom podataka dobijena su slaganja od oko 65 % pouzdanosti sa nonil-aldehidom, triakontanom i propionskom kiselinom. Slaganje spektara analizirane zemlje sa spektrom propionske kiseline može biti posledica, pored prisustva metil, metilenske i karbonilne grupe, nastanka propionske kiseline u procesu biodegradacije ugljovodonika.

Tabela 31. Jedinjenja detektovana u vodi u toku eksperimenta pomoću gasne hromatografije

Jedinjenja identifikovana u vodi (verovatnoća >70%)	Pz-4					aerator			bio-reaktor
	I-2	I-4	II-1	III-0	I-2	I-4	II-1	III-0	
	Dan eksperimenta								
	84	272	341	406	462	84	272	341	462
Tridekan (C ₁₃)	+								
Pentadekan (C ₁₅)	+								
Heptadekan (C ₁₇)	+								
Oktadekan (C ₁₈)	+								
Nonadekan (C ₁₉)							+		
Dokosan (C ₂₂)	+						+		
Tetrakosan (C ₂₄)	+								
Oktakosan (C ₂₈)	+								
Nonakosan (C ₂₉)									
Triakontan (C ₃₀)	+								
Tetratriakontan (C ₃₄)	+								
Pentatriakontan (C ₃₅)	+								
Heksatriakontan (C ₃₆)	+								
3-Metil-tridekan	+								
2,6,10,14-Tetrametil-heksadekan	+								
9-Metil-nonadekan	+								
3-Ikosaan								+	
2,6,15,19,23-Pentametiltetrakosaan							+		
2,6,10,15,19,23-Heksametil- 2,6,10,14,18,22-tetrakosaheksan				+					
Cicloheksadekan			+						
Ftalati (alkil estri 1,2-Benzendikarboksilne kiselina)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekanska kiselina						+			
10-Metil-undekanska kiselina	+			+					
Dodekanska kiselina			+	+		+		+	
12-Metil-tridekanska kiselina								+	
Tetradekanska kiselina	+	+	+	+		+	+	+	
Pentadekanska kiselina	+		+	+					
Heksadekanska kiselina	+	+	+	+		+	+	+	+
11-Heksadekanska kiselina				+					
14-Metil-heptadekanska kiselina							+	+	
Octadekanska kiselina	+		+	+		+		+	
9-Octadekanska kiselina	+			+					+
13-Octadekanska kiselina								+	
p-terc-Butil-benzoeva kiselina	+	+							
Etil- benzoeva kiselina					+				
Benzaldehid					+				+
Propil-benzen					+				
1,3-Dihloro-benzen					+				
1,1'-Tiobis-benzen						+			
Nitro-benzen									+
2,3-Dihidro-1,1,3-trimetil-3-fenil-1H-Inden						+			
Stiren		+	+		+		+	+	+
7-Amino-3-metilpirimido(4,5-c)piridazin- 5(6H)-on						+			
1,4,7,10,13,16-Heksaoksaciklooktadekan								+	
Ukupno	22	5	8	10	6	9	8	11	6
Kiselinae	7	3	5	8	1	5	3	7	2
n-Alkani	11	0	0	0	0	0	2	0	0



Slika 103. IR-spektar ekstrakta tretirane zemlje

Tabela 32. Detektovane funkcionalne grupe jedinjenja prisutnih u zagađenoj zemlji

Taladni broj cm ⁻¹	Asignacija
≈3200	O-H valenciona oscilacija hidroksilne grupe
2955	C-H valenciona antisimetrična oscilacija CH ₃ funkcionalne grupe
2925	C-H valenciona antisimetrična oscilacija CH ₂ funkcionalne grupe
2870	C-H valenciona simetrična oscilacija CH ₃ funkcionalne grupe
2855	C-H valenciona simetrična oscilacija CH ₃ funkcionalne grupe
1705	C=O valenciona oscilacija karboksilne grupe iz alifatičnih kiselina
1465	C-H deformaciona simetrična oscilacija CH ₂ funkcionalne grupe
1375	C-H valenciona simetrična oscilacija CH ₃ funkcionalne grupe
1297	C-O valenciona oscilacija karboksilne grupe iz alifatičnih kiselina

4.2.2.8.3. GC/MSD kvantitativna analiza zemlje na sadržaj PAH-ova

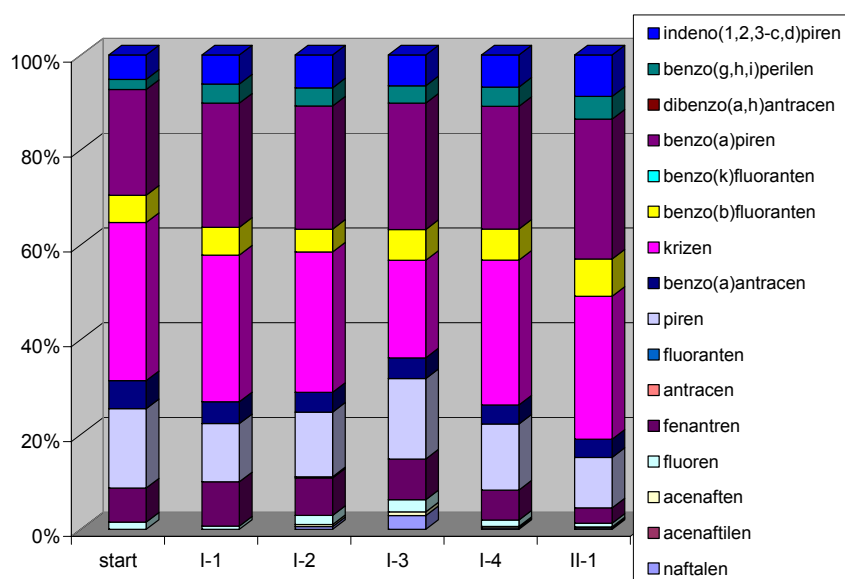
S obzirom na visoku koncentraciju ukupnih ugljovodonika u zemlji (35-40 g/kg), koncentracija policikličnih aromatičnih ugljovodonika nije visoka (< 4 mg/kg), ali je ipak iznad prirodnog fona zemljišta na datom lokalitetu, koji za sumu PAH-ova iznosi 175 µg/kg (Rončević, 2002). Ukupna količina PAH-ova na mernom mestu S je niža od količine na mernim mestima I-III u toku faze I-3 i I-4, što se može pripisati ispiranju površinskog sloja zemljišta (tabela 33).

Fluoren, fenantren, piren, benzo(a)antracen, krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(a)piren, benzo(g,h,i)perilen i indeno(1,2,3-c,d)piren su prisutni sve vreme u količini koja je znatno viša od prirodnog fona zemljišta na datom lokalitetu. Najviše je krizena (oko 30%), potom slede benzo(a)piren (oko 27%) i piren (oko 14%), tako da oni čine oko 70% ukupne sume PAH-ova (slike 104 i 105). Ostali PAH-ovi pojedinačno ne prelaze 8% udela u ukupnoj sumi. Udeli pojedinih PAH-ova u sumi su međusobno slični u svim uzorcima, ali se menja apsolutna količina – pretpostavka je da je to posledica heterogenosti zemljišta i migracije

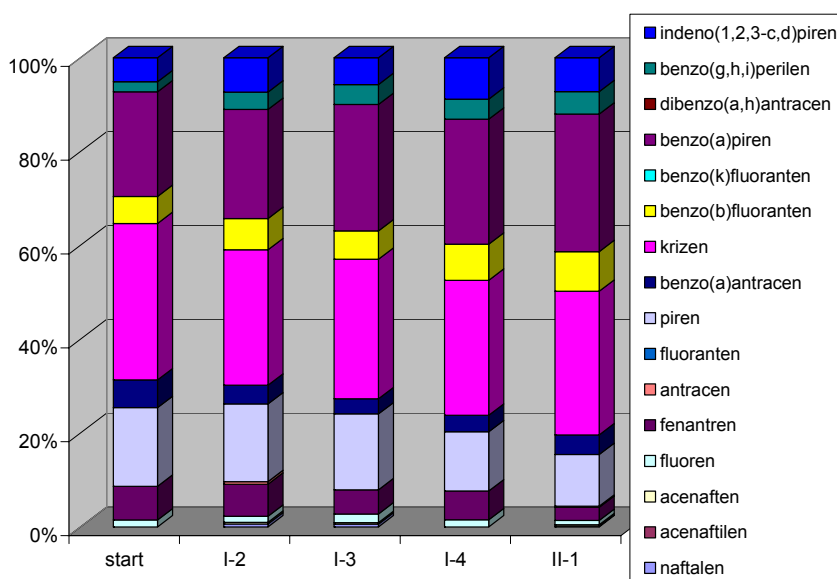
zagađenja, odnosno zemljište je zagađeno naftom istog sastava, ali različitom količinom. U zemljištu nisu detektovani fluoranten, benzo(k)fluoranten i dibenzo(a,h)antracen, dok su naftalen, acenaftilen, acenaften i antracen ponekad prisutni, ali uglavnom u tragovima ili u veoma niskoj količini.

Tabela 33. Promena koncentracije PAH u zemlji u toku eksperimenta

PAH	Merna mesta I-III					Merno mesto S			
	I-1 (n=1)	I-2 (n=1)	I-3 (n=1)	I-4 (n=2)	II-1 (n=3)	I-2 (n=1)	I-3 (n=1)	I-4 (n=3)	II-1 (n=3)
	µg/kg								
Naftalen	<5	21	90	5	6	26	11	<5	5
Acenaftilen	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<5	n.d.	n.d.	<5	n.d.
Acenaften	<5	18	23	5	5	14	6	<5	7
Fluoren	5	77	79	24	16	52	33	26	22
Fenantren	66	313	265	110	67	273	93	105	69
Antracen	n.d.	10	n.d.	n.d.	<5	22	n.d.	n.d.	5
Fluoranten	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Piren	87	541	523	243	222	663	292	214	268
Benzo(a)antracen	33	165	135	71	80	159	58	60	103
Krizen	220	1176	635	534	627	1155	537	490	745
Benzo(b)fluoranten	42	190	200	114	164	266	109	130	205
Benzo(k)fluoranten	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(a)piren	186	1032	824	452	613	931	486	453	714
Dibenzo(a,h)antracen	<5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(g,h,i)perilen	29	152	112	71	99	148	77	73	116
Indeno(1,2,3-c,d)piren	43	275	201	118	182	293	103	150	176
UKUPNO	710	3972	3087	1748	2080	4002	1805	1701	2436



Slika 104. Promena udela pojedinih PAH-ova u sumi u zemljištu na mernim mestima I-III u toku eksperimenta



Slika 105. Promena udela pojedinih PAH-ova u sumi u zemljištu na mernom mestu S u toku eksperimenta

Kvalitativnom GC/MS analizom zagađene zemlje i vode utvrđeno je sledeće:

- Normalni alkani su najmanje postojani i dolazi do njihove transformacije i degradacije.
- Razgranati ugljovodonici su postojaniji, naročito tetrametil-derivati penta- i heksadekana.
- Prisustvo karboksilnih kiselina ukazuje na proces biooksidacije ugljovodonika - u vodi je prisutan veliki broj karboksilnih kiselina nastalih oksidacijom alkana (C10-19), kao i aromata (benzoeva kiselina, kao i benzaldehid).

I FTIR kvalitativnom analizom zemlje su detektovani alifatični ugljovodonici i alifatične karboksilne kiseline (propionska kiselina), što potvrđuje prisustvo procesa biotransformacije i biodegradacije prisutnih ugljovodonika.

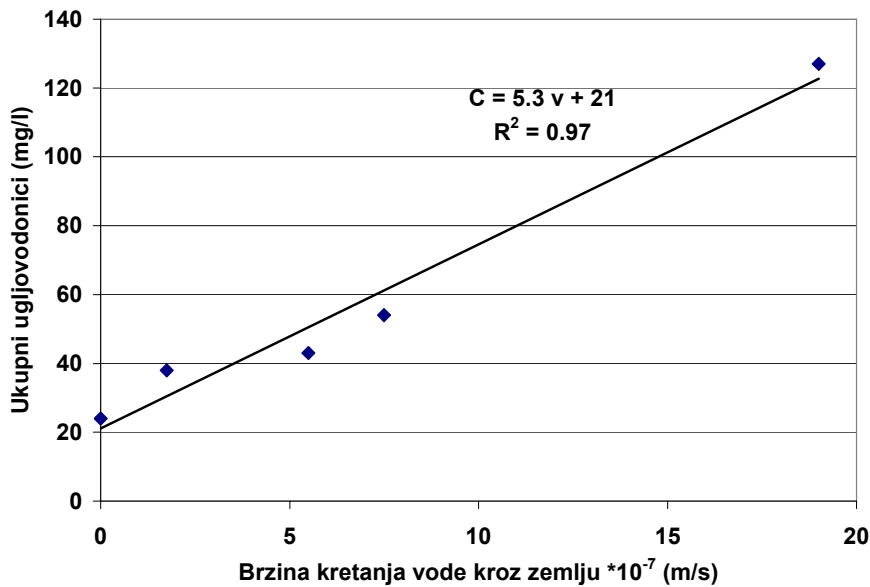
Kvantitativnom GC/MS analizom zagađene zemlje utvrđeno je sledeće:

- koncentracija policikličnih aromatičnih ugljovodonika nije visoka (< 4 mg/kg) u odnosu na koncentraciju ukupnih ugljovodonika u zemlji (35-40 g/kg), ali je ipak iznad prirodnog fona zemljišta na datom lokalitetu (175 µg/kg).
- krizen (oko 30%), benzo(a)piren (oko 27%) i piren (oko 14%) čine oko 70% ukupne sume PAH-ova.

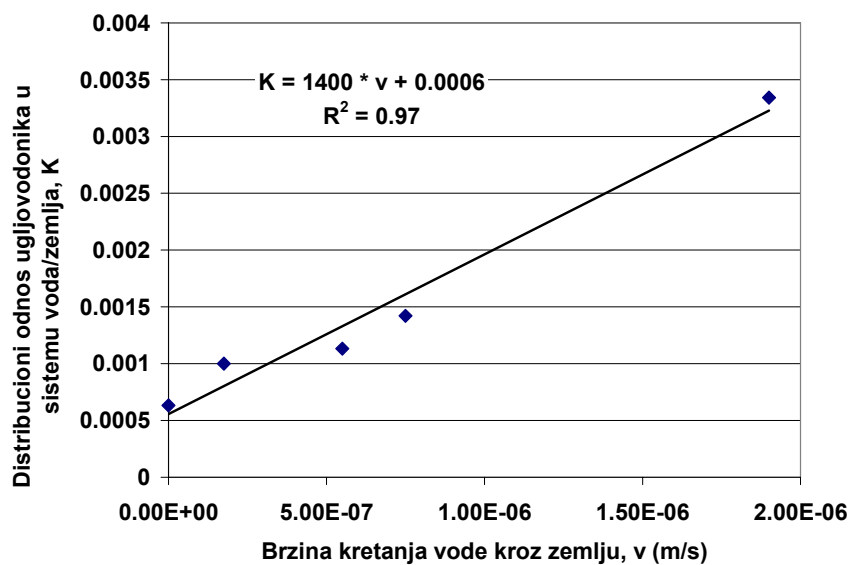
4.2.2.8.4. Ugljovodonici u vodenoj fazi

Visoka koncentracija ugljovodonika u vodi pijezometara potvrđuje pretpostavku da dolazi do distribucije zagađenja u vodenoj fazi. Proces rastvaranja i emulgovanja se pospešuje uvođenjem recirkulacije vode i sa svakim povećanjem protoka dolazi do sve većeg ispiranja

nafte - na slici 106 je predstavljena zavisnost koncentracije ugljovodonika u vodi reaktora, u toku I varijante, od brzine proticanja vode kroz zagađenu zemlju. Na slici 107 predstavljena je zavisnost distribucionog koeficijenta, odnosno koeficijenta raspodele voda-zemlja od brzine proticanja vode.



Slika 106. Promena koncentracije ugljovodonika u vodi reaktora sa brzinom proticanja vode kroz zagađenu zemlju



Slika 107. Zavisnost koeficijenta raspodele voda-zemlja od brzine proticanja vode

Dobijena je veoma dobra linerana zavisnost ($R^2=0,97$):

$$K = f \times v + K_0$$

gde je:

$K=C_{\text{voda}}/C_{\text{zemlja}}$ - distribicioni odnos

C_{voda} – koncentracija ugljovodonika u vodi (mg/l)

C_{zemlja} – koncentracija ugljovodonika u zemlji (mg/kg)

v – brzina protoka vode kroz zemlju, fluks – protok kroz presek (m/s)

$K_0=6 \times 10^{-4}$ - difuzioni koeficijent - distribicioni odnos pri $v=0$ m/s

$f=1400$ s/m - faktor ispiranja

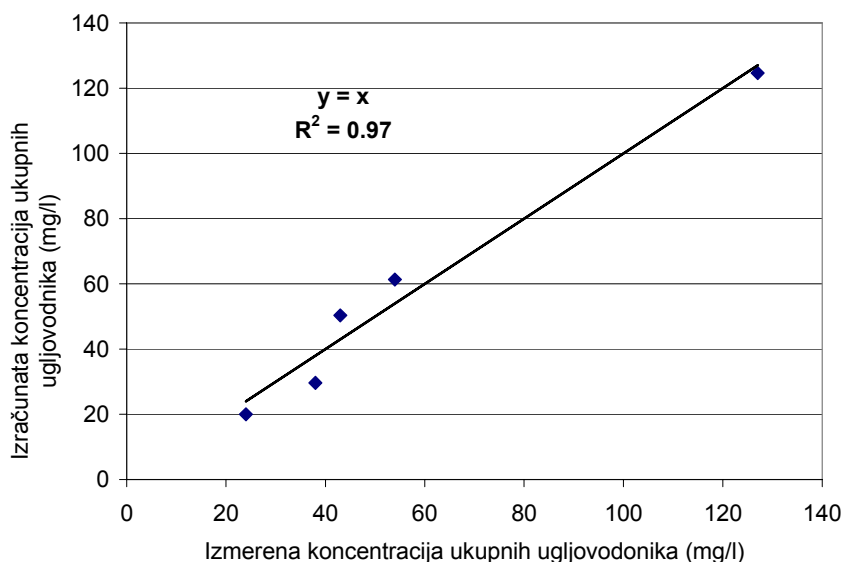
Jednačina zavisnosti koncentracije ugljovodonika u vodenoj fazi od koncentracije u čvrstoj fazi, zavisno od brzine proticanja, može da se predstavi na sledeći način:

$$C_{\text{voda}}=(f \times v + K_0)C_{\text{zemlja}}$$

Za date eksperimentalne uslove, pri $v = 0$ m/s i $C_{\text{zemlja}}=38000$ mg/kg, dobijena je koncentracija ugljovodonika u vodi, $C_{\text{voda}}=23$ mg/l, što predstavlja koncentraciju ugljovodonika koji će se rastvoriti u vodenoj fazi difuzijom.

Pri $v = 0$ m/s dominira proces difuzije nafte iz čestica zemlje u vodenu fazu, a sa povećanjem protoka dominira proces ispiranja nafte – pretpostavka je da se zbog slobodne faze nafte na česticama zemlje ne uspostavlja distribucija čvrsta-tečna faza određena ravnotežom procesa desorpcije i adsorpcije već procesom ispiranja.

Na slici 108 predstavljena je zavisnost izmerenih vrednosti od izračunatih datom jednačinom i dobijen je visok koeficijent determinacije za linearnu funkciju, $R^2=0,97$.

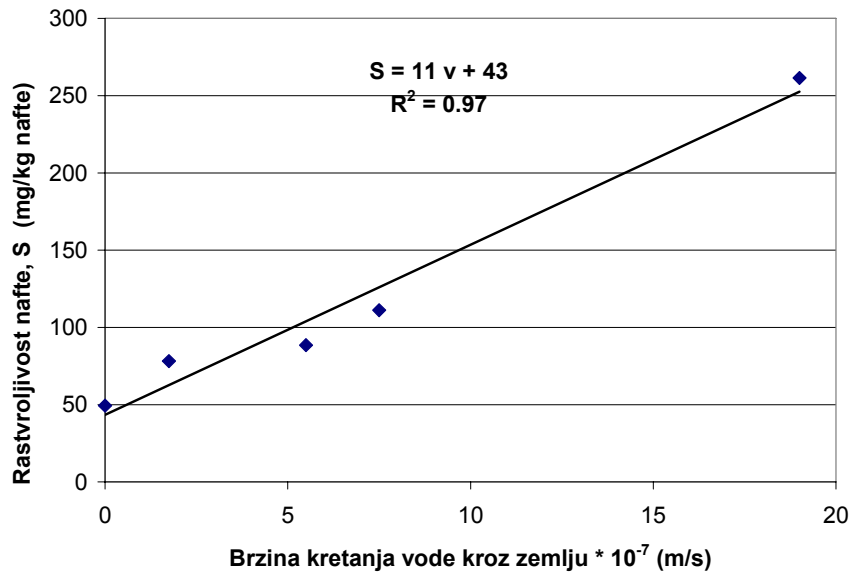


Slika 108. Zavisnost izmerenih vrednosti od izračunatih datom jednačinom

Na osnovu izmerenih vrednosti određena je rastvorljivost nafte prisutne u zagađenoj zemlji u podzemnoj vodi koja je u kontaktu sa njom:

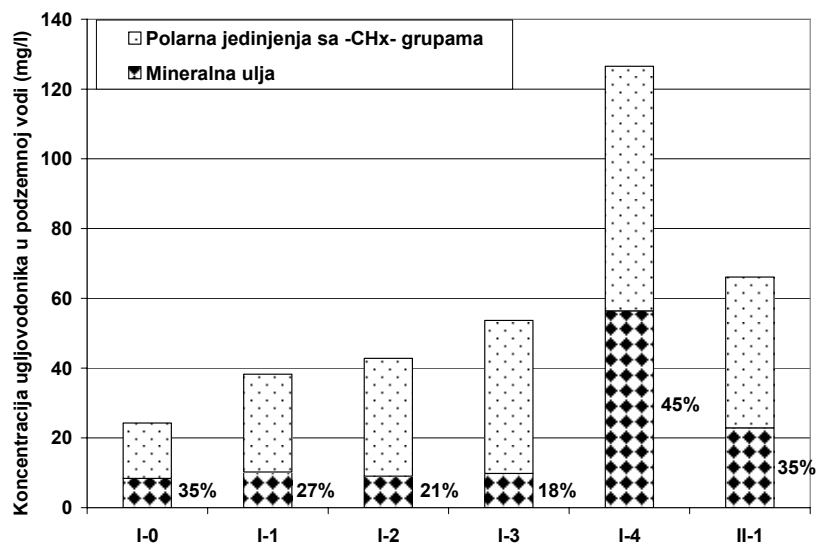
- u reaktoru se nalazi 950 litara zasićene zemlje sa sadržajem vode od 15 %, što je 140 litara vode - iz toga proizilazi da se u reaktoru nalazi zasićene čvrste faze: $950-140 = 810$ litara, odnosno, pri gustini od 2,2 kg/l, to je 1780 kg zemlje;
- pri prosečnoj koncentraciji naftnog zagađenja od 38 g nafte/kg zemlje, u reaktoru se nalazi oko 68 kg nafte;

- u zemlji se nalazi 140 litara vode, koja pri protoku $v = 0$ m/s ima koncentraciju nafte od 23 mg/l, što čini 3,2 g nafte u vodenoj fazi;
- datih 3,2 g nafte čini 0,05 ‰ od količine nafte prisutne u čvrstoj fazi (68 kg), odnosno, difuzijom se rastvara 0,05 ‰, tj. 46 mg/kg nafte – ravnotežna rastvorljivost. Na slici 109 je prikazana rastvorljivost nafte pri različitim brzinama protoka.



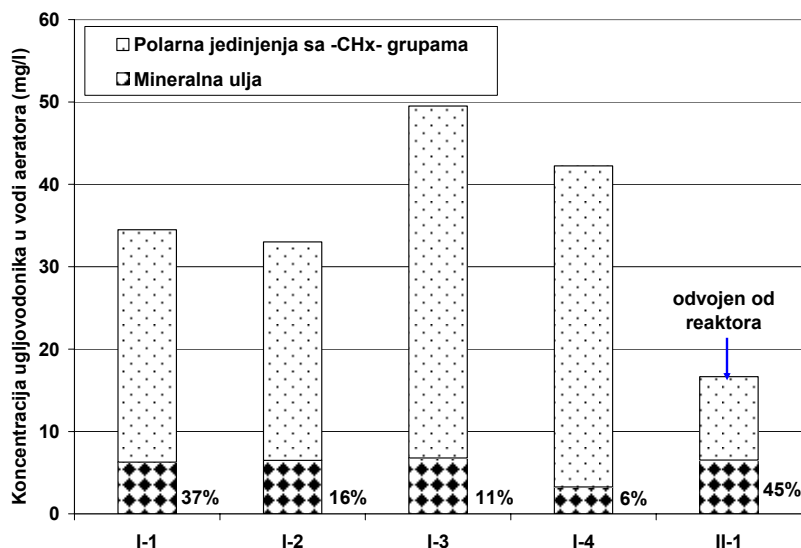
Slika 109. Promena rastvorljivosti nafte pri različitim brzinama protoka

Udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u vodenoj fazi je manji nego u čvrstoj fazi (slika 110). To može biti posledica boljeg rastvaranja polarnih komponenti u polarnom rastvaraču, tj. vodi, kao i boljoj biodostupnosti rastvorene i emulgovane nafte u vodi nego kada se nalazi adsorbovana na zemljištu - u vodenoj fazi je veća mogućnost transformacije naftnog zagađenja, a samim tim i dalja degradacija do nižih produkata.



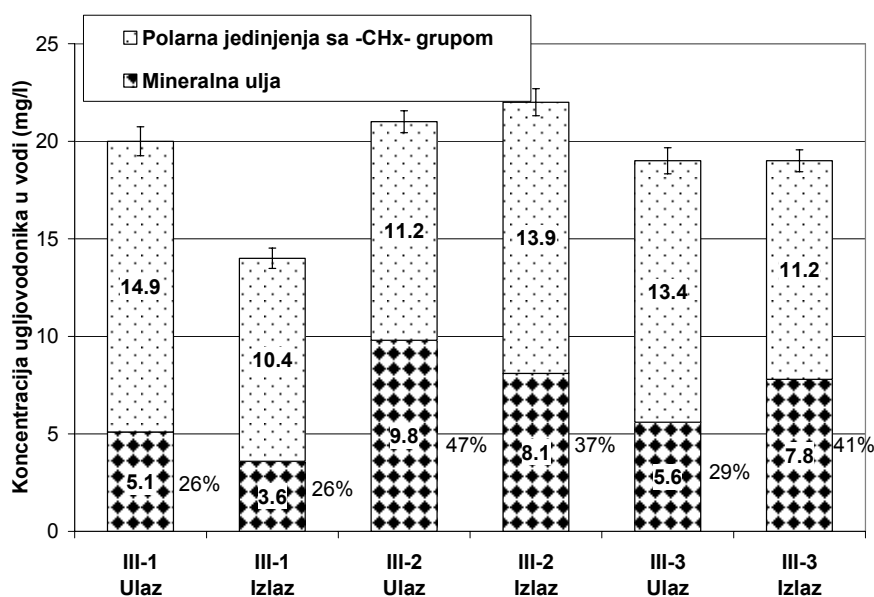
Slika 110. Promena udela mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u vodi u toku I i II varijante eksperimenta

Uglavnom je niži udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u vodi aeratora nego u vodi pijezometara, što ukazuje na intenzivniji proces biotransformacije mineralnih ulja u polarne komponente u aeratoru (slika 111).



Slika 111. Promena udela mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima u vodi aeratora u toku I i II varijante eksperimenta

Na slici 112 prikazana je promena koncentracije ugljovodnika u podzemnoj vodi zagađenoj naftom i derivatima nafte nakon tretmana u bioreaktoru. Samo u toku faze III-1 uklanjani su ukupni ugljovodnici - uklanjano je u proseku 30 %. Nakon povećanja protoka u toku faza III-2 i III-3 nije došlo do uklanjanja ugljovodnika.



Slika 112. Promena koncentracije ugljovodnika u podzemnoj vodi zagađenoj naftom i derivatima nafte nakon tretmana u bioreaktoru (procentima je obeležen udeo mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima)

Na osnovu vrednosti BPK_5 protok primenjen u toku III-3 faze mogao bi se preporučiti kao najbolji od ispitanih za dati bioreaktor, međutim, do uklanjanja ugljovodonika dolazi samo u toku faze III-1. Pri kraćem vremenu zadržavanja vode u bioreaktoru uklanjaju se samo lakše biorazgradive organske materije, a da bi došlo do uklanjanja ugljovodonika potrebno je duže vreme zadržavanja vode.

4.2.2.9. Određivanje potrebe za nutrijentima (CH:N:P)

U zagađenom zemljištu i vodi je određen odnos $CH_x : N : P$ (CH_x - ukupni ugljovodonici), kako bi se utvrdilo da li su nutrijenti prisutni u potrebnoj količini ili su limitirajući faktor biodegradacije (tabele 34 i 35).

Pošto većina istraživača preporučuje da se primenjuje 3-10 kg azota i 0,3-1 kg fosfora na 100 kg biodegradabilnog organskog ugljenika, utvrđeno je da je prisutna potrebna količina azota i fosfora u toku eksperimenta (u vodi je azot prisutan u značajnom višku), tako da se nije pristupilo dodavanju nutrijenata, da bi se izbegli problemi do kojih može zato doći.

Tabela 34. Sadržaj N i P u odnosu na sadržaj ugljovodonika u vodi i zemlji

	Faze	merna mesta	CH_x (mg/l)	N (mg/l)	P (mg/l)	$CH_x : N : P$	
							VODA
VODA	I-1	Reaktor	38	21	0.46	100 : 55 : 1.2	
		Aerator	35	20	0.26	100 : 57 : 0.7	
	I-2	Reaktor	43	29	0.31	100 : 67 : 0.7	
		Aerator	33	26	0.26	100 : 79 : 0.8	
	I-3	Reaktor	54	29	0.48	100 : 54 : 0.9	
		Aerator	50	29	0.39	100 : 58 : 0.8	
	I-4	Reaktor	127	24	1.7	100 : 19 : 1.3	
		Aerator	42	28	2.0	100 : 67 : 4.8	
	II-1	Reaktor	66	21	5.3	100 : 32 : 8.0	
		Aerator	17	81	8.4	100 : 476 : 49	
	III-1	Ulaz	20	7.6*	1.6	100 : 38 : 8.0	
		Izlaz	14	2.7*	1.4	100 : 19 : 10	
	III-2	Ulaz	21	7.4*	1.0	100 : 35 : 4.8	
		Izlaz	22	3.2*	0.8	100 : 15 : 3.6	
	III-3	Ulaz	19	9.5*	1.1	100 : 50 : 5.8	
		Izlaz	19	3.3*	1.0	100 : 17 : 5.3	
	ZEMLJA	Faze		CH_x (g/kg)	N (g/kg)	P (g/kg)	$CH_x : N : P$
		I-0		32.3	0.57	0.15	100 : 1.8 : 0.5
I-1			36.5	0.67	0.17	100 : 1.8 : 0.5	
I-2			-	0.86	0.12	100 : - : -	
I-3			37.6	1.00	0.14	100 : 2.7 : 0.4	
I-4			39.2	1.08	0.23	100 : 2.8 : 0.6	
II-1			37.4	1.18	0.25	100 : 3.2 : 0.7	
III-1			17.6	1.18	0.27	100 : 6.7 : 1.5	
III-2			14.6	1.18	0.25	100 : 8.1 : 1.7	

Tabela 35. Sadržaj N i P u odnosu na sadržaj lakorazgradivih organskih materija u vodi

Faze	merna mesta	BPK ₅ (mg/l)	N (mg/l)	P (mg/l)	BPK ₅ : N : P
I-1	Reaktor	200	21	0.46	100 : 10 : 0.23
	Aerator	210	20	0.26	100 : 9.5 : 0.12
I-2	Reaktor	100	29	0.31	100 : 29 : 0.31
	Aerator	120	26	0.26	100 : 22 : 0.22
I-3	Reaktor	57	29	0.48	100 : 51 : 0.84
	Aerator	22	29	0.39	100 : 132 : 1.8
III-1	Ulaz	88	7.6*	1.6	100 : 8.6 : 1.8
	Izlaz	14	2.7*	1.4	100 : 19 : 10
III-2	Ulaz	55	7.4*	1.0	100 : 14 : 1.8
	Izlaz	18	3.2*	0.8	100 : 18 : 4.4
III-3	Ulaz	63	9.5*	1.1	100 : 15 : 1.7
	Izlaz	18	3.3*	1.0	100 : 18 : 5.6

4.2.2.10. Površinski aktivne materije

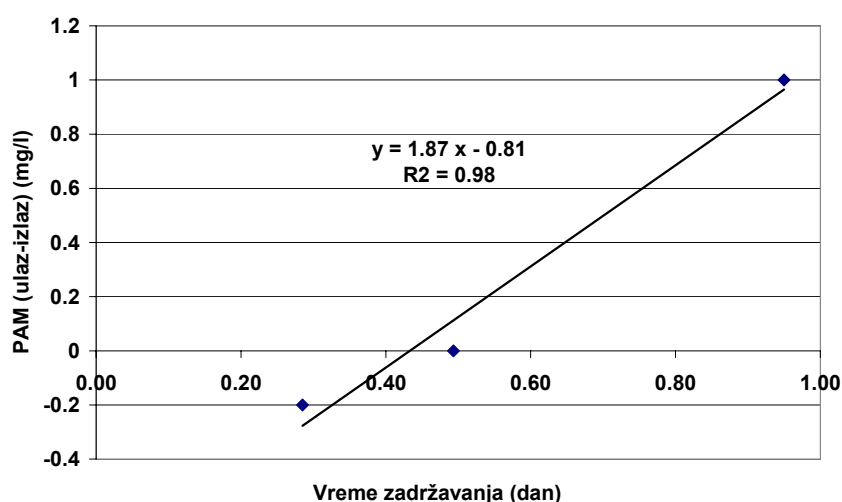
U vodi su registrovane površinski aktivne materije, najčešće do 5 mg/l, čije je prisustvo veoma važno sa aspekta uticaja na desorpciju ugljovodonika iz zemljišta i njihovog rastvaranja i zbog povećavanja emulgovanja u vodi (tabela 36). Nije definisano njihovo poreklo, ali je moguće nekoliko izvora: prvi, u toku gašenja požara na postrojenjima prouzrokovanih NATO bombardovanjem korišćena su različita sredstva za gašenje požara koja su na taj način mogla dospeti na zagađeno zemljište, drugo, u zemljištu su prisutne prirodne organske materije (huminske materije) koje su površinski aktivne, i treće, bakterije same produkuju površinski aktivne materije delimičnom oksidacijom ugljovodonika (*Petrović et al., 1990, 1993*). Koncentracija PAM u aeratoru je bila niža nego u reaktoru zbog njihove mikrobiološke degradacije ili koncentrisanja u peni iznad vode u aeratoru.

Tabela 36. Koncentracija PAM u vodi u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	PAM (mg/l)		
		Reaktor	Aerator	
I	I-1	-	3.0	
	I-2	-	-	
	I-3	4.6	3.9	
	I-4	2.2	0.9	
II	II-1	2.1	1.8	
III	III-1	3.2	Bioreaktor	
			Ulaz	Izlaz
	III-2	-	4.2	4.2
	III-3	-	4.2	4.4

U toku III varijante uočena je linearna zavisnost promene koncentracije PAM u vodi u zavisnosti od vremena zadržavanja u biorektoru (slika 113):

- u toku faze III-1 zbog dužeg zadržavanja vode u biorektoru, pored nastanka PAM oksidacijom ugljovodonika, dolazi do njihove daljne mikrobiološke oksidacije, tako da je koncentracija na izlazu manja;
- u toku III-2 faze nema promene, odnosno, koliko se PAM razgradi toliko nastane oksidacijom ugljovodonika;
- u toku III-3 faze, pri najkraćem vremenu zadržavanja, dolazi do povećanja koncentracije PAM, jer se mnogo manje stigne razgraditi nego što nastane oksidacijom, tj. dolazi do povećanja delimične mikrobiološke oksidacije ugljovodonika zbog većeg opterećenja bioreaktora.



Slika 113. Promena PAM u vodi sa promenom vremena zadržavanja u biorektoru

4.2.2.11. Analiza taloga iz aeratora

Nekoliko puta u toku eksperimenta analizirani su nastali talozi iz aeratora na sadržaj ugljovodonika i metala da bi saznali da li dolazi do akumulacije ugljovodonika i metala u talogu. Rezultati su dati u tabeli 37.

U početku je udeo istaloženih metala bio nizak, ispod 5% mase taloga, pošto se istaložilo manje gvožđa (svega 2,6% u talogu), iako je bilo znatno više istaloženog mangana i cinka nego pri kasnijim merenjima. Kasnije, u talogu dolazi do akumulacije teških metala i do 30%, pri čemu dominira gvožđe sa 27% udela u talogu (deset puta više u odnosu na prvo merenje), što čini preko 98% izdvojenih metala (mangan čini preko 1% izdvojenih metala, dok ostali metali čine manje od 0,2%). Visok udeo gvožđa u istaloženim metalima (98%) je skladu sa visokim udelom u metalima u tretiranom zemljištu (96%).

Pošto se gvožđe taloži u obliku gvožđe-hidroksida, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, polovinu taloga u aeratoru čini istaloženi gvožđe-hidroksid, a trećinu čini organska materija (oni čine 80-90% taloga).

Tabela 37. Karakteristike taloga aeratora u toku I varijante eksperimenta

Parametar	Jedinice	I-1 n=1	I-3 n=1	I-4 n=2
Masa taloga	g	125	135	65
Masa suvog taloga	g	48	17	7.65
Vlaga	% H ₂ O	61.4	87.4	88.2
Mineralna materija (ostatak žarenja)	%	80.4	65.5	69.7
Organska materija (sagorljiva materija)	%	19.6	34.5	30.3
Ukupni ugljovodnici	mg/kg	1190	3640	2050
	mg	57.1	61.9	15.8
	% u talogu	0.12	0.36	0.20
Mineralna ulja	mg/kg	370	570	495
	mg	17.8	9.7	3.8
	% u talogu	0.04	0.06	0.05
Fe	mg/kg	26000	251000	283000
	mg	1248	4267	2170
Ni	mg/kg	73	88	105
	mg	5.3	1.5	0.80
Cu	mg/kg	9	41	37.5
	mg	0.43	0.70	0.28
Zn	mg/kg	1280	120	79
	mg	61	2.0	0.60
Pb	mg/kg	66	105	109.5
	mg	3.2	1.8	0.84
Cd	mg/kg	4.2	6.6	6.85
	mg	0.20	0.11	0.055
Cr	mg/kg	77	95	89.5
	mg	3.7	1.6	0.68
Mn	mg/kg	20900	3950	3645
	mg	1000	67	28
Ukupno metala	mg	2322	4342	2200
% metala u talogu		4.8	25.5	27.4
% Fe u metalima		53.7	98.3	98.6
% Mn u metalima		43.1	1.5	1.3
% ostalih metala		3.2 (2.6 Zn)	0.2	0.1
Fe(OH) ₃	mg	2389	8167	4152
% Fe(OH) ₃ u talogu		5.0	48	54

4.2.2.12. Separatori

U toku III varijante nije došlo do izdvajanja slobodne faze u separatorima ni pri maksimalnom protoku od $1,6 \times 10^{-6}$ m/s. Pri tome je bitno napomenuti da je u konstrukciji

reaktora urađeno tako da se voda crpi iz peščanog sloja koji ipak zadržava u izvesnoj meri slobodnu naftu usled njenog slepljivanja za zrnca peska, a i PAM su dobro rastvarale i emulgovale naftu.

4.2.2.13. Metali prisutni u tretiranoj zemlji i vodi

Pošto metali mogu da deluju toksično na mikroorganizme, neophodno je pratiti njihovu koncentraciju u zemlji i vodi. Teški metali izazivaju koagulaciju belančevina citoplazme i na taj način izazivaju i smrt mikroorganizama. Oni imaju veliki afinitet prema aktivnim centrima enzima, vezujući se za njih, čime se menja propustljivost citoplazmine membrane jer se inhibira dejstvo enzima. Pod uticajem teških metala proces oksidativne fosforilacije u mitohondrijama se smanjuje ili prekida, a samim tim i sintza ATP-a, što izaziva smanjenje biosintetičkih procesa u ćeliji čime je razmnožavanje mikroorganizama onemogućeno. Teški metali smanjuju brojnost i brzinu prorastanja spora. Koncentracija teških metala od 0,2 do 0,3 mmol/l ubija osetljive mikroorganizme, dok otporne vrste podnose koncentraciju i deset puta veću.

U zemljištu je određena koncentracija gvožđa, nikla, bakra, cinka, olova, kadmijuma, hroma i mangana. Suma određenih metala retko prelazi 1 % udela u zemljištu, pri čemu gvožđe čini oko 96 % sume, mangan 2 % (odn. 3,3 % u S), cink 1 %, dok ostali metali čine manje od 1 % sume. Od ispitivanih metala gvožđe može da pravi značajne probleme u pogledu smanjenja propusnosti zemljišta za fluide.

4.2.2.13.1. Gvožđe

Pad koncentracije gvožđa na mernim mestima I-III i porast koncentracije na mestu S ukazuje da redukcioni uslovi u zemljištu prevode gvožđe u pokretljiviji dvovalentni oblik, koji nakon aeracije i oksidacije vode u aeratoru prelazi u trovalentni oblik koji se taloži u obliku hidroksida na površini zemljišta na mestu nalivanja vode, S (tabela 38). To je i uslovalo začepljenje površinskog sloja i formiranje vodene faze na mestu S.

Tabela 38. Promena koncentracije gvožđa u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Gvožđe (g/kg sm ili mg/l)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	8.3	-	33	40
	I-2	8.5	9.8	64	70
	I-3	7.7	9.3	39	73
	I-4	6.3	10.6	36	43
II	II-1	7.2	12.2	76	314

Prema Pravilniku o opasnim materijama u vodama (*Službeni glasnik SRS, br.31/1982*) gvožđe je prisutno u vodi reaktora i aeratora u količini daleko iznad propisane klasama. Veće

koncentracije gvožđa su prisutne u vodi aeratora nego reaktora jer dolazi do izdvajanja gvožđa u obliku gvožđe(III)-hidroksida usled aeracije. Nakon odvajanja aeratora dolazi do značajnijeg porasta koncentracije gvožđa u vodi aeratora – pretpostavka je da usled razgradnje organske materije iz naslaga na zidovima i dnu aeratora dolazi do suspendovanja čestica na kojima je adsorbovano gvožđe (analizira se nefiltriran uzorak).

Merenjem odnosa gvožđa(II) i (III) u vodi pijezometara evidentno je da je rastvoreno gvožđe u obliku gvožđa(II) i da redukcionni uslovi doprinose njegovom ispiranju i migraciji (tabela 39). Obrnuta je situacija u aeratoru gde dominira gvožđe(III) usled oksidacije kiseonikom. U toku faze I-4 dolazi do pojave gvožđa(III) u podzemnoj vodi, koje verovatno potiče od ispiranja aeratora, u kojem usled kraćeg vremena zadržavanja vode oksidovano gvožđe ne stiže da se istaloži već prelazi u reaktor, a raste i udeo gvožđa(II) zbog kraćeg vremena oksidacije. Međutim, to će dovesti do bržeg začepjenja zemljišta, tako da je neophodno duže vreme zadržavanja vode u aeratoru i bolji način odvajanja oksidovanog gvožđa.

Tabela 39. Promena koncentracije ukupnog gvožđa i gvožđa(II) u vodi u toku I varijante eksperimenta

Faze	Reaktor		Aerator	
	Ukupno Fe	Fe (II)	Ukupno Fe	Fe (II)
	mg/l			
I-1	71	71	42	5.8
I-3	33	33	40	5.0
I-4	32	26	31	12

4.2.2.13.2. Mangan

Kod mangana, takođe, dolazi do pada koncentracije na mernim mestima I-III i porasta koncentracije na mestu S, što ukazuje da nakon aeracije vode dolazi do oksidacije mangana do MnO_2 , koji se taloži na površini zemljišta na mestu nalivanja vode, S (tabela 40). Nakon odvajanja aeratora koncentracija mangana na mestu S opada, što potvrđuje prethodnu tvrdnju.

Tabela 40. Promena koncentracije mangana u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Mangan (mg/kg sm ili mg/l)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	185	-	12	9.8
	I-2	179	233	7.7	6.7
	I-3	155	302	5.1	6.2
	I-4	136	474	3.9	3.6
II	II-1	151	370	5.2	38

Koncentracija mangana u vodi reaktora opada sa povećanjem brzine recirkulacije vode i kraćeg vremena kontakta sa zemljištem. U aeratoru je registrovan veći porast koncentracije mangana nakon odvajanja aeratora što se može objasniti, kao i u slučaju gvožđa, razgradnjom organske materije i oslobađanjem metala iz taloga.

4.2.2.13.3. Cink

Sadržaj cinka u zemlji se ne menja značajno, a ponovo dolazi do akumulacije cinka na mestu nalivanja aerisane vode, S (tabela 41).

Koncentracija cinka u vodi reaktora opada sa povećanjem brzine recirkulacije usled kraćeg zadržavanja vode u reaktoru, tako da voda pripada III/IV klasi prema Pravilniku o opasnim materijama u vodama (*Službeni glasnik SRS, br.31/1982*). U vodi aeratora je sve vreme značajno niža koncentracija cinka usled njegovog taloženja sa gvožđem i manganom što je dokazano analizom taloga u kome je nađen značajan udeo cinka.

Tabela 41. Promena koncentracije cinka u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Cink (mg/kg sm ili µg/l)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	78	-	4070	485
	I-2	80	86	1720	120
	I-3	98	106	802	55
	I-4	74	108	525	33
II	II-1	57	76	500	185

4.2.2.13.4. Bakar

Promena koncentracije bakra može se objasniti samo heterogenošću zemljišta i migracijom iz jednog u drugi deo reaktora. I u vodi koncentracija bakra značajno varira i uglavnom je van klase prema Pravilniku o opasnim materijama u vodama (tabela 42).

Tabela 42. Promena koncentracije bakra u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Bakar (mg/kg sm ili µg/l)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	8.2	-	111	298
	I-2	6.3	6.0	218	46
	I-3	6.6	14	44	7
	I-4	11	13	260	249
II	II-1	12	19	19	65

4.2.2.13.5. Nikal

Koncentracija nikla u zemljištu je dosta ujednačena u toku eksperimenta (tabela 43).

Koncentracija nikla u vodi opada sa povećanjem brzine recirkulacije kao posledice kraćeg kontakta sa zemljištem, ali kasnije dolazi do porasta koncentracije, verovatno usled ispiranja iz aeratora i uglavnom je van klase prema Pravilniku o opasnim materijama u vodama. Nakon odvajanja aeratora dolazi do porasta koncentracije nikla u vodi aeratora – verovatno je to posledica razgrađuje istaložene organska materija i oslobađanja metala iz taloga.

Tabela 43. Promena koncentracije nikla u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Nikal (mg/kg sm ili µg/l)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	21	-	203	205
	I-2	21	21	124	98
	I-3	22	24	58	58
	I-4	21	22	112	120
II	II-1	19	26	107	274

4.2.2.13.6. Kadmijum

Koncentracija kadmijuma u zemlji opada u toku eksperimenta i prisutne su dosta niske vrednosti (tabela 44). Koncentracija u podzemnoj vodi je znatno viša od koncentracija koje se obično sreću u površinskim vodama i prosečna vrednost kreće se u opsegu do 10 µg/l, odnosno pripada III/IV klasi.

Tabela 44. Promena koncentracije kadmijuma u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Kadmijum (mg/kg sm ili µg/l)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	1.7	-	9.3	14.0
	I-2	1.4	1.7	8.0	6.6
	I-3	1.2	1.3	7.6	8.4
	I-4	1.1	1.5	9.8	12.0
II	II-1	0.9	1.0	5.4	15.0

4.2.2.13.7. Olovo

Koncentracija olova u zemljištu je dosta ujednačena u toku I varijante, da bi u toku II varijante došlo do pada koncentracije (tabela 45). Koncentracija olova u podzemnoj vodi

opada u toku eksperimenta, ali voda je van klase, prema Pravilniku o opasnim materijama u vodama.

Tabela 45. Promena koncentracije olova u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Olovo (mg/kg sm ili $\mu\text{g/l}$)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	28	-	189	165
	I-2	26	23	175	132
	I-3	21	23	122	161
	I-4	23	28	123	105
II	II-1	14	19	91	178

4.2.2.13.8. Hrom

Koncentracija hroma u zemljištu i vodi reaktora opada u toku I varijante (u vodi ispod granice propisane klasama), da bi u toku II varijante došlo do porasta (tabela 46). Porast koncentracije u aeratoru u toku II varijante se može objasniti isto kao i kod gvožđa, mangana i drugih metala, usled razgradnje taloga.

Tabela 46. Promena koncentracije hroma u toku eksperimenta

Varijanta	Faza	Zemlja		Voda	
		Hrom (mg/kg sm ili $\mu\text{g/l}$)			
		I-III	S	Reaktor	Aerator
I	I-1	21	-	160	200
	I-2	13	15	128	182
	I-3	9.4	4.7	79	67
	I-4	11	17	47	70
II	II-1	15	30	86	276

Analizom sadržaja i ponašanja metala u zemlji i vodenoj fazi osnovni problem predstavlja gvožđe, koje može začepljenjem pora zemljišta da onemogući sprovođenje tehničke bioremedijacije.

4.2.3. Mikrobiološka karakterizacija procesa biostimulacije

4.2.3.1. Mikrobiološka karakterizacija zagađene zemlje

Brojnost bakterija u zagađenoj zemlji je izuzetno velika - organotrofa, fakultativnih oligotrofa i lipolitskih bakterija ima nekoliko milijardi, dok ugljovodonik-oksidujućih bakterija ima od nekoliko desetina do nekoliko stotina miliona po gramu suve zemlje (tabela 47).

Tabela 47. Mikrobiološka karakterizacija zagađene zemlje i enzimatska aktivnost

Ispitivane grupe bakterija	Originalna zagađena zemlja	Zemlja nakon kondicioniranja
	Broj bakterija/g zemlje	
Organotrofi	3.978.000.000	1.796.000.000
Fakultativni oligotrofi	9.781.000.000	5.536.500.000
Lipolitske bakterije (TWEEN)	1.487.000.000	1.073.000.000
Ugljovodonik-oksidujuće bakterije (MSWYE)	780.000.000	442.500.000
Ugljovodonik-oksidujuće bakterije (Tauson)	31.000.000	395.500.000
Enzimatska aktivnost		
Indeks fosfatazne aktivnosti ($\mu\text{mol pNP/s/g}$)	15,6	24,5
Dehidrogenazna aktivnost (mgTPF/g)	0,22	0,35

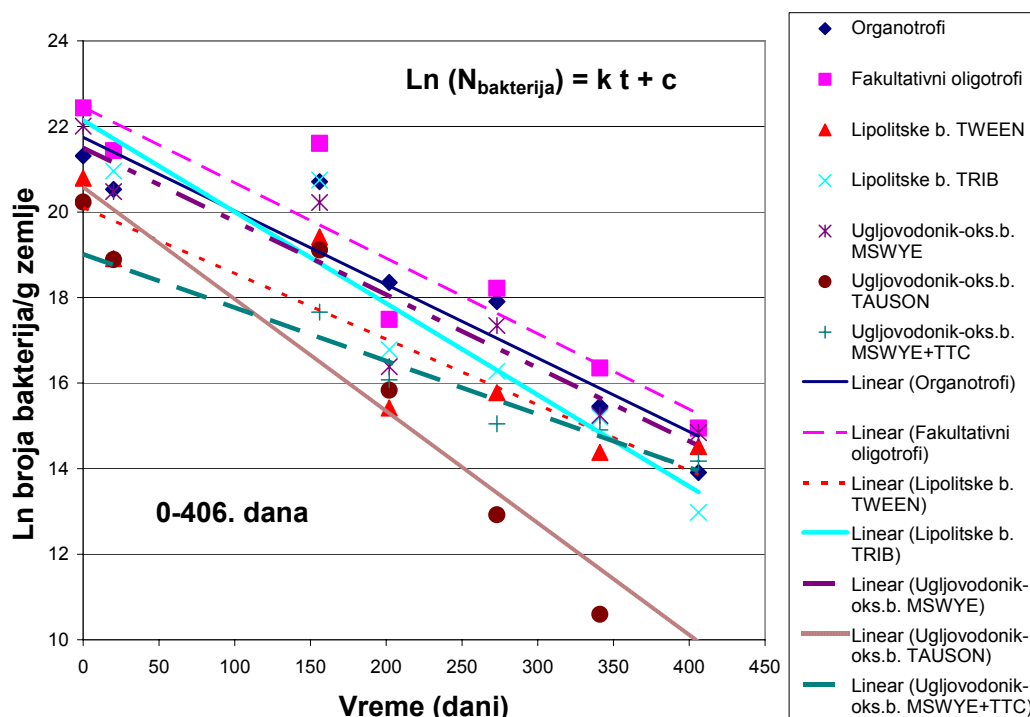
Nakon smeštanja zemlje u reaktor i nalivanja vode sledio je period kondicioniranja nakon čega su uočene određene razlike. Brojnost organotrofa, fakultativnih oligotrofa, lipolitskih i ugljovodonik-oksidujućih bakterija na podlozi MSWYE su opale, ali su i dalje prisutne bakterije u milionima i milijardama jedinki po gramu zemlje, dok je brojnost ugljovodonik-oksidujućih bakterija na podlozi Tauson izuzetno porasla. Promena brojnosti može se objasniti povećanjem vlažnosti zemljišta sa 4 na 14-18 %. Naime, povećanje vlažnosti je moglo da pospeši desorpciju zagađenja sa čvrste u tečnu fazu i njegov bolji kontakt sa mikroorganizmima, što, s obzirom na koncentraciju ugljovodoničnog supstrata može da doprinese povećanju brojnosti bakterija specifičnih za dati supstrat, a s obzirom na toksičnost zagađenja, može da redukuje brojnost osetljivih grupa. Povećanje brojnosti ugljovodonik-oksidujućih bakterija na podlozi Tauson navodi na zaključak da su dati sojevi prilagođeni na supstrat naftne prirode i da desorpcija toksičnog zagađenja nije bila štetna po njih. Pored ponašanja te grupe bakterija, povećana aktivnost dehidrogenaza i fosfataza ukazuje na postojanje i progresiju mikrobioloških procesa u zemljištu, što može biti posledica povećanja vlažnosti (koja je neophodna mikroorganizmima za metabolizam).

U toku daljeg istraživanja dolazi do značajnog opadanja brojnosti ispitivanih grupa bakterija, naročito u toku faze I-4 i dalje – dobijena je eksponencijalna funkcionalna zavisnost opadanja broja bakterija sa vremenom (tabela 48, slika 114). Pred kraj varijante II dolazi do porasta brojnosti svih bakterija (uticaj magnezijum-peroksida), nakon čega lipolitske bakterije nastavljaju linearno da povećavaju brojnost, dok organotrofi, fakultativni oligotrofi i ugljovodonik-oksidujuće bakterije ponovo opadaju, takođe, linearno (slike 115 i 116). Međutim, sve određene brojnosti bakterija su daleko ispod vrednosti sa početka eksperimenta. Evidentna je dominacija toksičnog delovanja nafte na bakterije u zemlji, što je favorizovano

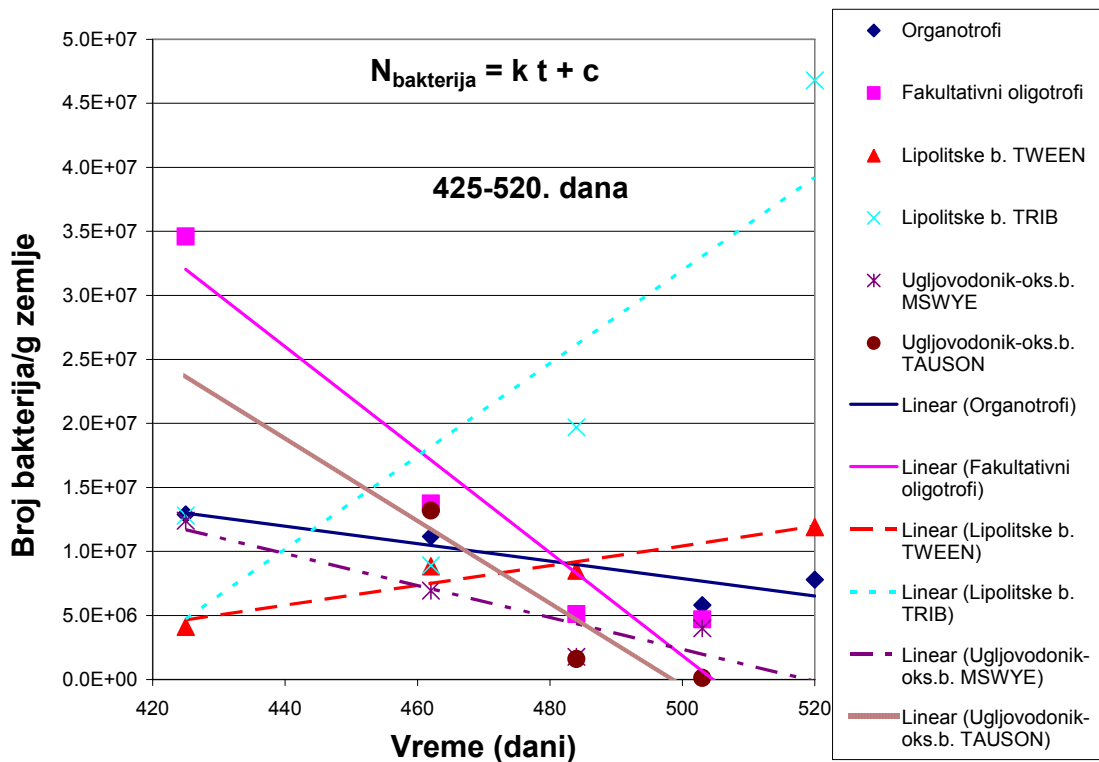
desorpcijom nafte i većom biodostupnošću rastvorene i emulgovane nafte (vlažnost 15-20 %, prisustvo PAM, porast koncentracije ugljovodonika u vodenoj fazi).

Tabela 48. Broj bakterija u zemlji na mernim mestima I-III u toku eksperimenta

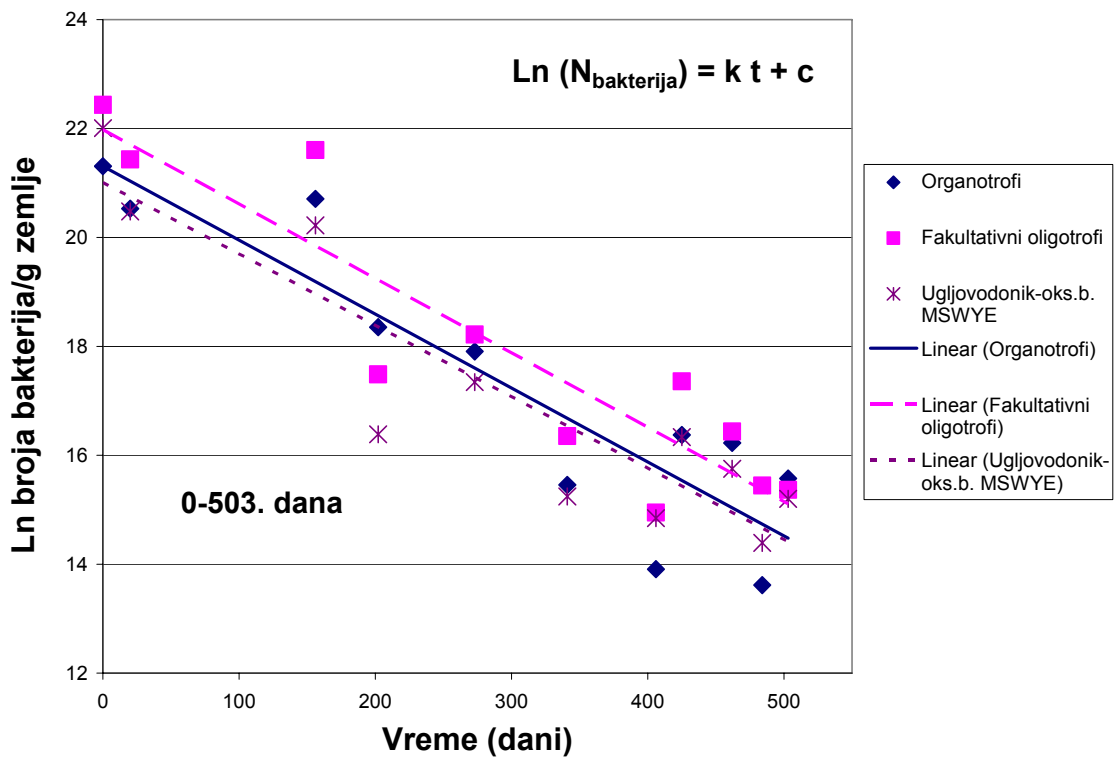
Grupe bakterija	Organotrofi	Fakultativni oligotrofi	Lipolitske b. TWEEN	Lipolitske b. Tributirin	Ugljovodonik-oks. b. MSWYE	Ugljovodonik-oks.b. TAUSON	Ugljovodonik-oks.b. MSWYE+TTC	Ugljovodonik-oks.b. Tauson+TTC
Dani								
0	1796	5536	1073	-	3609	611	-	-
20	824	2035	163	1264	782	160	-	-
156	986	2411	270	1023	606	200	46.8	0
202	93.3	39.3	5.0	19.3	13.1	0.2	9.6	0
273	59.8	81.7	7.1	11.7	34.1	7.5	3.4	0
341	5.2	12.6	1.8	4.0	4.2	0.4	3.0	0
406	1.1	3.1	2.0	0.4	2.8	0.0	1.4	0
425	12.9	34.6	4.1	12.8	12.4	0.0	2.3	0
462	11.2	13.7	8.8	8.9	6.9	13.2	16.3	0.1
484	0.8	5.1	8.5	19.7	1.8	1.6	19.4	0
503	5.8	4.7	3.9	11.3	4.0	0.1	0.2	0
520	7.8	55.0	11.9	46.8	41.6	8.6	4.1	7.9



Slika 114. Promena broja bakterija u zemlji na mernim mestima I-III do 406. dana eksperimenta



Slika 115. Promena broja bakterija u zemlji na mernim mestima I-III od 425 do 520. dana eksperimenta



Slika 116. Promena broja bakterija u zemlji na mernim mestima I-III do 503. dana eksperimenta

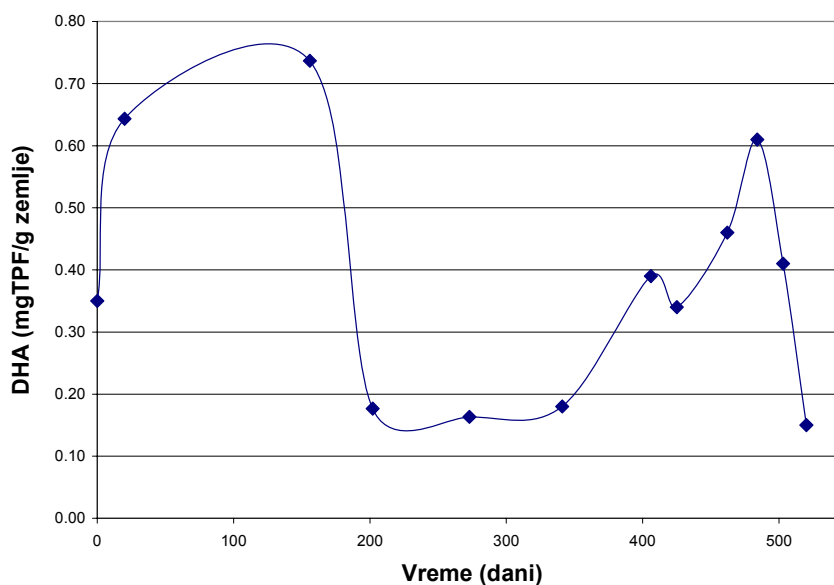
U tabeli 49 dati su koeficijenti za korelacije prikazane na slikama 114-116.

Tabela 49. Kinetički koeficijenti promene bakterijske brojnosti u toku vremena

Merna mesta I-III	0-406.dana			425-520. dana			0-503. dana		
	$\text{Ln}(N_{\text{bakt}})=kt+c$			$N_{\text{bakt}}=kt+c$			$\text{Ln}(N_{\text{bakt}})=kt+c$		
Grupe bakterija	k	c	R^2	k	c	R^2	k	c	R^2
Organotrofi	-0.0172	21.7	0.8879	-68024	4E+07	0.8168	-0.0136	21.3	0.8313
Fakultativni oligotrofi	-0.0177	22.4	0.8722	-402130	2E+08	0.9239	-0.0137	22.0	0.8415
Lipolitske bak. (TWEEN)	-0.0154	20.1	0.8201	77221	-3E+07	0.9170	-	-	-
Lipolitske bak. (Tributirin)	-0.0214	22.1	0.8832	362971	-1E+08	0.7151	-	-	-
Ugljovodnik-oks. b. (MSWYE)	-0.0171	21.5	0.8755	-124480	6E+07	0.8233	-0.0131	21.0	0.8362
Ugljovodnik-oks. b. (Tauson)	-0.0264	20.6	0.8652	-324062	2E+08	0.8635	-	-	-
Ugljovodnik-oks. b.(MSWYE+TTC)	-0.0125	19.0	0.8751	-	-	-	-	-	-

4.2.3.1.1. Dehidrogenazna aktivnost

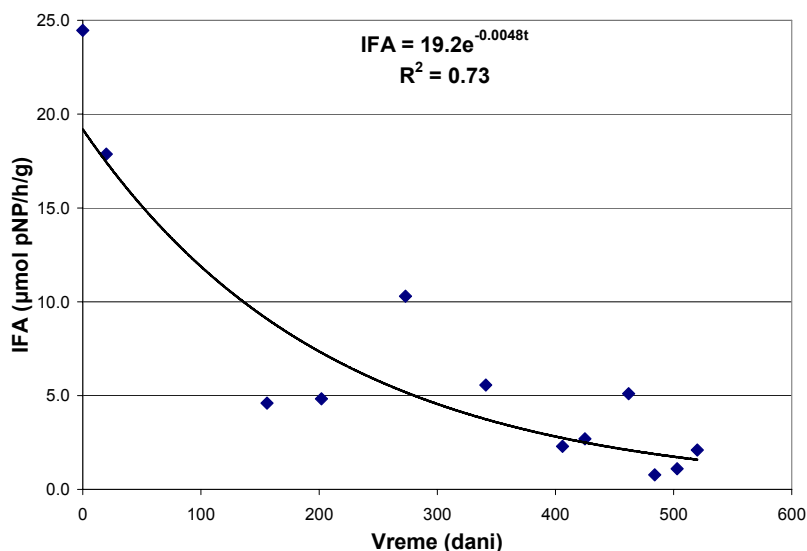
Prilikom smanjenja broja bakterija u toku faze I-4 dolazi i do smanjenja dehidrogenazne aktivnosti, a sa porastom bakterija pri kraju varijante II dolazi do porasta DHA (slika 117). Iako je brojnost bakterija u toku varijante III značajno niža nego u toku varijante I, DHA dostiže vrednosti izmerene u varijanti I, što govori u prilog stimulisanja njihove aktivnosti a ne brojnosti.



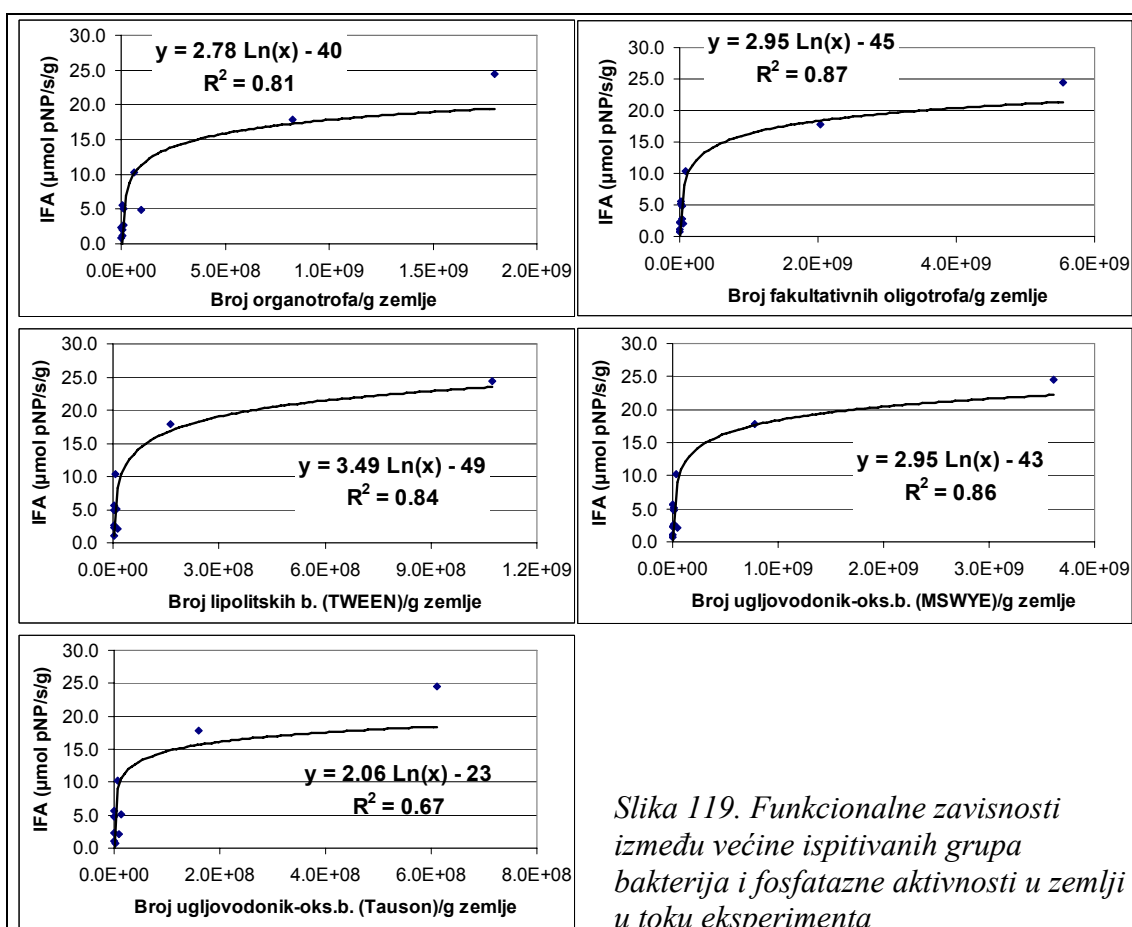
Slika 117. Promena dehidrogenazne aktivnosti zemlje u toku eksperimenta

4.2.3.1.2. Fosfatazna aktivnost

Indeks fosfatazne aktivnosti opada sa vremenom, što je u skladu sa opadanjem broja bakterija (slika 118). Na slici 119 prikazane su funkcionalne zavisnosti između većine ispitivanih grupa bakterija i fosfatazne aktivnosti.



Slika 118. Promena fosfatazne aktivnosti zemlje u toku eksperimenta



Slika 119. Funkcionalne zavisnosti između većine ispitivanih grupa bakterija i fosfatazne aktivnosti u zemlji u toku eksperimenta

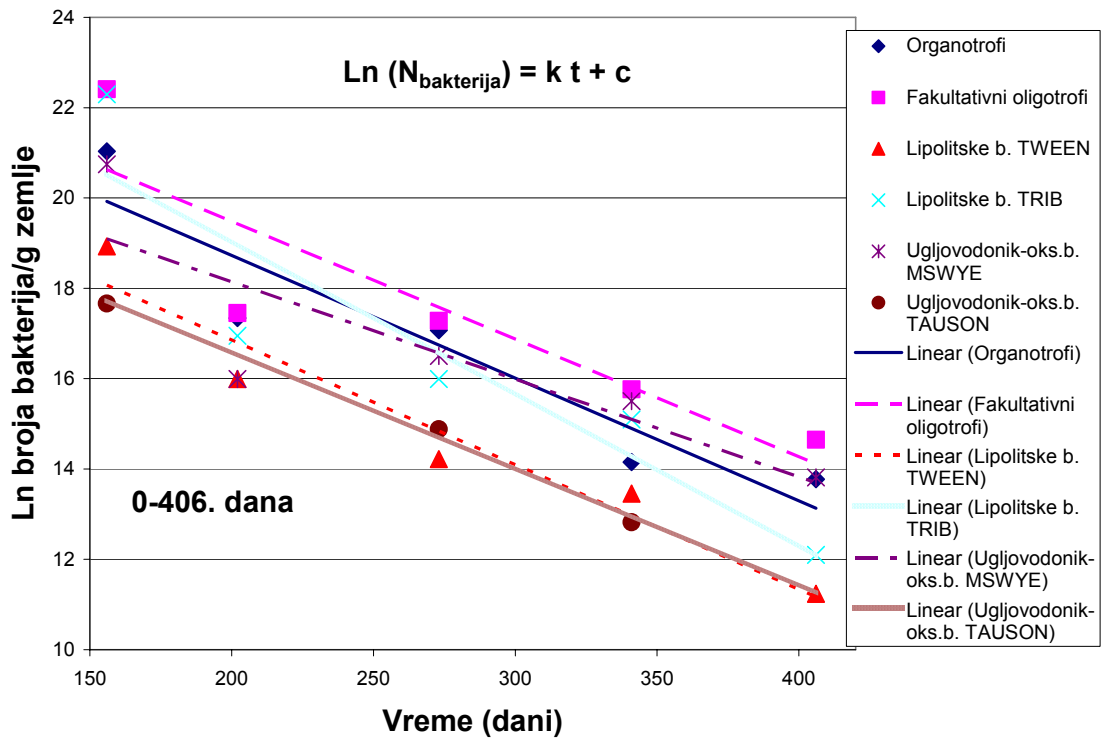
Utvrđena je funkcionalna zavisnost između svih ispitivanih grupa bakterija (uglavnom linearna, povremeno eksponencijalna) (Prilog 4a). Uočava se da porast jedne grupe korelira sa porastom druge grupe i obrnuto, odnosno uslovi sredine su doprinosili smanjenju ili povećanju obe grupe. Date zavisnosti, s jedne strane, ukazuju da su pojedine bakterije detektovane unutar više grupa, odnosno pokazuju različite osobine, jer se prilagođavaju uslovima gde su prisutne i lako i teško razgradive materije, toksične i netoksične, prisutne u tragovima i u izuzetno visokim koncentracijama, zemljani i vodeni matriks i sl. Sa druge strane, korelacija brojnosti nekih grupa ukazuje na njihovu interakciju u životnoj sredini. Na primer, postojanje zavisnosti između lipolitskih i ugljovodonik-oksidujućih bakterija je u skladu sa činjenicom da produkti metabolizma ugljovodonik-oksidujućih bakterija služe kao supstrat za razvoj lipolitskih bakterija.

4.2.3.1.3. Brojnost bakterija na mernom mestu S

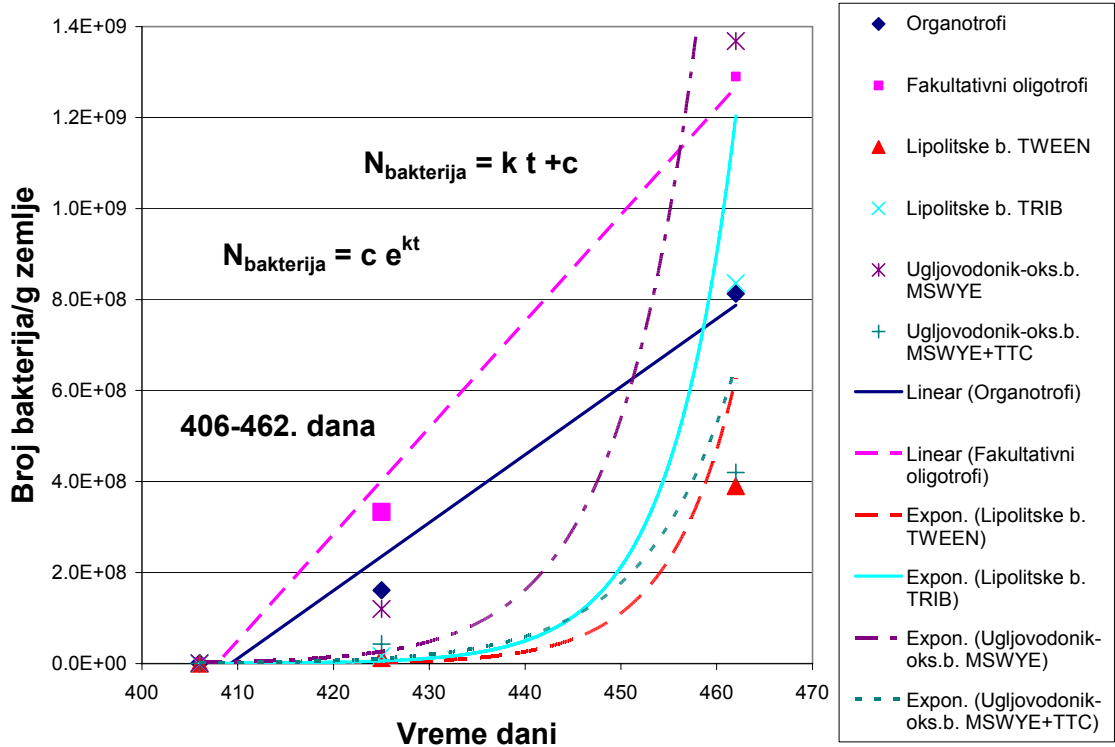
Na mernom mestu S detektovana je drugačija brojnost ispitivanih grupa bakterija nego na mernim mestima I-III (tabela 50, slike 120-122).

Tabela 50. Broj bakterija u zemlji na mernom mestu S u toku eksperimenta

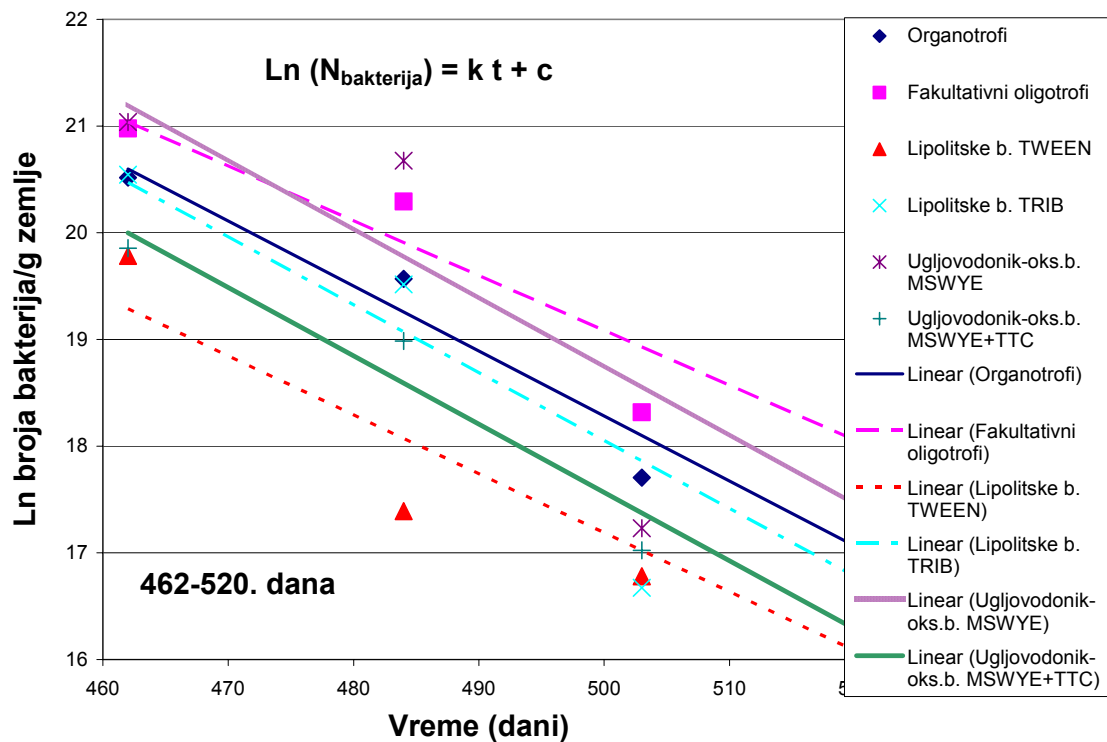
Grupe bakterija	Organotrofi	Fakultativni oligotrofi	Lipolitske b. TWEEN	Lipolitske b. Tributirin	Ugljovodonik-oks. b. MSWYE	Ugljovodonik-oks.b. TAUSON	Ugljovodonik-oks.b. MSWYE+TTC	Ugljovodonik-oks.b. Tauson+ TTC
Dani	Broj bakterija x 10 ⁶ /g zemlje Srednja vrednost mernih mesta I, II i III							
156	1363	5402	166	4803	1021	47.0	0.7	0.0
202	34.0	38.0	8.8	23.0	8.8	0.0	2.9	0.0
273	26.0	32.0	1.5	8.8	14.7	2.9	0.0	0.0
341	1.4	7.0	0.7	3.6	5.4	0.4	0.4	0.0
406	1.0	2.3	0.1	0.2	1.0	0.0	0.6	0.0
425	161	333	12.1	16.7	120	0.0	42.9	0.0
462	813	1290	390	836	1368	207	420	13.9
484	315	649	35.7	299	952	1029	176	0.0
503	48.9	90.1	19.4	17.4	30.4	5.4	24.7	0.4
520	30.1	92.4	14.8	37.9	68.5	23.1	13.0	0.3



Slika 120. Promena broja bakterija u zemlji na mernom mestu S do 406. dana eksperimenta



Slika 121. Promena broja bakterija u zemlji na mernom mestu S od 406 do 462. dana eksperimenta



Slika 122. Promena broja bakterija u zemlji na mernom mestu S od 462 do 520. dana eksperimenta

Porast od 406.dana se objašnjava promocijom bakterijske aktivnosti i brojnosti boljom dostupnošću kiseonika i većom vlažnošću. Pijezometar sa Mg-peroksidom je postavljen u zoni uzorka S, pa je kiseonik oslobođen iz magnezijum-peroksida difundovao ka površini kroz pijezometar. Izuzetno veća brojnost na mestu S u odnosu na mesta I-III od 462. dana se objašnjava nalivanjem vode iz biorekatora u toku varijante III.

U tabeli 51 dati su koeficijenti za korelacije prikazane na slikama 120-122.

Tabela 51. Kinetički koeficijenti promene bakterijske brojnosti u toku vremena

Merno mesto S	0-406.dana			406-462.dana			462-520. dana		
	$\ln(N_{bakt})=kt+c$			$N_{bakt}=kt+c$			$\ln(N_{bakt})=kt+c$		
Grupe bakterija	k	c	R ²	k	c	R ²	k	c	R ²
Organotrofi	-0.0272	24.2	0.8812	1E+07	-6E+09	0.9768	-0.0609	48.7	0.9608
Fakultativni oligotrofi	-0.0261	24.7	0.7888	2E+07	-1E+10	0.9919	-0.0514	44.8	0.8903
Lipolitske bak. (TWEEN)	-0.0276	22.4	0.9391	$N_{bakt}=c e^{kt}$			0.0553	44.8	0.8575
				0.1445	6E-21	0.9177			
Lipolitske bak. (Tributirin)	-0.0339	25.8	0.8515	0.1446	1E-20	0.9499	-0.0637	49.9	0.7855
Ugljovodonik-oks. b. (MSWYE)	-0.0216	22.5	0.7221	0.1203	2E-15	0.8696	-0.0648	51.1	0.7285
Ugljovodonik-oks. b. (Tauson)	-0.0259	21.8	0.9957	-	-	-	-	-	-
Ugljovodonik-oks. b.(MSWYE+TTC)	-	-	-	0.1092	8E-14	0.8785	-0.0641	49.6	0.9612

I za merno mesto S utvrđena je linearna funkcionalna zavisnost između svih ispitivanih grupa bakterija (Prilog 4b).

4.2.3.2. Mikrobiološka karakterizacija podzemne vode u reaktoru

U tabeli 52 data je brojnost ispitivanih grupa bakterija i fosfatazne aktivnosti u podzemnoj vodi u reaktoru. Brojnost bakterija u toku I varijante je znatno viša nego u toku II i III varijante, ali je indeks fosfatazne aktivnosti, kao pokazatelj pre svega "kvaliteta" (aktivnosti), a ne "kvantiteta" (brojnosti) bakterijske mikroflore, značajno viši u toku III varijante. Pored dominantne brojnosti fakultativnih oligotrofa, prisutna je veća brojnost ugljovodonik-oksidujućih bakterija na MSWYE podlozi i lipolitskih bakterija na tributirin podlozi. Prisustvo ugljovodonik-oksidujućih i lipolitskih bakterija je pokazatelj da je u vodi prisutan ugljovodonični supstrat i da ga bakterije koriste u svom metabolizmu. Međutim, mala brojnost ugljovodoničnih bakterija na Tauson podlozi i lipolitskih na TWEEN podlozi nam ukazuje da se bakterije zbog visoke koncentracije toksičnog naftnog zagađenja pre opredeljuju za lakše razgrađivu organsku materiju.

Tabela 52. Brojnost ispitivanih grupa bakterija i fosfatazne aktivnosti u podzemnoj vodi u reaktoru u toku eksperimenta

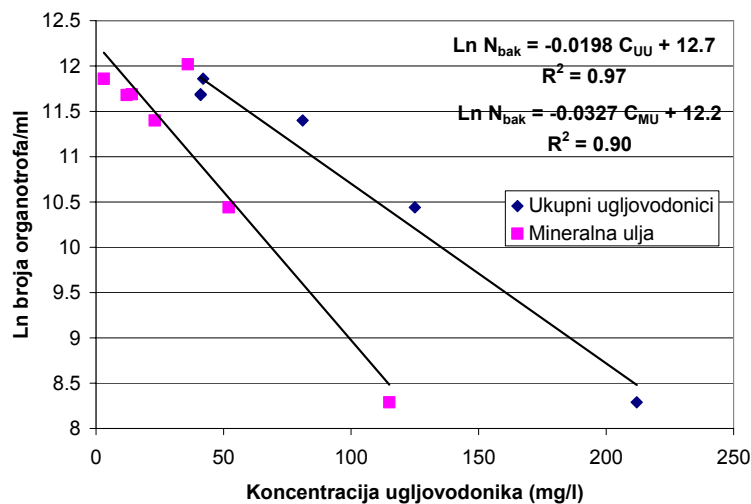
VARIJANTA	I				II	III		
FAZA	I-1	I-2	I-3	I-4	II-1	III-1	III-2	III-3
Grupe bakterija	Broj bakterija/ml podzemne vode							
Organotrofi	119800	118400	141600	90688	36533	14000	-	27750
Fakultativni oligotrofi	1448200	2230000	577400	187938	239333	152500	-	221000
Lipolitske b. TWEEN	11200	22000	32800	23125	5400	4000	-	1500
Lipolitske b. Tributirin	231400	39200	151600	122000	27733	36750	-	24670
Ugljovodonik-oks. b. MSWYE	215800	108200	309400	98800	86400	37500	-	175000
Ugljovodonik-oks. b. MSWYE+TTC	-	-	34600	33875	22767	15500	-	3500
Ugljovodonik-oks. b. Tauson	83000	46000	59800	37600	11333	40500	-	28750
Ugljovodonik-oks. b. Tauson+TTC	-	-	-	1313	67	0	-	0
Autohtone bakterije	302800	498200	-	-	-	-	-	-
Fosfatazna aktivnost	μmol pNP/s/l							
	108	99	66	44	47	510	-	420

I u vodi reaktora, kao i u zemlji, utvrđene su funkcionalne zavisnosti između pojedinih grupa bakterija (Prilog 4c).

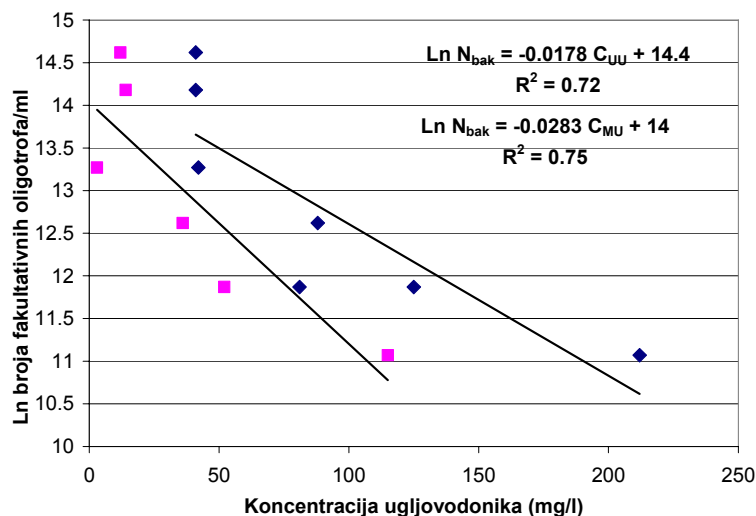
4.2.3.3. Korelacije bakterija i koncentracije ugljovodonika u vodi reaktora

I varijanta. Kao jedan od dokaza mikrobiološke degradacije zagađenja može da posluži postojanje zavisnosti između brojnosti bakterija i koncentracije zagađenja. U početku postoji period adaptacije, potom dolazi do porasta brojnosti bakterija usled razgradnje supstrata. Međutim, pri visokim koncentracijama dolazi do opadanja brojnosti bakterija usled toksičnog delovanja hemijskih jedinjenja. Pri datim eksperimentalnim uslovima moguće je ispitati samo onaj opseg koncentracija koji je bio aktuelan.

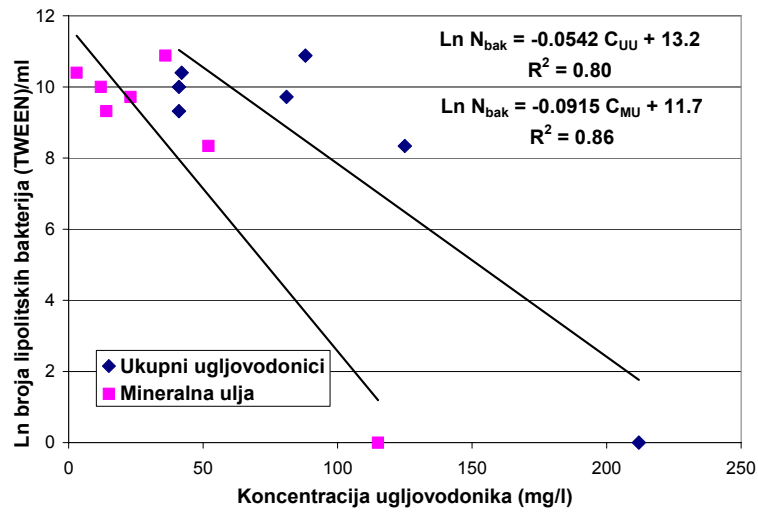
U podzemnoj vodi sa povećanjem koncentracije ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja dolazi do opadanja brojnosti svih ispitivanih bakterijskih grupa, kao i fosfatne aktivnosti (slike 123-130). Dobijene korelacije su uočene pri datim koncentracijama ukupnih ugljovodonika (većim od 40 mg/l) i mineralnih ulja (većim od 3 mg/l) i može se zaljučiti da nafta rastvorena i emulgovana u vodi u toj meri usporava razvoj mikroorganizama.



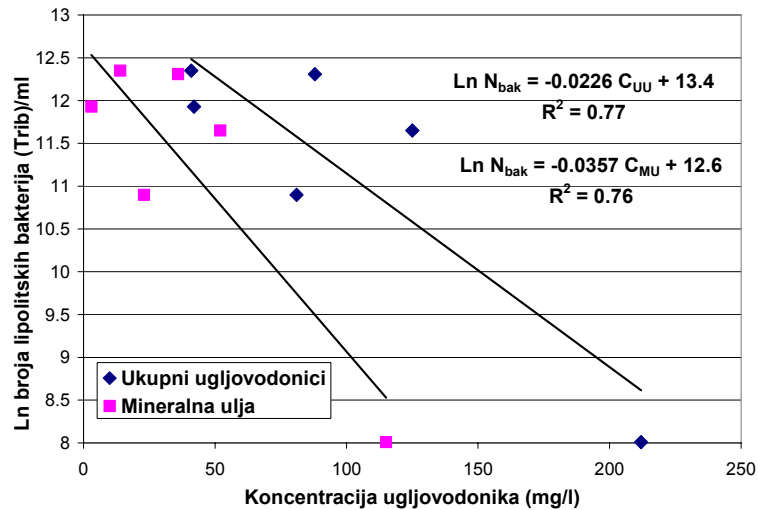
Slika 123. Promena broja organotrofa u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



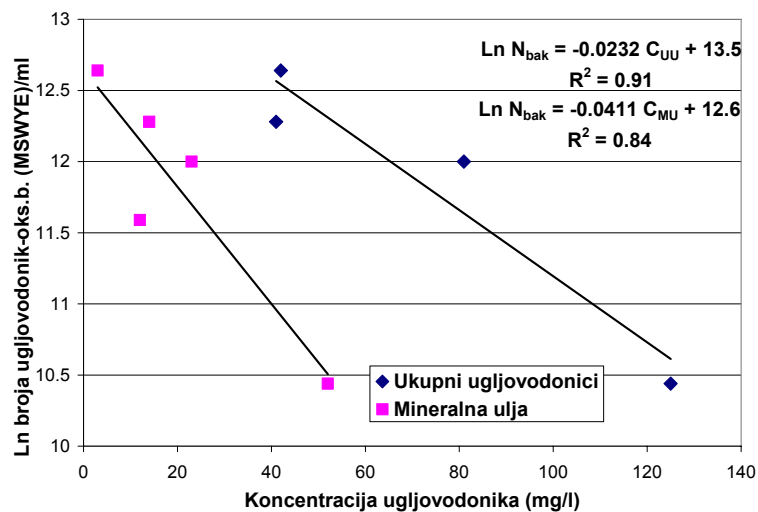
Slika 124. Promena broja fakultativnih oligotrofa u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



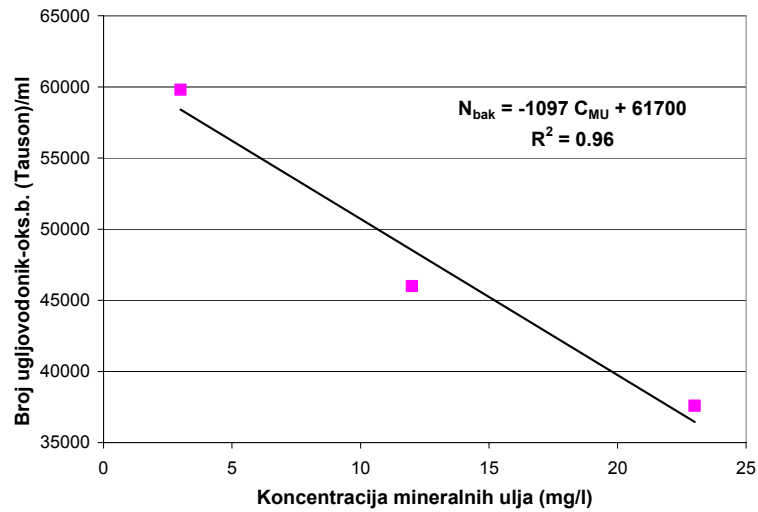
Slika 125. Promena broja lipolitskih bakterija (TWEEN) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



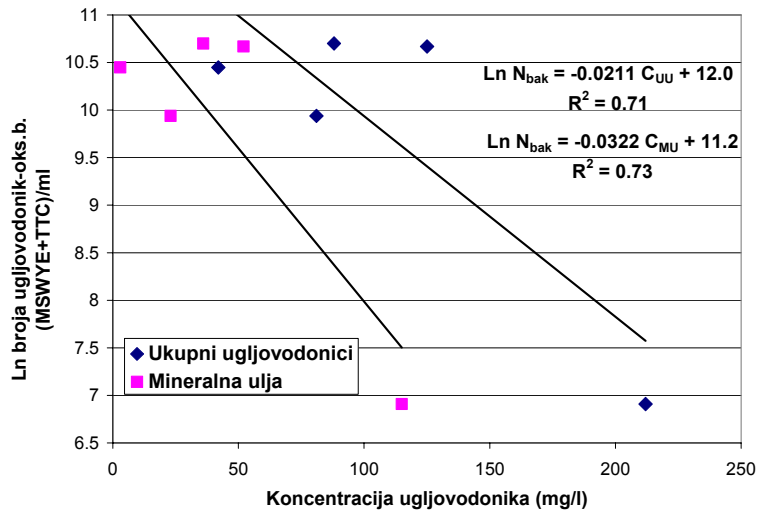
Slika 126. Promena broja lipolitskih bakterija (tributirin) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



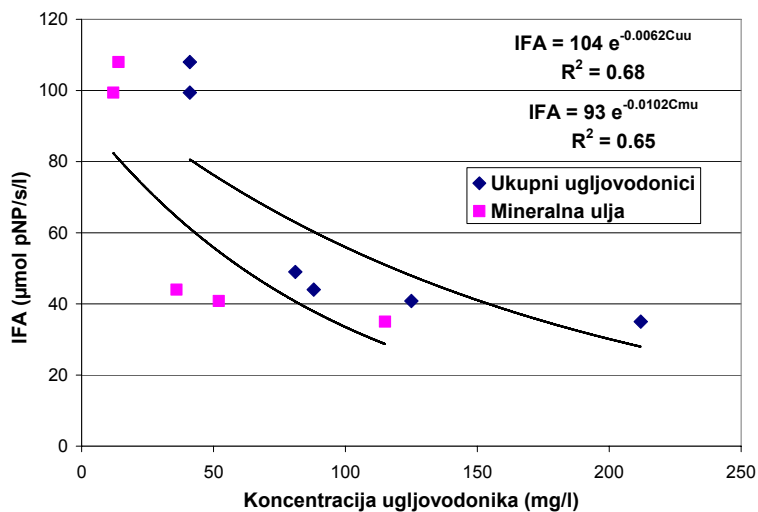
Slika 127. Promena broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



Slika 128. Promena broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (Tauson) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika

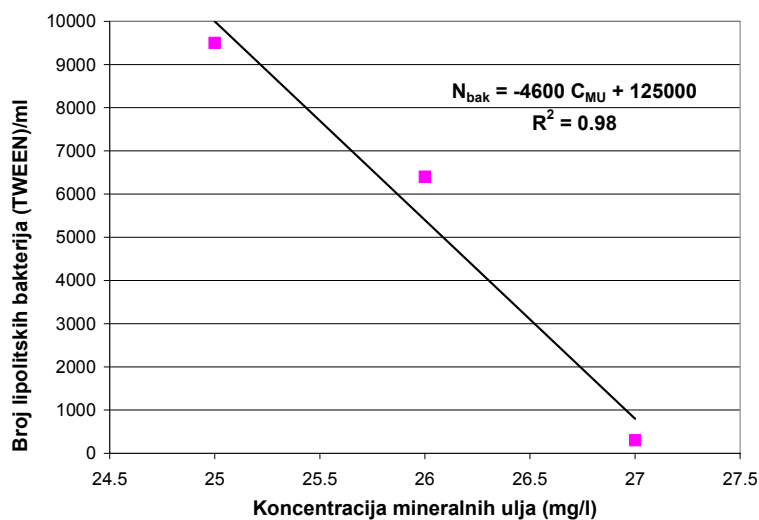


Slika 129. Promena broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE+TTC) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika

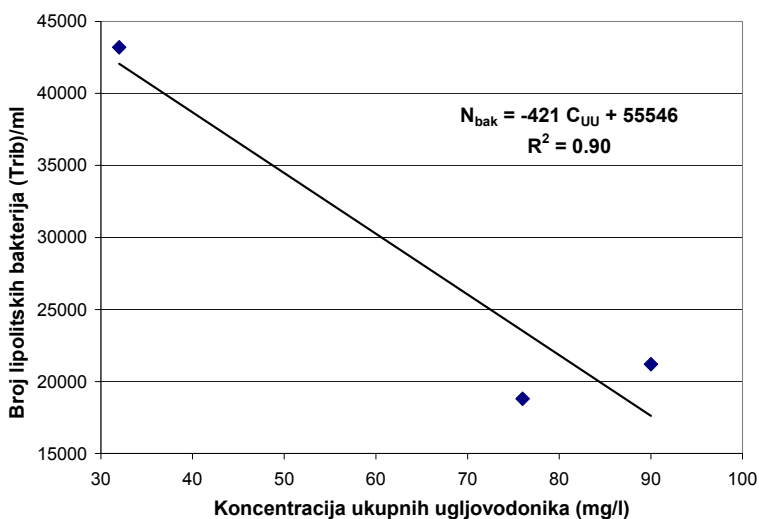


Slika 130. Promena fosfatazne aktivnosti u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika

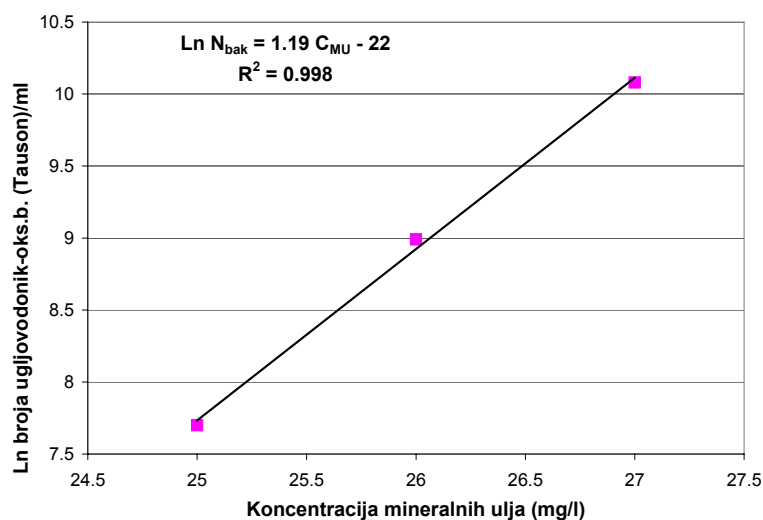
II varijanta. Varijanta II je bila kraća od varijante I i izvršen je manji broj merenja mikrobioloških parametara, tako da je uočen manji broj funkcionalnih zavisnosti između mikrobioloških i hemijskih parametara (slike 131-133). Kao i u I varijanti broj lipolitskih bakterija opada sa povećanjem koncentracije ugljovodonika i mineralnih ulja – koncentracija ukupnih ugljovodonika je veća od 30 mg/l, a mineralnih ulja od 25 mg/l. Međutim, broj ugljovodonik-oksidujućih bakterija na Tauson podlozi raste sa povećanjem koncentracije mineralnih ulja, što ukazuje da je data grupa bakterija adaptirana da podnese više koncentracije ugljovodonika od ostalih grupa.



Slika 131. Promena broja lipolitskih bakterija (TWEEN) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



Slika 132. Promena broja lipolitskih bakterija (tributirin) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



Slika 133. Promena broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (Tauson) u vodi reaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika

U tabeli 53 su navedene najviše koncentracije ugljovodonika pri kojima nije došlo do značajnijeg pada broja bakterija (tolerišuća vrednost) i najniže koncentracije pri kojima je došlo do značajnijeg pada brojnosti bakterija (netolerišuća vrednost). Granična vrednost tolerancije bakterija prema ugljovodonicima nalaze se u intervalu između tolerišuće i netolerišuće vrednosti.

Tabela 53. Granične vrednosti tolerancije bakterija prema ugljovodonicima

Grupe bakterija	Ukupni ugljovodonici		Mineralna ulja	
	Tolerišuća vrednost	Netolerišuća vrednost	Tolerišuća vrednost	Netolerišuća vrednost
	mg/l			
Organotrofi Fakultativni oligotrofi Lipolitske b. (TWEEN) Ugljovodonik-oksidujuće b. (MSWYE)	80	125	35	50
Lipolitske b. (Tributirin) Ugljovodonik-oksidujuće b. (MSWYE+TTC)	125	210	50	115
Fosfatazna aktivnost	40	80	15	35

4.2.3.4. Mikrobiološka karakterizacija vode aeratora

U tabeli 54 data je brojnost ispitivanih grupa bakterija i fosfatazne aktivnosti u vodi aeratora. U vodi aeratora usled intenzivne aeracije prisutna je izuzetno viša brojnost bakterija nego u podzemnoj vodi – prisutno je nekoliko stotina miliona (ponekad i nekoliko milijardi) bakterija u 1 ml vode.

Tabela 54. Brojnost ispitivanih grupa bakterija i fosfatazne aktivnosti u vodi aeratora u toku eksperimenta

VARIJANTA	I				II
FAZA	I-1	I-2	I-3	I-4	Odvojen
Grupe bakterija	Broj bakterija/ml vode aeratora				
Organotrofi	109552000	121450000	176000000	299250	15783667
Fakultativni oligotrofi	896483000	725000000	1718130000	15008500	29339000
Lipolitske b. TWEEN	320000000	50572000	13052000	29000	2219667
Lipolitske b. Tributirin	641250000	12007000	236325000	368250	6400000
Ugljovodonik-oks. b. MSWYE	273583000	3000000000	214845000	1985750	13181667
Ugljovodonik-oks. b. MSWYE+TTC	-	-	9827000	500500	9052667
Ugljovodonik-oks. b. Tauson	198507000	1252000000	45380000	0	318000
Ugljovodonik-oks. b. Tauson+TTC	-	-	-	0	0
Autohtone bakterije	500000000	405000000	-	-	-
Fosfatazna aktivnost	$\mu\text{mol pNP/s/l}$				
	582	101	449	45	31

I u vodi aeratora utvrđene su funkcionalne zavisnosti između pojedinih grupa bakterija (Prilog 4d).

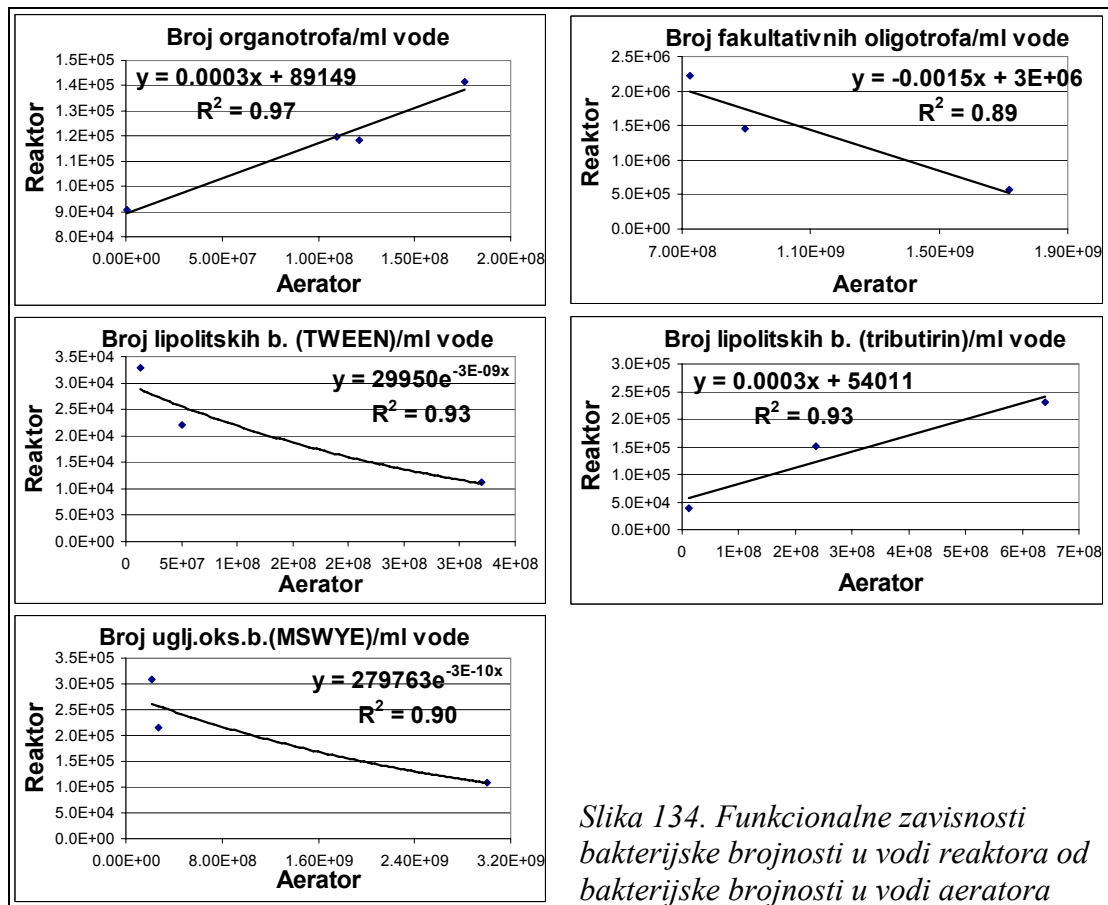
U toku faze I-4 dolazi do drastičnog pada broja bakterija u aeratoru - pretpostavka je da je to posledica:

- smanjenog vremena zadržavanja vode u aeratoru zbog većeg protoka,
- ispiranja mikroflore iz aeratora u reaktor, takođe, zbog većeg protoka, kao i
- toksičnog delovanja ugljovodonika čija koncentracija raste u vodi reaktora usled ispiranja iz zemlje (slika 110).

Broj bakterija u aeratoru utiče na brojnost u vodi reaktora (slika 134):

- broj organotrofa i lipolitskih bakterija (pod. tributirin) u podzemnoj vodi raste sa povećanjem brojnosti u aeratoru,
- međutim, brojnost fakultativnih oligotrofa, lipolitskih bakterija (pod. TWEEN) i ugljovodonik-oksidujućih bakterija (pod. MSWYE) opada.

Pretpostavka je da na brojnost bakterija u vodi reaktora utiče, pored broja bakterija u vodi aeratora, brzina protoka zbog efekta ispiranja mikroflore i količine recirkulisane vode. Pri padu brojnosti bakterija u aeratoru u toku faze I-4 dolazi do privremenog povećanja brojnosti u vodi reaktora usled ispiranja aeratora jer je protok povećan 2,5 puta.



4.2.3.5. Mikrobiološka karakterizacija vode bioreaktora

Bioreaktor je zasejan mikroflorom komunalne otpadne vode i sojevima izolovanim iz vode API separatora postrojenja za tretman otpadnih voda Rafinerije nafte Novi Sad, Dunava kod CS Sever IV (izliv otpadnih voda Rafinerije nafte) i pijezometara u Rafineriji nafte gde su detektovani ugljovodonici (Pjc-5, Mp-7) – augmentacija. Već nakon 12 dana u vodi bioreaktora je kvantifikovana izuzetno velika brojnost svih ispitivanih bakterijskih grupa (tabela 55). Međutim, u toku ispitivanja rada sistema za ex-situ tretman podzemne vode broj bakterija je bio značajno niži usled povećanja koncentracije ukupnih ugljovodonika.

Brojnost ugljovodonik-oksidujućih bakterija na izlazu iz bioreaktora je viša od brojnosti na ulazu, što ukazuje na njihovu produkciju u bioreaktoru kao posledicu razgradnje ugljovodoničnog supstrata. Time se postiže uklanjanje zagađenja i zasejavanje zemlje u reaktoru ugljovodonik-oksidujućim mikroorganizmima. Pored toga, vremenom dolazi do značajnog porasta brojnosti ugljovodonik-oksidujućih bakterija detektovanih na MSWYE podlozi na ulazu u bioreaktor, što ukazuje na unapređenje njihove brojnosti u samom reaktoru.

Brojnost lipolitskih bakterija na TWEEN podlozi na izlazu iz bioreaktora je viša od ulazne što ukazuje na unapređenje biodegradacionih procesa čime je bioreaktor ispunio svoj zadatak biodegradacije ugljovodonika. Razvoj lipolitskih bakterija je posledica prevođenja ugljovodonika u produkte koji služe kao supstrat lipolitskim organizmima. Sa povećanjem

protoka, dolazi do njihovog ispiranja iz bioreaktora i do manje produkcije zbog kraćeg zadržavanja vode.

Tabela 55. Brojnost ispitivanih grupa bakterija u vodi bioreaktora i fosfatazna aktivnost

Mikrobiološka karakterizacija vode bioreaktora	Broj bakterija u ml vode						
	Augmen-tacija	I Faza		II Faza		III Faza	
		Ulaz	Izlaz	Ulaz	Izlaz	Ulaz	Izlaz
Grupe bakterija							
Organotrofi	3472000	129500	42875	30500	49750	46085	98625
Fakultativni oligotrofi	7122000	1177335	229250	231250	122750	266625	155500
Lipolitske bakterije (pod TWEEN)	260000	10750	30000	750	12250	6000	13000
Lipolitske bakterije (pod tributirin)	687000	14500	27250	30750	12500	11915	10665
Ugljovodnik-oksidujuće bakterije (pod MSWYE)	1782000	0	22250	6500	27000	48500	66625
Ugljovodnik-oksidujuće bakterije (pod Tauson)	384000	2750	17500	0	1500	1500	8250
Fosfatazna aktivnost	μmol pNP/s/l						
	-	385	178	220	160	355	210

Brojnost lipolitskih bakterija na podlozi od tributirina je veća na izlazu iz bioreaktora samo u toku I faze, a posle je niža ili jednaka, zbog efekta ispiranja i kraćeg vremena zadržavanja.

Brojnost lipolitskih bakterija na obe podloge je podjednaka na izlazu iz bioreaktora. Međutim, na ulazu u bioreaktor, brojnost lipolitskih bakterija na tributirin podlozi je veća nego na TWEEN podlozi. Pretpostavka je da uslovi u reaktoru (visoka koncentracija raznovrsnijeg, ali prisustvo i teže razgradivog supstrata) pogoduju razvoju grupe lipolitskih bakterija koje se razmnožavaju na podlozi od tributirina.

Brojnost organotrofa na izlazu iz bioreaktora u toku III-1 faze je manja nego na ulazu, dok je u toku III-2 i III-3 faze veća. Verovatno je to posledica ispiranja organotrofa iz bioreaktora usled većeg protoka

Veća brojnost fakultativnih oligotrofa u ulaznoj vodi je u skladu sa osobinom da se oni dobro razvijaju u okruženju gde je prisutna visoka koncentracija teško razgradivog supstrata, kao što je slučaj u reaktoru, dok u bioreaktoru dolazi do pada brojnosti, jer je koncentracija supstrata manja i lakše je dostupan i ostalim bakterijskim grupama.

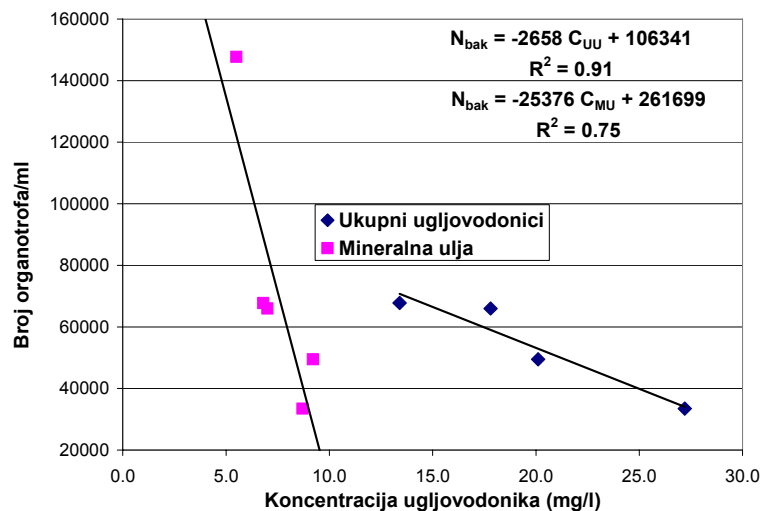
Fosfatazna aktivnost na izlazu iz bioreaktora je manja nego na ulazu, što je u skladu sa manjom ukupnom brojnošću bakterija, kao posledice smanjenja brojnosti fakultativnih oligotrofa, jer je njihova brojnost značajno veća od brojnosti ostalih ispitivanih grupa bakterija, te je tako njihov doprinos fosfataznoj aktivnosti dominantan.

Kao i u slučaju vode reaktora i aeratora, i ovde se mogu uočiti određene funkcionalne zavisnosti između pojedinih bakterijskih grupa (Prilog 4e).

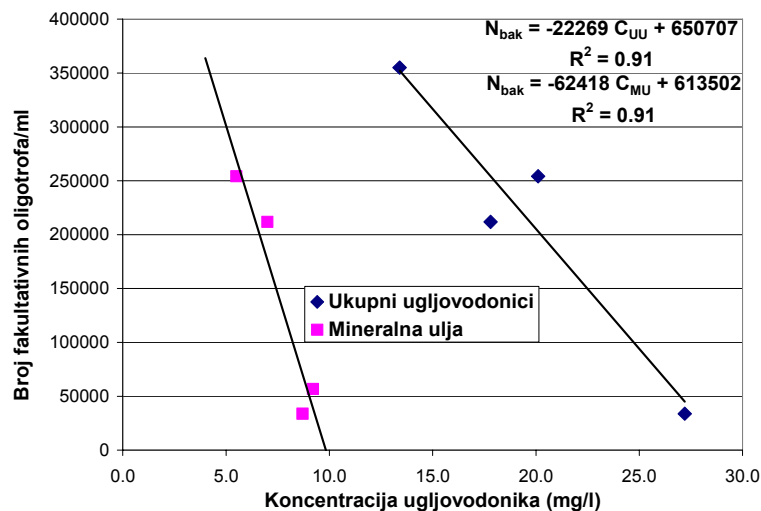
4.2.3.6. Korelacija bakterija i koncentracije ugljovodonika u vodi bioreaktora

Kao u prve dve varijante, i u III varijanti brojnost ispitivanih grupa bakterija opada sa povećanjem koncentracije ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja (slike 135-138, 140, 141), izuzev ugljovodonik-oksidujućih bakterija detektovanih na podlogama MSWYE i Tauson+TTC (slika 139, 142). Ugljovodonik-oksidujuće bakterije su više adaptirane na prisustvo naftnog zagađenja, odnosno više podnese toksično delovanje nafte od drugih grupa bakterija, što je ovde uočeno jer su korelirane niže koncentracije ugljovodonika i mineralnih ulja u vodi od koncentracija zastupljenih u varijantama I i II (ukupni ugljovodonici 10-30 mg/l, mineralna ulja < 10 mg/l).

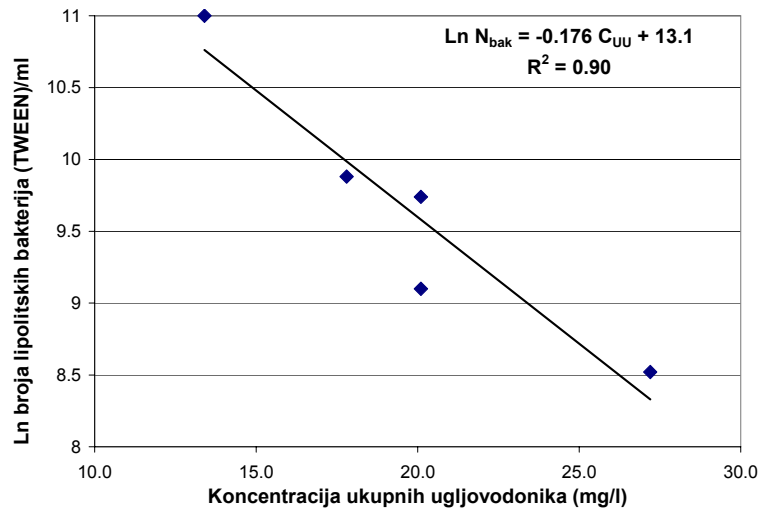
U vodi bioreaktora (III varijanta) su prisutne niže koncentracije ukupnih ugljovodonika (10-30 mg/l) i mineralnih ulja (< 10 mg/l) nego u vodi reaktora, a u skladu s tim prisutne su i niže brojnosti ugljovodonik-oksidujućih i lipolitskih bakterija. Sa povećanjem koncentracije ugljovodonika dolazi do smanjenja broja bakterija, međutim, u skladu sa uskim opsegom promena koncentracija ugljovodonika dolazi i do manjih promena broja bakterija nego u vodi reaktora.



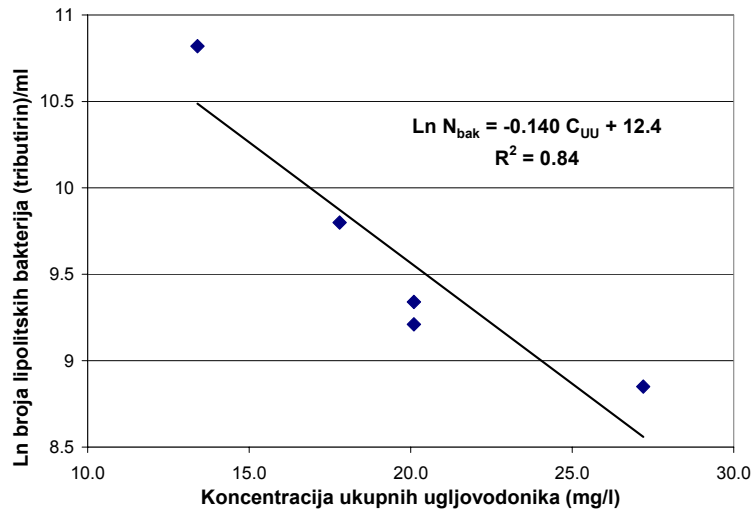
Slika 135. Promena broja organotrofa u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



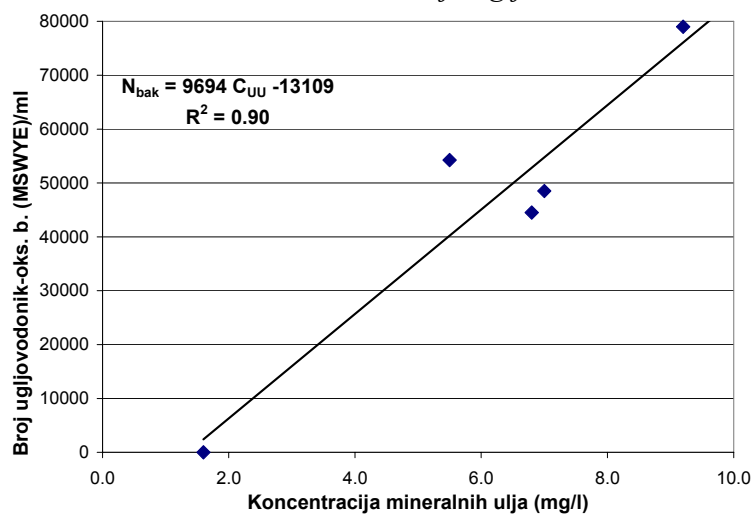
Slika 136. Promena broja fakultativnih oligotrofa u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



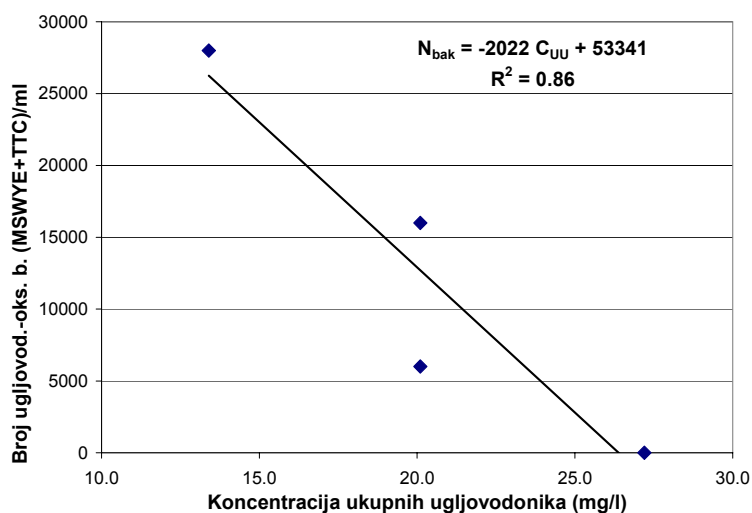
Slika 137. Promena broja lipolitskih bakterija (TWEEN) u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



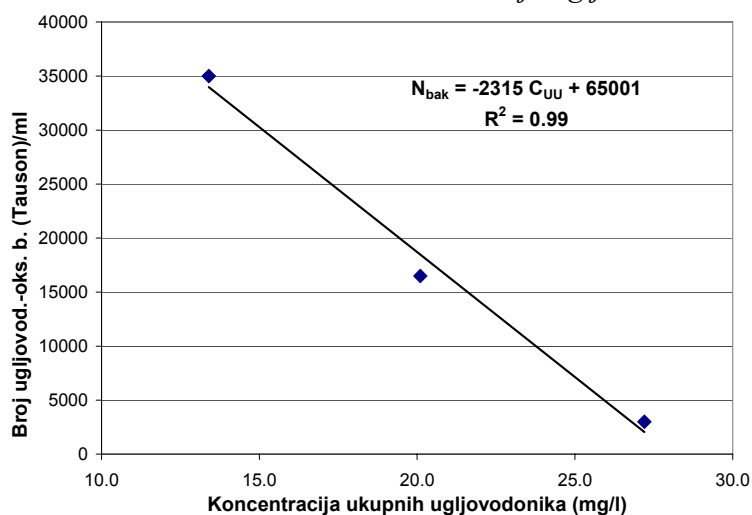
Slika 138. Promena broja lipolitskih bakterija (tributirin) u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



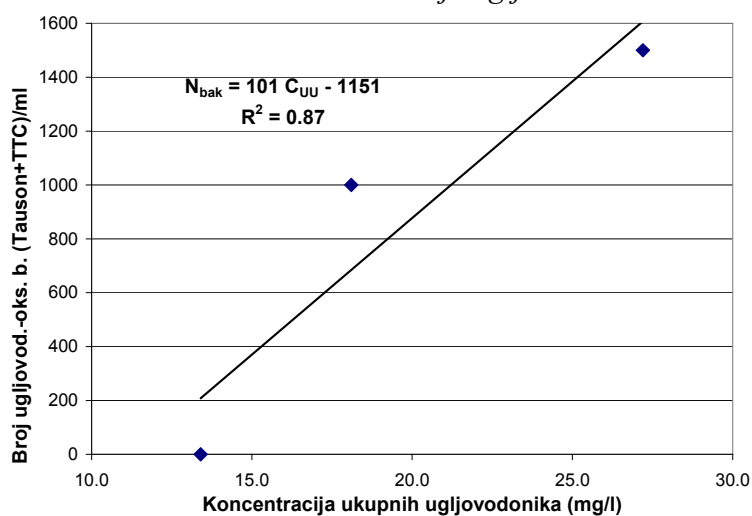
Slika 139. Promena broja ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE) u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



Slika 140. Promena broja ugljovodoni-oksidiujućih bakterija (MSWYE+TTC) u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



Slika 141. Promena broja ugljovodoni-oksidiujućih bakterija (Tauson) u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika



Slika 142. Promena broja ugljovodoni-oksidiujućih bakterija (Tauson+TTC) u vodi bioreaktora u zavisnosti od koncentracije ugljovodonika

4.2.3.7. Aktivni mulj bioreaktora (biomasa)

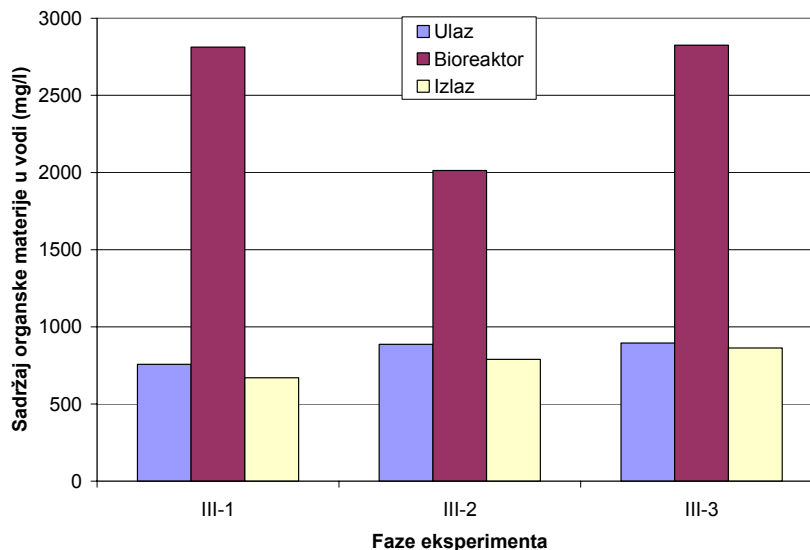
Za uspešnu biodegradaciju ugljovodonika u bioreaktoru neophodno je obrazovanje pahulja aktivnog mulja, koji predstavlja složeni kompleks aerobnih mikroorganizama raznih sistemskih grupa.

Ukupni suvi ostatak vode bioreaktora je znatno veći od ulazne i izlazne vode zbog prisustva aktivnog mulja i taloga (tabela 56). Taložnik je efikasan u uklanjanju taloga i mulja, a tretmanom se dobija izlazna voda manjeg ukupnog suvog ostatka od ulazne vode.

Tabela 56. Ukupni suvi ostatak vode bioreaktora

Faze	Ukupni suvi ostatak (mg/l)		
	Ulaz	Bio-reaktor	Izlaz
III-1	1385	7430	1170
III-2	1420	4480	1140
III-3	1400	7135	1290

Isti odnosi važe i za sadržaj mineralne i organske materije (slike 143 i 144). Povećana količina organske materije u bioreaktoru ukazuje na prisustvo aktivnog mulja, a povećana mineralna materija ukazuje na taloženje gvožđa.



Slika 143. Sadržaj organske materije u vodi bioreaktora

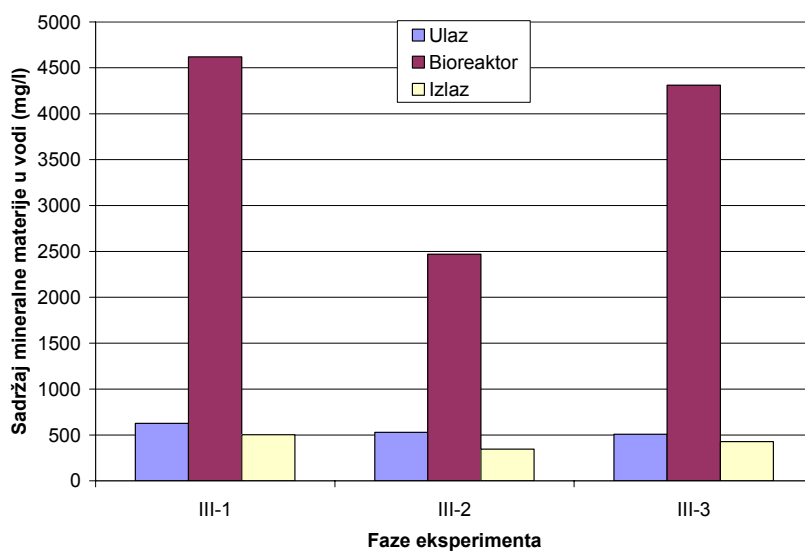
Određen je indeks mulja da bi se ispitala njegova taloživost (tabela 57):

$$SVI = V_{\text{mulja}} / m_{\text{mulja}}$$

SVI - indeks mulja, ml/g

V_{mulja} - zapremina mulja (Imhoff), ml

m_{mulja} - masa organske materije (gubitak žarenjem), g

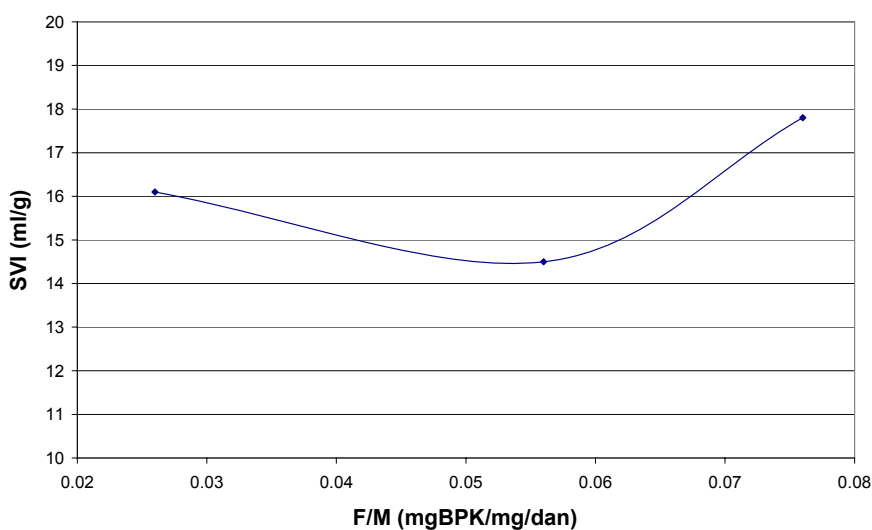


Slika 144. Sadržaj mineralne materije u vodi bioreaktora

Tabela 57. Indeks mulja bioreaktora u toku eksperimenta

Faza	V_{mulja} (ml/l)	m_{mulja} (g)	SVI (ml/g)
III-1	45	2,8	16,1
III-2	29	2,0	14,5
III-3	50	2,8	17,8

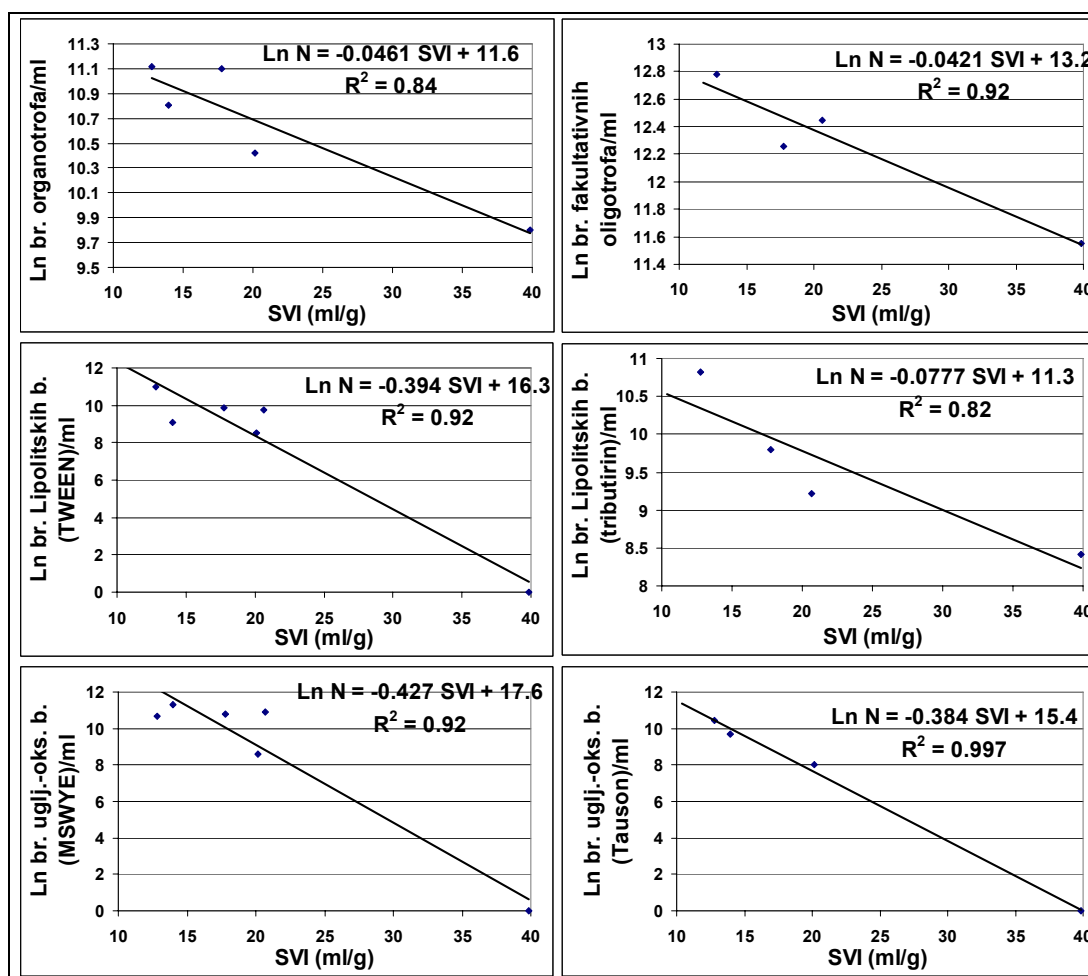
Na slici 145 je predstavljena promena indeksa mulja u zavisnosti od organskog opterećenja mulja. Aktivni mulj je imao dobre sedimentacione osobine za data organska opterećenja.



Slika 145. Promena indeksa mulja u zavisnosti od organskog opterećenja mulja

4.2.3.7.1. Korelacije bakterija na izlazu iz bioreaktora i indeksa mulja

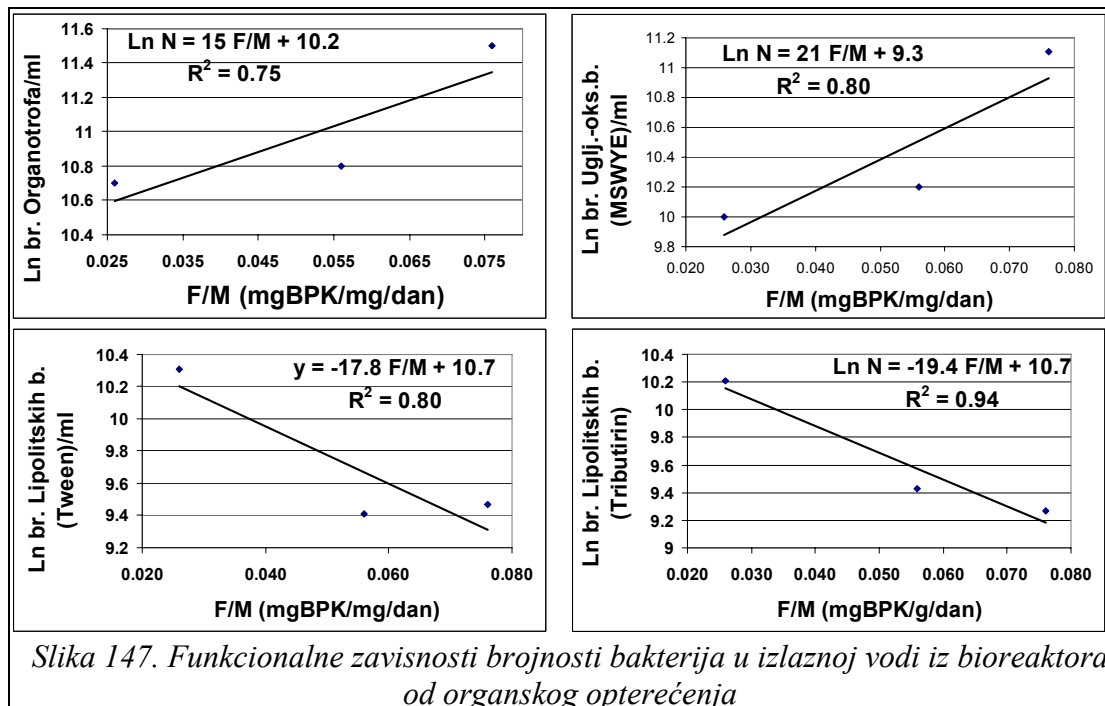
Na slici 146 su predstavljene funkcionalne zavisnosti uočene između indeksa mulja u bioreaktoru i brojnosti bakterija u vodi na izlasku iz bioreaktora. Dobijeni su visoki koeficijenti determinacije za sve ispitivane grupe bakterija, $R^2 > 0,8$. Sa smanjenjem indeksa mulja raste brojnost bakterija u izlaznoj vodi, što može da ukaže na ispiranje bioreaktora. Iako se želi postići zasejavanje zemlje i vode u reaktoru mikroorganizima, veliko ispiranje bioreaktora može značajno da umanjí efikasnost produkcije biomase u njemu.



Slika 146. Funkcionalne zavisnosti brojnosti bakterija u izlaznoj vodi iz bioreaktora od indeksa mulja

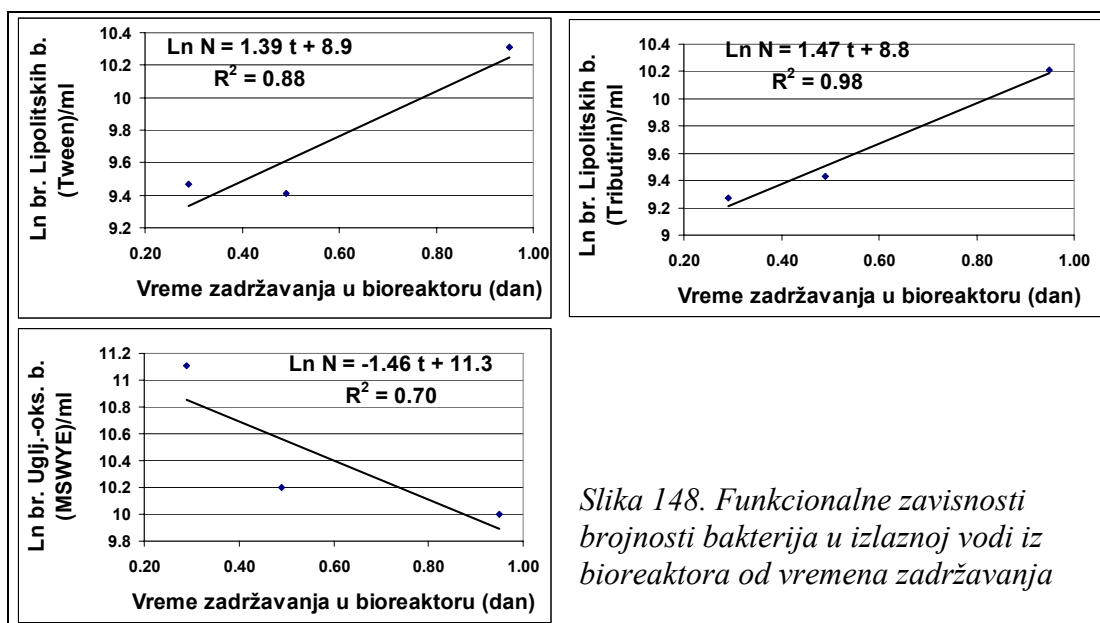
4.2.3.7.2. Korelacije bakterija na izlazu iz bioreaktora i opterećenja bioreaktora

Opterećenje bioreaktora utiče na produkciju biomase. Na slici 147 su predstavljene korelacije broja bakterija u vodi na izlasku iz bioreaktora sa opterećenjem bioreaktora: sa povećanjem opterećenja bioreaktora opada broj lipolitskih bakterija, a raste broj organotrofa i ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga MSWYE) u izlaznoj vodi.

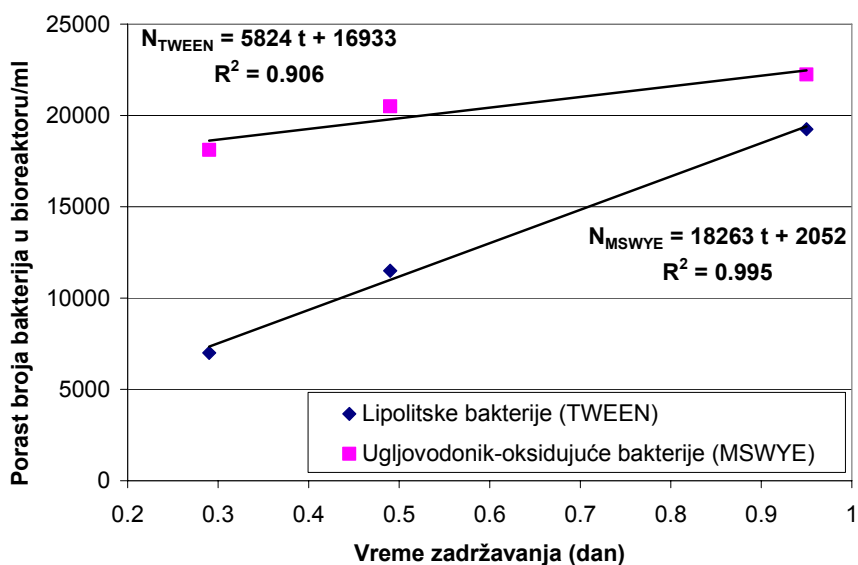


4.2.3.7.3. Korelacije bakterija na izlazu iz bioreaktora i vremena zadržavanja

Vreme zadržavanja vode u bioreaktoru utiče na produkciju biomase, a time i na organsko opterećenje. Na slici 148 su predstavljene korelacije broja bakterija u vodi na izlasku iz bioreaktora sa vremenom zadržavanja vode u njemu i dobijene su funkcionalne zavisnosti za broj lipolitskih i ugljovodonik-oksidujućih bakterija (podloga MSWYE) - sa smanjenjem vremena zadržavanja vode u bioreaktoru opada broj lipolitskih, a raste broj ugljovodonik-oksidujućih bakterija u izlaznoj vodi. Uistinu, u odnosu na ulaznu vodu raste broj i ugljovodonik-oksidujućih (MSWYE) i lipolitskih bakterija (TWEEN), ali sa smanjenjem vremena zadržavanja vode u bioreaktoru dolazi do značajno manjeg porasta brojnosti lipolitskih bakterija (podloga TWEEN) (slika 149) - zbog kratkog vremena zadržavanja vode u bioreaktoru ugljovodonik-oksidujuće bakterije ne stižu da transformišu ugljovodonike do supstrata pogodnog za razvoj lipolitskih bakterija, tako da se lipolitske bakterije ne obrazuju u dovoljnoj meri u bioreaktoru.



Slika 148. Funkcionalne zavisnosti brojnosti bakterija u izlaznoj vodi iz bioreaktora od vremena zadržavanja



Slika 149. Zavisnost porasta brojnosti lipolitskih u ugljovodonik-oksidujućih bakterija u vodi nakon tretmana u bioreaktoru od vremena zadržavanja

Mikrobiološkom karakterizacijom zemlje i vode u toku eksperimenta utvrđeno je sledeće:

- u zemlji i vodi detektovan je veliki broj svih ispitivanih grupa bakterija, posebno, ugljovodonik-oksidujućih i lipolitskih bakterija,
- utvrđena je uglavnom linearna, povremeno eksponencijalna, funkcionalna zavisnost između svih ispitivanih grupa bakterija,

- uočene su funkcionalne zavisnosti i između bakterijske brojnosti i koncentracije ugljovodoničnog supstrata,
- dobijena je eksponencijalna funkcionalna zavisnost opadanja broja bakterija sa vremenom,
- određena je granična vrednost tolerancije organotrofa, fakultativnih oligotrofa, lipolitskih bakterija (TWEEN) i ugljovodonik-oksidujuće bakterija (MSWYE) prema ukupnim ugljovodonicima u intervalu 80-125 mg/l, odnosno, mineralni uljima 35-50 mg/l, kao i lipolitskih bakterija (Tributirin) i ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE+TTC) prema ukupnim ugljovodonicima u intervalu 125-210 mg/l, odnosno, mineralni uljima 15-35 mg/l. Granična vrednost tolerancije aktivnosti fosfataza prema ukupnim ugljovodonicima je u intervalu 40-80 mg/l, odnosno, mineralnim uljima 15-35 mg/l.
- sistem za ex-situ tretman je omogućio porast brojnosti ugljovodonik-oksidujućih i lipolitskih bakterija u tretiranoj vodi,
- vrednost BPK_5 se značajno smanjuje primenjenim tretmanom (67-79 %) - koeficijent brzine uklanjanja supstrata, k , iznosi $7,2 \cdot 10^{-3} \text{ dan}^{-1}$,
- do uklanjanja ugljovodonika došlo je samo u toku faze III-1 (sa 15 na 10 mg/l pri vremenu zadržavanja od 24 časa), dok pri većem protoku (vreme zadržavanja manje od 12 časova, faze III-2 i III-3) ugljovodonici se ne uklanjaju.

5. ZAKLJUČAK

Zemljište zagađeno naftom i derivatima usled bombardovanja Rafinerije nafte Novi Sad predstavlja opasnost za ljude i uopšte živi svet i stalni je izvor zagađenja podzemnih voda, te je neophodno izvršiti sanaciju zagađenog lokaliteta. U podzemnoj vodi izvorišta Ratno ostrvo detektovani su ugljovodonici i mineralna ulja. Sprovedeno je ispitivanje kvaliteta podzemnih voda lokaliteta da bi se utvrdilo da li podzemna voda izvorišta poseduje autopurifikacionu moć, odnosno, da li teče proces prirodne bioremedijacije pod dejstvom abiotičkih i biotičkih faktora sredine, da bi definisali da li pasivna bioremedijacija može uspešno da ukloni zagađenje. Dalje, ispitana je tehnička bioremedijacija zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte na laboratorijskom postrojenju u cilju dobijanja preliminarnih saznanja potrebnih za projektovanje bioremedijacije in-situ na ugroženom lokalitetu radi poboljšanja postignutih efekata pasivne bioremedijacije.

Praćenjem podzemnih voda granične zone izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte utvrđeno je sledeće:

- registrovane su više koncentracije ugljovodonika u graničnoj zoni nego u zaleđu izvorišta: najviše vrednosti za ukupne ugljovodnike su registrovane u bunarima barijere: Bhz-5, Bhz-7 i Bhz-8, kao i u piježometrima u Rafineriji: Mp-1, Mp-2, Mp-3, Mp-4, Mp-6, Md-6, Md-7 i Pjc-1, što ukazuje na mogući pravac prodora zagađenja;
- uočava se trend opadanja udela mineralnih ulja u ukupnim ugljovodonicima, što ukazuje na intenziviranje procesa transformacije mineralnih ulja u polarna jedinjenja, odnosno na pojavu procesa samoprečišćavanja, tj. prirodne bioremedijacije;
- dominantnu mikrofloru čine fakultativni oligotrofi kao fiziološka grupa, što upućuje na zadovoljavajuće procese samoprečišćavanja vode;
- vodu svih bunara hidrauličke barijere karakterisalo je prisustvo lipolitskih i ugljovodonikoksidujućih bakterija; visoka zastupljenost lipolitske mikroflore posredno ukazuje da postoji mogućnost mikrobiološke degradacije takvog supstrata;
- u vodi većine praćenih objekata uočene su, uglavnom pozitivne, eksponencijalne i linearne funkcionalne zavisnosti bakterijske brojnosti od koncentracije ugljovodoničnog zagađenja, sa veoma visokim koeficijentima determinacije, za sledeće grupe bakterija: ugljovodonikoksidujuće (MSWYE i MSWYE+TTC) i lipolitske bakterije ($R^2 > 0,80$), kao i bakterije detektovane na niskonutritivnoj R2A podlozi ($R^2 > 0,90$); kao i za indeks fosfatazne aktivnosti, kao glavni pokazatelj prisutnog biodegradabilnog zagađenja ($R^2 > 0,80$);
- uočeni su slučajevi da sa porastom koncentracije ugljovodonika eksponencijalno ili linearno opada brojnost bakterija i to sa visokim koeficijentima determinacije (uglavnom $> 0,90$), iako nisu prisutne visoke koncentracije ukupnih ugljovodonika -pretpostavka je da su drugi činioci uticali na smanjenje broja bakterija, kao što je eventualni priliv toksičnih komponenti zajedno sa prilikom ugljovodonika;
- dobijene korelacije ukupnih ugljovodonika i bakterijske brojnosti i aktivnosti dobijene su za koncentracije ukupnih ugljovodonika $< 400 \mu\text{g/l}$ (najčešće $< 200 \mu\text{g/l}$).

Može se zaključiti da:

- u podzemnoj vodi granične zone izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte Novi Sad prisutan je proces pasivne bioremedijacije, odnosno, na pojavu ugljovodoničnog zagađenja u vodi sredina odgovara povećanjem brojnosti, pre svega, ugljovodonik-osidujućih i lipolitskih bakterija i bakterijske enzimske aktivnosti, i dolazi do transformacije mineralnih ulja u polarna jedinjenja,
- visok nivo podzemnih voda kao i pojava spiranja zagađenja padavinama, odnosno, prisustvo dela zagađenja u gornjim slojevima adsorbovanog na huminskim materijama i glini ukazuje nam na mogućnost primene fitoremedijacije navedenog područja, jer je deo zagađenja dostupan korenskom sistemu.

Ispitivanjem tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte na laboratorijskom postrojenju utvrđeno je sledeće:

- obe tehnike primenjene za dopremanju kiseonika u podzemnu vodu, nalivanje aerisane vode po površini zemljišta i ubacivanje magnezijum-peroksida, su pokazale podjednaku efikasnost - koncentracija rastvorenog kiseonika se uglavnom kretala oko 0,5 mg/l: prednost primene nalivanja aerisane vode je u tretmanu vode u aeratoru, gde, pored obogaćivanja vode kiseonikom, dolazi do izdvajanja gvožđa čime se smanjuje mogućnost začepjenja zemljišta, i dolazi do biodegradacije zagađenja i gajenja mikroorganizama radi nalivanja po površini zemljišta; prednost primene magnezijum-peroksida je u nižim troškovima u odnosu na troškove aeracije vode, kao i u nedostatku potrebe za recirkulisanjem vode zbog prirodnog kretanja podzemne vode;
- redukcioni uslovi u zemljištu prevode gvožđe u pokretljiviji dvovalentni oblik, koji nakon aeracije i oksidacije vode u aeratoru (i bioreaktoru) prelazi u trovalentni oblik koji se taloži u obliku hidroksida na površini zemljišta na mestu nalivanja vode - neophodan je dobar način odvajanja oksidovanog gvožđa, što je postignuto primenom taložnika nakon bioreaktora;
- postoji problem kolminiranja nalivnog sistema i treba unaprediti tehnologiju u cilju prevazilaženja ovog problema;
- u toku III varijante dolazi do opadanja koncentracije ukupnih ugljovodonika u zemljištu sa 38,2 na 14,6 g/kg i mineralnih ulja sa 27,0 na 10,2 g/kg (62%), što se može definisati jednačinom:

$$C=C_0e^{-kt},$$

gde je k - konstanta brzine degradacije ugljovodonika, $k=0,0082 \text{ dan}^{-1}$, koeficijent determinacije, $R^2>0,97$;

- gasnohromatografskom kvalitativnom analizom zemlje u toku eksperimenta uočeno je da su normalni alkani manje postojani i da dolazi do njihove transformacije i degradacije, dok su razgranati ugljovodonici postojaniji, naročito tetrametil-derivati penta- i heksadekana - u vodi je prisutan veliki broj karboksilnih kiselina nastalih oksidacijom alkana (C10-19), kao i aromata (benzoeva kiselina, kao i benzaldehid), što ukazuje na proces biooksidacije ugljovodonika;
- dolazi do distribucije zagađenja u vodenoj fazi: proces rastvaranja i emulgovanja se pospešuje uvođenjem recirkulacije vode - za date eksperimentalne uslove određen je koeficijent ispiranja, $f=1400 \text{ s/m}$, difuzioni koeficijent, $K_0=6*10^{-4}$ (pri $v = 0 \text{ m/s}$), i

jednačina zavisnosti koncentracije ugljovodonika u vodenoj fazi od koncentracije u čvrstoj fazi, zavisno od brzine proticanja: $C_{\text{voda}} = (f \times v + K_0) C_{\text{zemlja}}$;

- pri kontaktu 1780 kg zemlje sa 140 l vode difuzijom se rastvara 0,05 ‰ prisutne nafte (46 mg/kg nafte), a pri maskimalnom primenjenom protoku 2,6 %, što znači da se primenom tehnike ispumpaj-i-tretiraj može isprati veoma mala količina nafte iz zemljišta;
- brojnost bakterija u zagađenoj zemlji je izuzetno velika - organotrofa, fakultativnih oligotrofa i lipolitskih bakterija ima nekoliko milijardi, dok ugljovodonik-oksidujućih bakterija ima od nekoliko desetina do nekoliko stotina miliona po gramu suve zemlje, međutim, dolazi do značajnog, eksponencijalnog, opadanja brojnosti ispitivanih grupa bakterija - evidentna je dominacija toksičnog delovanja nafte na bakterije u zemlji, što je favorizovano desorpcijom nafte i većom biodostupnošću rastvorene i emulgovane nafte (povećanje vlažnosti sa 4 na 15-20 %, prisustvo površinski aktivnih materija, porast koncentracije ugljovodonika u vodenoj fazi);
- postoji, uglavnom linearna, povremeno eksponencijalna, funkcionalna zavisnost između svih ispitivanih grupa bakterija, što ukazuje, s jedne strane, da su pojedine bakterije detektovane unutar više grupa, odnosno pokazuju različite osobine, jer se prilagođavaju ekstremnim uslovima sredine, a sa druge strane, ukazuje na njihovu interakciju u životnoj sredini - produkti metabolizma ugljovodonik-oksidujućih bakterija služe kao supstrat za razvoj lipolitskih bakterija;
- pri koncentracijama ugljovodonika detektovanim u podzemnim vodama lokaliteta Ratno ostrvo (< 0,4 mg/l) utvrđen je porast broja bakterija i bakterijske aktivnosti sa porastom koncentracije ugljovodonika, međutim, koncentracije ugljovodonika prisutne u vodi laboratorijskog reaktora su znatno više (ukupni ugljovodonici >20 mg/l i mineralna ulja >2,5 mg/l) i sa porastom koncentracije ugljovodonika generalno opadaju brojnosti svih ispitivanih grupa bakterija i bakterijske aktivnost - uočene su funkcionalne zavisnosti između bakterijske brojnosti i koncentracije ugljovodoničnog supstrata i određena je granična vrednost tolerancije organotrofa, fakultativnih oligotrofa, lipolitskih bakterija (TWEEN) i ugljovodonik-oksidujuće bakterija (MSWYE) prema ukupnim ugljovodonicima u intervalu 80-125 mg/l, odnosno, mineralnim uljima 35-50 mg/l, kao i lipolitskih bakterija (Tributirin) i ugljovodonik-oksidujućih bakterija (MSWYE+TTC) prema ukupnim ugljovodonicima u intervalu 125-210 mg/l, odnosno, mineralnim uljima 15-35 mg/l. Granična vrednost tolerancije aktivnosti fosfataza prema ukupnim ugljovodonicima je u intervalu 40-80 mg/l, odnosno, mineralnim uljima 15-35 mg/l;
- u podzemnoj vodi u toku II varijante brojnost ugljovodonik-oksidujućih bakterija detektovanih na Tauson podlozi (koncentracija mineralnih ulja >25 mg/l) i u toku III varijante brojnost ugljovodonik-oksidujućih bakterija detektovanih na podlogama MSWYE i Tauson+TTC (koncentracija ukupnih ugljovodonika 10-30 mg/l, a mineralnih ulja < 10 mg/l) raste sa povećanjem koncentracije ugljovodonika, što ukazuje da je data grupa bakterija adaptirana da podnese više koncentracije ugljovodonika od ostalih grupa
- sistem za ex-situ tretman je omogućio porast brojnosti ugljovodonik-oksidujućih i lipolitskih bakterija u tretiranoj vodi,
- vrednost BPK_5 se značajno smanjuje primenjenim tretmanom (67-79 %) - koeficijent brzine uklanjanja supstrata, k , iznosi $7,2 \cdot 10^{-3} \text{ dan}^{-1}$,
- do uklanjanja ugljovodonika došlo je samo u toku faze III-1 (sa 15 na 10 mg/l pri vremenu zadržavanja od 24 časa), dok pri većem protoku (vreme zadržavanja manje od 12 časova, faze III-2 i III-3) ugljovodonici se ne uklanjaju.

Ispitivanjem je ukazano da pasivna bioremedijacija uklanja zagađenje iz sloja koji je kontaminiran naftom i derivatima. Dobijene su korelacije između koncentracije ukupnih ugljovodonika i broja bakterija koje ukazuju da proces bioremedijacije teče do koncentracije ugljovodonika $< 400 \mu\text{g/l}$. Proces ispiranja nafte i derivata sa zemlje značajno utiče na aktivnost mikroorganizama i razgradnju zagađenja. Proces ispiranja se mora voditi tako da koncentracija mineralnih ulja u vodenoj fazi ne treba da pređe 15-35 mg/l, a kad se postignu koncentracije ugljovodonika manje od $400 \mu\text{g/l}$ prepustiti pasivnoj bioremedijaciji da ukloni zagađenje.

6. LITERATURA

1. Agbaba J., Dalmacija B., Ivančev-Tumbas I., Đurendić M., Bečelić M., Rončević S., Boričev V., Brenesel D. (2001) Procena zagađenja podzemnih voda u području izvorišta "Ratno ostrvo" kao posledica razaranja rafinerije nafte "Novi Sad", *Zbornik radova "Zaštita voda 2001"*, 12-15. maj, Arandelovac, str. 275-280.
2. Akhtar, M. N., Boyd, D. R., Thompson, N. J., Koreeda, M., Gibson, D. T., Mahadevan, V. i Jerina, D. M. (1975). Absolute stereochemistry of the dihydroanthracene-*cis* and -*trans*, 1,2-diols from anthracene by mammals and bakteria. *J Chem. Soc. Perkin* **1**, 2506-2511.
3. Algappan G., Cowan R.M. (2004) Effect of temperature and dissolved oxygen on the growth kinetics of *Pseudomonas putida F1* growing on benzene and toluene. *Chemosphere* **54** (8), 1255-1265.
4. Anon. (1965) *Methods of soil analysis* (Ed. Black, C. A., Evans, D. D., Ensminger, L. E., White, J. L., Clark, F. E.), American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
5. Anon. (1986) Tehnički izveštaj o izvedenim hidrogeološkim istraživanjima ma levoj obali Dunava nizvodno od Šangaja kod Novog Sada, Hidrozavod DTD, Novi Sad.
6. Anon. (1988) Izveštaj o rezultatima istraživanja za potrebe otvaranja izvorišta "Ratno ostrvo", Institut za vodoprivredu "Jaroslav Černi", Beograd.
7. Anon. (1989) Sudija predhodnih istraživanja za potrebe otvaranja izvorišta na potencijalnoj lokaciji "Ratno ostrvo" za vodosnabdevanje Novog Sada, Sveska 1: Hidrogeoloko-hidrodinamička istraživanja sa analizom hidrodinamičkih parametara transporta zagaženja u podzemlje, Institut za vodoprivredu "Jaroslav Černi", Beograd.
8. Anon. (1989a) Sudija predhodnih istraživanja za potrebe otvaranja izvorišta na potencijalnoj lokaciji "Ratno ostrvo" za vodosnabdevanje Novog Sada, Sveska 2: Hidraulička istraživanja sa analizom stepena uticaja ispusta otpadnih voda, Institut za vodoprivredu "Jaroslav Černi", Beograd.
9. Anon. (1999) Interventni monitoring izvorišta "Ratno ostrvo" Novi Sad od 01. 08. 1999 do 15. 12. 1999. - Analiza mera zaštite izvorišta "Ratno ostrvo" u Novom Sadu, Institut za vodoprivredu "Jaroslav Černi", Beograd.
10. Anon. (2000) Uticaj NATO bombardovanja na sistem zaštite životne sredine na teritoriji grada Novog Sada (studija), Sekretarijat za urbanizam, stambene poslove i zaštitu životne sredine, Uprava za zaštitu i unapređenje životne sredine Novi Sad.
11. Anon. (2001) Procena i likvidacija ekoloških i građevinskih havarija u okviru pomoći u sanaciji posledica ratnih konflikata u okviru hzmanatarne pomoći Češke Republike SR Jugoslaviji, Brno
12. *APHA-AWWA-WPCF* (1995). *Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater*. Eaton, A. D., Clesceri, L. S. and Greenberg, A. E. (Eds.) American Public Health Association, Washington.

13. API (American Petroleum Institute) (1987). Field Study of Enhanced Subsurface Biodegradation of Hydrocarbons Using Hydrogen Peroxide as an Oxygen Source. *API Pub. 4448.*, Washington, D.C., USA.
14. Bazin, M. J., Saunders, P. T. i Prosser, J. I. (1976). *CRC Crit. Rev. Microbiol.* **4**, 463-498.
15. Beam, H. W. i Perry, J.J. (1973). *Arch. Microbiol.* **91**, 87-90.
16. Bender, J. i Phillips, P. (1994) in "Emerging Technology for Bioremediation of Metals" (J. L. Means i R. E. Hinchee, eds.), Lewis Publishers: Boca Raton, FL, 85-98
17. Bento, F. M., Camargo, F. A.O., Okeke, B.C., Frankenberger, W.T. (2004) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation, *Bioresource Technology* (in press)
18. Bogdanović Ž. (1994) Prirodnogeografske karakteristike, Novi Sad III - Geografske monografije vojvođanskih opština, PMF - Institut za geografiju, Novi Sad, str. 7-24.
19. Borden, R. C. (1991). Simulation of Enhanced In Situ bioremediation of Petroleum Hydrocarbons. In: Hinchee, R. E. and Olfenbittel, R. F. (Eds.) *In Situ Bioreclamation: Application and Investigation for Hydrocarbons and Contaminated Site Remediation.* Butterworth-Heinemann, 529-534.
20. Boškov G., Dalmacija B., Kastratović M., Ivančev-Tumbas I., Cekić M., Jovanović D., Jovanović Z., Zejak J. (1999) Problem sa otpadnim vodama NIS-Rafinerija nafte "Novi Sad" u vreme napada NATO agresora, Zbornik radova "Međunarodne konferencije Optadne vode i komunalan otpad", 20-22. septembar, Budva, str. 331-340.
21. Briggs, G. G. (1976) in "The Persistence of Insecticides and Herbicides" *Monogr.-Br. Crop Prot. Counc.* **17**, 41-54
22. Britton, L. N. (1985). Feasibility Studies on the Use of Hydrogen Peroxide to Enhance Microbial Degradation of Gasoline. *API Pub.4389.*, Washington, D. C., USA.
23. Brown, R. A. i Crosbie, J. (1989). Oxygen Sources for In Situ Bioremediation. Greenbelt, Md.: Hazardous Materials Control Research Institute.
24. Brown, R. A. i Jasiniewicz, F. (1992). Air sparging: a new model for remediation. *Pollution Engineering*, **July**, 52-57.
25. Brown, R. A., Hicks, R. J. i Hicks, P. M. (1994) Use of air sparging for in situ bioremediation. In: Hinchee, R. E., editor. Air sparging for site remediation. Boca Raton (FL): Lewis Publishers; p. 38– 55.
26. Brown, R. A., Mahaffey, W. i Norris, R. D. (1993). In situ bioremediation: The state of the practice. In: WSTB-CETS-NRC *In Situ Bioremediation: When Does It Work?*. National academy Press, Washington, D. C., 121-135.
27. Brown, R. A., Norris, R. D. i Raymond, R. L. (1984). Oxygen transport in contaminated aquifers. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons i Organic Chemicals in Groundwater: Prevention, Detection, i Restoration, Novembar 5-7, Houston. Worthington, Ohio, National Well Water Association.
28. Brown, R. A., Norris, R. D. i Raymond, R. L. (1986). U.S.Patent 4,588,506, Stimulation of Bio-oxidation Process in Subterranean Formations. May 13.
29. Burbach, B. L. i Perry, J. J. (1993). *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 1025-1029.
30. Calvet, R. (1989) *Environ. Health Perspect.* **83**, 145-177
31. Cameron, D. R. i Klute, A. (1977). *Water Resour. Res.* **13**, 183-188.
32. Cerniglia, C. E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, **3**, 351-368.
33. Chiou, C. T. (1989) in "Reactions and Movement of Organic Chemicals in Solis" (B. I. Sawhney i K. Brown, eds.), Soil Science Society of America, Madison, WI, 1-29

34. Chouteau, J., Azoulay, E. i Senez, J. C. (1962). *Nature (London)* **194**, 576-578.
35. CIRT-WSTB-BRWM-CGER-NRC (Committee on Innovative Remediation Technologies, Water Science and Technology Board, Board on Radioactive Waste Management, Commission on Geosciences, Environment, and Resources, National Research Council) (1997). *Innovations in ground water and soil cleanup: from concept to commercialization*, National Academy Press, Washington, D.C., USA.
36. CISB-WSTB-CETS-NRC (Committee on In Situ Bioremediation, Water Science and Technology Board, Commission on Engineering and Technical Systems, National Research Council) (1993). *In situ bioremediation: When Does It Work?*, National Academy Press, Washington, D.C., USA.
37. Cowan, C. E. i Riley, R. G. (1987). *Guidance for sampling of and analysing for organic contaminants in sediments*, US EPA, Criteria and Standard Division, Washington, D.C., EPA 440/4-87-010.
38. Cuypers, M. P., Grotenhuis, J. T. C. i Rulkens, W. H. (1998). Characterisation of PAH-contaminated sediments in a remediation perspective. *Wat. Sci. Tech.*, **37**(6-7), 157-164.
39. Dalmacija B., Agbaba J., Ivančev-Tumbas I., Lazić N., Radenković Z., Đurendić M., Rončević S., Bečelić M. (2001) Kvalitet površinskih i podzemnih voda na lokalitetu izvorišta "Ratno ostrvo" nakon razaranja rafinerije nafte "Novi Sad", *Zbornik radova Međunarodne konferencije "Otpadne vode i komunalni otpad"* 22-25. maj, Subotica, str. 279-284.
40. Dalmacija B., Đurendić M., Ivančev-Tumbas I., Zejak J., Bečelić M., Rončević S., Borišev V., Rajačić M. (2000e) Uticaj izliva nafte na kvalitet sedimenta u Dunavu u toku NATO bombardovanja, *Zbornik radova "Zaštita voda 2000"*, 6.-9. jun, Mataruška Banja, str. 17-22.
41. Dalmacija B., Đurendić M., Ivančev-Tumbas, I., Zejak J., Bečelić M., Borišev V., Rončević S. (2000a) Monitoring kvaliteta podzemnih voda izvorišta "Ratno ostrvo", I kvartal, PMF - Institut za hemiju, Novi Sad.
42. Dalmacija B., Đurendić M., Ivančev-Tumbas, I., Zejak J., Bečelić M., Borišev V., Rončević S. (2000b) Monitoring kvaliteta podzemnih voda izvorišta "Ratno ostrvo", II kvartal, PMF - Institut za hemiju, Novi Sad.
43. Dalmacija B., Đurendić M., Ivančev-Tumbas, I., Zejak J., Bečelić M., Borišev V., Rončević S. Brenesel D. (2000c) Monitoring kvaliteta podzemnih voda izvorišta "Ratno ostrvo", III kvartal, PMF - Institut za hemiju, Novi Sad
44. Dalmacija B., Ivančev-Tubas I., Lazić N., Zejak J., Đukić M., Đurendić M., Bečelić M., Radovniković A. (1999a) Inetrventni monitoring izvorišta "Ratno ostrvo" uzrokovan NATO agresijom i razaranjem Rafinerije nafte "Novi Sad", *Zbornik radova 20. jugoslovenskog savetovanja "Vodovoda i kanalizacija '99"*, 3-5. novebar., Zrenjanin, str. 103-106.
45. Dalmacija B., Ivančev-Tumbas I., Agbaba J., Đurendić M. (2003) Case Study of Petroleum Contaminated Area of Novi Sad After NATO Bombing in Yugoslavia, *Soil and Sediment Contamination*, Vol. 12, No 4, 591 - 611.
46. Dalmacija B., Ivančev-Tumbas I., Zejak J., Čukić Z. (2000f) Danube pollution caused by the destruction of the oil refinery in Novi Sad, *European Water Management*, **3**, (2), 62-63.
47. Dalmacija B., Ivančev-Tumbas I., Zejak J., Đurendić M., Bečelić M., Borišev V., Radniković A., Rončević S. (1999) Interventni monitoring izvorišta "Ratno ostrvo", PMF-Institut za hemiju, Novi Sad.

48. Dalmacija B., Petrović O., Rončević S., Ivančev-Tumbas I., Bečelić M., Simeunović J., Agbaba J., Radnović D., Lazić N., Đukić M. (2004) Naftno zgađenje područja Ratno ostrvo - mogućnosti prirodne bioremedijacije, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
49. Dalmacija B., Zejak J., Ivančev-Tumbas I., Đurendić M., Bečelić M., Rončević S., Borišev V., Murgul Lj. (2000d) Kvalitet podzemnih voda na lokalitetu izvorišta "Ratno ostrvo", *Zbornik radova "Zaštita voda 2000"*, 6.-9. jun, Mataruška Banja, str. 11-16.
50. Dalmacija, B. (Ed.) (1997). *Priprema vode za piće u svetlu novih standarda i normativa*. Prirodno-matematički fakultet, Institut za hemiju, Novi Sad.
51. Dao, T. H. i Lavy, T. L. (1987) *Soil. Sci.* **143**, 66-72
52. Davidson, J. M. i Chang, R. K. (1972). *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.* **36**, 257-261.
53. deKlerk, H. i van der Linden, A. C. (1974). *Antonie van Leeuwenhoek* **40**, 7-15.
54. Desideri, P. G., Lepri, L., Canovaro, M. i Checchini, L. (1984). Recovery, identification and determination of organic compounds in marine sediments. *J. Chromatogr.*, **284**, 317-330.
55. Dimkić, M., Zdravković, Đ., Damjanović, M. i Radenković, Z. (1999). Opiti za utvrđivanje intenziteta sorbiranja mineralnih ulja na peskovitom materijalu Makiške izdani. Međunarodna konferencija: "Voda za 21. vek". Institut za vodoprivredu "Jaroslav Černi", Beograd, 424-425, 428-430.
56. Dorčić, I. (1987). *Osnove čišćenja uljnih zagađenja*. SKTH/Kemija u industriji, Zagreb.
57. Đurendić M, (2001) Metodologija projektovanja monitoringa voda u slučaju ekscenih situacija u naftnoj industriji, magistarski rad, PMF - Institut za hemiju, Novi Sad.
58. Eaton, R. W. i Chapman, P. J. (1992). Bacterial metabolism of naphthalene: construction and use of recombinant bacteria to study ring cleavage of 1,2-dihydroxynaphthalene and subsequent reactions. *J. Bacteriol.* **174**, 7542-7554.
59. Eglinton, G. (1975). Environmental chemistry, Vol. 1, *Specialist periodical reports*. The Chemical Society, Burlington House, London.
60. Falatico, R. J. i Norris, R. D. (1990). The Necessity of Hydrogeological Analysis for Successful In Situ Bioremediation, *Proceedings of the Haztech International Pittsburgh Waste Conference*, Pittsburgh, PA.
61. Faust., S. D. i Hunter, J. V. (Ed.) (1971). *Organic Compounds in Aquatic Environments*. Dekker, New York, 439-468.
62. Floodgate, G. D. (1973). Theory concerning the biodegradation of oil in natural waters. In: Ahearn, D. G. i Meyers, S. P. (Eds.) *The Microbial Degradation of Oil Pollutants*, Publ. No. LSU-SG-73-01. Baton Rouge: Louisiana State University, Center for Wetli Resources.
63. Frankenberger, W. T, Jr., Emerson, K. D. i Turner, D. W. (1989). In situ bioremediation of an underground diesel fuel spill: a case history. *Environmental Management*, **13**(3), 325-332.
64. Freeman. D. J. i Cattel, F. C. R. (1990). Woodburnings as a source of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. *Env. Sci. Tech.*, **24**, 1581-1585.
65. Furnidge, C. G. L. i Osgerby, J. M. (1967) *J. Sci. Food Agric.* **18**, 269-273
66. Gibson, D. T., Koch, J. R. i Kallio, R. E. (1968). Oxidative degradation of aromatic hydrocarbons by microorganisms. I. Enzymatic formation of catechol from benzene. *Biochemistry* **7**, 2653-2662.
67. Giger, W. i Blumer, M. (1974). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment: Isolation and characterization by chromatography, visible, ultraviolet and mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **46**, 1663-1671.
68. Grbić-Galić, D. i Vogel, T. M. (1987). *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 254-260.

69. Guerin, W. F. i Boyd, S. A. (1992) *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 1142-1152
70. Hamaker, J. W. (1972). In: Goring, C. A. I. i Hamaker, J. W. (Eds.) *Organic Chemicals in the Soil Environment*, Dekker, New York, 253-340.
71. Hansen L.D., Nestler C., Ringelberg D., Bajpai R. (2004) Extended bioremediation of PAH/PCP contaminated soils from the popile wood treatment facility. *Chemosphere* 54 (10), 1481-1493.
72. Harvey, R. G. (1991). *Polycyclic aromatic hydrocarbons: Chemistry and carcinogenicity*. Cambridge University Press, Cambridge.
73. Harvey, R. G. (1997). *Polycyclic hydrocarbons*. Wiley-VCH, New York.
74. Haus F., German J., Junter G.A. (2001) Primary biodegradability of mineral base oils in relation to their chemical and physical characteristics. *Chemosphere* 45, 983-990.
75. Helmers, E. N., Frame, J. D., Greenberg, A. F. i Sawyer, C. N. (1951). *Sewage Industrial Waste*, **23**, 834.
76. Högn, T. i Jaenicke, I. (1972). Benzene metabolism of *Moraxella* species. *Eur. J. Biochem.* **30**, 369-375.
77. Höhener, P., Duwig, C., Pasteris, G., Kaufmann, K., Dakhel, N., Harms, H. (2003) Biodegradation of petroleum hydrocarbon vapors: laboratory studies on rates and kinetics in unsaturated alluvial sand, *Journal of Contaminant Hydrology*, 66, pp 93–115.
78. Ivančev-Tumbas I., Dalmacija B., Đukić M., Jovanović Z., Đurendić M., Rončević S., Bečelić M., Jovanović D. (2002) Monitoring kvaliteta dunavskog sedimenta kod Novog Sada tokom 2001. godine, *Zbornik radova "Voda 2002"*, 11-15. juni, Vrnjačka Banja, str. 227-232.
79. Ivančev–Tumbas I., Dalmacija B., Đurendić M., Zejak J. (1999), Kvalitet dunavske vode i mulja nakon bombardovanja rafinerije “Novi Sad”, *Zbornik radova “Zaštita životne sredine gradova i prigradskih naselja”*, Knjiga II, 22-25. septembar., Novi Sad, str. 151-156.
80. Ivančev-Tumbas, I., Tričković, J., Karlović, E., Tamaš, Z., Rončević, S., Dalmacija, B., Petrović, O., Klašnja, M. (2004) GC/MS-SCAN to follow the fate of crude oil components in bioreactors set to remediate contaminated soil, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54 (4), pp 311-318
81. Jamison, V. M., Raymond, R. L. i Hudson, J. O., Jr. (1975). Biodegradation of highoctane gasoline in groundwater. *Developments in Industrial Microbiology*, **16**, str. 305-312.
82. Jerina, D. M. i Daly, J. W. (1974). Arene oxides: a new aspect of drug metabolism. *Science*, **185**, 573-582.
83. Jerina, D. M., van Bladeren, P. J., Yagi, H., Gibson, D. T., Mahadevan, V., Neese, A. S., Koreeda, M., Sharma, N. D. i Boyd, D. R. (1984). Syntesis and absolute configuration of the bacterial *cis*-1,2-, *cis*-8,9- i *cis*-10,11-dihydrodiol metabolites of benz[a]anthracen by a strain of *Beijerinckia*. *J. Org. Chem.* 49, 3621-3628.
84. Jobson, A. M., Cook, F. D. i Westlake, D. W. S. (1979). Interaction of aerobic and anaerobic bacteria in petroleum biodegradation. *Chem. Geol.*, **24**, 355-365.
85. Juhasz, A. L., Britz, M. L. i Stanley, G. A. (1997) Degaradation of Benzo(a)pyren, Diben(a,h)anthracene and Coronene by *Burkholderia cepacia*, *Wat. Sci. Tech.* **36**(10), 45-51
86. Karickhoff, S. W. (1980). In: Backer, R. A. (Ed.) *Contaminants and Sediments*, Vol. 2, Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, MI.
87. Keith, L. H. i Telliard, W. A. (1979). Priority pollutants I-a perspective view. *Env. Sci. Tech.*, **13**, 416-423.

88. Koreeda, M., Akhtar, M. N., Boyd, D. R., Neill, J. D., Gibson, D. T. i Jerina, D. M. (1978). Absolute stereochemistry of *cis*-1,2-, *trans*-1,2- i *cis*-3,4-dihydrodiol metabolites of phenanthrene. *J. Org. Chem.* **43**, 1023-1027.
89. Kornmüller, A. i Wiesmann, U. (1999). Continuous ozonation of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil/water-emulsions and biodegradation of oxidation product. *Wat. Sci. Tech.*, **40**, 107-114.
90. Koussis, A.D., Pasmajoglou, S., Syriopoulou, D. (2003) Modelling biodegradation of hydrocarbons in aquifers: when is the use of the instantaneous reaction approximation justified?, *Journal of Contaminant Hydrology*, **60**, pp 287– 305
91. Leadbetter, E. R. i Foster, J. W. (1959). Oxidation products formed from gaseous alkanes by the bacterium *Pseudomonas methanica*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **82**, 491-492.
92. Levin L. Viale A. and Forchiassin A. (2003) Degradation of organic pollutants by the white rot basidiomycete *Trametes troggi*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, **52** (1), 1-5.
93. Li, G., Huang, W., Lerner, D. N., Zhang, X. (2000) Enrichment of degrading microbes and bioremediation of petrochemical contaminants in polluted soil, *Wat. Res.*, Vol. **34**, No. **15**, 3845-3853
94. MacRae, J. D. and Hall, K. J. (1998). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in marine sediment under denitrifying conditions. *Wat. Sci. Tech.*, **38**(11), 177-185.
95. Maki, H., Hirayama, N., Hiwatari, T., Kohata, K., Uchiyama, H., Watanabe, M., Yamasaki, F., Furuki, M. (2003) Crude oil bioremediation field experiment in the Sea of Japan, *Marine Pollution Bulletin*, **47**, 74–77
96. Margesin, R., Schinner, F. (2001) Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area, *Applied and Environmental Microbiology*, July, 3127–3133
97. Marković, D. A., Đarmati, Š. A., Gržetić, I. A. i Veselinović, D. S. (1996). *Fizičko-hemijski osnovi zaštite životne sredine, Izvori zagađivanja, posledice i zaštita*. Univerzitet u Beogradu, Beograd.
98. Marvin, C. H., Smith, R. W., Bryant, D. W. and McCarty, B. E. (1999). Analysis of high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **863**, 13-24.
99. Matavulj M. (1986) Fosformonoestar-hidrolaze mikroorganizama i njihov značaj u kruženju fosfora u akvatičnim staništima, *Doktorska disertacija*, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb
100. McCall, P.J. i Agin, G. L. (1985). *Environ. Toxicol. Chem.* **4**, 37-44.
101. McCarty, P. L. i Semprini, L. (1994). Ground water treatment for chlorinated solvents. In: Norris, R. D. (Ed.) *Handbook of Bioremediation* (Section 5), CRC Press, Boca Raton, Fla.
102. Mędrzycka, K., Cytawa, S. i Tomczak-Wandzel, R. (2004) Application of pH measurements for the following the course of biological treatment of wastewater and its control, *Proceedings of Polish-Swedish seminars*, Stockholm, 6-8. Jun 2004, www.lwr.kth.se/forskningsprojekt/Polishproject/JPS12pHApplication.pdf
103. Mersch-Sundermann, V., Mochayedi, S. and Kevekordes, S. (1992). Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Escherichia coli* PQ37. *Mutation Res.*, **278**, 1-9.

104. Mix, M. C. (1984). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment: occurrence and biological monitoring. *Reviews in Environmental Toxicology*, **1**, 51-102.
105. Morgan, P. i Watkinson, R. J. (1992). Factor limiting the supply and efficiency of nutrient and oxygen supplements for the in situ biotreatment of contaminated soil and groundwater. *Water Research*, **26**(1), 73-78.
106. Morrill, L. G., Mahilum, B. i Mohiuddin, S. H. (1982) Organic Compounds in Soils: Sorption, Degradation and Persistence, *Ann Arbor Sci. Publ.*, Ann Arbor, MI
107. Mulligan, C.N. i Yong, R.N. (2004) Natural attenuation of contaminated soils, *Environ. Int.* **30**, 587–601
108. Namkoong, W., Hwang, E.-Y., Park, J.-S., Choi, J.-Y. (2002) Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting, *Environmental Pollution*, **119**, 23–31
109. Neilson, A. H. (Ed.) (1998). PAHs and related compounds, chemistry. In: Hutzinger, O. (Ed.): *The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 3, Anthropogenic Compounds, Part I*. Springer-Verlag, Berlin.
110. Nelson, C., Hicks, R. J. and Andrews, S. D. (1993). In-situ bioremediation: an integrated system approach. In: Flathman, P. E., Jerger, D. E. and Exner, J. H. (Eds.) *Bioremediation: Field Experiences*, Lewis Publishers, Chelsea, Mich.
111. Norris, R. D. i Dowd, K. (1993). Successful in situ bioremediation in a low permeability aquifer. In: Flathman, P. E., Exner, J. i Jerger, D. (Eds.) *Bioremediation: Field Experience*. Chelsea, Mich.: Lewis Publishers.
112. Norris, R. D. i Eckenfelder, W. W., Jr. (1991). *Applicability of biodegradation principals for treatment of soils and groundwater*. Eckenfelder INC, Nashville, Tennessee, USA.
113. Oh, Y.-S., Sim, D.-S. i Kim, S.-J. (2001). Effect of Nutrients on Crude Oil Biodegradation in the Upper Intertidal Zone, *Marine Pollution Bulletin*, **42**, 1367-1372.
114. Pardieck, D. L., Bouwer, E. J. and Stone, A. T. (1992). Hydrogen peroxide use to increase oxidant capacity for in situ bioremediation of contaminated soils and aquifers: a review. *Journal of Contaminant Hydrology*, **9**, 221-242.
115. Patel, R. N., Hou, C. T., Laskin, A. I., Felix, A. i Derelanko, P. (1980). *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 720-733.
116. Patel, T. R. i Gibson, D. T. (1974). Purification and properties of (+)-*cis*-naphthalene dihydrodiol dehydrogenase of *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* **119**, 879-888.
117. Petrović O., Dalmacija B., Simeunović J., Rončević S., Knežević P. (2005) Ugljovodonikoksidujuće i lipolitske bakterije kao pokazatelji naftnog zagađenja vode bunara hidrauličke barijere, Zbornik radova "Voda 2005", 07-10. juni, Kopaonik, str. 232-328.
118. Petrović O., Gajin S., Matavulj M., Radnović D., Svirčev Z. (1998) Mikrobiološko ispitivanje kvaliteta površinskih voda. Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
119. Petrović O., Simeunović J., Agbaba J., Ivančev-Tumbas I. (2003) Naftno zagađenje i mikrobiološka karakterizacija podzemnih voda hidrauličke barijere kao mere zaštite izvorišta. 32. Konferencija o korišćenju i zaštiti voda 2003, Zlatibor, p.429-434.
120. Petrović, O. (1984). *Mikroorganizmi u prečišćavanju otpadnih voda sa posebnim osvrtom na postupak sa aktivnim ugljem*, Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
121. Petrović, O., Radnović, D. and Gantar, M. (1990). Bacteria as potential producers of surface active agents and their characterization. Proceedings of the Second Yugoslavian Symposium on Microbial Ecology, Zagreb, 415-424.
122. Petrović, O., Radnović, D. and Gantar, M. (1993). Production of surface active agents by *Arthrobacter* OV-40 as affected by media composition. *Microbios*, **76**, 85-92.

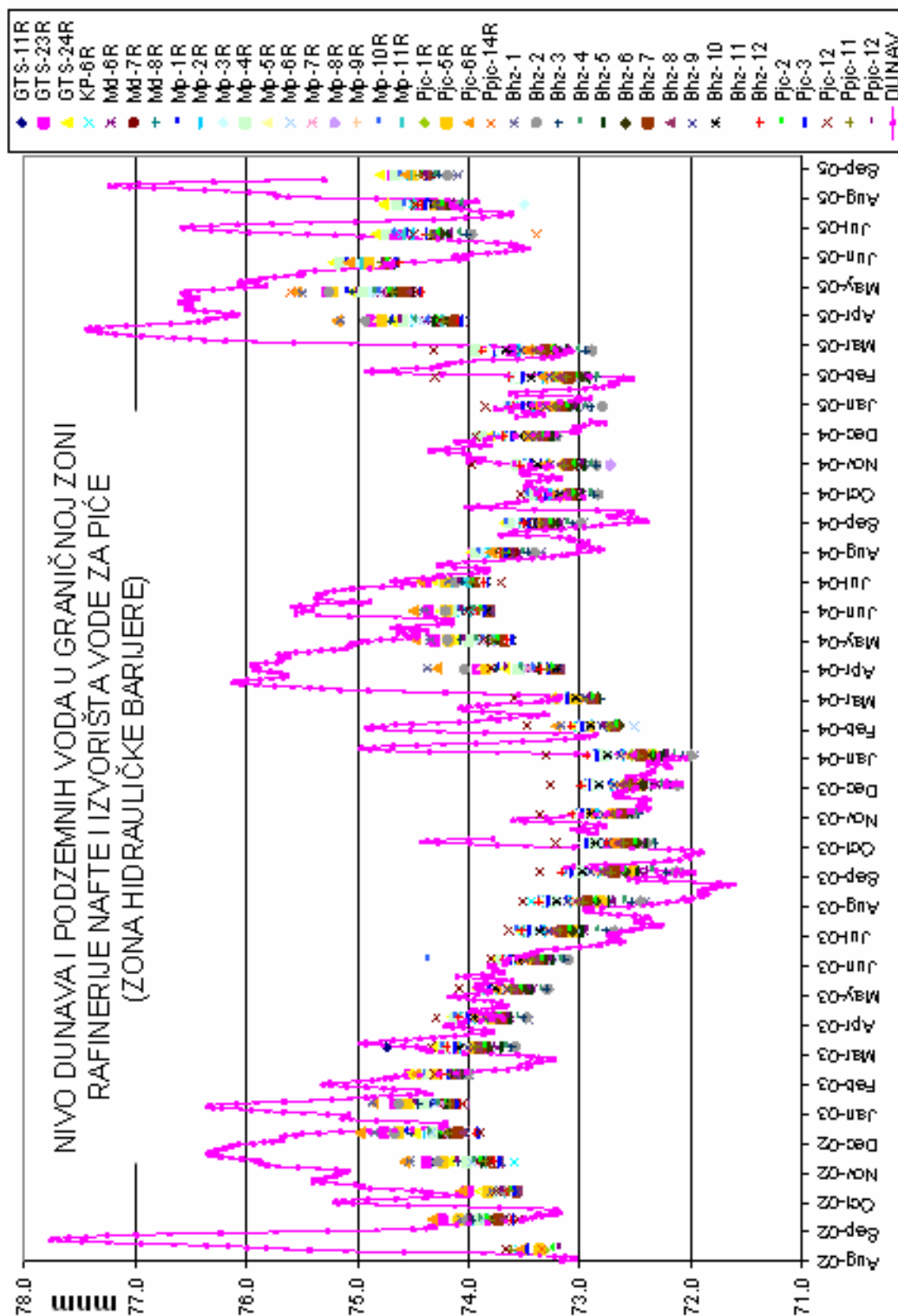
123. Pons, M. P. i Fuste, M. C. (1993) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **39**, 661-665
124. Rahman, K.S.M., Rahman, T. J., Kourkoutas, Y., Petsas, I., Marchant, R., Banat, I.M. (2003) Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients, *Bioresource Technology*, **90**, 159–168
125. Ram, N. M., Christman, R. F. i Cantor, K. P. (1990). *Significance and Treatment of Volatile Organic Compounds in Water Supplies*. Lewis Publishers, USA.
126. Raymond, R. L., Jamison, V. W. i Hudson, J. O. (1977). Beneficial stimulation of bacterial activity in groundwater containing petroleum hydrocarbons. *American Institute of Chemical Engineers Symposium Series*, **73**, 390-404.
127. Rijnaarts, H. H. M., Bachmann, A., Jumelet, J. C. i Zehnder, A. J. B. (1990) *Environ. Sci. Technol.* **24**, 1349-1354.
128. Roberts, P. V., Hopkins, G. C., Mackay, D. M. and Semprini, L. (1990). A field evaluation of in-situ biodegradation of chlorinated ethenes: Part 1 - Methodology and field site characterization. *Groundwater*, **28**, 591-604.
129. Rodina A.G. (1972) *Methods in Aquatic microbiology*. Ed. Colwell, R. and Zambruski, M., University Park Press, Baltimore and Butterworth and Co Ltd. London.
130. Rončević S. (2002) Kinetika bioremedijacionih procesa u zemljištu zagađenom naftom i derivatima nafte, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
131. Rončević, S., Dalmacija, B., Ivančev-Tumbas, I., Tričković, J., Petrović, O., Klašnja, M., Agbaba, J., (2005) Kinetics of Degradation of Hydrocarbons in the Contaminated Soil Layer, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49 (1), pp 27-36
132. Ruberto, L., Vazquez, S. C., Mac Cormack, W. P. (2003) Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **52**, 115 – 125
133. Sara, M. N. (2003) *Site assessment and remediation handbook*, Second Edition, Lewis Publishers, CRC Press LLC, Boca Raton-London-New York-Washington
134. Scow, K. M. i Hutson, J. (1992) *Soil Sci. Soc. Am. J.* **56**, 119-127
135. Scow, K. M. i Johnson, C. R. (1997) *Adv. Agron.* **58**, 1-56
136. SDC/SDR (2002) Groundwater monitoring in the Ratno Ostrvo water catchment area in Novi Sad, Ekology Project A2, Third intermediater report, November 2000-June 2002, Novi Sad/Beograd
137. Seabra, P.N., Linhares, M.M. and Santa Anna, L.M. (1999) Laboratory study of crude oil remediation by bioaugmentation. In: Alleman, B.C. and Leeson, A. (Eds.) *In Situ Bioremediation of Polycyclic Hydrocarbons and Other Organic Compounds*, Battelle Press, Columbus, Ohio, USA, pp 421-426
138. Semprini, L., Roberts, P. V., Hopkins, G. C. and McCarty, P. L. (1990). A field evaluation of in-situ biodegradation of chlorinated ethenes: Part 2 – The results of biostimulation and biotransformation experiments. *Groundwater*, **28**, 715-727.
139. Senez, J. C. i Konovaltschikoff-Mazoyer, M. (1956). Formation d'acides gras dans les cultures de *Pseudomonas ruginosa* sur n-heptane. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences*, **242**, 2873-2875.
140. Seyfried, B., Glod, G., Schocher, R., Tschech, A. i Zeyer, J. (1994). *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 4047-4052.
141. Sisler, F. D. i Zobell, C. E. (1947). Microbial utilization of carcinogenic hydrocarbons. *Science*, **106**, 521-522.

142. Stefess, G. C. (1998). Monitoring of environmental effects and process performance during biological treatment of sediment from the petroleum harbour in Amsterdam. *Wat. Sci. Tech.*, **37**, 395-402.
143. Stout, S.A., Uhler A.D., McCarthy K.J, Emsbo-Mattingly S. (2001) A Methodology for Correlating Spilled Oil to its Source Contaminated Soil Sediment and Water AEHS, International Issue-August, 63-66.
144. Stringfellow, W. T. i Alvarez-Cohen, L. (1999). Evaluating the relationship between the sorption of PAHs to bacterial biomass and biodegradation. *Wat. Res.*, **33**, 2535-2544.
145. Škunca-Milovanović, S., Feliks, R. i Đurović, B. (1990). *Voda za piće, Standardne metode za ispitivanje higijenske ispravnosti*, Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, NIP "Privredni pregled", Beograd.
146. Tabatabai, M. A., and J. M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1:301-307.
147. Thornton, J. C. i Wooten, W. L. (1982). Venting for the removal of hydrocarbon vapors from gasoline contaminated soil. *Journal of Environmental Science and Health*, **A17**, 31-44.
148. TRI (Texas Research Institute, Inc.) (1982). Enhancing the Microbial Degradation of Underground Gasoline by Increasing Available Oxygen, Final Report, *API*, Washington, D.C.
149. van Genuchten, M. T., Davidson, J. M. i Wierenga, P. J. (1974). *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.* **38**, 29-35.
150. Venosa, A. D., Zhu, X. (2003) Biodegradation of Crude Oil Contaminating Marine Shorelines and Freshwater Wetlands, *Spill Science & Technology Bulletin*, Vol. 8, No. 2, 163-178
151. Veselinović, D., Gržetić, I., Đarmati, Š. i Marković, D. (1995). *Fizičko-hemijski osnovi zaštite životne sredine, Stanja i procesi u životnoj sredini*. Fakultet za fizičku hemiju Univerziteta u Beogradu, Beograd, str. 297-304.
152. Walcker J.D., Calomiris J.J., Herbert T.L., Colwell R.R. (1976) Petroleum Hydrocarbons: Degradation and growth Potential for Atlantic Ocean Sediment Bacteria. *Marine Biology*, 34, 1-9.
153. Wilson, J. T. i Ward, C. H. (1986). Opportunities for bioremediation of aquifers contaminated with petroleum hydrocarbons. *Journal of Industrial Microbiology*, **27**, 109-116.
154. Yerushalmi, L., Rocheleau, S., Cimpoia, R., Sarrazin, M., Sunahara, G., Peisajovich, A., Leclair, G., Guiot, S. R. (2003) Enhanced Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Contaminated Soil, *Bioremediation Journal*, **7**(1) 37-51
155. Zobell, C. E. (1973). Microbial degradation of oil: present status, problems, and perspectives. In: Ahearn, D. G. i Meyers, S. P. (Eds.) *The Microbial Degradation of Oil Pollutants*, Publ. No. LSU-SG-73-01. Baton Rouge: Louisiana State University, Center for Wetli Resources, str. 15.

7. PRILOG

□

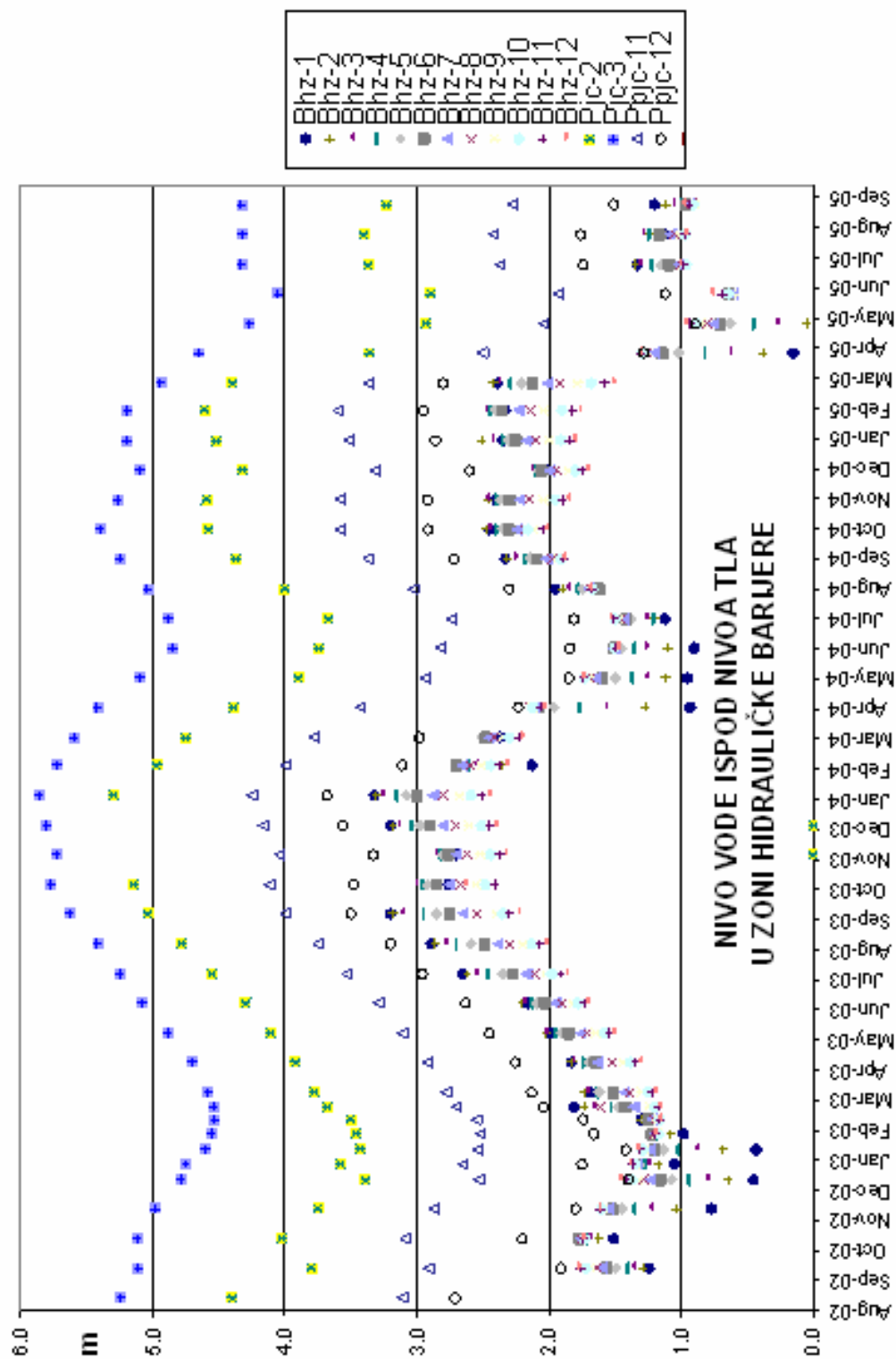
Prilog 1. Nivo Dunava i podzemnih voda u zoni hidrauličke barijere



⊕

□

Prilog 2 a. Nivo podzemnih voda ispod nivoa tla u zoni hidrauličke barijere



Prilog 3. Koncentracija ukupnih ugljovodonika i mineralnih ulja u podzemnim vodama lokaliteta Ratno ostrvo u periodu VIII 2002.-II 2006.

HIDRAULICKA BARIJERA	Bkar-1			Bkar-3			Bkar-5			Bkar-7			Bkar-9			Bkar-11		
	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo
	µg/l	µg/l	%	µg/l	µg/l	%	µg/l	µg/l	%	µg/l	µg/l	%	µg/l	µg/l	%	µg/l	µg/l	%
Aug-02	16	9	56	41	24	59	78	34	44	45	11	24	14	8	57	14	9	64
Sep-02	20	14	70	29	17	59	66	22	33	46	25	54	45	21	47	24	22	92
Okt-02	26	19	73	21	17	81	21	14	67	62	32	52	30	19	63	26	22	85
Nov-02	34	26	76	32	21	66	24	17	71	33	13	39	24	10	42	15	9	60
Dec-02	21	14	67	18	10	56	33	6	18	45	11	24	15	3	20	23	12	52
Jan-03	29	12	41	33	6	18	57	16	28	63	24	38	21	11	52	23	11	48
Feb-03	33	24	73	41	25	61	115	35	30	64	23	36	52	30	58	39	20	51
Mar-03	107	74	69	94	60	64	118	52	44	91	50	55	86	60	70	93	68	73
Maj-03	57	37	65	90	55	61	85	28	33	72	35	49	35	21	60	43	24	56
Jun-03	44	24	55	14	12	86	41	16	39	52	15	29	14	10	71	37	21	57
Jul-03	45	45	100	87	59	68	73	37	51	94	50	53	57	42	74	64	43	67
Avg-03	36	18	50	50	28	56	36	10	28	44	16	36	43	24	56	41	22	54
Sep-03	19	7	37	28	12	43	30	7	23	67	14	21	67	46	69	120	75	63
Nov-03	43	18	42	65	26	40	95	31	33	59	16	27	38	37	97	48	20	42
Jan-04	39	24	62	36	27	75	235	45	19	86	22	26	27	19	70	26	24	92
Mar-04	46	19	41	16	13	81	265	30	11	46	27	59	44	23	52	25	23	92
Maj-04	24	15	63	26	13	50	217	28	13	118	32	27	23	15	65	23	16	70
Jul-04	24	8	33	34	11	32	83	11	13	64	11	17	23	10	43	29	7	24
Sep-04	22	9	41	35	6	17	47	9	19	110	12	11	30	9	30	20	4	20
Nov-04	64	34	53	60	30	50	164	33	20	152	44	29	61	36	59	99	46	46
Jan-05	27	11	41	24	11	46	177	42	24	109	23	21	38	21	55	35	20	57
Mar-05	27	9	33	33	10	30	216	16	7	139	20	14	40	18	45	37	10	27
Maj-05	26	8	31	23	8	35	76	22	29	54	11	20	43	15	35	40	12	30
Jul-05	35	23	66	42	16	38	227	8	4	124	12	10	24	14	58	23	5	22
Sep-05	21	7	33	14	3	21	275	9	3	94	5	5	21	4	19	20	5	25
Nov-05	16	8	50	62	26	42	147	27	18	88	17	19	25	12	48	42	19	45
Jan-06	31	24	77	34	22	65	372	19	5	73	26	36	42	31	74	27	13	48

HIDRAULICKA BARIJERA	Etaz-2			Etaz-4			Etaz-6			Etaz-8			Etaz-10			Etaz-12		
	Ukupni ngjivodanct	Mineralna vjta	Udeo mineralnih vjta	Ukupni ngjivodanct	Mineralna vjta	Udeo mineralnih vjta	Ukupni ngjivodanct	Mineralna vjta	Udeo mineralnih vjta	Ukupni ngjivodanct	Mineralna vjta	Udeo mineralnih vjta	Ukupni ngjivodanct	Mineralna vjta	Udeo mineralnih vjta	Ukupni ngjivodanct	Mineralna vjta	Udeo mineralnih vjta
	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%
Avg-02	5	2	40	27	10	37	16	8	50	30	11	37	4	2	50	27	18	67
Sep-02	27	13	48	45	21	47	31	25	81	22	18	82	27	24	89	14	13	93
Okat-02	26	23	88	23	15	65	26	16	62	37	22	59	14	9	64	20	17	85
Nov-02	32	28	88	40	19	48	43	32	74	10	10	100	46	37	80	71	56	79
Dec-02	15	11	73	40	26	65	17	4	24	10	2	20	22	8	36	23	9	39
Jan-03	38	16	42	78	23	29	27	10	37	25	8	32	23	12	52	12	5	42
Feb-03	38	27	71	73	36	49	54	29	54	55	21	38	36	16	44	32	14	44
Apr-03	72	41	57	74	37	50	79	47	59	49	12	24	49	31	63	75	60	80
Maj-03	39	22	56	56	18	32	52	34	65	49	31	35	43	29	67	44	21	48
Jun-03	40	38	95	77	39	51	35	17	49	43	18	42	35	18	51	27	23	85
Jul-03	78	61	78	116	59	51	64	42	66	122	59	48	28	16	57	62	46	74
Avg-03	46	30	65	29	17	59	9	4	44	144	59	41	46	27	59	21	7	33
Okat-03	13	5	38	58	13	22	25	11	44	144	21	15	24	13	54	35	23	66
Dec-03	74	39	53	72	34	47	74	34	46	164	67	41	82	73	89	120	44	37
Feb-04	65	44	68	82	35	43	50	24	48	193	45	23	45	22	49	55	26	47
Apr-04	19	6	32	49	14	29	32	11	34	61	10	16	28	10	36	55	22	40
Jun-04	22	7	32	59	13	22	40	10	25	78	11	14	34	22	65	43	19	44
Avg-04	21	7	33	56	5	9	28	8	29	113	6	5	20	5	25	25	25	100
Okat-04	84	15	18	75	25	33	73	38	52	57	18	32	66	20	30	67	26	39
Dec-04	24	12	50	19	8	42	34	16	47	103	11	11	36	15	42	0	0	0
Feb-05	55	27	49	102	15	15	53	21	40	206	13	6	86	46	53	27	12	44
Apr-05	14	8	57	67	20	30	17	13	76	35	12	34	16	13	81	35	22	63
Jun-05	21	6	29	42	9	21	21	5	24	91	6	7	51	17	33	19	9	47
Avg-05	11	5	45	57	11	19	21	6	29	120	31	26	15	6	40	17	6	35
Okat-05	15	5	33	59	5	8	23	4	17	146	7	5	20	5	25	21	4	19
Dec-05	140	123	88	81	39	48	59	36	61	136	44	32	78	50	64	85	58	68
Feb-06	9	1	11	132	19	14	29	17	59	243	1	0	22	7	32	20	4	20

Kategorija namta	Mj-1			Mj-2			Mj-3			Mj-4			Mj-5			Mj-6			Mj-7			Mj-8			Mj-9		
	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonični	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja			
	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%			
Avg-02	170	33	19	240	150	58	70	25	34	73	30	41	34	19	54	180	84	48	25	14	54	31	15	48	20	10	50
Sep-02	240	50	21	69	42	41	69	40	87	79	40	51	27	19	70	43	35	81	31	21	48	35	30	84	34	19	54
Ok-t-02	290	44	15	103	67	45	74	25	34	67	30	45	22	14	44	40	35	63	9	3	33	7	5	71	13	10	77
Nov-02	190	47	25	113	57	50	37	14	38	108	37	34	33	15	45	31	22	71	40	20	50	22	9	41	59	38	44
Dec-02	257	34	14	177	71	40	77	14	18	183	40	22	33	23	70	54	32	59	109	40	37	19	8	42	34	27	75
Jan-03	171	38	22	159	48	43	67	38	42	274	55	20	35	20	57	39	17	44	80	32	38	37	22	59	14	4	35
Feb-03	47	34	51	242	127	48	134	51	38	295	111	38	50	28	54	55	30	55	42	22	52	45	22	49	40	31	52
Mar-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	123	84	48	-	-	-	78	51	45	-	-	-
Apr-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38	27	71	-	-	-	53	23	43
Maj-03	150	42	28	77	50	45	101	44	44	247	87	33	34	19	53	432	214	34	47	27	57	32	19	59	39	18	44
Jun-03	300	88	29	144	119	73	95	38	40	223	79	35	53	34	48	443	114	25	79	35	42	40	25	45	57	30	53
Jul-03	337	115	34	178	104	40	118	71	40	144	41	37	85	75	88	181	100	52	143	99	49	112	97	87	115	89	77
Avg-03	170	44	24	324	245	75	84	31	34	142	43	39	40	24	45	45	34	58	53	24	49	35	20	57	22	14	73
Sep-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	54	27	48	-	-	-	57	24	42	-	-	-
Ok-t-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44	20	45	-	-	-	33	14	42
Nov-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	19	54	-	-	-	35	17	49	-	-	-
Dec-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42	41	44	-	-	-	52	22	42

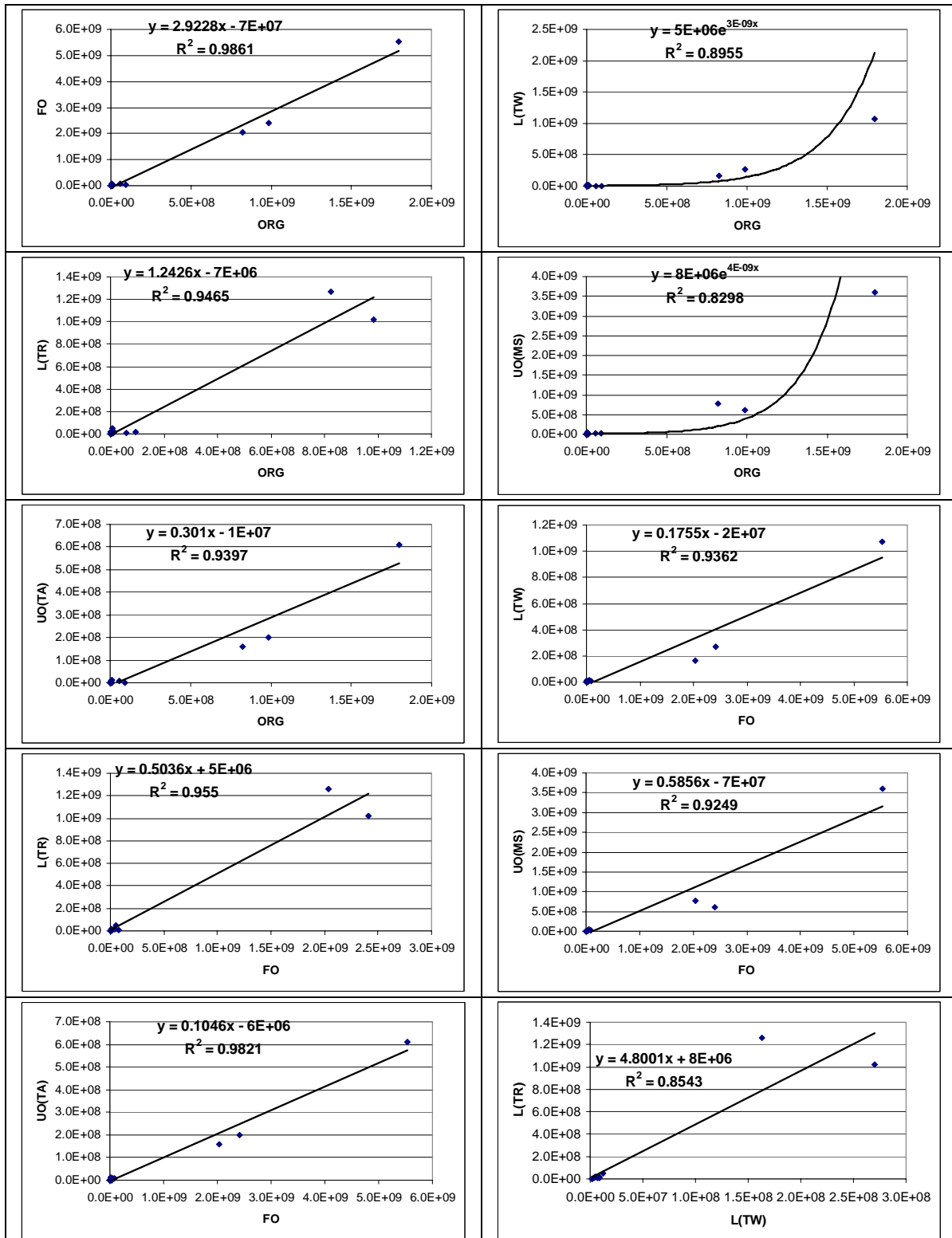
Kategorija natrije	Mp-5			Mp-7			Mp-9			Md-8			Pjc-5			Pjc-6		
	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja
	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%	µg/l	%
Jan-04	30	13	43	.
Feb-04	.	.	66	36	55	51	92	62	67	65	39	60
Apr-04	.	.	39	18	46	34	118	78	66	44	22	50
Jun-04	.	.	43	6	14	17	38	9	24	30	5	17
Avg-04	.	.	25	8	32	19	26	6	23	30	11	37
Okt-04	.	.	74	30	41	33	36	17	47	62	40	65
Dec-04	.	.	43	15	35	48	46	17	37	34	22	65
Feb-05	.	.	66	18	27	38	37	16	43	36	13	36
Apr-05	28	14	50	12	6	50	18	10	56
Jun-05	115	25	2	16	6	38	31	4	13
Avg-05	30	7	23	8	4	50	12	5	42
Okt-05	25	5	20	17	5	29
Dec-05	83	56	67	56	37	66
Feb-06	71	16	23	13	0	0

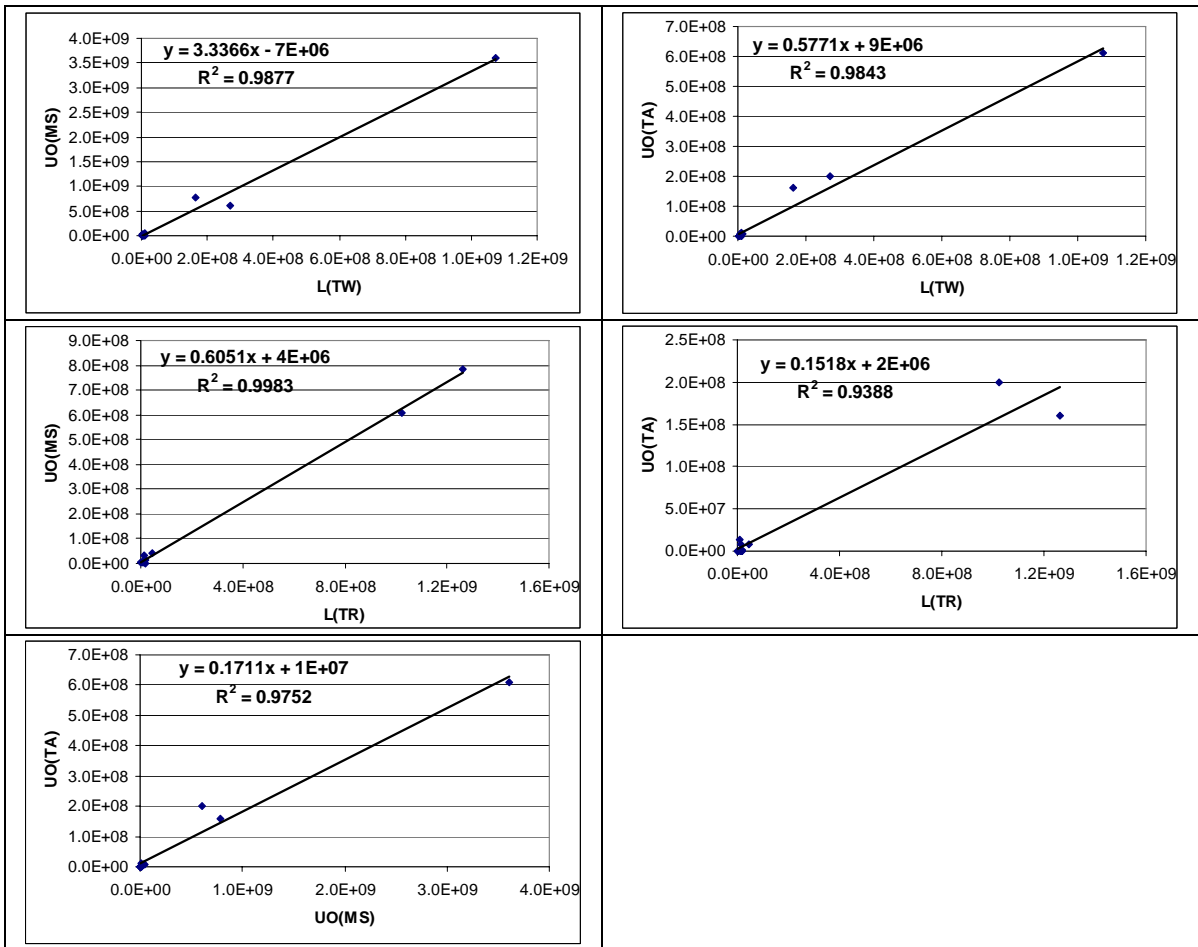
Rafinerija nafte	Gts-11			Gts-23			Gts-24			Kp-6		
	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja
	$\mu\text{g/l}$		%	$\mu\text{g/l}$		%	$\mu\text{g/l}$		%	$\mu\text{g/l}$		%
Avg-02	710	150	21	41	22	54	43	27	63	22	15	68
Sep-02	1900	520	27	42	29	69	53	42	79	34	16	47
Okt-02	834	171	21	16	10	63	33	20	61	23	17	74
Nov-02	686	87	13	34	23	68	25	18	72	28	16	57
Dec-02	366	141	39	35	21	60	26	16	62	43	22	51
Jan-03	1396	90	6	27	10	37	14	4	29	32	15	47
Feb-03	644	486	75	26	17	65	52	35	67	72	34	47
Jun-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84	28	33
Jul-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	98	75
Avg-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52	16	31

Zona hidrauličke barijere	Pjc-2			Pjc-3			Ppjc-11			Ppjc-12		
	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja
	$\mu\text{g/l}$		%	$\mu\text{g/l}$		%	$\mu\text{g/l}$		%	$\mu\text{g/l}$		%
Avg-02	-	-	-	12	8	67	19	12	63	17	12	71
Sep-02	39	15	38	32	14	44	16	13	81	38	24	63
Okt-02	-	-	-	24	16	67	14	12	86	22	14	64
Nov-02	23	12	52	25	21	84	43	38	88	29	19	66
Dec-02	-	-	-	-	-	-	12	8	67	35	12	34
Jan-03	-	-	-	24	9	38	20	12	60	20	5	25
Feb-03	-	-	-	47	25	53	30	20	67	39	21	54
Maj-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42	18	43
Jun-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	58	27	47
Jul-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	86	51	59
Avg-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34	19	56
Apr-04	-	-	-	-	-	-	36	22	61	-	-	-
Jun-04	-	-	-	-	-	-	40	14	35	-	-	-
Sep-04	-	-	-	-	-	-	14	2	14	-	-	-
Dec-04	-	-	-	-	-	-	50	24	48	-	-	-

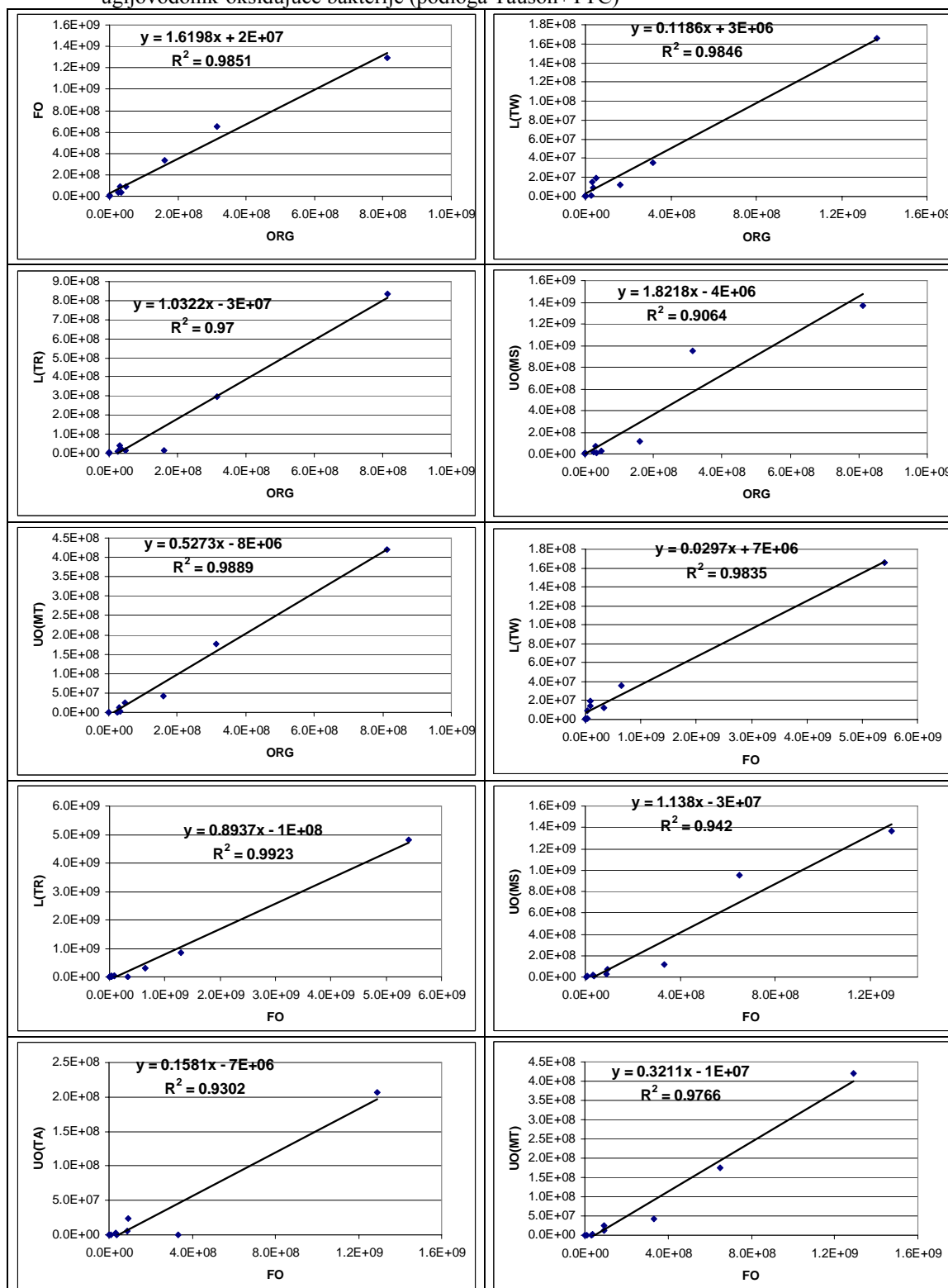
Pijezometri u zaleđu izvorišta	Ropz-12			Pjc-12		
	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja	Ukupni ugljovodonici	Mineralna ulja	Udeo mineralnih ulja
	µg/l	µg/l	%	µg/l	µg/l	%
Sep-02	16	13	81	-	-	-
Nov-02	49	16	33	-	-	-
Maj-03	58	37	64	-	-	-
Jun-03	43	28	65	-	-	-
Jul-03	59	45	76	-	-	-
Avg-03	14	6	43	-	-	-
Okt-03	36	11	31	38	9	24
Dec-03	75	57	76	59	19	32
Maj-04	-	-	-	87	36	41
Jun-04	21	8	38	-	-	-
Sep-04	14	4	29	63	5	8
Jan-05	-	-	-	126	17	13
Feb-05	24	13	54	-	-	-
Apr-05	-	-	-	120	26	22
Maj-05	13	5	38	-	-	-
Avg-05	-	-	-	100	37	37
Sep-05	11	4	36	-	-	-
Dec-05	-	-	-	97	39	40
Feb-06	22	6	27	-	-	-

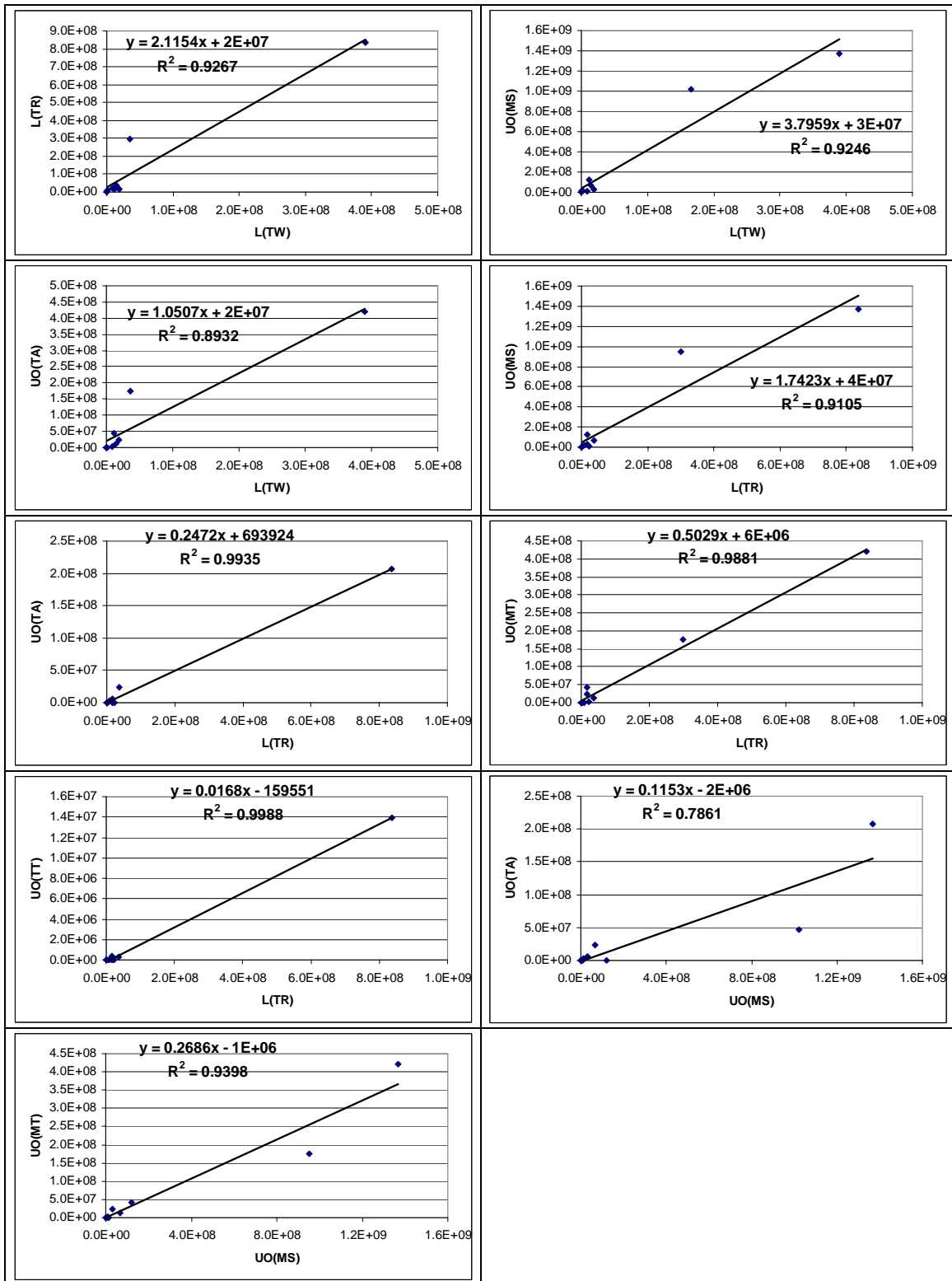
Prilog 4a. Funkcionalne zavisnosti između ispitivanih grupa bakterija u zemlji na mernim mestima I-III (ORG – organotrofi, FO – fakultativni oligotrofi, L(TW) – lipoltske bakterije (podloga TWEEN), L(TR) – lipoltske bakterije (podloga tributirin), UO(MS) – ugljovodonik-oksidujuće bakterije (podloga MSWYE), UO(TA) – ugljovodonik-oksidujuće bakterije (podloga Tauson))



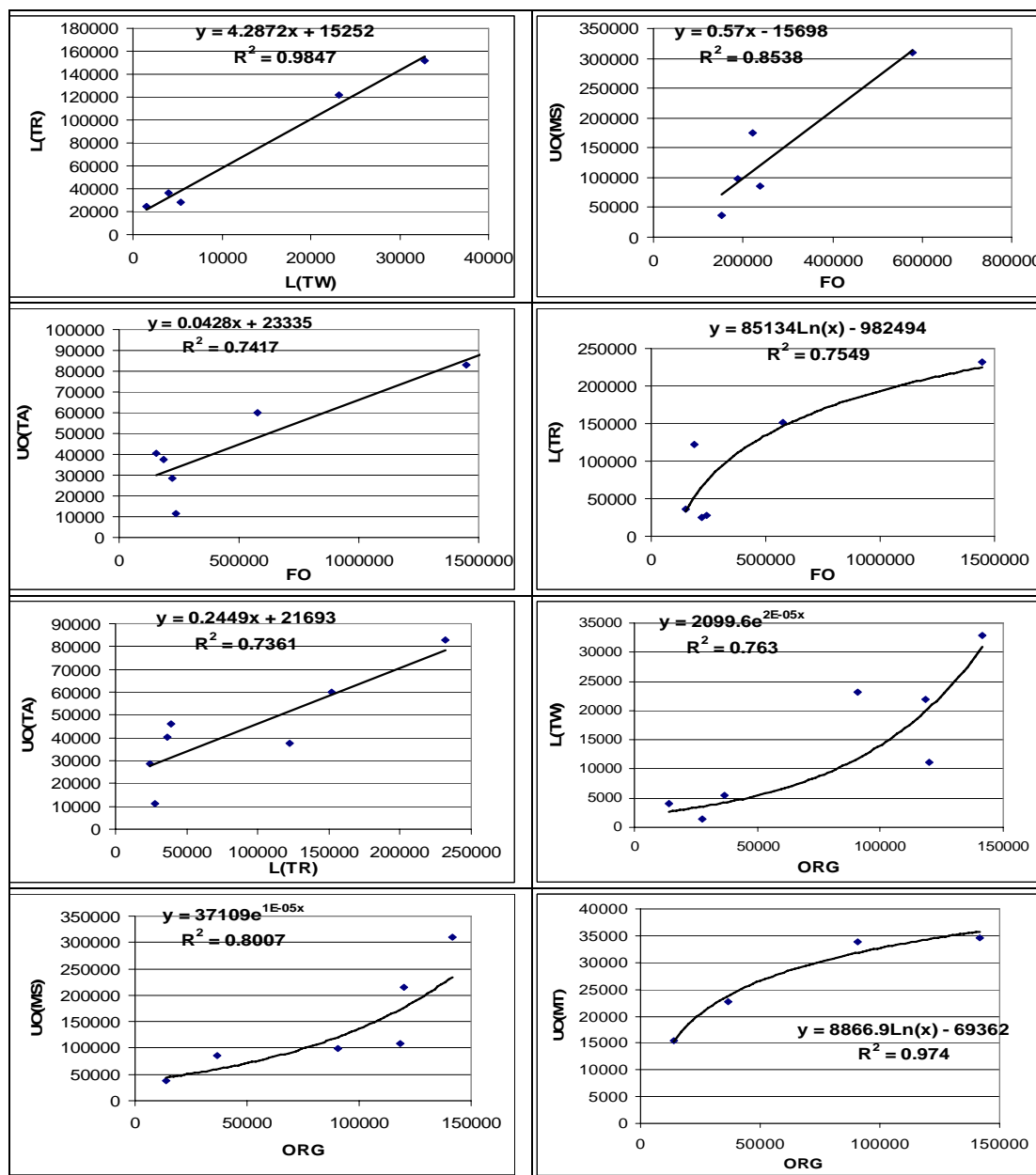


Prilog 4b. Funkcionalne zavisnosti između ispitivanih grupa bakterija u zemlji na mernom mestu S (ORG – organotrofi, FO – fakultativni oligotrofi, L(TW) – lipoltske bakterije (podloga TWEEN), L(TR) – lipoltske bakterije (podloga tributirin), UO(MS) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga MSWYE), UO(MT) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga MSWYE+TTC), UO(TA) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga Tauson), UO(TT) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga Tauson+TTC))

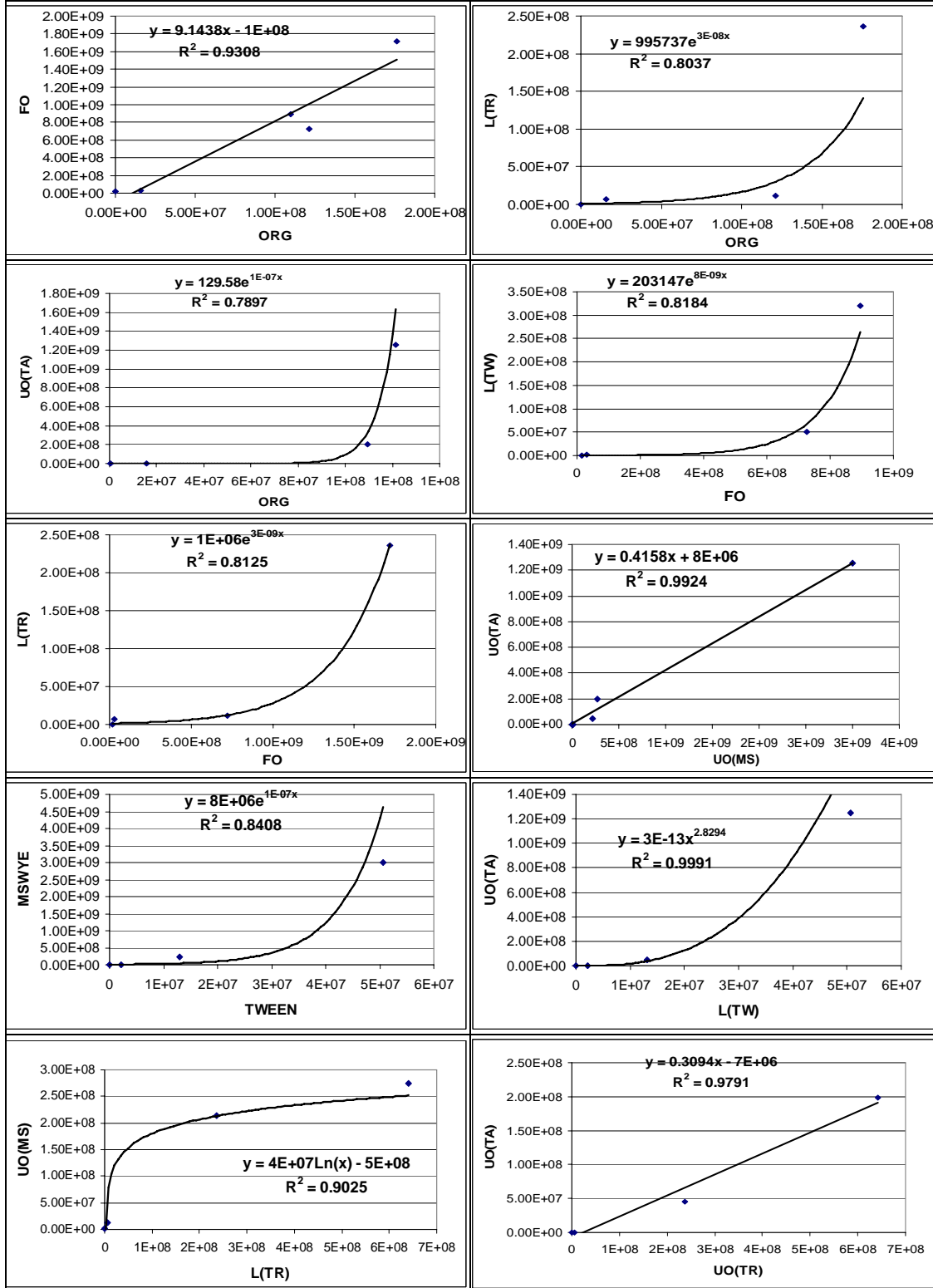


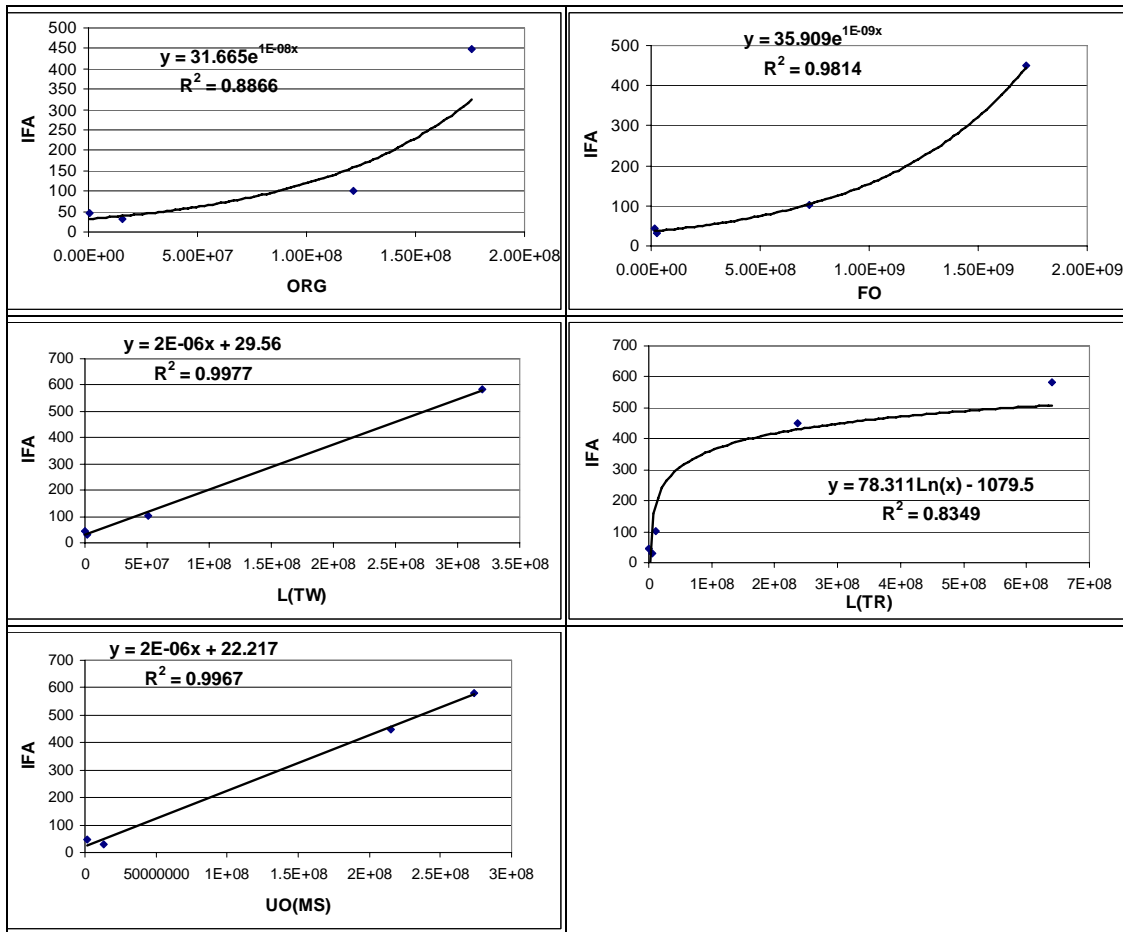


Prilog 4c. Funkcionalne zavisnosti između ispitivanih grupa bakterija u podzemnoj vodi u reaktoru (ORG – organotrofi, FO – fakultativni oligotrofi, L(TW) – lipoltske bakterije (podloga TWEEN), L(TR) – lipoltske bakterije (podloga tributirin), UO(MS) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga MSWYE), UO(MT) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga MSWYE+TTC), UO(TA) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga Tauson))

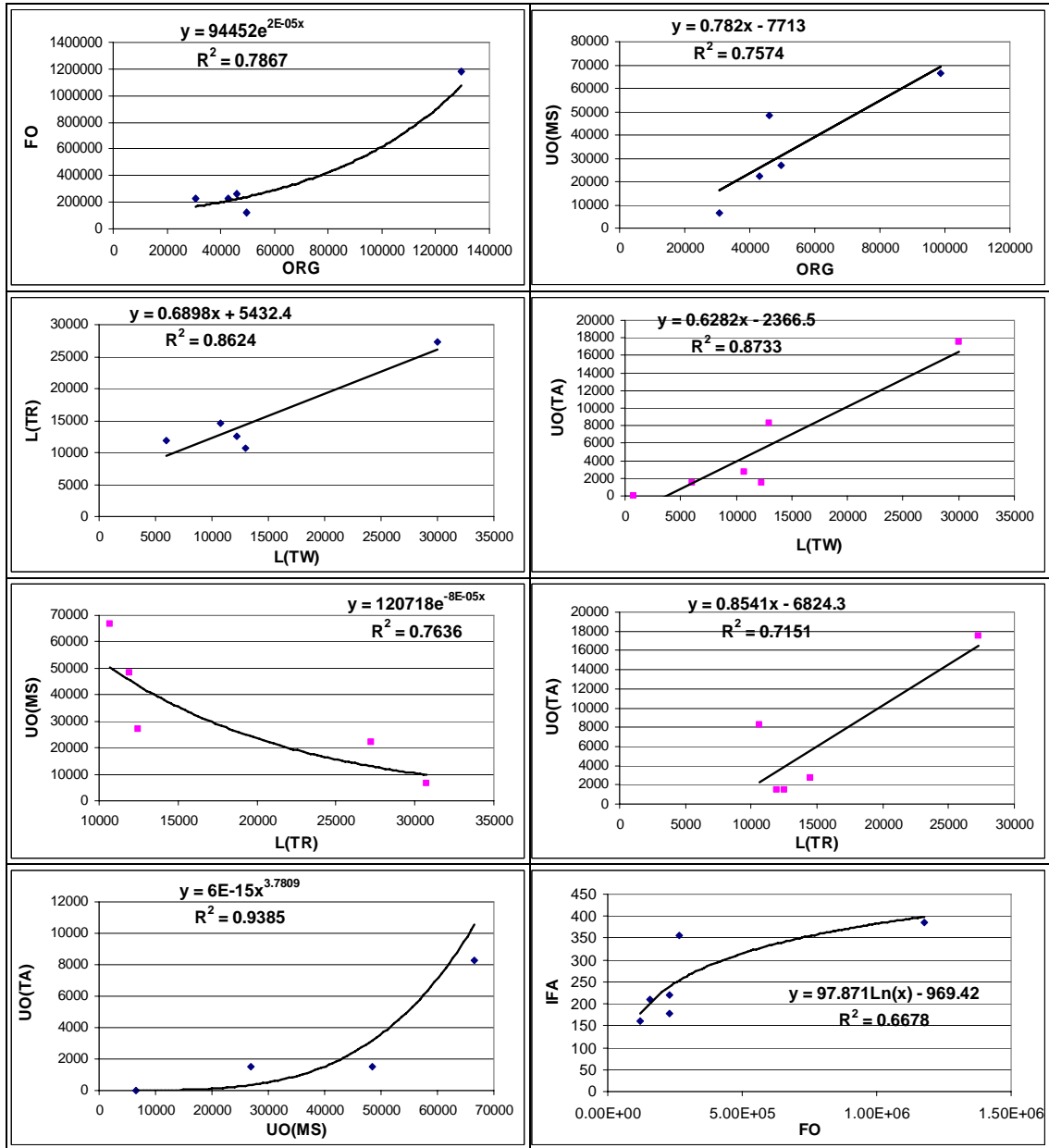


Prilog 4d. Funkcionalne zavisnosti između ispitivanih grupa bakterija u vodi u aeratoru
 (ORG – organotrofi, FO – fakultativni oligotrofi, L(TW) – lipoltske bakterije (podloga TWEEN),
 L(TR) – lipoltske bakterije (podloga tributirin), UO(MS) – ugljovodonik-oksidujuće bakterije
 (podloga MSWYE), UO(TA) – ugljovodonik-oksidujuće bakterije (podloga Tauson))





Prilog 4e. Funkcionalne zavisnosti između ispitivanih grupa bakterija u vodi bioreaktora (ORG – organotrofi, FO – fakultativni oligotrofi, L(TW) – lipoltske bakterije (podloga TWEEN), L(TR) – lipoltske bakterije (podloga tributirin), UO(MS) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga MSWYE), UO(TA) – ugljovodonik-oksidišuće bakterije (podloga Tauson)





Srđan Rončević je rođen 23. novembra 1975. godine u Bačkoj Palanci. Diplomirao 1999. godine na Prirodno-matematičko fakultetu u Novom Sadu, odsek Hemija, smer diplomirani hemičar, sa prosečnom ocenom u toku studija 9.81. Od oktobra 1999. zaposlen na PMF kao talenat-pripravnik, izabran maja 2000. u zvanje istraživača-pripravnika, a maja 2004. u zvanje asistenta za užu naučnu oblast Hemijska tehnologija. Magistarsku tezu "Kinetika bioremedijacionih procesa u zemljištu zagađenom naftom i derivatima nafte" odbranio 2002. Učestvovao na više međunarodnih i domaćih projekata, uključujući i projekte Ministarstva nauke i zaštite životne sredine "Bioremedijacija zemljišta i podzemnih voda zagađenih naftom i naftnim derivatima" (2002-2005) i "Razvoj remedijacionih tehnika zagađenih lokaliteta" (2005-2007). Autor i koautor jedne monografije, 5 poglavlja u knjigama, 3 rada u vodećim međunarodnim časopisima i oko 40 radova saopštenih na inostranim i domaćim konferencijama.

Živi u Novom Sadu, oženjen Sanjom Rodić-Rončević.

Novi Sad, 01.03.2007. godine

Srđan Rončević

UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:

RBR

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije: monografska dokumentacija

TD

Tip zapisa: tekstualni štampani materijal

TZ

Vrsta rada: doktorska disertacija

VR

Autor: mr Srđan Rončević

AU

Mentor: dr Božo Dalmacija, red. profesor PMF-a u Novom Sadu

MN

Naslov rada: Karakterizacija bioremedijacionih procesa u zemljištu i podzemnim vodama zagađenim naftom i derivatima na lokalitetu Ratno ostrvo

NR

Jezik publikacije: srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda: s/e

JI

Zemlja publikovanja: R Srbija

ZP

Uže geografsko područje: AP Vojvodina

ZGP

Godina: 2007.

GO

Izdavač: Autorski reprint

IZ

Mesto i adresa: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

MA

Fizički opis rada: (7/215/155/57/149/-/4)

(broj poglavlja/strana/lit.citata/tabela/slika/grafika/priloga)

FO

Naučna oblast: hemija

NO

Naučna disciplina: zaštita životne sredine

ND

Predmetna odrednica/Ključne reči: bioremedijacija, naftno zagađenje, ugljovodonici, mikroorganizmi, zemljište, podzemna voda, kinetika
PO

UDK:

Čuva se: Biblioteka Departmana za hemiju PMF-a u Novom Sadu
ČU

Važna napomena:

VN

Izvod:

Predmet izučavanja ove disertacije je pasivna bioremedijacija naftom i derivatima nafte zagađenih podzemnih voda na lokalitetu Ratno ostrvo i pospešivanje procesa bioremedijacije zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte na laboratorijskom postrojenju u cilju sanacije ugroženog lokaliteta.

Praćenjem podzemnih voda granične zone izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte utvrđeno je da je u podzemnoj vodi granične zone izvorišta Ratno ostrvo i Rafinerije nafte Novi Sad prisutan proces pasivne bioremedijacije, odnosno, da na pojavu ugljovodoničnog zagađenja u vodi sredina odgovara povećanjem brojnosti, pre svega, ugljovodonik-osidujućih i lipolitskih bakterija i bakterijske enzimske aktivnosti, i dolazi do transformacije mineralnih ulja u polarna jedinjenja. U vodi većine praćenih objekata uočene su eksponencijalne i linearne funkcionalne zavisnosti bakterijske brojnosti i fosfatazne aktivnosti od koncentracije ugljovodoničnog zagađenja za koncentracije ukupnih ugljovodonika < 400 µg/l (najčešće < 200 µg/l). Visok nivo podzemnih voda i prisustvo dela zagađenja u gornjim slojevima zemljišta ukazuje nam na mogućnost primene fitoremedijacije navedenog područja, jer je deo zagađenja dostupan korenskom sistemu.

Ispitivanjem tehničke bioremedijacije zemljišta i podzemne vode zagađenih naftom i derivatima nafte na laboratorijskom postrojenju utvrđeno je da dolazi do opadanja koncentracije ukupnih ugljovodonika u zemljištu sa 38,2 na 14,6 g/kg i mineralnih ulja sa 27,0 na 10,2 g/kg (62%), što se može definisati jednačinom $C=C_0e^{-kt}$, gde je konstanta brzine degradacije ugljovodonika $k=0,0082 \text{ dan}^{-1}$. U vodi je prisutan veliki broj karboksilnih kiselina nastalih oksidacijom alkana (C10-19), kao i aromata (benzoeva kiselina, kao i benzaldehid), što ukazuje na proces biooksidacije ugljovodonika. Proces rastvaranja i emulgovanja nafte se pospešuje uvođenjem recirkulacije vode: određena je jednačina zavisnosti koncentracije ugljovodonika u vodenoj fazi od koncentracije u čvrstoj fazi, zavisno od brzine proticanja: $C_{\text{voda}}=(f \cdot v + K_0)C_{\text{zemlja}}$, gde je koeficijent ispiranja $f=1400 \text{ s/m}$, a difuzioni koeficijent $K_0=6 \cdot 10^{-4}$. Proces ispiranja nafte i derivata sa zemlje značajno utiče na aktivnost mikroorganizama i razgradnju zagađenja. Sa porastom koncentracije ugljovodonika generalno opadaju brojnosti svih ispitivanih grupa bakterija i fosfatazna aktivnost i određene su granične vrednosti tolerancije. Proces ispiranja se mora voditi tako da koncentracija mineralnih ulja u vodenoj fazi ne treba da pređe 15-35 mg/l, a kad se postignu koncentracije ugljovodonika manje od 400 µg/l treba prepustiti pasivnoj bioremedijaciji da ukloni zagađenje.

IZ

Datum prihvatanja teme od strane NN Veća: 17.05.2005.

DP

Datum odbrane:
DO

Članovi komisije:
(Naučni stepen/ime/zvanje/fakultet)
KO

Predsednik: dr Elvira Karlović, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu

Član: dr Božo Dalmacija, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, mentor

Član: dr Olga Petrović, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu

Član: dr Mile Klašnja, redovni profesor Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF SCIENCE
KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type: monographic publication

DT

Type of record: Textual material, printed

TR

Contents code: theses

CC

Author: Srđan Rončević, M.Sc.

AU

Mentor: dr Božo Dalmacija, Full Professor

MN

Title: Characterisation of the bioremediation processes in soil and groundwater contaminated by oil and oil derivatives at the site of Ratno Ostrvo

TI

Language of text: Serbian

LT

Language of abstract: Serbian/English

LA

Country of publication: R Serbia

CP

Locality of publication: AP Vojvodina

LP

Publication year: 2007.

PY

Publisher: Authors reprint

PU

Publ.place: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

PP

Physical description: (7/215/155/57/149/-/4)

(chapters/pages/literature/tables/pictures/graphs/additional lists)

PD

Scientific field: Chemistry

SF

Scientific discipline: Environmental protection

SD

Subject/Key words: bioremediation, petroleum pollution, hydrocarbons, microorganisms, soil, groundwater, kinetics

SKW

UC:

Holding data: Department of Chemistry (library), 21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

HD

Note:

N

Abstract:

This dissertation investigates the passive bioremediation of groundwater from Ratno Ostrvo contaminated by oil and oil derivatives, and a bench-scale experiment to improve the soil and groundwater bioremediation processes, with the goal of sanitising the effected area.

During groundwater monitoring of the zone between the Ratno Ostrvo spring and the Novi Sad oil refinery, a passive bioremediation process was observed, whereby, in the hydrocarbons-contaminated water, increased counts of hydrocarbon-oxidising and lipolytic bacteria and increasing bacterial enzyme activity were found, along with the transformation of mineral oils to polar compounds. In water, the majority of the monitoring points displayed either exponential or linear functional dependence between bacterial count or phosphatase activity and hydrocarbon concentration, for total hydrocarbon concentrations < 400 µg/l (most often < 200 µg/l). The high groundwater level and the presence of contamination in the upper soil layers makes possible the application of phytoremediation at the site, as part of the contamination is in the rhizosphere.

The bench-scale investigation of bioremediation in soil and groundwater contaminated by oil and oil derivatives yielded decreasing concentrations of total hydrocarbons in the soil from 38.2 to 14.6 g/kg and mineral oils from 27.0 to 10.2 g/kg (62%), which can be described by $C=C_0e^{-kt}$, where the rate constant of hydrocarbon degradation is $k=0.0082 \text{ day}^{-1}$.

In water, a large number of carboxylic acids were present, from the oxidation of alkanes (C10-19) and aromatics (benzoic acid, and also benzaldehyde), which indicates a hydrocarbon biooxidation process. The process of dissolving and emulgating the oil is enhanced by recirculating the water: the linear relation between the concentration of hydrocarbons in the liquid and solid phases was found to be dependent on the flow rate: $C_{\text{water}}=(f \cdot v + K_0)C_{\text{soil}}$, where the rinsing coefficient $f=1400 \text{ s/m}$, and the diffusion coefficient $K_0=6 \times 10^{-4}$. The process of rinsing the oil and oil derivatives from the soil significantly influences the microbial activity and the degradation of contaminants. With increasing hydrocarbon concentrations, there was generally decreasing bacterial counts and phosphatase activity, and an upper limit for hydrocarbon tolerance was determined. The rinsing process must be controlled to ensure the mineral oil concentration in water does not exceed 15-35 mg/l, and once the concentration of hydrocarbons becomes less than 400µg/l, passive bioremediation may be left to complete the degradation.

A

Accepted by the Scientific Board on: 17.05.2005.

ASB

Defended:
DE

Thesis defend board:
(Degree/name/surname/title/faculty)
DB

President: Dr. Elvira Karlović, Full Professor, Faculty of Science, Novi Sad

Member: Dr. Božo Dalmacija, Full Professor, Faculty of Science, Novi Sad, mentor

Member: Dr. Olga Petrović, Full Professor, Faculty of Science, Novi Sad

Member: Dr. Mile Klašnja, Full Professor, Faculty of Technology, Novi Sad