

Rozprawa doktorska

Hybrydowa metoda usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych ze środowiska gruntowo-wodnego z użyciem preparatów immobilizowanych

mgr Wojciech Rybak

Dyscyplina naukowa Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka

Promotor: dr hab. Anna Grobelak, prof. Politechniki Częstochowskiej

Częstochowa, 2025

Dziękuję:

Gosi – że mnie namówiła,

Ani – że mnie nie zabiła,

Kierownikowi Szkoły Doktorskiej – za ludzkie serce.

Spis treści

Streszczenie	5
Abstract 9	
1. Przegląd literatury	13
1.1. Gleby zanieczyszczone substancjami ropopochodnymi	13
1.1.1. Właściwości gleb zanieczyszczonych	17
1.1.2. Normy i przepisy prawne	18
1.2. Substancje ropopochodne w środowisku glebowym.....	20
1.2.1. Źródła zanieczyszczeń	20
1.2.2. Rozprzestrzenianie w środowisku i rozkład zanieczyszczeń.....	21
1.2.3. Wpływ na organizmy i zagrożenia dla środowiska	27
1.3. Remediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi.....	28
1.3.1. Techniki remediacji (wg miejsca, wg metody)	29
1.3.2. Substancje wspomagające stosowane w procesie remediacji	38
1.3.3. Substancje chemiczne (utleniacze)	38
1.3.4. Preparaty biologiczne (mikroorganizmy)	39
1.3.5. Wspomaganie fizyczne (surfaktanty).....	42
2. Cel rozprawy doktorskiej.....	46
3. Tezy pracy.....	47
4. Zakres badań.....	48
5. Materiały i metodyka badań	50
5.1. Opis badanych terenów.....	50
5.2. Parametry terenów badawczych	54
5.2.1. Zastosowane metody i materiały badawcze; analizy fizyczne.....	56
i chemiczne	56
5.3. Przebieg badań laboratoryjnych.....	62
5.3.1. Badania kolumnowe	63
5.3.2. Badania mikrobiologiczne	66
5.3.3. Badania respirometryczne	68
5.4. Przebieg badań terenowych	72
5.5. Modelowanie rozkładu zanieczyszczeń	80
6. Omówienie badań i dyskusja wyników	84
6.1. Wyniki badań laboratoryjnych	84
6.1.1. Wyniki analiz gleby	84
6.1.2. Wyniki badań mikrobiologicznych.....	89

6.1.3.	Wyniki badań respirometrycznych	90
6.2.	Wyniki badań z doświadczeń terenowych	97
6.3.	Dyskusja wyników	110
7.	Wnioski.....	113
8.	Opis wdrożenia	117
9.	Literatura.....	125
10.	Spis rysunków	132
11.	Spis tabel.....	134

Streszczenie

W związku z ciągle rosnącym zapotrzebowaniem i zużyciem paliw i produktów ropopochodnych rośnie niebezpieczeństwo zanieczyszczenia środowiska tymi substancjami. Substancje organiczne stanowią też ogromną część zanieczyszczeń historycznych. Dotyczy to zarówno części terenów działających zakładów przemysłowych, stacji benzynowych czy pasów przydrożnych; jak i terenów poprzemysłowych po zamkniętych czy zlikwidowanych przedsiębiorstwach, bocznicach kolejowych, dawnych terenów wojskowych, lotniskach. W latach 90. XX w. problem zanieczyszczonych gleb i gruntów znalazł się w Polsce w centrum uwagi w związku z zagospodarowaniem opuszczonych przez armię radziecką lotnisk i baz wojskowych. Jednak lista zrealizowanych działań w skali kraju jest bardzo krótka. Zarówno rodzaj zabudowy, powierzchnia jak i stopień skażenia środowiska bywa bardzo różna, dlatego konieczne staje się opracowanie nowych, inteligentnych metod dających się elastycznie zastosować na różnych terenach i w różnych warunkach środowiskowych.

Istnieje wiele metod usuwania tych zanieczyszczeń ze środowiska gruntowo-wodnego jednak większość obarczona jest wadami wynikającymi ze złożoności procesu remediacji, ograniczeniami technicznymi czy zbyt wysokimi kosztami. Często są to też skomplikowane technologicznie metody, wieloetapowe, skupiające się na wypłukiwaniu zanieczyszczeń w głąb profilu gruntowego do wód podziemnych i potem ujmowaniu tych zanieczyszczeń z lustra wody podziemnej, albo preferujące odpompowywanie wody i oczyszczanie jej w nadziemnych systemach kontenerowych.

Niniejsza praca stanowi efekt analizy dotychczas stosowanych metod, ich skuteczności, łatwości użycia w różnych warunkach środowiskowych i terenowych, aspektów ekonomicznych oraz bezpieczeństwa dla ludzi i środowiska. W wyniku tej analizy opracowano i przetestowano system łączący elementy różnych aktualnie stosowanych działań i dostępnych metod usuwania zanieczyszczeń z gruntu (metoda hybrydowa). W założeniu badań połączenie skutecznych elementów różnych metod miało wywołać wielokrotniony pozytywny wynik w postaci skrócenia efektywnego czasu potrzebnego na doprowadzenie gruntu do oczekiwanych parametrów. Rdzeniem tej metody i elementem absolutnie nowym było użycie preparatów biologicznych immobilizowanych w postaci polimerowych kapsułek.

W ramach pracy doktorskiej wyszukano i przeanalizowano kilkanaście obszarów potencjalnie zanieczyszczonych. Wybrano do eksperymentu polowego tereny przemysłowe z dobrze udokumentowaną historią i stwierdzonym od wielu lat zanieczyszczeniem substancjami ropopochodnymi. Istotnym kryterium wyboru był fakt, że tereny te posiadały wieloletnie (nawet ponad dwudziestoletnie) dane monitoringowe potwierdzające rodzaj i stężenie stagujących zanieczyszczeń. Dokładnie zinwentaryzowano i opisano te obszary. Przeprowadzono serię badań laboratoryjnych obejmujących analizy fizyczne, chemiczne i mikrobiologiczne. Oszacowano zasięg skażenia gruntu i zaprojektowano metodę usunięcia rozpoznanych zanieczyszczeń. Wykonano szereg prac polowych w celu przygotowania terenów do zabiegów remediacyjnych i regularnie, zgodnie z projektem i wcześniejszymi założeniami, przez kilkanaście miesięcy realizowano działania naprawcze, aż do osiągnięcia oczekiwanych celów. Przez cały okres doświadczenia polowego prowadzono monitoring środowiska poprzez cykliczny pobór prób glebowych i ich analizę zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami. W toku pracy doktorskiej prowadzono też szereg badań i eksperymentów laboratoryjnych. Zbadano podstawowe parametry fizykochemiczne próbek gruntów pobranych z wybranych terenów takie jak: pH, sucha masa, wodoprzepuszczalność, zawartość węgla, azotu, fosforu i skład granulometryczny.

W celu określenia liczebności i jakości mikroorganizmów z badanych terenów doświadczalnych wykonano analizy mikrobiologiczne na obecność bakterii, promieniowców i grzybów. Analizowano wyłącznie próbki ze strefy skażonej substancjami ropopochodnymi, aby wyizolować te organizmy, które potrafią przetrwać w środowisku zanieczyszczonym tymi właśnie substancjami i które te substancje traktują jako źródło węgla. Na podstawie tych badań wytypowano grupę mikroorganizmów bakteryjnych potencjalnie przydatnych w procesie rozkładu substancji ropopochodnych. Posłużyły one na dalszym etapie prac do produkcji zawiesiny bakteryjnej, która z kolei była podstawowym składnikiem kluczowego biopreparatu immobilizowanego produkowanego na potrzeby eksperymentów polowych. W czasie trwania całego eksperymentu wyprodukowano ponad 5000 kg preparatu immobilizowanego w formie mikrokapsulek polimerowych.

W celu przebadania skuteczności procesu w skali laboratoryjnej zbudowano model profilu glebowego (doświadczenie kolumnowe) zawierający różne rodzaje gleb

skażonych substancjami ropopochodnymi, które poddano działaniom analogicznym do planowanych działań terenowych. Jak pokazała praktyka, eksperyment tego rodzaju okazał się trudny do przeprowadzenia ze względu na brak możliwości odwzorowania istotnych warunków terenowych w skali mikro. Przeprowadzono szereg badań respirometrycznych, polegających na analizie powietrza glebowego pod kątem emitowanych w trakcie procesów glebowych gazów. Badania te prowadzono przy pomocy analizatora gazowego EGA60 firmy Geomorph Technik oraz respirometru ECHO ER firmy Echo Instruments. Pierwsze urządzenie pozwala mierzyć stężenie emitowanego z próbek CO_2 i H_2O , drugie umożliwia pomiar m.in. stężenia CO_2 , H_2O i zużycia tlenu w warunkach kontrolowanej wilgotności, temperatury, ciśnienia i przepływu powietrza. Eksperymenty te pozwoliły na jednoczesne określenie poziomu respiracji gleb poddanych traktowaniu określonymi czynnikami oraz określenie intensywności i kinetyki rozkładu substancji ropopochodnych w czasie rzeczywistym, czyli ich degradacji. Analizie respirometrycznej poddawano modelowe próbki gleb wytworzone w laboratorium, zanieczyszczone olejem napędowym w dokładnie znanej ilości. Próbki te traktowano substancjami stosowanymi równolegle w doświadczeniu polowym. Eksperymenty respirometryczne prowadzono długoterminowo, maksymalnie do 50 dni, aby móc uchwycić pełnię procesów glebowych w dłuższym czasie. Na początku i po zakończeniu eksperymentów próbki poddawano analizie na zawartość substancji ropopochodnych. Ze względu na oczekiwanie utrzymania najwyższej dokładności wyników, próbki glebowe analizowano w akredytowanym laboratorium, o którym mowa w art. 147a ust. 1 pkt 1 lub ust. 1a ustawy z dnia 27 kwietnia 2001 r. – Prawo ochrony środowiska, z zastosowaniem metodyk referencyjnych wykonywania badań zanieczyszczenia gleby i ziemi określonych w załączniku nr 3 do Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz. U. z 2016 r. poz. 1395).

Uzyskane wyniki pozwoliły ocenić różne preparaty pod względem przydatności w procesie usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych ze środowiska gruntowo-wodnego. Badania laboratoryjne pomogły oszacować stopień efektywności różnych substancji i ich wzajemnych połączeń. Eksperymenty polowe potwierdziły zasadność i skuteczność stosowania badanej metody hybrydowej ujętej w opracowany system działania. Odpowiednie połączenie działania różnych substancji, szczególnie bioroztworu mikrokapsułkowanego i biosurfaktantu, w jeden system, daje bardzo dobry

efekt synergistyczny nie tylko w skali laboratoryjnej, ale także, co ważniejsze, w skali zastosowania terenowego.

Zastosowana metoda hybrydowa łączy elementy klasycznych podejść remediacyjnych z zaawansowanymi technologiami biologicznymi, takimi jak immobilizowane mikroorganizmy oraz biosurfaktanty. Opracowana technologia pozwala na skuteczne przyspieszenie procesów biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych, minimalizując ich wpływ na środowisko. Kluczowym elementem tej metody jest zastosowanie preparatów biologicznych w formie mikrokapsulek polimerowych, zawierających wyselekcjonowane mikroorganizmy zdolne do degradacji węglowodorów ropopochodnych. Weryfikacja skuteczności metody odbyła się zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i terenowych. Badania terenowe przeprowadzono na gruntach o dobrze udokumentowanym historycznym skażeniu substancjami ropopochodnymi, potwierdzonymi wieloletnim monitoringiem środowiskowym. Opracowany system hybrydowy zastosowany w tych warunkach pozwolił na znaczącą redukcję stężenia zanieczyszczeń, co potwierdzono na podstawie analiz glebowych. Wykazano, że metoda ta jest bardziej efektywna i przyjazna dla środowiska niż klasyczne techniki remediacji, które często prowadzą do wypłukiwania zanieczyszczeń w głąb profilu gruntowego lub wymagają kosztownych instalacji technologicznych. Wyniki badań potwierdziły wysoki potencjał wdrożeniowy opracowanej technologii, wskazując, że może ona stanowić alternatywę dla tradycyjnych metod oczyszczania gruntów skażonych substancjami ropopochodnymi.

Podsumowując, metoda hybrydowej bioremediacji gruntów stanowi innowacyjne i skuteczne rozwiązanie w zakresie rekultywacji terenów zdegradowanych. Jej wdrożenie pozwala na efektywne oczyszczanie gruntów przy jednoczesnym obniżeniu kosztów operacyjnych oraz ograniczeniu negatywnego wpływu na ekosystemy glebowe. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka, oferując praktyczne narzędzie dla instytucji zajmujących się ochroną środowiska i rekultywacją terenów skażonych.

Abstract

Due to the constantly growing demand and consumption of fuels and petroleum products, the risk of environmental pollution with these substances is growing. Organic substances also constitute a huge part of historical pollution. This applies to both parts of the areas of operating industrial plants, petrol stations or roadside strips; as well as post-industrial areas of closed or liquidated enterprises, railway sidings, former military areas, airports. In the 1990s, the problem of contaminated soils and land became the focus of attention in Poland in connection with the development of airports and military bases abandoned by the Soviet army. However, the list of actions implemented on a national scale is very short. Both the type of development, area and the degree of environmental contamination can vary greatly, which is why it is necessary to develop new, intelligent methods that can be flexibly applied in different areas and in different environmental conditions.

There are many methods for removing these pollutants from the soil and water environment, but most of them have disadvantages resulting from the complexity of the remediation process, technical limitations or excessively high costs. Often, these are also complicated, technologically multi-stage methods, often focusing on flushing pollutants deep into the soil profile to groundwater and then capturing these pollutants from the groundwater table, or preferring to pump out water and purify it in above-ground container systems. This work is the result of an analysis of previously used methods, their effectiveness, ease of use in various environmental and terrain conditions, economic aspects and safety for people and the environment. As a result of this analysis, a system combining elements of various currently used activities and available methods of removing pollutants from the ground (hybrid method) was developed and tested. In the assumption of the research, the combination of effective elements of different methods was to cause a multiplied positive result in the form of shortening the effective time needed to bring the ground to the expected parameters. The core of this method and an absolutely new element was the use of biological preparations immobilized in the form of polymer capsules. As part of the doctoral thesis, several potentially contaminated areas were found and analyzed. Post-industrial areas with a well-documented history, with contamination with petroleum substances detected for many years, were selected for the field experiment.

An important selection criterion was the fact that these areas had many years of monitoring data (even over twenty years) confirming the type and concentration of stagnant pollutants. These areas were carefully inventoried and described. A series of laboratory tests were conducted, including physical, chemical and microbiological analyses. The extent of soil contamination was estimated and a method for removing identified pollutants was designed. A number of field works were carried out to prepare the areas for remediation procedures and remedial actions were regularly carried out, in accordance with the project and previous assumptions, for several months until the expected goals were achieved. Throughout the entire field experiment, environmental monitoring was carried out through cyclical soil sampling and their analysis in accordance with the currently applicable regulations. During the doctoral thesis, a number of studies and laboratory experiments were also conducted. The basic physicochemical parameters of soil samples taken from selected areas were examined, such as: pH, dry mass, water permeability, carbon, nitrogen, phosphorus content and granulometric composition. In order to determine the number and quality of microorganisms from the experimental areas studied, microbiological analyses were performed for the presence of bacteria, actinomycetes and fungi. Only samples from the zone contaminated with petroleum derivatives were analyzed to isolate those organisms that can survive in an environment contaminated with these substances and that treat these substances as a source of carbon. Based on these studies, a group of bacterial microorganisms potentially useful in the process of decomposing petroleum contamination was selected. They were used at a later stage of work to produce bacterial broth, which in turn was the basic component of the key immobilized biopreparation produced for the needs of field experiments. During the entire experiment, over 5,000 kg of the immobilized preparation in the form of polymer microcapsules was produced. In order to test the effectiveness of the process on a laboratory scale, a soil profile model (column experiment) was built containing various types of soils contaminated with petroleum derivatives, which were subjected to activities analogous to the planned field activities. As practice has shown, an experiment of this type turned out to be difficult to conduct due to the lack of possibility of mapping the relevant field conditions on a micro scale. A series of respirometric studies were conducted, consisting in the analysis of soil air for gases emitted during soil processes. These studies were conducted using the EGA60 gas analyzer from Geomor Technik and the ECHO ER respirometer from Echo

Instruments. The first device allows for measuring the concentration of CO₂ and H₂O emitted from samples, the second allows for measuring, among others, the concentration of CO₂, H₂O and oxygen consumption in conditions of controlled humidity, temperature, pressure and air flow. These experiments allowed for the simultaneous determination of the level of respiration of soils subjected to treatment with specific factors and the determination of the intensity and kinetics of the decomposition of petroleum substances in real time, i.e. their degradation. The respirometric analysis was performed on model soil samples produced in the laboratory, contaminated with diesel oil in a precisely known amount. These samples were treated with substances used in parallel in the field experiment. Respirometric experiments were conducted long-term, up to 50 days, in order to capture the full scope of soil processes over a longer period of time. At the beginning and after the end of the experiments, the samples were analyzed for the content of petroleum derivatives. Due to the expectation of maintaining the highest accuracy of the results, the soil samples were analyzed in an accredited laboratory referred to in art. 147a section 1 item 1 or section 1a of the Act of 27 April 2001 - Environmental Protection Law, using reference methodologies for conducting soil and earth pollution tests specified in Annex No. 3 to the Regulation of the Minister of the Environment of 1 September 2016 on the method of conducting the assessment of earth surface pollution (Journal of Laws of 2016, item 1395).

The obtained results allowed us to assess various preparations in terms of their usefulness in the process of removing oil-derived contaminants from the soil and water environment. Laboratory tests helped to estimate the degree of effectiveness of various substances and their mutual connections. Field experiments confirmed the validity and effectiveness of the tested hybrid method included in the developed system of action. The appropriate combination of the action of various substances, especially the microencapsulated biosolution and biosurfactant, in one system, gives a very good synergistic effect not only on a laboratory scale but also, more importantly, on a field scale.

The applied hybrid method combines elements of classic remediation approaches with advanced biological technologies, such as immobilized microorganisms and biosurfactants. The developed technology allows for effective acceleration of the biodegradation processes of oil-derived pollutants, minimizing their impact on the environment. The key element of this method is the use of biological preparations

in the form of polymer microcapsules, containing selected microorganisms capable of degrading oil-derived hydrocarbons. The effectiveness of the method was verified both in laboratory and field conditions. Field studies were conducted on land with well-documented historical contamination with oil-derived substances, confirmed by many years of environmental monitoring. The hybrid system used in these conditions allowed for a significant reduction in the concentration of pollutants, which was confirmed on the basis of soil analyses. It has been shown that this method is more effective and environmentally friendly than classical remediation techniques, which often lead to the leaching of contaminants into the soil profile or require expensive technological installations. The research results confirmed the high implementation potential of the developed technology, indicating that it can be an alternative to traditional methods of cleaning soils contaminated with petroleum derivatives.

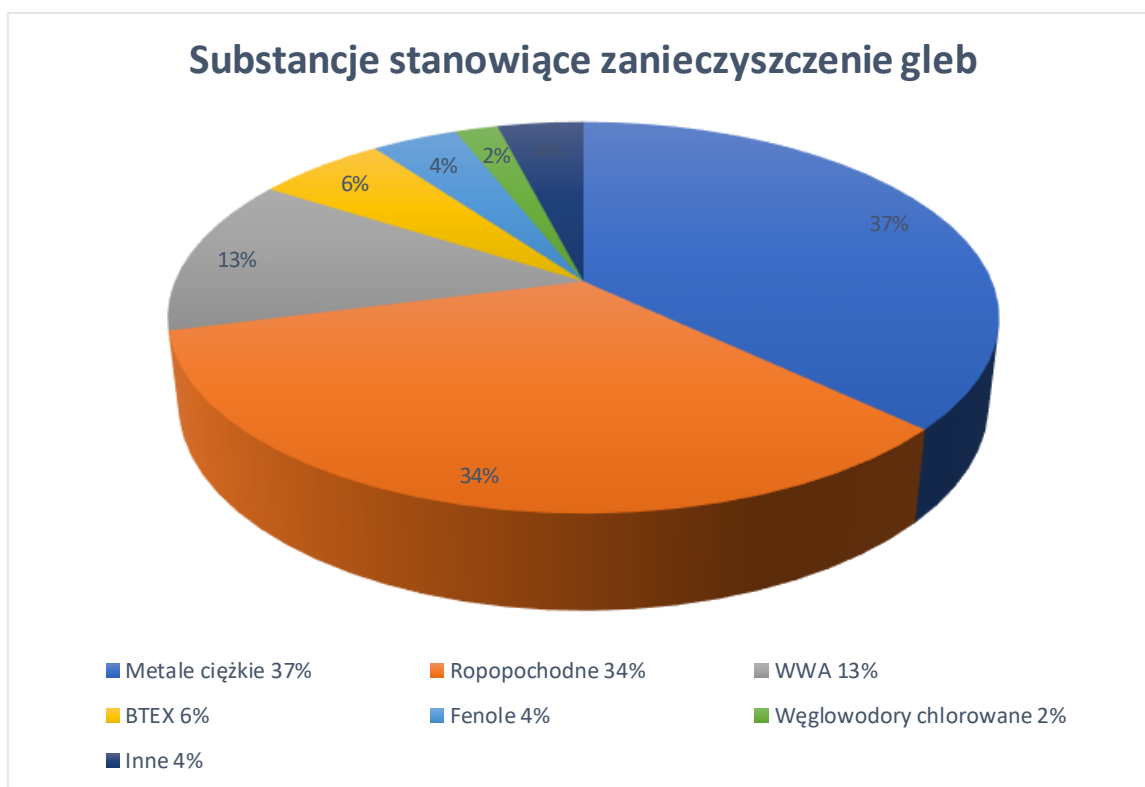
In summary, the hybrid soil bioremediation method is an innovative and effective solution for the remediation of degraded areas. Its implementation allows for effective land remediation while reducing operating costs and limiting the negative impact on soil ecosystems. The obtained results constitute a significant contribution to the development of the discipline of environmental engineering, mining and energy, offering a practical tool for institutions dealing with environmental protection and the remediation of contaminated areas.

1. Przegląd literatury

1.1. Gleby zanieczyszczone substancjami ropopochodnymi

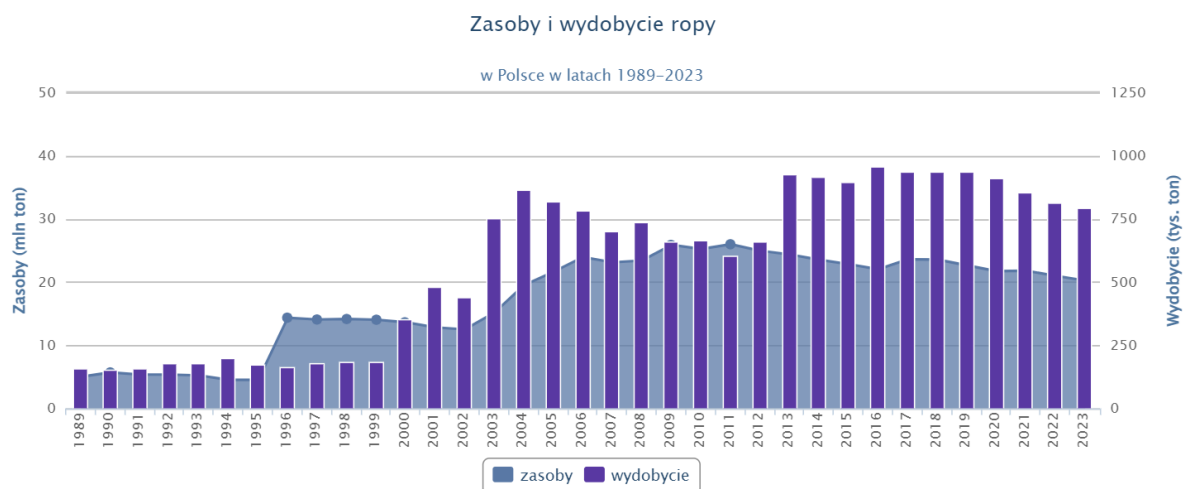
Gleba jako naturalny zasób jest podstawowym elementem środowiska naturalnego odgrywającym kluczowe znaczenie w produkcji rolnej oraz utrzymywaniu równowagi ekologicznej (Lv i in., 2022). Ze względu na funkcje które spełnia, utrzymanie jej zdolności produkcyjnych jest kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania ekosystemu. Gleba jest bowiem źródłem biomasy, rezerwuarem wody oraz odgrywa znaczącą rolę w sekwestracji węgla oraz przemianach biochemicznych (Wyszkowski i in., 2022).

Zanieczyszczenie gleb substancjami ropopochodnymi następujące na skutek industrializacji oraz urbanizacji, jest wyzwaniem wymagającym podjęcia odpowiednich działań skoncentrowanych na eliminacji związków ropopochodnych ze środowiska gruntowo-wodnego (Składowska, 2020). Wynika to głównie z negatywnego wpływu tych substancji na właściwości fizykochemiczne gleby, zagrożenia dla organizmów żywych, strat ekonomicznych oraz pogorszenia jakości powietrza (Lv i in., 2022). Ropa naftowa oraz jej pochodne stanowią drugie najliczniejsze, po metalach ciężkich, zanieczyszczenie gleb (Rysunek 1). Aby opracować i wdrożyć efektywną metodę usunięcia ropy naftowej wraz z jej pochodnymi, należy w pierwszej kolejności zapoznać się z szeroko pojętą charakterystyką zanieczyszczenia, jak i obecnie dostępnymi technologiami remediacyjnymi.



Rysunek 1. Procentowy udział zanieczyszczeń występujących w glebie (Bodziony i in., 2021, zmodyfikowano)

Ropa naftowa jest surowcem szeroko wykorzystywanym w przemyśle i gospodarce. W 2023 roku w Polsce udokumentowano występowanie 88 złóż ropy naftowej (PIB, 2024). Według danych zawartych w Raporcie Rocznym Polskiej Organizacji Przemysłu i Handlu Naftowego (2023) w ubiegłym roku w polskich rafineriach przetworzono prawie 27 mln ton ropy naftowej, przy czym zaimportowano znaczne ilości tego surowca z krajów takich jak Arabia Saudyjska, Norwegia oraz Nigeria, co wiązało się z niewystarczającym pokryciem zapotrzebowania na ropę naftową w Polsce. Co więcej, produkcja paliw płynnych, m.in. benzyny silnikowej, wciąż ulega zwiększeniu. W ostatnich latach obserwuje się tendencję spadkową wydobycia ropy, co w dużej mierze wynika ze zmniejszania się jej zasobów, jak i obecnych regulacji i norm środowiskowych (Rysunek 2).



Rysunek 2. Zasoby i wydobywanie ropy naftowej w Polsce w latach 1989-2023 (PIG-PIB, Czapigo-Czapla i Brzeziński, 2024)

W skład ropy naftowej wchodzi węglowodory alifatyczne, aromatyczne, heterocykliczne oraz asfalteny i związki niewęglowodorowe (Adedeji i in., 2022). Za substancje ropopochodne uznaje się z kolei produkty powstające w wyniku uzyskiwania, konwersji oraz eksploatacji ropy naftowej (Kołodziejcki i Tobiszewski, 2021), głównie zawierające w swoim składzie węglowodory wywodzące się z grup węglowodorów aromatycznych, alkanów i cykloalkanów (Ogutcu i in., 2022). Cechuje je niepolarność, wysoka toksyczność oraz szybkie tempo dyspersji (Rusin i in., 2021).

Wśród klas węglowodorów ropopochodnych wymienia się węglowodory nasycone, aromatyczne, żywice i asfalteny (ang. saturates, aromatics, resins, asphaltens, SARA) (Tabela 1). W zależności od budowy chemicznej ropy naftowej, zawartość atomów węgla mieści się w zakresie 1-100, natomiast temperatura wrzenia wynosi od $-161,60^{\circ}\text{C}$ dla metanu, do ponad 760°C dla bardziej złożonych związków (Shishkova i in., 2022).

Tabela 1. Podział węglowodorów ropopochodnych (na podstawie Ahmad i in., 2020, Sarikoć, 2020, Ogutcu i in., 2022, Wojtkowicz i in., 2022, Antonkiewicz i Gworek, 2023, Primerano i in., 2024)

Klasa	Węglowodory nasycone	Węglowodory aromatyczne	Asfalteny	Żyvice
Przykład	Alkany (m.in. metan, etan, oktan)	Naftaleny, WWA, benzen, toluen, ksylen	Porfiry (bitumen)	Składowe: pirydyny, chinoliny, karbazole, sulfotlenki, amidy
Charakterystyka	Nierozpuszczalne w wodzie, o gęstości niższej niż pozostałe węglowodory. Alkany o łańcuchach prostych wykazują większy potencjał stosowania jako paliwa, ze względu na wyższą odporność na samozapłon w porównaniu do węglowodorów o łańcuchach rozgałęzionych	Wysoka odporność na zapłon. Działanie rakotwórcze, toksyczne, mutagenne, powolne tempo biodegradacji w środowisku glebowym	Węglowodory nierozpuszczalne, nie ulegają biodegradacji. Charakteryzują się wysoką masą cząsteczkową	Wysoka lepkość, złożona struktura chemiczna. Odporność na biodegradację

W zanieczyszczonym środowisku gruntowo-wodnym węglowodory mogą występować w postaci par, w formie rozpuszczonej, zaabsorbowanej lub w postaci fazy nie mieszającej się z wodą (Brzeszcz, Kapusta, 2021). Pierwiastki wchodzące w skład ropy naftowej to przede wszystkim węgiel (ok. 85% zawartości), wodór (ok.

12,5% zawartości) oraz niewielkie ilości siarki, azotu, tlenu i metali (m.in. Ni, Fe) (Sui i in., 2021). Wartości te podlegają zmianom oraz mogą się różnić w zależności od pochodzenia ropy (Antonkiewicz i Gworek, 2023).

1.1.1. Właściwości gleb zanieczyszczonych

W stosunku do gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi odnotowuje się szereg zmian fizykochemicznych, wśród których najczęściej wymienia się zmniejszenie pojemności sorpcyjnej, zwiększenie zawartości węgla organicznego, zmiany pH gleby (Składowska, 2020), spadek gęstości objętościowej (Bodziony i in., 2021), osłabienie wiązań strukturalnych (Izebska-Mucha i in., 2021), spadek zawartości przyswajalności potasu, fosforu oraz magnezu (Brzeszcz, Kapusta, 2021). Zakwaszenie gleb w głównej mierze spowodowane jest przez benzo(a)piren wchodzący w skład ropy naftowej (Sui i in., 2021). Ponadto, odnotowuje się zahamowanie aktywności enzymatycznej, m.in. ureazy i dehydrogenazy, oraz zmiany w różnorodności gatunkowej mikroorganizmów glebowych (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022). Co więcej, wraz ze wzrostem ilości ropy w glebie, obserwuje się spadek przewodności hydraulicznej gruntu (Akpokodje i in., 2022).

Gromadzenie się na powierzchni gleby związków ropopochodnych powoduje powstanie warstwy wołoku, która ogranicza cyrkulację powietrza, jak również przepływ wody (Bodziony i in., 2021), co przyczynia się do wystąpienia warunków beztlenowych w warstwach powierzchniowych (Brzeszcz, Kapusta, 2021). Ze względu na silne powinowactwo sorpcyjne, szczególny problem stanowią wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, które ograniczają cyrkulację powietrza, jak również powodują spadek liczebności bakterii i grzybów (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022).

Problematyczne w kontekście oczyszczania gleb z zanieczyszczeń ropopochodnych są gleby ilaste oraz gleby o dużej zawartości próchnicy. Z kolei piaski charakteryzują się większą średnicą ziaren, a tym samym intensywniejszym procesem wentylacji i rozkładem zanieczyszczeń (Bodziony i in., 2021).

W doświadczeniach prowadzonych przez Izebską-Muchę i in. (2021), mady zanieczyszczone olejem napędowym cechowały się zmienionymi właściwościami geologiczno-inżynierskimi, w tym spadkiem wartości wskaźnika plastyczności oraz zmianami w składzie uziarnienia obserwowanymi w różnicach w zawartości frakcji.

Udział frakcji piaskowej i ilowej uległ bowiem zmniejszeniu, przy jednoczesnym wzroście zawartości frakcji pyłowej. W przypadku plastyczności gruntu, wyższe stężenia wprowadzonych zanieczyszczeń skutkowały jej utratą.

Warto zauważyć, iż rozprzestrzenianiu się w środowisku zanieczyszczeń ropopochodnych może towarzyszyć również wzrost zawartości metali ciężkich, takich jak kadm, ołów, mangan oraz nikiel w glebie (Wyszkowski i in., 2022).

1.1.2. Normy i przepisy prawne

W kontekście wydobywania, przetwarzania ropy naftowej, generowania zanieczyszczeń oraz rekultywacji terenów zanieczyszczonych produktami naftowymi, swoje zastosowanie znajdują odpowiednie normy oraz przepisy prawne. Wśród nich wymienić można:

- Rozporządzenie Ministra Środowiska w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz.U., 2016 poz. 1395)
- Ustawę Prawo ochrony środowiska (Dz.U. 2001 nr 62 poz. 627)
- Rozporządzenie Ministra Klimatu i Środowiska w sprawie szczegółowego sposobu obniżania ilości zapasów obowiązkowych ropy naftowej lub paliw (Dz.U. 2021 poz. 421)
- Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o ochronie gruntów rolnych i leśnych (Dz.U. 2021 poz. 1326)
- Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o zapasach ropy naftowej, produktów naftowych i gazu ziemnego oraz zasadach postępowania w sytuacjach zagrożenia bezpieczeństwa paliwowego państwa i zakłóceń na rynku naftowym (Dz.U. 2023 poz. 1650)
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) w sprawie statystyki energii (2008)

Prawo ochrony środowiska określa zasady ochrony, jak i warunki korzystania z zasobów środowiskowych. W przypadku gruntów i ziem, Państwowy Monitoring Środowiska odpowiedzialny jest za ocenę m.in. jakości gleby oraz rodzajów i ilości substancji wprowadzonych do tego medium. W zakres ochrony gleby wchodzi

utrzymanie jej jakości powyżej lub na poziomie wymaganych standardów oraz w wypadku, gdy jakość jest niska – doprowadzenie do tych standardów. W związku z powyższym, wystąpienie zanieczyszczenia obliguje właścicieli ziemi do przeprowadzenia procesu rekultywacji. Jednak wysoka zawartość substancji szkodliwych w glebie wymaga przeprowadzenia natychmiastowych działań, ze względu na wysokie ryzyko zagrożenia zdrowia lub życia. Wówczas koszty rekultywacji ponosi osoba, która doprowadziła do wystąpienia zanieczyszczenia lub właściciel ziemi.

Ww. Ustawa określa również zasady sporządzania raportów określających stopień oddziaływania planowanych przedsięwzięć na środowisko. Poza koniecznością dostarczenia podstawowych danych dotyczących skali i charakterystyki przedsięwzięcia, w raporcie należy także zawrzeć informacje odnośnie do przewidywanych emisji, oddziaływań na środowisko (również w przypadku awarii) oraz planowane działania zapobiegające negatywnym oddziaływaniom.

Rekultywacja zanieczyszczonej gleby lub ziemi polega na przywróceniu ich do stanu wymaganego standardami jakości. Jako standard określa się z kolei dopuszczalną zawartość substancji znajdujących się w glebie lub ziemi. Obecnie obowiązujące standardy zawarte zostały w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. (Dz.U. 2016 poz. 1395). W załączniku nr 1 podzielono zanieczyszczenia wg rodzajów i grup gruntów. Stężenia podane zostały w mg/kg suchej masy części ziemistych gleby. Przykładowo, dla zanieczyszczeń ropopochodnych występujących do głębokości 0,25 ppt, dopuszczalne zakresy zawartości w glebie wynoszą: 0,1-100 mg/kg dla benzenu, 0,1-20 mg/kg dla naftalenu oraz 0,2-20 mg/kg dla antracenu, w zależności od grupy gruntu. Z kolei ww. związki położone poniżej głębokości 0,25 ppt mogą występować w zakresie stężeń: 1-150 mg/kg dla benzenu i 5-40 mg/kg dla naftalenu oraz antracenu, w zależności od grupy i wodoprzepuszczalności gruntu.

W Rozporządzeniu w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi, wymienione są również instalacje do rafinacji, magazynowania i dystrybucji ropy naftowej. Ponadto wydobywanie ropy w ilości powyżej 500 ton na dobę uznano za działalność mogącą powodować zanieczyszczenie środowiska.

1.2. Substancje ropopochodne w środowisku glebowym

Wśród związków ropopochodnych wymienia się m.in. benzynę, naftę, olej napędowy oraz smary (Adedeji i in., 2022). W odróżnieniu od benzyny, jedynie znikome ilości oleju silnikowego odparowują z gleby, co powoduje, iż stanowi on znacznie trwalsze zanieczyszczenie (Ropek, Gospodarek, 2022). Problem obecności substancji ropopochodnych w środowisku podziemnym i powierzchniowym dotyczy zarówno państw będących liderami w produkcji ropy naftowej, jak i tych, które są jej importerami (Wu i in., 2022). W konsekwencji związki te stanowią na rozległą skalę zagrożenie dla ludzi, zwierząt, roślin oraz dla jakości gleb, powietrza i wód gruntowych.

1.2.1. Źródła zanieczyszczeń

Jedynym z głównych źródeł zanieczyszczeń gleb substancjami ropopochodnymi jest działalność górnictwa naftowego (Wojtkowicz i Steliga, 2023). Ze względu na skalę zapotrzebowania na paliwa, zanieczyszczenie gleb ropą naftową oraz jej pochodnymi jest obecnie problemem globalnym (Adedeji i in., 2022).

Szacuje się, iż blisko 90% zanieczyszczeń środowiska powodowanych przedostawaniem się do wód i gruntu ropy naftowej oraz jej pochodnych, wynika z działalności antropogenicznej (Ambaye i in., 2022). Do przedostawania się tych związków do środowiska gruntowo-wodnego w głównej mierze przyczynia się rozwój przemysłu związany z eksploatacją złóż naftowych, jak również awarie występujące podczas etapu wydobywania, transportu czy magazynowania (Borysiewicz i in., 2020, Składowska, 2020) (Rysunek 3).

Ze względu na skalę zanieczyszczeń, wyróżnić należy zanieczyszczenia punktowe oraz źródła rozproszone. Źródła punktowe związane są przede wszystkim z działalnością zakładów przemysłowych m.in. petrochemicznych, z kolei skażenie na większą skalę może być spowodowane na przykład spływem powierzchniowym prowadzącym do rozprzestrzeniania się związków ropopochodnych oraz większymi awariami (Hewelke i Gozdowski, 2020). Przykładowo awarie systemów kontroli ciśnienia mogą doprowadzić do wybuchów ropy, prowadzących do rozprzestrzeniania się węglowodorów, gazów lub wody (Sales da Silva i in., 2020).

Źródła zanieczyszczeń



Wydobycie, transport,
magazynowanie ropy
naftowej, awarie, rafinacja,
odpady przemysłowe,
spaliny, naturalne emisje

Skutki zanieczyszczeń

- Gleba



Zakwaszenie gleb, spadek przewodności
hydraulicznej, ograniczenie cyrkulacji powietrza
i przepływu wody, spadek gęstości objętościowej,
niższa przyswajalność K, P, Mg,
spadek aktywności enzymatycznej

- Organizmy żywe



Działanie mutagenne,
teratogenne, cytotoksyczne,
neurotoksyczne,
hepatotoksyczne

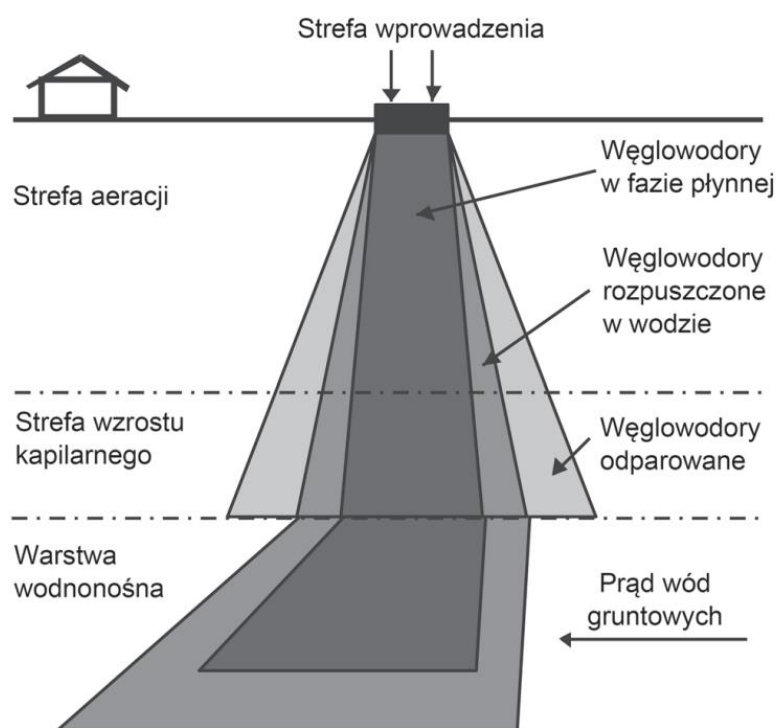
*Rysunek 3. Główne źródła i skutki zanieczyszczeń pochodnymi ropy naftowej
(opracowanie własne, na podstawie Ambaye i in., 2022)*

1.2.2. Rozprzestrzenianie w środowisku i rozkład zanieczyszczeń

Gromadzenie się związków ropopochodnych obserwowane jest na granicy fazy ciekłej, stałej oraz gazowej gleby. Z tego powodu powstałe kompleksy różnią się siłą oraz trwałością wiązania, co bezpośrednio wpływa na biodostępność i rozkład tych związków (Składowska, 2020). Ponadto proces rozkładu substancji ropopochodnych

zależny jest od właściwości gleb, takich jak jej struktura, zawartość składników odżywczych czy wilgotność (Minnikova i in., 2022).

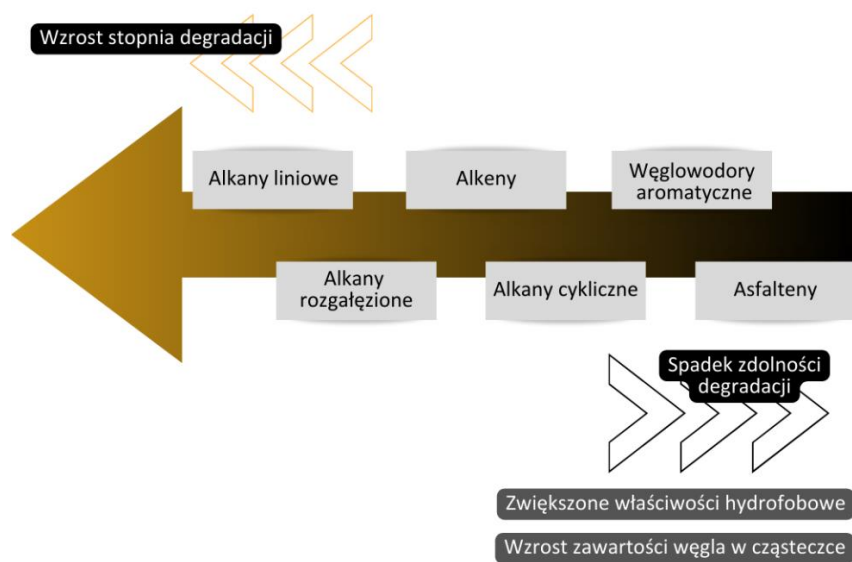
Rozprzestrzenianie się związków ropopochodnych w środowisku gruntowo-wodnym (Rysunek 4) następuje na skutek wymywania zanieczyszczeń do głębszych warstw profilu glebowego, za co odpowiada siła grawitacji oraz siły kapilarne (Składowska, 2020). Dalsza migracja zanieczyszczeń odbywa się pionowo w strefie aeracji do momentu, gdy czoło zanieczyszczenia dotrze do strefy wzniosu kapilarnego. Następuje wówczas horyzontalne przemieszczanie się zanieczyszczeń z udziałem wód podziemnych (Bodziony i in., 2021). Przyjmuje się, iż benzyna penetruje przez warstwy gruntu nawet do 10 razy szybciej niż woda (Mendrycka i in., 2013).



Rysunek 4. Rozprzestrzenianie się węglowodorów ropopochodnych w środowisku gruntowo-wodnym (Mendrycka i in., 2013)

Ze względu na złożoność składowych związków ropopochodnych, wyróżnia się frakcje lotne o niskiej masie cząsteczkowej, frakcje zawierające do 12 atomów węgla w cząsteczce (np. benzyna) oraz złożone węglowodory, takie jak frakcje oleju, które nie ulegają utlenieniu, przechodząc stopniowo do warstw gruntu (Składowska, 2020). Wpływa to na zróżnicowaną rozpuszczalność w wodzie tych związków, jak również odmienny stopień ich podatności na degradację. Tempo rozkładu ropopochodnych

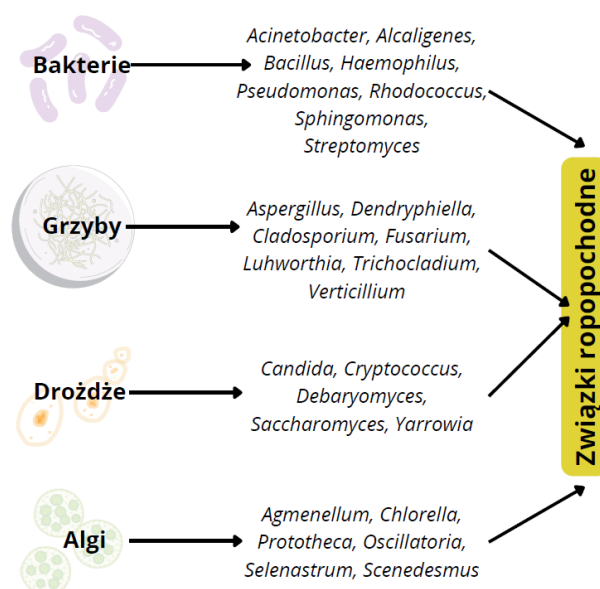
różni się w zależności od klasy zanieczyszczenia. Najszybciej rozkładowi ulegają alkanymi liniowe oraz rozgałęzione, dłuższego czasu wymagają benzen, toluen, etylobenzen, ksilen (BTEX) oraz alkanymi cykliczne. Natomiast wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) są związkami najbardziej czasochłonnymi w rozkładzie mikrobiologicznym (Wojtkowicz i in., 2022) (Rysunek 5).



Rysunek 5. Zdolność rozkładu dla frakcji ropy naftowej (opracowanie własne)

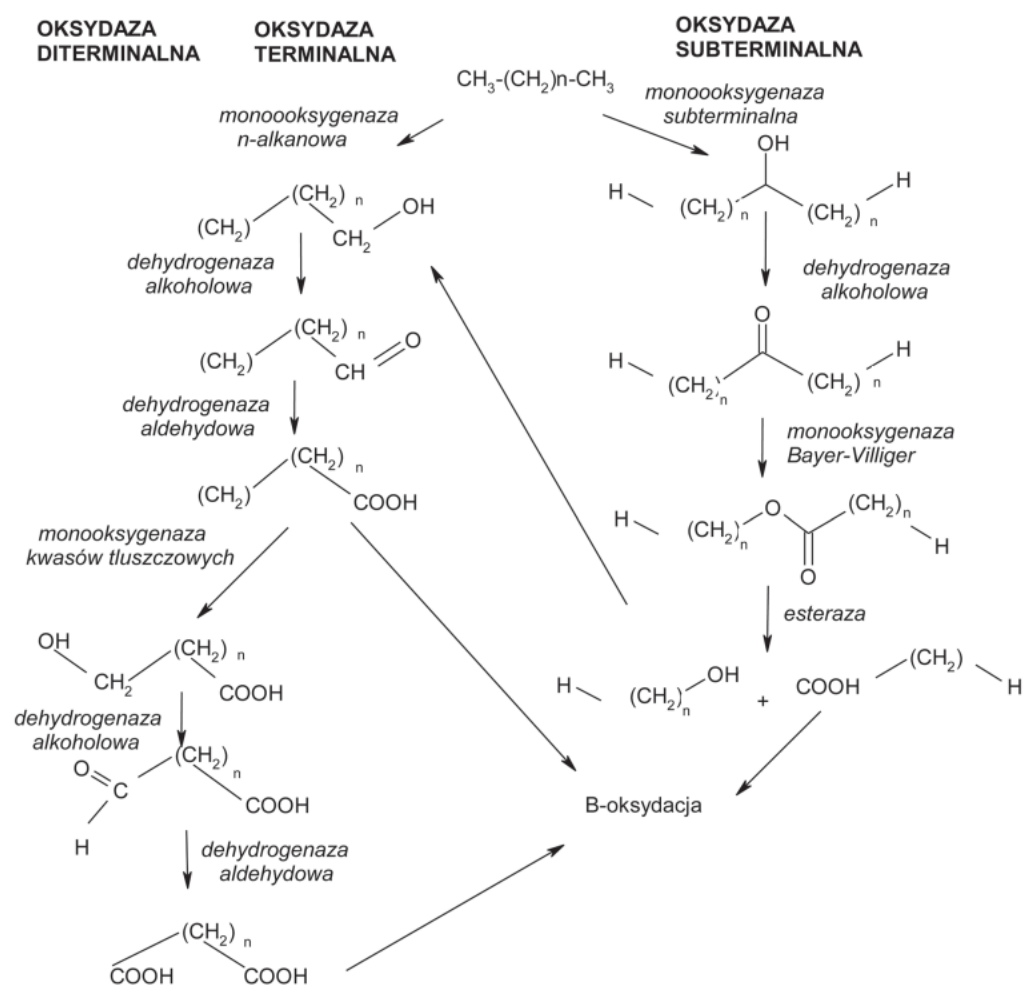
Biodegradacja mikrobiologiczna węglowodorów ropopochodnych zachodzi dzięki szerokiej gamie enzymów, wśród których wyróżnić należy dehydrogenazy, cytochrom P450, laktazy oraz peroksydazy, które wytwarzane są przez bakterie, grzyby nitkowate i drożdże (Rysunek 6). W beztlenowym procesie rozkładu węglowodory ulegają reakcjom karboksylacji, hydroksylacji i metylacji. Anaerobowy proces przekształcania jonów siarczanowych zachodzi przy udziale bakterii redukujących siarczany (SRB), takich jak bakterie należące do rodzajów *Desulfotomaculum* czy *Thermodesulforhabdus*, których obecność stwierdzono w zbiornikach zanieczyszczonych ropą. Degradacja węglowodorów aromatycznych przez bakterie denitryfikacyjne rozpoczyna się od hydrolizy z udziałem dehydrogenazy etylobenzenowej, kończąc na redukcji benzoilu-CoA. W przypadku naftalenu oraz ksylenu pierwszym etapem rozkładu jest natomiast proces metylacji (Cabral i in., 2022).

Rozkład tlenowy zanieczyszczeń ropopochodnych dotyczy przede wszystkim związków alifatycznych, takich jak alkanany. Mikroorganizmy uczestniczące w degradacji wykorzystują reakcje utleniania alkanów do alkoholi, ketonów lub kwasów karboksylowych, a ostatecznie do dwutlenku węgla (Adedeji i in., 2022).



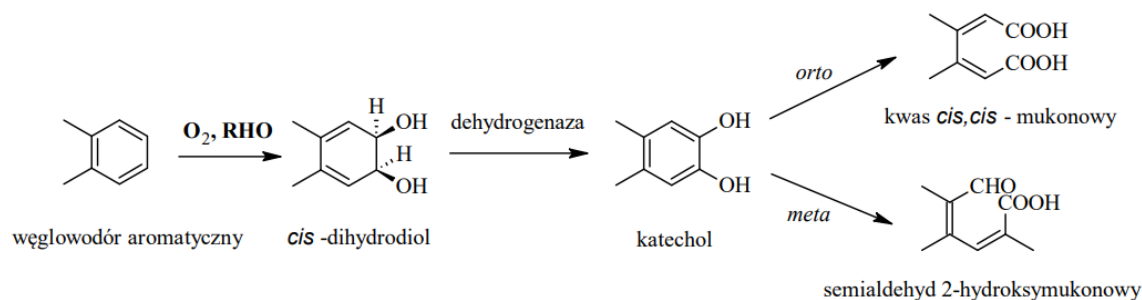
Rysunek 6. Mikroorganizmy uczestniczące w procesie rozkładu związków ropopochodnych (opracowanie własne, na podstawie Adedeji i in., 2022)

Wyróżnia się trzy mechanizmy biodegradacji alkanów o prostych łańcuchach. Są to: oksydacja terminalna, subterminalna oraz diterminalna (Rysunek 7). W przypadku oksydacji terminalnej wbudowanie aktywnego tlenu w wolny koniec łańcucha alkilowego powoduje powstanie alkoholu pierwszorzędowego. Z kolei w wyniku oksydacji subterminalnej tworzony jest alkohol drugorzędowy na skutek utleniania grupy metylenowej. Powstanie aldehydów oraz ketonów następuje w wyniku działania dehydrogenazy alkoholowej. Kolejnym etapem jest utlenianie aldehydów do kwasów karboksylowych (oksydacja terminalna) lub hydroliza powstałych estrów do kwasów karboksylowych i alkoholi (oksydacja subterminalna). Oksydacja diterminalna obejmuje natomiast utlenianie obu końców łańcucha węglowego, co prowadzi do powstania kwasu dikarboksylowego, a następnie – acetylo-CoA (Mendrycka i in., 2013).



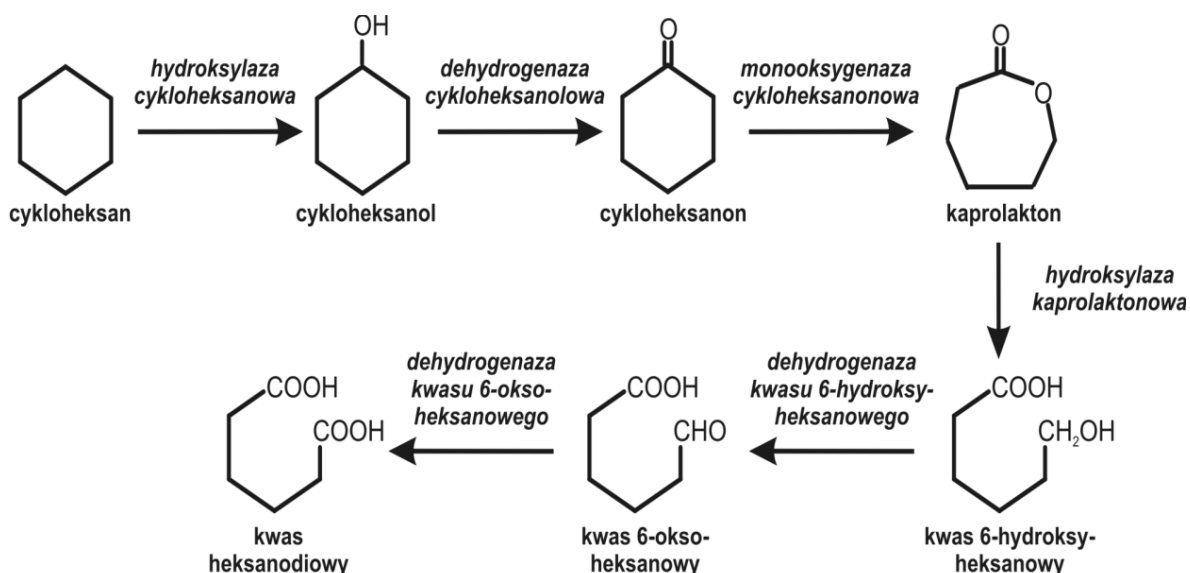
Rysunek 7. Biodegradacja tlenowa alkanów nasyconych o prostych łańcuchach (Mendrycka i in., 2013)

Niemniej jednak dużą część ropopochodnych trafiających do gleb stanowią związki aromatyczne. Węglowodory są hydrolizowane w obecności tlenu przez dioksygenazę RHD, powstały w wyniku rozkładu produkt – *cis*-dihydrodiol jest następnie przekształcany do katecholu. Jako szlaki degradacji tlenowej katecholu wymienia się szlak intradiolowy (szlak *orto*) oraz szlak ekstradiolowy (szlak *meta*). Pierwszy spośród szlaków transformacji opiera się na rozkładzie katecholu do kwasu *cis,cis*-mukonowego lub do jego pochodnych. Z kolei w wyniku rozkładu katecholu następującego w szlaku ekstradiolowego powstają semialdehyd kwasu 2-hydroksymukonowego lub związki pochodne (Rysunek 8) (Miksch i in., 2016).



Rysunek 8. Szlaki biodegradacji węglowodorów aromatycznych (Brzeszcz, 2023)

Szlak degradacji cyklicznych alkanów został przedstawiony na przykładzie cykloheksanu, który ulega biodegradacji z udziałem bakterii, takich jak *Acinetobacter*, *Brevibacterium* czy *Arthrobacter* (Rysunek 9). W procesie rozkładu cykloheksanu wyróżnia się etapy utleniania z udziałem hydroksylazy cykloheksanowej, dehydrogenacji przez dehydrogenazę cykloheksanolową, utleniania przez monooksydazę cykloheksanową, rozszczepienie pierścienia kaprolaktonu z udziałem hydroksylazy oraz dehydrogenację powstałych produktów pośrednich do kwasu heksanodiowego, który następnie jest degradowany w procesie β -oksydacji (Guzik i in., 2010).



Rysunek 9. Biodegradacja cykloheksanu (Guzik i in., 2010)

1.2.3. Wpływ na organizmy i zagrożenia dla środowiska

Na sposób, jak i na zasięg oddziaływania ropy naftowej oraz jej pochodnych na organizmy żywe i środowisko wpływa wiele czynników, wśród których wyróżnić należy odmienne właściwości substancji zanieczyszczających oraz zróżnicowany skład podłoża glebowego (Bodziony i in., 2021). Obecność związków ropopochodnych prowadzi do zmian zarówno w środowisku gruntowo-wodnym, jak i w atmosferze i innych zasobach wodnych (Sales de Silva i in., 2020).

Pochodne ropy naftowej przedostają się do organizmów żywych poprzez okrywy ciał lub żywność, następnie mogą ulec akumulacji wewnątrz organizmu (Ropek, Gospodarek, 2022). Poważnym zagrożeniem dla zdrowia, powodującym m.in. choroby układu oddechowego oraz skóry, jest również ulatnianie i rozpraszanie olejów w powietrzu (Lv i in., 2022). Pochodne ropy naftowej powodują uwalnianie związków takich jak dwutlenek węgla, tlenki azotu oraz tlenek węgla do atmosfery, co w konsekwencji prowadzi do zanieczyszczenia również tego medium (Sales da Silva i in., 2020).

Występowanie zanieczyszczeń w glebie prowadzi do zaburzeń funkcjonowania ekosystemu, co związane jest z zakłóceniami cykli biochemicznych (Bodziony i in., 2021). W środowiskach zanieczyszczonych zaobserwowano m.in. spadek tempa podziałów komórkowych wśród mikroorganizmów glebowych oraz zahamowanie ich aktywności (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022). Ponadto odnotowano zmniejszenie liczebności bakterii m.in. rodzaju *Azotobacter* i *Pseudomonas* (Wyszkowski i in., 2022). Negatywnym zmianom podlegają także organizmy glebowe, takie jak dżdżownice, u których na skutek ekspozycji na węglowodory mogą zachodzić zmiany w postaci zmniejszenia masy ciała czy uszkodzeń DNA (Ambaye i in., 2022).

Z kolei w odniesieniu do roślin, związki ropopochodne przedostają się poprzez systemy korzeniowe do liści, łodyg oraz owoców, gdzie następuje ich akumulacja (Sui i in., 2021). Powoduje to zahamowanie procesu kiełkowania nasion, zmniejszenie długości korzeni oraz spadek plonowania na skutek ograniczeń pobierania wody wraz ze składnikami mineralnymi. Co więcej, badania wskazują na zmiany zawartości pigmentów oraz zmniejszenie powierzchni liści, jak również wyższe ryzyko wystąpienia stresu oksydacyjnego u roślin uprawianych na glebach zanieczyszczonych (Ambaye i in., 2022). Szczególnym zagrożeniem dla roślin są węglowodory o niskiej masie

cząsteczkowej, które mogą przedostać się do wnętrza komórek, powodując zaburzenia szlaków metabolicznych (Adedeji i in., 2022).

Pobieranie przez rośliny związków ropopochodnych może przyczyniać się do przedostawania się części zanieczyszczeń do kolejnych ogniw łańcucha troficznego, m.in. bezkręgowców roślinożernych. Badania przeprowadzone przez Rusin i in. (2017) potwierdzają negatywne działanie substancji ropopochodnych względem mszycy fasolowej (*Aphis fabae* Scop.), u której stwierdzono zaburzenia tempa wzrostu, spadek zdolności rozrodczych czy skrócenie długości życia. Obserwuje się również obniżenie wirulencji wobec owadów u nicieni *Steinernema feltiae* narażonych na działanie benzyny, olejów silnikowych oraz napędowych (Ropek, Gospodarek, 2022).

Związki ropopochodne wykazują toksyczne działanie także względem ludzi. Głównymi drogami przedostawania się substancji będących pochodnymi ropy naftowej do organizmu człowieka są: droga oddechowa, kontakt ze skórą oraz droga pokarmowa (Siu i in., 2021). Obserwuje się powstanie zmian nowotworowych oraz zaburzeń funkcjonowania układu nerwowego, immunologicznego, sercowo-naczyniowego (Ambaye i in., 2022), odnotowuje się także występowanie halucynacji wzrokowych oraz słuchowych (Siu i in., 2022), będące konsekwencją narażenia na omawiane zanieczyszczenia.

1.3. Remediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi

Remediacja gleb skażonych ma na celu trwałe usunięcie zanieczyszczeń lub ich konwersję do form mniej toksycznych, dzięki czemu możliwe jest przywrócenie użyteczności gleb. Degradacja pochodnych ropy naftowej może zachodzić na drodze naturalnej lub wspomaganej m.in. dodatkami glebowymi, takimi jak biopreparaty czy utleniacze. Jednym z pierwszych działań, jakie należy podjąć przed doborem metody rekultywacji dla danego terenu, jest określenie stopnia i charakteru występującego zanieczyszczenia. Oznaczanie substancji ropopochodnych w glebie możliwe jest dzięki metodom, takim jak chromatografia gazowa, spektrofлуorymetria czy analiza grawimetryczna (Kołodziejski i Tobiszewski, 2021). Ponadto należy przeprowadzić badania dotyczące składu fizykochemicznego oraz mikrobiologicznego planowanego do remediacji terenu. Podstawowe badania obejmują m.in. oznaczenie liczebności

mikroorganizmów glebowych, pomiar zawartości metali ciężkich, pH, potencjału redoks czy wykonanie analizy granulometrycznej (Antonkiewicz i Gworek, 2023).

1.3.1. Techniki remediacji (wg miejsca, wg metody)

Techniki remediacji można rozpatrywać pod kątem miejsca prowadzenia zabiegu (*in situ/ex-situ*) oraz zastosowanej metody oczyszczania. W przypadku remediacji *in situ*, proces prowadzony jest w miejscu występowania danego zanieczyszczenia, co redukuje koszty związane z koniecznością poboru i przeniesienia gleby, w przeciwieństwie do technik *ex-situ* (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022). Remediacja *ex-situ* w przypadku metod fizycznych odnosi się do technologii, takich jak płukanie gruntu, wentylowanie czy desorpcja termiczna, z kolei metody biologiczne remediacji *ex-situ* to m.in. landfarming (LF), kompostowanie oraz biodegradacja w bioreaktorach (Antonkiewicz i Gworek, 2023). Zasadniczo przyjmuje się, iż metody *ex-situ* są mniej czasochłonne oraz łatwiejsze w kontroli warunków procesu oczyszczania. Niemniej przy wyborze techniki remediacji poza wspomnianymi czynnikami, należy uwzględnić szereg dodatkowych aspektów, takich jak cena kosztów operacyjnych, rodzaj i skala zanieczyszczenia oraz jego lokalizacja (Sales da Silva i in., 2020).

Wśród metod remediacyjnych mających na celu redukcję zanieczyszczeń gleb ropą naftową oraz jej pochodnymi, wyróżnić można metody fizyczne (Tabela 2), chemiczne (Tabela 3) oraz biologiczne (Tabela 4). Jednakże stosowanie metod fizykochemicznych związane jest zazwyczaj z wyższymi kosztami zabiegów rekultywacyjnych oraz koniecznością wprowadzania do środowiska dodatkowych związków, takich jak dyspergatory chemiczne, co może stanowić zagrożenie wtórnym zanieczyszczeniem gruntu. Co więcej, przyjmuje się, iż wspomniane techniki remediacji mogą okazać się mniej skuteczne od metod biologicznych oczyszczania gleb (Minnikova i in., 2022). Wybór technologii oczyszczania uzależniony jest od analiz wstępnych dotyczących rodzaju gruntu, charakterystyki oraz skali zanieczyszczenia, jak również powinien opierać się na analizach ekonomicznych uwzględniając zakładany czas procesu (Da Silva i in., 2021).

Istotnym z punktu widzenia ograniczenia migracji zanieczyszczeń jest proces izolacji pochodnych ropy naftowej od głębszych warstw gruntu. W tym wypadku

zastosowanie znajduje glina, cement oraz inne materiały wykazujące właściwości izolacyjne (Lv i in., 2022).

Tabela 2. Metody fizyczne remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Płukanie gruntu (ang. soil-washing)	Metoda <i>ex-situ</i> polegająca na separacji fizykochemicznej i rozproszeniu cząstek węglowodorów przy wykorzystaniu gliny	Usuwanie węglowodorów naftowych i metali ciężkich	Efektywne usunięcie WWA, możliwe zwiększenie skuteczności poprzez dodatek surfaktantów, prostota metody	Metoda długotrwała i kosztowna	Ahmad i in. (2020), Ambaye i in., (2022), Ogutcu i in., (2022)
Adsorpcja	Zatrzymywanie cząstek zanieczyszczeń na powierzchni adsorbentu dzięki siłom Van-Der-Waalsa	Oczyszczanie wierzchniej warstwy gleby z pochodnych ropy naftowej	Skuteczna sorpcja WWA ze środowiska gruntowego, nie wymaga wysokich temperatur i energii aktywacji	Zależność od zdolności regeneracji adsorbentu, stężeń zanieczyszczeń oraz warunków środowiskowych	Aljamali i in. (2021), Ambaye i in., (2022), Ogutcu i in., (2022)
Ultrasonifikacja	Desorpcja zanieczyszczeń, tworzenie utleniaczy i wolnych rodników pod wpływem ultradźwięków	Węglowodory naftowe	Wysoka wydajność procesu, łatwa kontrola, metoda uznawana za bezpieczną dla środowiska	Wysokie zużycie energii	Adedeji i in. (2022), Daâssi i Qabil Almaghribi, (2022), Li i in. (2020), Luo i in. (2021)

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Ekstrakcja parowa (ang. vapor extraction)	Metoda <i>in situ</i> polegająca na desorpcji lotnych związków organicznych na skutek wstrzykiwania powietrza do gleby	Zanieczyszczenia lotne	Niskie koszty, wysoka wydajność, krótki czas oczyszczania	Zależność od stopnia przepuszczalności gleb, wymagany specjalistyczny sprzęt, wysokie zużycie energii, ryzyko zanieczyszczenia wtórnego	Ambaye i in., (2022), Daâssi i Qabil Almaghribi, (2022), Lv i in. (2022)
Desorpcja termiczna	Metoda <i>ex situ</i> oparta na procesie rozpraszania zanieczyszczeń pod wpływem ciepła. Następuje zmniejszenie lepkości oraz wzrost rozpuszczalności ropopochodnych	Wysokie stężenia ropy naftowej, oleje	Wysoka wydajność sięgająca do poziomu ok. 90% redukcji zanieczyszczeń	Duże zapotrzebowanie na energię, wysokie koszty operacyjne, zmiany właściwości fizykochemicznych gleb	Ahmad i in. (2020), Adedeji i in. (2022), Ambaye i in., (2022), Daâssi i Qabil Almaghribi, (2022), Lv i in. (2022)

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Wertyfikacja	Zeszklenie gleby w celu unieruchmienia zanieczyszczeń	Zanieczyszczenia organiczne	Wysoka efektywność immobilizacji	Wysokie zapotrzebowanie na energię, konieczne wykonanie szczelnej instalacji	Ambaye i in., (2022), Antonkiewicz i Gworek (2023)

Metody chemiczne remediacji związków ropopochodnych opierają się głównie na reakcji utleniania chemicznego z wykorzystaniem środków takich jak ozon, nadtlenek wodoru, nadsiarczany oraz nadmanganiany (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022). Remediacja chemiczna jest stosowana przede wszystkim w początkowych etapach przetwarzania zanieczyszczeń do związków o wyższym stopniu biodegradacji (Adedeji i in., 2022).

Tabela 3. Metody chemiczne remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Utlenianie chemiczne	Metoda <i>in situ</i> wykorzystująca utleniacze m.in. ozon, H ₂ O ₂ w celu przekształcenia zanieczyszczeń do form mniej toksycznych	Oleje, WWA	Uzyskanie związków o niższej toksyczności, wysoka efektywność oczyszczania sięgająca >90%	Zużywanie środków utleniających (m.in. przez substancje organiczne w glebie, metale ciężkie itd.), ograniczona skuteczność utleniania, możliwe zahamowanie wzrostu i liczebności mikroorganizmów glebowych	Sui i in. (2021), Ambaye i in., (2022), Ogutcu i in., (2022)

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Utlenianie fotokatalityczne	Zastosowanie katalizatorów (np. SnO_2 , TiO_2) oraz promieniowania UV promujące rozkład zanieczyszczeń	Oleje, WWA	Wysoka efektywność utleniania i tym samym konwersji zanieczyszczeń	Ryzyko zanieczyszczenia wtórnego, efektywność zależna od zawartości wilgoci w glebie i właściwości absorpcyjnych światła	Adedeji i in. (2022), Lv i in. (2022)
Wypłukiwanie surfaktantów	Wprowadzenie rozpuszczalników chemicznych powodujących degradację węglowodorów	WWA, benzyna, nafta	Wysoka efektywność rozpuszczania zanieczyszczeń i tym samym oczyszczania, niskie zużycie energii	Wprowadzanie do gleby związków mogących powodować zanieczyszczenie wtórne	Lv i in. (2022)
Utlenianie plazmowe	Wykorzystanie koronowych wyładowań pulsacyjnych generujących plazmę zawierającą jony i atomy utleniające zanieczyszczenia	Oleje	Skuteczność oczyszczania powyżej 70% dla węglowodorów nasyconych	Wyższy stopień wilgotności gleby, zmniejsza efektywność remediacji, zastosowanie do gleb o obojętnym odczynie, wysokie koszty procesu, zanieczyszczenia głębiej położone są trudniej usuwalne	Zhao i in. (2021), Adedeji i in. (2022)

Techniki bioremediacyjne opierają się na zdolnościach mikroorganizmów do degradacji zanieczyszczeń (Rusin i in., 2021). Biodegradacja węglowodorów zachodzić może zarówno w warunkach aerobowych, jak i anaerobowych. W pierwszym przypadku ostatecznym akceptorem elektronów wykazującym wyższy

potencjał redoks od substratu jest tlen, z kolei w przypadku procesów beztlenowych przeprowadzanych głównie przez bakterie metanogenne oraz denitryfikujące, akceptorem elektronów są związki takie jak azotany, węglany, siarczany (Brzeszcz, Kapusta, 2021).

Biodegradacja jest jedną z przyjaznych środowisku metod rekultywacyjnych, która znajduje swoje szerokie zastosowanie w usuwaniu związków ropopochodnych. Mikroorganizmy biorące udział w procesie degradacji biologicznej wykazują wysokie zdolności do rozkładu zanieczyszczeń do form mniej lub całkowicie nietoksycznych (Wojtkowicz i Steliga, 2023). Bioaugmentacja służąca zwiększeniu stopnia degradacji, polega na wprowadzeniu mikroorganizmów do gleby, przy czym szczególnie znaczenie mają gatunki rodzime przystosowane do wysokich stężeń zanieczyszczeń (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022).

Remediacja z udziałem grzybów (m.in. z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* czy *Trichoderma*) jest obiecującą techniką pozwalającą na degradację WWA. Szczególne znaczenie odgrywają grzyby białej zgnilizny i grzyby mikoryzowe. Technika ta jest skuteczna przy rozkładzie np. oleju silnikowego i fenantrenu. Ponadto wśród metod biologicznego oczyszczania swoje zastosowanie znajdują algi (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022) oraz dżdżownice (Lv i in., 2022). Badania przeprowadzone przez Gospodarek i in. (2022) nad potencjałem stosowania prosionków *Porcellio scaber* Latr. oraz dżdżownic gatunku *Lumbricus terrestris* L. w remediacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi potwierdzają skuteczność redukcji zanieczyszczeń węglowodorów aromatycznych, z udziałem ww. gatunków, wynoszącą 29% w pierwszym miesiącu hodowli. Jednak ropopochodne gromadząc się w tkankach zwierząt doprowadziły do znacznego wzrostu śmiertelności, co było szczególnie widoczne u dżdżownic.

Jedną z technologii biologicznego oczyszczania gleb jest proces fitoremediacji stosowany do usuwania związków ropopochodnych. Polega on na zastosowaniu roślin w pobieraniu lub zatrzymywaniu zanieczyszczeń w glebie. W tym miejscu wyróżnić należy procesy, takie jak fitoekstrakcja, polegająca na translokacji zanieczyszczeń do części nadziemnych roślin, fitostabilizacja, dzięki której możliwe jest zatrzymywanie zanieczyszczeń w glebie oraz fitodegradacja odbywająca się wewnątrz roślin bądź w środowisku glebowym na skutek działania enzymów roślinnych. Dobór technologii, jak i gatunku rośliny, zależy od zakresu tolerancji danego gatunku względem obecności wysokich stężeń substancji ropopochodnych oraz zamierzonego efektu

oczyszczania. W przypadku usuwania z gleb węglowodorów, stosuje się rośliny zwane naftofitami, które cechuje rozbudowany system korzeniowy (Składowska, 2020), wysokie zdolności do absorpcji, jak również akumulacji i/lub degradacji związków ropopochodnych. Wśród naftofitów często wymienia się rośliny takie jak kukurydza zwyczajna, życica, kostrzewa trzcinowa oraz komonica zwyczajna (Wojtkowicz i Steliga, 2023). Przyjmuje się, iż koszty oczyszczania gleb na drodze fitoremediacji są 10-krotnie niższe niż w przypadku zastosowania metod fizycznych czy chemicznych (Składowska, 2020).

Swoją rolę w oczyszczaniu środowiska gruntowo-wodnego z pochodnych ropy naftowej odgrywa również biowęgiel będący wydajnym sorbentem zanieczyszczeń. Charakteryzuje się wysoką stabilnością, porowatością oraz dużą powierzchnią właściwą zapewniającą skuteczne unieruchomienie mikroorganizmów degradujących, przyczyniając się równocześnie do zwiększenia dostępności źródeł węgla (Sui i in., 2021).

Tabela 4. Metody biologiczne remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Landfarming	Napowietrzanie gleby ze stymulowaniem biodegradacji po umieszczeniu cienkich warstw gleby na nieprzepuszczalnym podłożu	Do węglowodorów w ropopochodnych znajdujących się na wierzchniej warstwie gruntu	Stymulowanie wzrostu mikroorganizmów, metoda bezpieczna ekologicznie	Czas oczyszczania od 1 roku do 3 lat, zapotrzebowanie na dużą powierzchnię, niski stopień usunięcia związków nieorganicznych, uwalnianie LZO	Sales da Silva i in. (2020), Ogutcu i in., (2022), Antonkiewicz i Gworek (2023)

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Fitoremediacja	Usuwanie lub zatrzymywanie zanieczyszczeń w środowisku gruntowo-wodnym przy udziale roślin (technologia <i>in situ</i>)	Ropopochodne, np. piren, trinitrotoluen, WWA	Technologia opłacalna ekonomicznie oraz przyjazna dla środowiska naturalnego	Długi czas trwania procesu, selektywna przepuszczalność ścian komórkowych roślin względem węglowodorów ropopochodnych	Daâssi i Qabil Almaghribi, (2022), Lv i in. (2022)
Biostymulacja	Wprowadzenie tlenu i/lub substancji odżywczych bogatych w azot, fosfor i potas (np. w postaci nieorganicznych nawozów). Technologia <i>in situ</i>	Zanieczyszczenie ropą naftową i/lub WWA	Stymulowanie wzrostu mikroorganizmów, poprawa wydajności biodegradacji	Wymagany nadzór, możliwe niepożądane skutki uboczne, tj. zanieczyszczenia wtórne	Daâssi i Qabil Almaghribi (2022), Minnikova i in. (2022)
Bioaugmentacja	Zwiększenie liczebności populacji mikroorganizmów w miejscu występowania zanieczyszczenia poprzez szczepienie gleby. Technologia <i>in situ</i>	Spadek/brak mikroorganizmów zdolnych do degradacji węglowodorów przy występowaniu wysokich stężeń oleju. Zastosowanie zarówno do lekkich, jak i ciężkich frakcji ropy naftowej.	Wzrost efektywności rozkładu WWA	Konieczność selekcji i aplikacji odpowiednich szczepów, zmiany różnorodności mikrobiologicznej, zależność od biodostępności związków ropopochodnych	Konur (2021), Daâssi i Qabil Almaghribi (2022)

Metoda	Zasada działania	Zastosowanie	Zalety	Wady	Literatura
Kompostowanie	Utlenianie zanieczyszczeń z udziałem mikroorganizmów, technologia <i>ex-situ</i>	Węglowodory ropopochodne	Wzbogacenie jakości gleby, wysoka skuteczność przy stosowaniu współkompostowania	Konieczność stałego monitorowania procesu, nieprzyjemny zapach	Adedeji i in. (2022), Daâssi i Qabil Almaghrib i (2022), Antonkiewicz i Gworek (2023)
Biopiling	Tworzenie pryzm zanieczyszczonych gleb i stymulowanie rozkładu zanieczyszczeń petrochemicznych przez mikroorganizmy w wyniku napowietrzania, regulacji pH, dodatku N i P (technologia <i>ex-situ</i>)	Węglowodory ropopochodne – lżejsze frakcje (np. benzyna) są usuwane w procesie napowietrzania, z kolei węglowodory, takie jak olej, nafta – w procesie biodegradacji	Wysoka skuteczność usuwania trudnych w desorpcji zanieczyszczeń	Wymagany duży teren do budowy pryzm, konieczne wykonanie odpowiedniej instalacji, możliwe ograniczenia aktywności mikrobiologicznej	Sales da Silva i in. (2020), Adedeji i in. (2022)

1.3.2. Substancje wspomagające stosowane w procesie remediacji

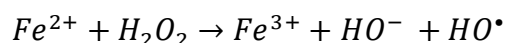
Celem stosowania substancji wspomagających w procesie remediacji jest zwiększenie aktywności mikroorganizmów odpowiadających za biodegradację zanieczyszczeń oraz napowietrzanie gleby stymulujące rozkład hydrofobowych związków. Niejednokrotnie analizowano wpływ substancji chemicznych, dodatków biologicznych oraz surfaktantów na efektywność procesu degradacji ropy naftowej oraz jej pochodnych. Coraz częściej skłania się ku technikom remediacji hybrydowej polegającym na łączeniu metod fizycznych, chemicznych oraz biologicznych (Sui i in., 2021).

1.3.3. Substancje chemiczne (utleniacze)

Substancje chemiczne stosowane wspomagająco w remediacji to między innymi nadtlenek wodoru, odczynnik Fentona, nadsiarczany i nadmanganiany. Utleniacze zostają wprowadzone do gleby, następnie w wyniku reakcji utleniania związki ropopochodne są przekształcane do form mniej toksycznych, co możliwe jest dzięki tworzeniu reaktywnych rodników (Li i in., 2020). Zazwyczaj ilość wprowadzanych utleniaczy wynosi kilka g-kg na kg gleby (Apul i in., 2022).

Stosowanie H_2O_2 ma wiele zalet, do których należą dostępność nadtlenu wodoru, wysoki potencjał redoks, brak wytwarzania substancji toksycznych w procesie utleniania. Z kolei wadą jest niestabilność związku, co ogranicza jego skuteczność. Nadmanganiany są o wiele bardziej stabilne, choć mniej efektywne w zestawieniu z pozostałymi często stosowanymi utleniaczami. Odczynnik Fentona składa się natomiast z nadtlenu wodoru oraz jonów żelaza (II) i jest obecnie jednym z najskuteczniejszych środków utleniających (Zgang i in., 2024). Choć podstawowa reakcja oksydacji z wykorzystaniem odczynnika Fentona jest prosta (Równanie I; Yang i in., 2020), proces wymaga kwaśnego pH gleby, co generuje dodatkowe koszty. W związku z tym coraz częściej stosuje się metody zmodyfikowanego utleniania z wykorzystaniem omawianego środka w postaci rozpuszczalnego żelaza (II) z dodatkiem substancji chelatujących wiążących jony metali. Chelatorami mogą być m.in. kwas cytrynowy, kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) czy kwas etylenodiamino-N,N'-dibursztynowy (EDDS) (Usman i in., 2022).

Równanie I:



Zhang i in. (2024) badając skuteczność stosowania środków utleniających (H_2O_2 , $Na_2S_2O_8$, $KMnO_4$, odczynnik Fentona) w remediacji gleb skażonych benzyną, toluenem, etylobenzenem oraz ksylenem, stwierdzili najwyższą efektywność usunięcia BTEX po zastosowaniu nadsiarczanu sodu, natomiast w największym stopniu utleniony został ksylen. Z kolei Apul i in. (2022) wykorzystując nadtlenek wodoru, odczynnik Fentona oraz nadwęglan sodu w połączeniu z biostymulacją, ocenili skuteczność rozkładu ropy naftowej. Efektywność degradacji z wykorzystaniem H_2O_2 była jednak znacznie niższa niż zakładano. Co więcej, stwierdzono ograniczający wpływ zastosowanych środków utleniających względem liczebności mikroorganizmów.

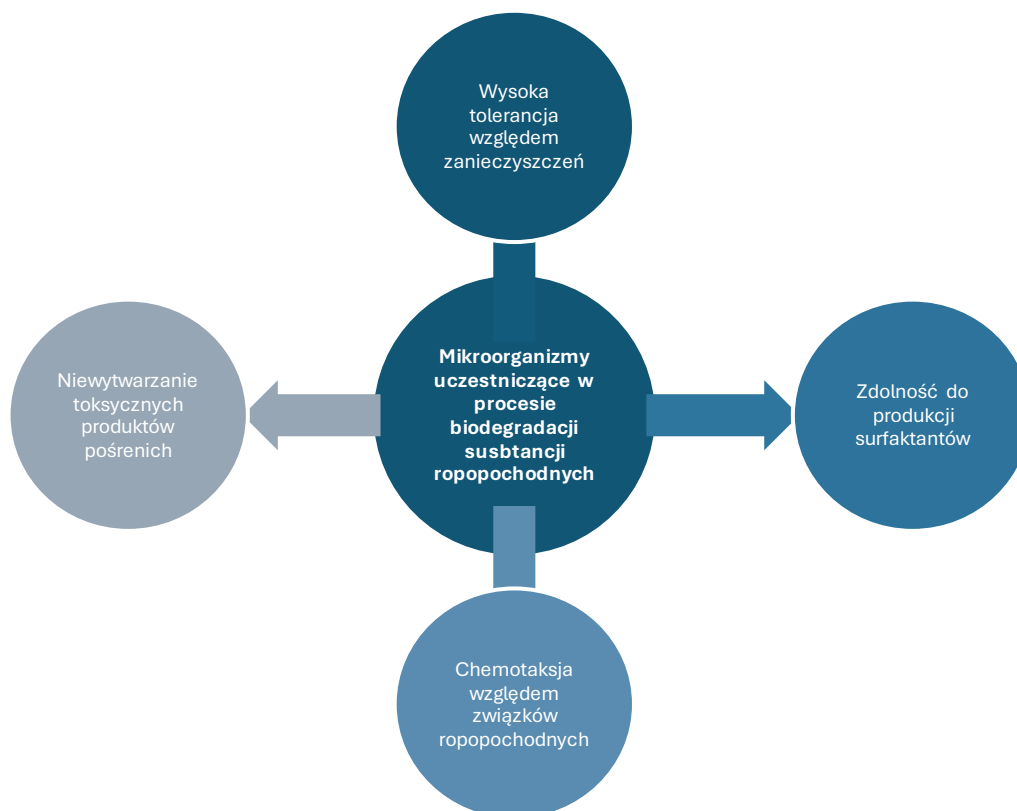
Coraz powszechniej stosowane są zaawansowane procesy utleniania (ang. advanced oxidation processes, AOPs), wykorzystujące poza podstawowymi utleniaczami również technologie oczyszczania plazmowego i fotokatalizy. Stosowanie AOP z innymi technikami remediacji, np. bioremediacją czy technikami elektrokinetycznymi pozwala na zwiększenie wydajności degradacji zanieczyszczeń (Calenciuc i in., 2022).

1.3.4. Preparaty biologiczne (mikroorganizmy)

W środowisku zanieczyszczonym ropą naftową oraz jej pochodnymi dominują bakterie *Pseudomonas* sp., *Acetobacter* sp., *Corynebacterium* sp., jak również grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Candida*. Jednak o szybkości rozkładu, poza szczepem mikroorganizmu, decyduje zawartość azotu, fosforu oraz pozostałych składników pokarmowych w formie biodostępnej w glebie (Bodziony i in., 2021).

Preparaty mikrobiologiczne stosowane do stymulowania remediacji gleb zawierają odpowiednio dobrane konsorcja mikroorganizmów, takich jak bakterie saprofityczne, bakterie kwasu mlekowego oraz grzyby, w tym drożdże (Bodziony i in., 2021). Selekcja odpowiednich szczepów często odbywa się na podstawie analiz składu mikrobiologicznego gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi (Wojtkowicz i in., 2022). Mikroorganizmy wykazujące wysoki potencjał w oczyszczaniu powinny charakteryzować się szeregiem cech umożliwiających ich komercyjne

stosowanie (Rysunek 10). Autochtoniczne mikroorganizmy mają szerszy zakres tolerancji względem zanieczyszczenia, jak i wysokie zdolności do jego rozkładu biologicznego. Z tego względu zarówno w badaniach laboratoryjnych, jak i właściwej remediacji, zastosowanie znajdują biopreparaty zawierające mikroorganizmy izolowane z miejsc silnie zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi.



Rysunek 10. Charakterystyka mikroorganizmów odpowiednich do procesu biodegradacji substancji ropopochodnych (na podstawie Wojkowicz i in., 2022)

Opracowanie uniwersalnego składu preparatów biologicznych stosowanych w remediacji gleb nie jest osiągalne, ze względu na różnice w charakterze występujących zanieczyszczeń czy warunków klimatycznych (Sozina i Danilov, 2023). Jednak znajomość mikroorganizmów odgrywających kluczowe znaczenie w oczyszczaniu oraz mechanizmów remediacji z ich udziałem, może znacząco przyczynić się do zwiększenia skali stosowania metod biologicznych, również w odniesieniu do degradacji pochodnych ropy naftowej (Tabela 5).

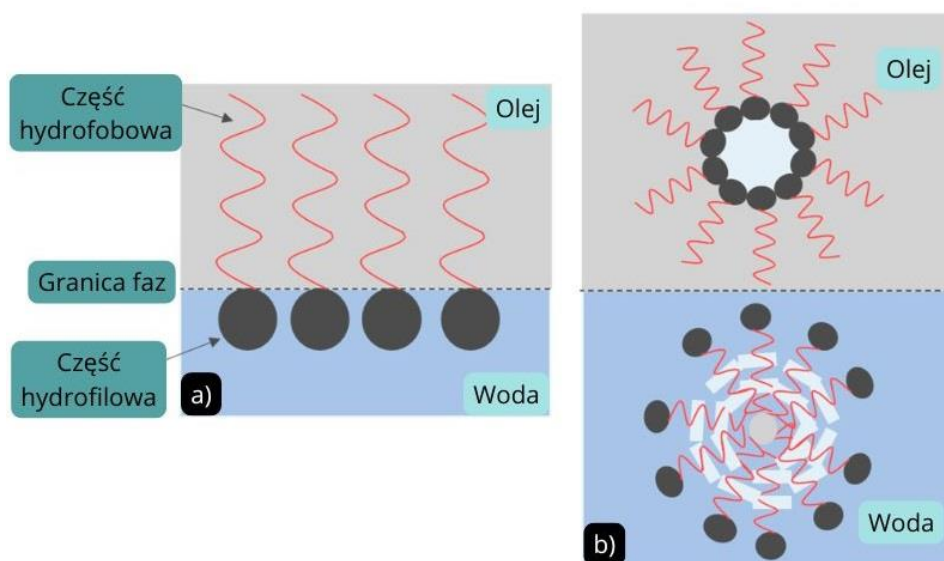
Tabela 5. Wybrane rodzaje bakterii wykorzystywane jako komponenty preparatów mikrobiologicznych

Rodzaj bakterii	Rodzaj usuwanych zanieczyszczeń	Literatura
<i>Acinetobacter</i>	Fenantren, piren, fenol	Sui i in. (2021), Dankaka i in. (2023)
<i>Alcaligenes</i>	Fenantren, olej silnikowy	Sumathi i Manian (2024), Ishaya i in. (2023)
<i>Burkholderia</i>	Benzo(a)piren, toluen, fenol	Cauduro i in. (2020), Morya i in. (2020)
<i>Comamonas</i>	Fenantren	Olukanni i in. (2022)
<i>Corynebacterium</i>	Olej napędowy, ropa naftowa	Mordecai i in. (2021)
<i>Ochrobactrum</i>	Parafiny, WWA	Ahmad i in. (2020)
<i>Pseudomonas</i>	Naftalen, dibenzofuran, dibenzotiofen	Sui i in. (2021), Ahmad i in. (2020)
<i>Stenotrophomonas</i>	Fenantren, piren, benzo(a)piren	Sui i in. (2021)

Coraz częściej do biopreparatów dodawane są biopolimery, takie jak kwas gamma-poliglutanowy, zwiększający efektywność biodegradacji m.in. WWA oraz BTEX (Wojtkowicz i in., 2022). Warto również rozważyć możliwość aplikacji produktów biopochodnych zawierających składniki odżywcze (w tym azot, potas, fosfor oraz siarkę) w celu stymulowania aktywności mikroorganizmów (Sozina i Danilov, 2023).

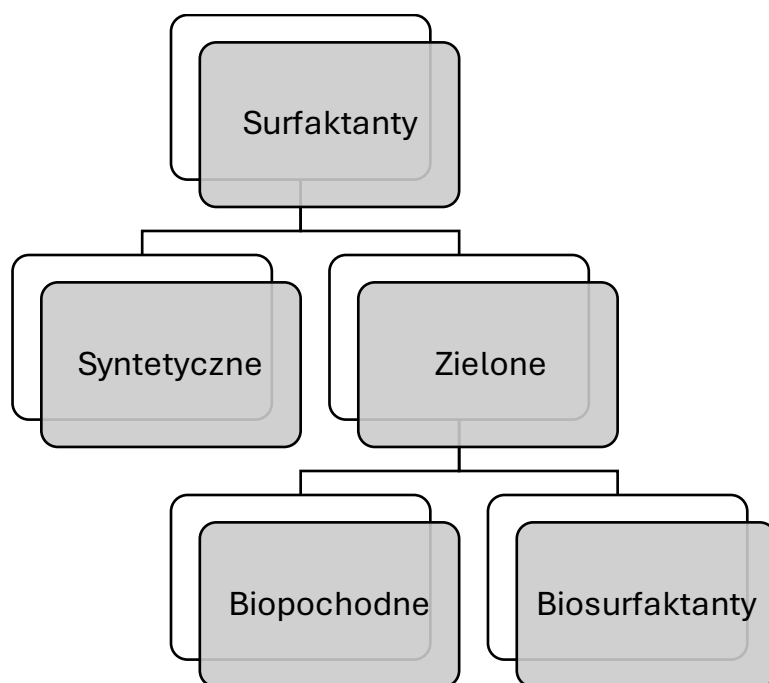
1.3.5. Wspomaganie fizyczne (surfaktanty)

Do usuwania związków będących pochodnymi ropy naftowej stosowane są również surfaktanty, mające na celu zwiększenie dostępności zanieczyszczeń dla mikroorganizmów, które wykorzystują węglowodory jako źródło energii. Mechanizm działania surfaktantów opiera się na zmniejszeniu napięcia powierzchniowego układu ciecz-ciało stałe i przeniesieniu węglowodorów z gleby do fazy ruchomej (Rakowska, 2020). Efekt ten osiągalny jest dzięki strukturze surfaktantów, składających się zarówno z części polarnych, jak i niepolarnych, co umożliwia emulgowanie zanieczyszczeń (Rysunek 11) (Da Silva i in., 2021).



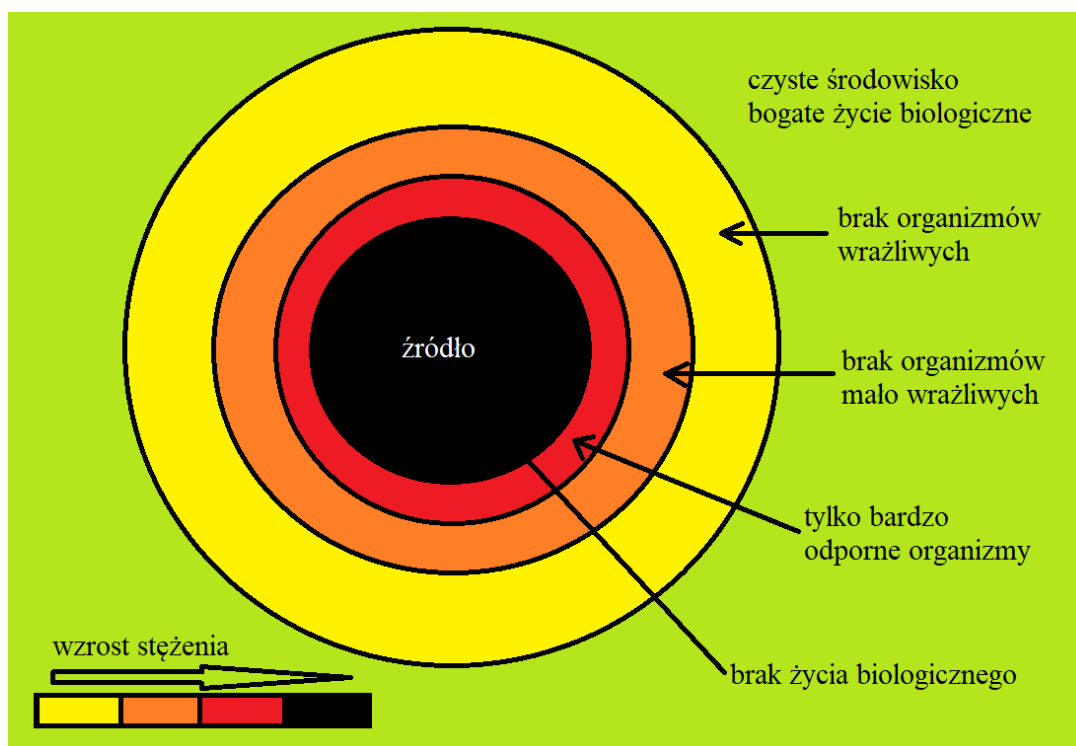
Rysunek 11. Tworzenie miceli - ułożenie cząsteczek na granicy faz (a), w wodzie i oleju (b) (Salves da Silva i in., 2020, zmodyfikowano)

Główny podział surfaktantów opiera się na różnicach w ich otrzymywaniu. Pierwszą grupę stanowią surfaktanty syntetyczne, powstające w procesach chemicznych. Z kolei wśród surfaktantów zielonych, będących naturalnymi środkami powierzchniowo czynnymi (Selva Filho i in., 2023), wyszczególnić można biopochodne surfaktanty otrzymywane z surowców odnawialnych, jak również naturalnie występujące w przyrodzie biokompatybilne biosurfaktanty (Rysunek 12) (Da Silva i in., 2021).



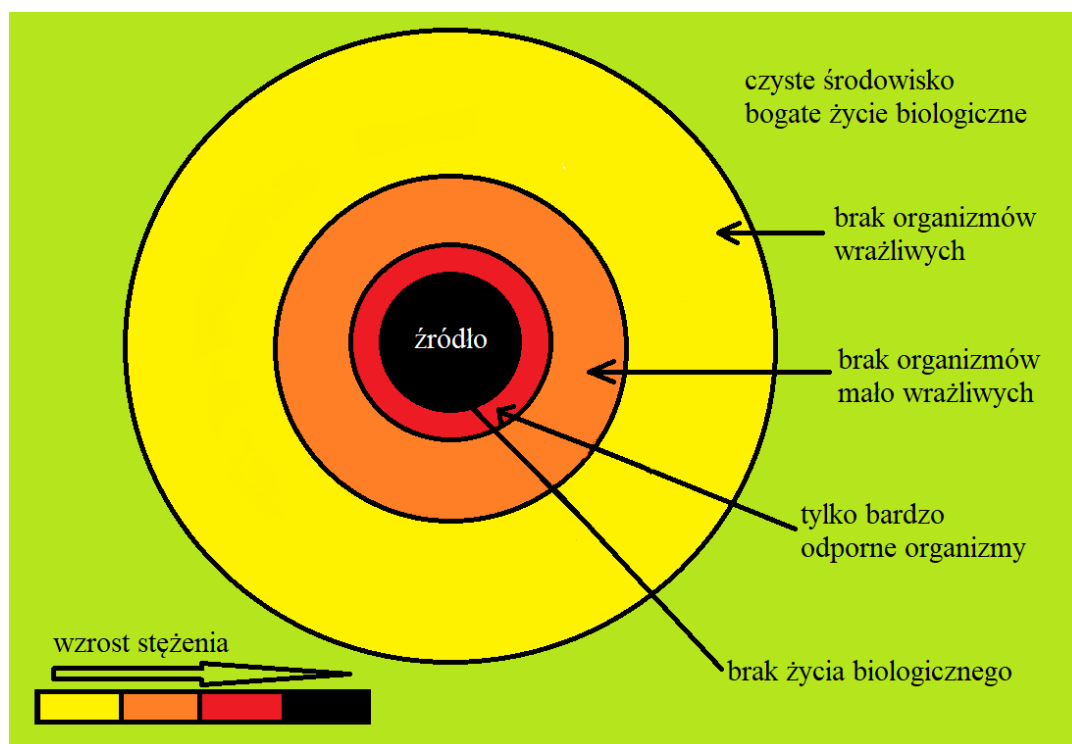
Rysunek 12. Podział surfaktantów ze względu na ich pochodzenie (na podstawie Da Silva i in., 2021)

Ideę działania surfaktantów w środowisku glebowym skażonym substancjami ropopochodnymi pokazują poniższe schematy (Rysunek 13 i 14):



Rysunek 13. Rozkład zanieczyszczeń ropopochodnych w gruncie i ich wpływ na bioróżnorodność organizmów glebowych

Dodatek surfaktantów zwiększa dostępność zanieczyszczeń dla mikroorganizmów. W praktyce oznacza to, że "bryła" zanieczyszczeń ropopochodnych w gruncie zwiększa strefę o mniejszym stężeniu substancji toksycznych, przez co w danej jednostce objętości gruntu większa liczba mikroorganizmów może prowadzić procesy biochemiczne (Rysunek 14).



Rysunek 14. Zmiana rozkładu zanieczyszczeń w gruncie pod wpływem działania surfaktantów

Wśród sufraktantów syntetycznych stosowanych w remediacji gleb znajdują się między innymi alkilobenzenosulfoniany (ABS), alkilosiarczany, takie jak dodecylosiarczan sodu (SDS) oraz alkilopoliglukozydy (APG). Wiele badań potwierdza skuteczność stosowania ww. surfaktantów w oczyszczaniu gleb skażonych ropą naftową, przykładowo Kasman i in. (2021) dowiedli skuteczności usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych z gleb na poziomie 92%, przy zastosowaniu stężenia chemicznego sufraktantu ABS wynoszącego 0,25%.

Ponadto w procesie remediacji stosować można środki takie jak piana gaśnicza, która zawiera w swoim składzie surfaktanty, rozpuszczalniki organiczne oraz

stabilizatory. Ze względu na zróżnicowany skład środków gaśniczych, należy jednak uwzględnić ewentualność zahamowania procesu solubilizacji (Rakowska, 2020).

O wiele bardziej efektywne okazuje się stosowanie biosurfaktantów wytwarzanych m.in. przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas*. Niejednokrotnie odnotowano osiągnięcie zarówno wysokiego stopnia degradacji substancji ropopochodnych, jak i zwiększenia tempa rozkładu zanieczyszczeń przy zastosowaniu surfaktantów pochodzenia mikrobiologicznego (Da Silva i in., 2021). Uczestniczą one w procesach rozkładu oleju, jak również przyczyniają się do emulgacji alkanów (Cabral i in., 2022). Poza remediacją terenów skażonych ropą naftową, surfaktanty znalazły swoje zastosowanie przy oczyszczaniu gruntu z metali ciężkich (Selva Filho i in., 2023). Przyjmuje się, iż biosurfaktanty zwiększają efektywność remediacji gleb zanieczyszczonych ropą naftową do 60% (Sui i in., 2021). Jednak, jak nadmieniają Sozina i Danilov (2023), stosowanie surfaktantów biologicznych poza zaletami, takimi jak brak szkodliwości dla środowiska, wysoka selektywność względem zanieczyszczenia oraz aktywność w szerokim zakresie temperatur, cechuje się również wysokimi kosztami i ograniczeniami wynikającymi z niewielkiej liczby mikroorganizmów zdolnych do wytwarzania tych substancji. Alternatywą mogą być biosurfaktanty otrzymywane z odpadowego materiału roślinnego.

2. Cel rozprawy doktorskiej

Cel pracy

Niniejsza praca doktorska zmierza do wprowadzenia innowacyjnych modyfikacji klasycznego procesu remediacji i zbadania ich wpływu na szybkość i efektywność usuwania zanieczyszczeń. Szczegółowe modyfikacje będą dotyczyły następujących obszarów:

- doskonalenia bądź wyeliminowania wstępnego procesu utleniania chemicznego,
- wprowadzenia pomocniczej roli biosurfaktantów,
- przebadania efektywności wybranych mikroorganizmów na biodegradację zanieczyszczeń ropopochodnych, w tym mikroorganizmów pochodzenia autochtonicznego,
- zbadania efektywności wprowadzenia procesu immobilizacji na rozkład substancji ropopochodnych,
- optymalizacji metody skutecznej aktywacji mikroorganizmów w kierunku degradacji substancji organicznych.

Cel naukowy:

Celem naukowym jest zbadanie przebiegu i ocena efektywności procesu degradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w metodzie hybrydowej w poszczególnych etapach procesu bio/chemodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych.

Cel użytkowy:

Celem użytkowym pracy jest opracowanie wysokowydajnej, ekonomicznej, skojarzonej (hybrydowej) metody usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych w gruntach.

3. Tezy pracy

W pracy zostały sformułowane następujące tezy;

1. Połączenie metod chemicznych, fizycznych i biologicznych w oczyszczaniu środowiska gruntowo-wodnego z zanieczyszczeń ropopochodnych może mieć efekt synergistyczny.
2. Odpowiednia modyfikacja i aktywacja mikroflory autochtonicznej dla danego terenu skażonego pozwala na uzyskanie wysokiego poziomu efektywności usuwania zanieczyszczeń.
3. Zastosowanie biopreparatu w formie polimerowych mikrokapsulek umożliwia dokładniejsze dozowanie, zapewnia stabilność biopreparatu i odporność na stres glebowy oraz pozwala na szybkie odtworzenie naturalnej równowagi mikrobiologicznej w środowisku gruntowo-wodnym.

4. Zakres badań

Zakres badań obejmował przeprowadzenie prób laboratoryjnych i terenowych nad zastosowaniem technologii hybrydowej remediacji gruntu. Na etapie wstępnym przeprowadzono rozeznanie w aktualnie dostępnych i praktykowanych czynnościach związanych z remediacją gruntu zanieczyszczonego. Następnie skonfrontowano tę wiedzę z wiedzą praktyczną. Przyjęto dualny system weryfikacji formułowanych tez – w skali mikro prowadzono badania laboratoryjne, po czym weryfikowano możliwość i skuteczność ich zastosowania w skali terenowej. Eksperymenty laboratoryjne zawsze zawierały element podstawowych badań fizycznych, chemicznych i mikrobiologicznych gleb. Prace laboratoryjne obejmowały eksperyment kolumnowy, który dotyczył przemian zachodzących w gruncie pobranym z określonego terenu skażonego pod wpływem stosowanych dodatków oraz szczegółowe badania respirometryczne. Badania te dotyczyły zbadania dynamiki procesów przebiegających w różnych typach gleb, przy zastosowaniu różnych rodzajów substancji wspomagających, z dodatkiem różnych form roztworów biologicznie czynnych. Prace polowe prowadzono natomiast na dwóch terenach wybranych spośród kilkunastu propozycji w drodze selekcji. Tereny te łączyła historia użytkowania i rodzaj zanieczyszczenia środowiska, a różniły parametry fizyko-chemiczne i morfologiczne gruntu.

Obszary badań terenowych wybrano jako reprezentatywne spośród najczęściej spotykanych w kraju terenów zdegradowanych poprzez zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi. Obie powierzchnie badawcze to tereny przemysłowe, w przeszłości długotrwale użytkowane jako miejsca przyjmowania, magazynowania i przepompowywania dużej ilości paliw, w szczególności oleju napędowego, zużywanego głównie na cele transportu kolejowego. Łączy je również to, że zostały początkowo wygaszone, a następnie wyłączone z eksploatacji na przełomie wieku XX i XXI wieku, przez pewien czas pozostawione same sobie, po kilku latach przebadane pod kątem jakości środowiska gruntowo-wodnego, następnie częściowo poddane wstępnemu procesowi oczyszczania, by potem znów pozostać przez lata bez żadnych działań naprawczych. Podjęte prace wstępne polegały na usunięciu wolnego produktu naftowego zalegającego na lustrze wód gruntowych. Zadanie zostało przeprowadzone poprzez montaż zestawu studni drenujących ze skimmerami odpompowującymi

warstwę oleju z gruntu. Po zakończeniu tego etapu na obu terenach nie prowadzono żadnych działań rekultywacyjnych ani gospodarczych. Prowadzony przez lata monitoring ujawniał utrzymujące się przekroczenia norm w zakresie stężeń benzyn i olejów w gruncie. Badania będące istotą niniejszej rozprawy były prowadzone w trakcie ostatniego etapu remediacji - procesu bioaugmentacji, którego skutkiem było osiągnięcie efektu środowiskowego w postaci obniżenia stężeń substancji ropopochodnych w gruncie do poziomów zgodnych z aktualnie obowiązującymi wymaganiami.

5. Materiały i metodyka badań

5.1. Opis badanych terenów

Do badań wybrano tereny poprzemysłowe zanieczyszczone substancjami ropopochodnymi. Obszary te były miejscem poboru materiału glebowego do doświadczeń *ex situ* (doświadczenia laboratoryjne) oraz stanowiły obiekt badawczy do przeprowadzenia doświadczeń *in situ* i zastosowania badanej technologii.

Prace *in situ* prowadzono na dwóch terenach poprzemysłowych, nazwanych na potrzeby tych badań "teren 1" i "teren 2". Zarządcy obiektów (duże spółki państwowe), mimo wielokrotnie składanych pisemnych próśb nie wyrazili zgody na umieszczenie nazw własnych i dokładnych adresów tych lokalizacji. Na obu prowadzono działalność o podobnym charakterze (stacje paliw i magazyny składowania paliw), w związku z tym na obu występowały podobne substancje skażające (ropopochodne), oba mają dobrze udokumentowaną historię i archiwalne wyniki badań środowiska gruntowo-wodnego. Przed rozpoczęciem eksperymentu polowego przeprowadzono wieloetapowy proces identyfikacji terenu zanieczyszczonego zgodnie z procedurą opisaną w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi.

W momencie rozpoczęcia eksperymentu terenowego maksymalne stężenia substancji ropopochodnych frakcji oleju C₁₅-C₃₅ zalegających w gruncie osiągały podobne wartości i oscylowały w okolicy 14 000 mg/kg s.m. Zasadnicza różnica dotyczy charakterystyki profilu glebowego. Jako tereny poprzemysłowe oba charakteryzują się wierzchnią warstwą przekształconą antropogenicznie, przy czym poziom przekształceń w przypadku terenu 1 sięga głębokości 4-5 m p.p.t., podczas gdy na terenie 2 nasypy industrioziemne stanowią warstwę o miąższości maksymalnie 0,5-0,8 mp.p.t.

Teren 1

Znajduje się w zachodniej części województwa dolnośląskiego. W momencie rozpoczęcia doświadczenia polowego zidentyfikowana powierzchnia skażona wynosiła około 500-600 m².

Jest częścią większego kompleksu terenów przemysłowych, usytuowanego w centralnej części jednego z większych miast zachodniej Polski. Od roku 1982 pełnił funkcję wyspecjalizowanej stacji paliw, obsługującej wyłącznie lokomotywy z silnikami spalinowymi. W związku z jej długoletnim użytkowaniem, polegającym na magazynowaniu oleju napędowego oraz tankowaniu lokomotyw (często z pominięciem zasad BHP, konserwacji urządzeń, gospodarności i zdrowego rozsądku), doszło do rozległego zanieczyszczenia substancjami ropopochodnymi środowiska gruntowo-wodnego na przedmiotowym obszarze. Z uwagi na powyższe oraz ze względu na bardzo zły stan techniczny urządzeń i instalacji stacji paliw, obiekt zamknięto w styczniu 2000 roku.

Na wyżej wymienionym terenie znajdowały się:

- punkt rozładunkowy dla cystern kolejowych (usytuowany na najwyższym poziomie stacji paliw),
- zbiorniki magazynowe w postaci 5 cystern kolejowych o pojemności ok. 48-50m³ każda,
- punkt tankowania lokomotyw spalinowych (usytuowany na najniższym poziomie stacji paliw).

Po zamknięciu obiektu, w latach 2000-2005 kilkukrotnie dokonano na nim oceny stanu środowiska gruntowo wodnego poprzez pobór i analizę próbek gleby i wody gruntowej. Badania te potwierdziły silne zanieczyszczenie wierzchniej warstwy gruntu miejscami do głębokości 4,5 m p.p.t. Stężenie zanieczyszczeń w wielu punktach pomiarowych znacznie przekraczało wartość 10 000 mg/kg s.m. przy wartości dopuszczalnej 3000 mg/kg s.m. (Załącznik nr 1 do rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r., poz. 1395) i pozostawało na tym samym poziomie przez kilka kolejnych lat.

W latach 2004-2005 prowadzono na tym terenie częściową rekultywację w ramach projektu „Zapobieganie i ochrona gruntu i wód przed zanieczyszczeniami pochodzącymi z instalacji PKP”, który stanowił część programu pomocowego Duńskiej Agencji Ochrony Środowiska (DEPA) dla państw Europy Środkowej i Wschodniej w latach 1999-2004. W tym czasie przeprowadzono I etap zaplanowanych prac remediacyjnych polegający na usunięciu wolnego produktu naftowego znad zwierciadła wód podziemnych poprzez pompowanie selektywne tylko produktu

naftowego ze specjalnie w tym celu wykonanych studni remediacyjnych. W trakcie realizacji tego etapu zebrano łącznie 9 ton wolnych produktów ropopochodnych.

Zaplanowany na 2005 rok II etap prac remediacyjnych, polegający na bioremediacji gruntów i wód podziemnych, nigdy nie został rozpoczęty.

Przez kolejnych kilka lat była tam prowadzona działalność transportowa w formie podstawiania wagonów dla punktu skupu złomu, nie generująca nowego zagrożenia skażenia gruntu, a następnie zaniechano jakiegokolwiek użytkowania terenu.

Zgodnie z ewidencją gruntów jest to teren przemysłowy, w najbliższym sąsiedztwie znajdują się również tereny przemysłowe, choć część z nich, zgodnie z obowiązującym miejscowym planem zagospodarowania przestrzennego, od 2009 roku została ustanowiona terenem zabudowy mieszkaniowej wielorodzinnej.

Dla działki na terenie badanego obszaru nie prowadzi się miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego, gdyż pozostaje ona terenem zamkniętym.

Teren 2

Znajduje się w południowo-zachodniej części województwa opolskiego. W momencie rozpoczęcia doświadczenia polowego zidentyfikowana powierzchnia skażona wynosiła około 400-500m².

Jest częścią rozległych terenów kolejowych o charakterze przemysłowym. Znajduje się w bliskim sąsiedztwie niewielkiego miasteczka w Polsce południowo-zachodniej. Większość infrastruktury obiektu powstała w 1886 roku jako warsztaty naprawcze parowozów i przez cały okres eksploatacji spełniała podobną rolę. W trakcie eksploatacji przeprowadzano prace adaptacyjne polegające na przystosowaniu parowozowni do napraw lokomotyw spalinowych oraz przystosowanie lokomotywowni do napraw lokomotyw elektrycznych. Prowadzono także prace modernizacyjne polegające między innymi na wymianie dachu hali głównej, dobudowie kondygnacji w budynku administracyjnym, budowie szatni i łazienki dla pracowników, budowie oczyszczalni ścieków itp. W ramach tych prac w roku 1972 uruchomiono tam kolejową stację paliw z polem zbiorników usytuowanym po wschodniej stronie zabudowań i punktem tankowania lokomotyw zlokalizowanym bezpośrednio przy budynku szatni dla pracowników.

Długoletnia działalność kolejowej stacji paliw była właśnie przyczyną zanieczyszczenia badanego terenu.

Stacja tankowania lokomotyw składała się z punktu spustu paliwa z cystern wagonowych do zbiorników stacjonarnych, pola zbiorników złożonego z pięciu nadziemnych zbiorników cysternowych o pojemności ok. 48-50m³ każdy, podziemnej instalacji przepompowującej paliwo do dystrybutorów oraz pola dystrybutorów i tankowania w rejonie lokomotywni (odległość od pola zbiorników około 90 m). W związku z jej długoletnim użytkowaniem, polegającym na przepompowywaniu i magazynowaniu oleju napędowego oraz tankowaniu lokomotyw, doszło do rozległego zanieczyszczenia substancjami ropopochodnymi środowiska gruntowo-wodnego na przedmiotowym obszarze. Skażenie mogło być spowodowane zarówno złym stanem technicznym urządzeń i instalacji stacji paliw (nieszczelności, wycieki), niewielką, bądź niewystarczającą świadomością ekologiczną pracowników obsługujących urządzenia, jak i nieadekwatnymi próbami bieżącego zapobiegania rozprzestrzenianiu zanieczyszczeń (np. poprzez rozkładanie folii polipropylenowej pod nieszczelnymi zbiornikami).

Większa część obiektu nadal pełni funkcję warsztatu naprawczego lokomotyw spalinowych i elektrycznych.

Pierwsze rozpoznania stanu środowiska gruntowo-wodnego prowadzono na przedmiotowym terenie od roku 1999. Analizy laboratoryjne próbek gruntu ujawniły wówczas silne zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi w rejonie pola zbiorników, osiągające miejscami koncentrację oleju powyżej 50 000 mg/kg s.m. (przy wartości dopuszczalnej 1 000 mg/kg s.m.). Ujawniono również występowanie warstwy wolnej frakcji oleju napędowego ponad lustrem wód gruntowych o miąższości od 1,02 m p.p.t do 1,53 m p.p.t.

W kolejnych latach działalność zakładowej stacji paliw wygaszano aż do całkowitej rezygnacji około roku 2005. Jednocześnie prowadzono działania mające na celu poprawę stanu środowiska gruntowo wodnego poprzez usuwanie wolnej frakcji olejowej za pomocą systemu skimmerów. W ciągu kilku lat usunięto ponad 11 ton wolnego produktu redukując miąższość filmu olejowego do 2-3 mm. Dalsze prace remediacyjne nie były podejmowane do roku 2019.

Dla rozpatrywanej działki, na której znajduje się obszar badań jako terenu zamkniętego, nie prowadzi się miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego.

Zarówno jeden jak i drugi badany teren, w świetle Rozporządzenia Ministra Środowiska z dn. 01 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz.U. z dn. 05 września 2016 r., poz. 1395) należy do grupy gruntów IV jako teren komunikacyjny/teren kolejowy.

5.2. Parametry terenów badawczych

Teren 1

Pod względem geologicznym omawiany teren położony jest w obrębie Monokliny Przedsudeckiej. Budowa geologiczna w tym rejonie jest stosunkowo dobrze rozpoznana licznymi wierceniami hydrogeologicznymi i geologiczno-inżynierskimi.

W budowie geologicznej tego rejonu biorą udział utwory wieku paleozoicznego i kenozoiku. Strop paleozoiku występuje na gł. 120 -130 m ppt. Bezpośrednio na starszym, krystalicznym podłożu zalegają utwory trzeciorzędowe. Trzeciorzęd reprezentowany jest przez ility górnego miocenu i pliocenu z wkładkami węgla brunatnego i piasków. Strop serii trzeciorzędowej występuje na głębokości 20,0 -30,0 m p.p.t. i tworzy dużej miąższości warstwę utworów nieprzepuszczalnych. Strop serii trzeciorzędowej wykazuje bardzo urozmaiconą morfologię, gdzie w licznych rozcięciach erozyjnych oraz na powierzchniach płaskich, zdeponowane zostały czwartorzędowe, plejstocenyjskie osady lodowcowe i wodnolodowcowe okresu zlodowacenia środkowopolskiego. Utwory lodowcowe to głównie gliny piaszczyste, lokalnie sporadycznie pyły. Utwory wodnolodowcowe to głównie piaski i żwiry lokalnie zaglinione, na których spoczywają rzeczne osady plejstocenyjskie wykształcone podobnie (piaski, żwiry, pospółki, lokalnie zaglinione). Łączna miąższość serii plejstocenyjskich, nierozdzielonych utworów wodnolodowcowych i rzecznych wynosi ok. 13,0-18,0 m. Powierzchniową część budują holocenyjskie osady rzeczne typu zastoiskowego (gliny pylaste, namuły gliniaste, gliny próchniczne), których miąższość waha się od 2,5-7,0 m. Od powierzchni teren przykryty jest nasypami antropogenicznymi, których miąższość waha się od 1,0 do 1,5 m.

Zwierciadło wody nawiercane na głębokości 3,5-5,5 m p.p.t., stabilizuje się na głębokości 2,0-2,5 m p.p.t. Warstwę wodonośną stanowią żwiry, żwiry z otoczkami, piaski i pospółki, lokalnie zaglinione. Spływ wód podziemnych z omawianego terenu odbywa się w kierunku północnym i północnowschodnim. Wahania lustra wody w tym rejonie są znaczne i mogą wynosić +/- 1,0 m. Utwory warstwy wodonośnej charakteryzują się bardzo dobrym wysortowaniem (duży wskaźnik różnoziarnistości) oraz dużym współczynnikiem filtracji rzędu 50 m/dobę. Grunty o tak dużych współczynnikach filtracji zaliczyć należy do bardzo dobrze przepuszczalnych. Zasilanie czwartorzędowego poziomu wodonośnego następuje przez infiltrację wód opadowych. Poziom ten w ujęciu regionalnym nie posiada ciągłej warstwy izolującej te wody od zanieczyszczeń z powierzchni terenu. Stwierdzona lokalnie (brak ciągłości warstwy) na terenie badań warstwa glin pylastych i namulów nie stanowi żadnej izolacji dla warstwy wodonośnej (Badania własne).

Teren 2

Jako teren przemysłowy jest silnie przekształcony antropogenicznie, a przekształcenie to dotyczy dużej powierzchni, lecz niewielkiej głębokości. To pole zbiorników zaprojektowane w formie nadziemnej, gdzie zbiorniki paliwowe posadowione są na podporach betonowych ponad ziemią. Efektem takiego rozwiązania jest duża powierzchnia biologicznie czynna. W orientacji pionowej ingerencja antropogeniczna dotyczy warstwy około 0,5 m p.p.t. punktowo do 1,5 m p.p.t. Wierzchnią warstwę w rejonie pola zbiorników o miąższości około 0,15-0,20 m stanowi drobny tłuczeń kamienny będący typowym podkładem budowlanym pod konstrukcję torowiska. Ze względu na zupełne zaprzestanie użytkowania terenu, od kilkunastu lat postępuje tam sukcesja ekologiczna. Tłuczeń jest silnie poprzerastany pokrzywami, nawłocią i roślinnością trawiastą, zauważyć można postępujący proces glebotwórczy. Pojawiają się też mniejsze i większe krzewy w postaci dzikiej róży, jeżyny, bzu czarnego i kruszyny oraz drobne drzewa jak brzoza i topola. Teren od lat nie jest oczyszczany z biomasy, więc cała biomasa pozostająca po sezonie wegetacyjnym zalega na powierzchni terenu ulegając z czasem rozkładowi. W tym rejonie w przestrzeniach między elementami tłucznia wytworzyła się warstwa humusowa o miąższości 0,20-0,40 m.

Zbiorniki paliwowe posadowione są na podporach betonowych ponad ziemią. Przekształcenia antropogeniczne na większej części terenu kończą się poniżej

warstwy tłucznia kamiennego, czasem tylko sięgając niżej w postaci pospółki żużlowo-piaskowej spotykanej do głębokości 0,8-1,2 m p.p.t., pod którą znajduje się grunt rodzimy w postaci piasku gliniastego i gliny pylastej. Zarówno warstwa tłucznia, jak i pospółki żużlowo-piaskowej, stanowią utwory bardzo dobrze i dobrze przepuszczalne, zapewniają pełną infiltrację wody opadowej oraz związane z nią dobre przewietrzanie gleby do warstwy skażenia.

5.2.1. Zastosowane metody i materiały badawcze; analizy fizyczne i chemiczne

W czasie badań przeprowadzono szczegółową analizę fizyczną, chemiczną i mikrobiologiczną pobranego materiału glebowego.

Analizę granulometryczną przeprowadzono przy użyciu przesiewacza wibracyjnego RETSCH AS 300 (w zakresie do 0,063mm) i laserowego analizatora wielkości cząstek FRITSCH Analysette 22 NeXT Nano (w zakresie poniżej 0,063mm).

Badania granulometryczne przeprowadzono zgodnie z poniższymi wytycznymi:

- procedura badawcza na podstawie PNISO 11277 „Jakość gleby – Oznaczanie składu granulometrycznego w mineralnym materiale glebowym – Metoda sitowa i sedymentacyjna”,
- PKN-CEN ISO/TS 17892-4 „Badania geotechniczne – Badania laboratoryjne gruntów – Część 4: Oznaczanie składu granulometrycznego”,
- na podstawie metody dyfrakcji laserowej.

Przeprowadzono następujące analizy chemiczne materiału glebowego:

- zawartość węgla; węgiel całkowity (total carbon, TC) zgodnie z polską normą PN-ISO 10694:2002. Węgiel całkowity został oznaczony po suchym spaleniu z wykorzystaniem analizatora Multi N/C H 1300 (Analytik Jena, Niemcy),
- zawartość azotu, całkowity azot Kjeldahla (Kjeldahl nitrogen, TN) zgodnie z polską normą PN ISO 11261:2002. Całkowity azot Kjeldahla został oznaczony w próbkach zmineralizowanych z wykorzystaniem 95% H₂SO₄. Mineralizacja została przeprowadzona z mieszaniną katalizatorów K₂SO₄ + Cu₂SO₄. Alkalizację przeprowadzono za pomocą 33% NaOH,

- zawartość fosforu całkowita (total phosphorus, TP) zgodnie z metodą Egner-Reihm (Egner et al., 1960),
- pH gleby zostało oznaczone za pomocą elektrody szklanej w zawiesinie 1:5 (ułamek objętościowy) gleby w wodzie (pH w H₂O), w 1 M roztworze chlorku potasu (pH w KCl) z wykorzystaniem standardowego pH-metru laboratoryjnego (Elmetron CP-401, Thane, India) zgodnie z międzynarodowym standardem ISO 10390:2005,
- strata przy spalaniu (loss on ignition, LOI) zgodnie z metodyką Krogstad'a (Krogstad, 1992),
- oznaczenie sumy benzyn i olejów prowadzono zgodnie z poniższą metodyką – chromatograf gazowy z detektorem FID po ekstrakcji organicznej zgodnie z normą PN--EN ISO 9377-2).

Analiza mikrobiologiczna została przeprowadzona na podstawie standardowej procedury mikrobiologicznej (analiza ilościowa i jakościowa bakterii i grzybów metodą płytkową).

W celu ustandaryzowania działań i możliwości późniejszych porównań danych metodykę poboru próbek i badań terenowych oparto na wymaganiach zawartych w „Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 5 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi” oraz instrukcjach dotyczących pobierania próbek zgodnie z normami:

- PN-ISO 10381-5 (Jakość gleby. Pobieranie próbek. Część 5: Zasady postępowania podczas badań terenów miejskich i przemysłowych),
- PN-ISO 10381-2 (Jakość gleby. Pobieranie próbek. Część 2: Zasady dotyczące technik pobierania).

W celu ujednolicenia głębokości poboru próbek i wyeliminowania ewentualnych błędów związanych z porównywaniem próbek nie pochodzących z tego samego poziomu glebowego doprecyzowano głębokości poboru próbek w granicach wymagań Rozporządzenia.

Przyjęto następujące głębokości poboru:

- 0,8 m p.p.t. (Rozporządzenie dopuszcza przedział 0,25-1 m p.p.t.)

- 2, 4, 6 m p.p.t. (Rozporządzenie dopuszcza przedziały o miąższości nie większej niż 2 m w przypadku próbek z głębokości przekraczającej 1 m p.p.t.)

aż do głębokości poniżej występowania zanieczyszczenia.

Do poboru próbek glebowych stosowano wiercenie świdrem ręcznym firmy Eijkelkamp metodą obrotową oraz wiercenie pulsacyjne metodą udarową sondą rdzeniową typu RKS firmy Nordmeyer-Geotool. Próbkę zbierano w słoiki szklane z ciemnego szkła, zamykane nakrętką. Próbkę transportowano do laboratorium analitycznego w bezpiecznych pojemnikach styrodurewych z zachowaniem obniżonej temperatury. Analizy próbek wykonywano w laboratorium, o którym mowa w art. 147a ust. 1 pkt 1 lub ust. 1a ustawy z dnia 27 kwietnia 2001 r. – Prawo ochrony środowiska, zgodnie z referencyjnymi metodykami wykonywania badań zanieczyszczenia gleby i ziemi określonymi w załączniku nr 3 do Rozporządzenia.

Poboru prób glebowych dokonywano w ramach monitoringu co najmniej trzykrotnie w ciągu roku – na początku, w środku i pod koniec sezonu wegetacyjnego. W zależności od pogody w danym roku oznaczało to w praktyce pobór na przełomie marca i kwietnia, lipca i sierpnia oraz października i listopada. Po pierwszym roku doświadczenia, w oparciu o otrzymane aktualne wyniki analiz, zweryfikowano głębokości poboru próbek w taki sposób, by próbki były każdorazowo pobierane w połowie miąższości zlokalizowanej warstwy zanieczyszczonej.

Zastosowane dodatki

W badaniach laboratoryjnych oraz terenowych zastosowano następujące dodatki;

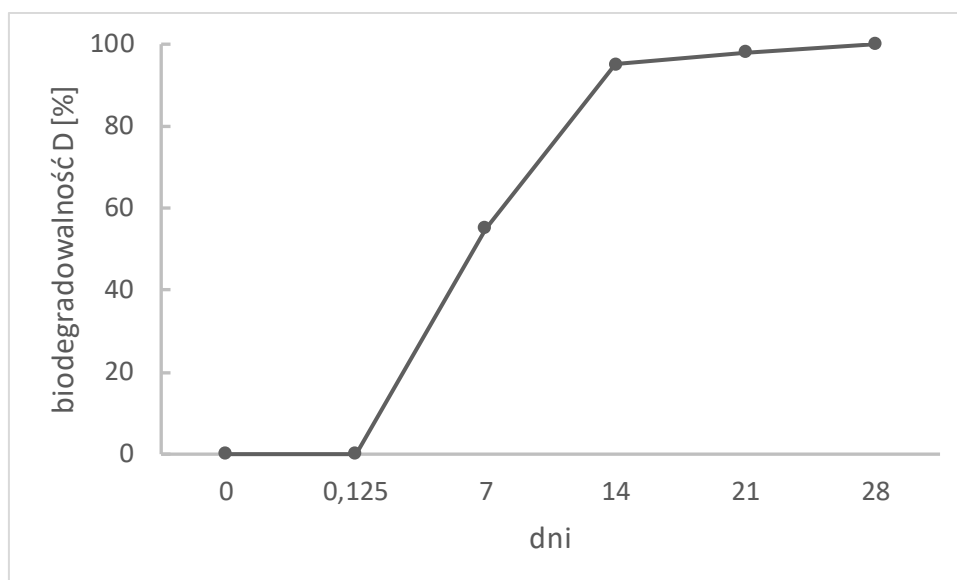
1. 7% roztwór nadtlenu wodoru H_2O_2

Roztwór ten dozowany był w ilości równoważnej do ilości stosowanego roztworu biosurfaktantu, przy czym za ilość równoważną uważa się taką samą ilość litrów 7% H_2O_2 co litrów roztworu roboczego biosurfaktantu (doświadczenia laboratoryjne).

2. Roztwór biosurfaktantu.

Stosowano całkowicie biodegradowalny surfaktant pochodzenia naturalnego o stężeniu zgodnym z zaleceniami producenta. We wszystkich przypadkach używano

specjalistycznego koncentratu surfaktantu przeznaczonego do wspomagania oczyszczania gruntów z substancji ropopochodnych, będącego pod względem chemicznym mieszaniną soli sodowych glikolipidów otrzymywanych w procesie przeróbki surowców naturalnych pochodzenia roślinnego. Zgodnie z zaleceniami producenta roztwór roboczy powinien być roztworem wodnym powstałym w wyniku zmieszania koncentratu z wodą w stosunku objętościowym od 1:40 do 1:100. Do badań laboratoryjnych używano roztworu w rozcieńczeniu 1:40, w pracach terenowych stosowano rozcieńczenie 1:40 i stopniowo, w miarę postępu prac remediacyjnych i zmniejszaniu się koncentracji zanieczyszczeń, zwiększano stopień rozcieńczenia do poziomu 1:100. W analizowanych przypadkach używano wyłącznie surfaktantu pochodzenia naturalnego ze względu na udokumentowaną wyższość biosurfaktantów w stosunku do ich syntetycznych odpowiedników. Zdolność do biodegradacji użytego surfaktantu została przebadana w niezależnym laboratorium, a wyniki testów potwierdziły 100% biodegradowalność produktu w ciągu 28 dni. Próby przeprowadzono zgodnie ze standardami określonymi przez Organizację Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (Organization for Economic Co-operation and Development) jako test sprawdzający stopień biodegradowalności badanej substancji (Zahn-Wellens test, OECD 302B) (Rysunek 15).



Rysunek 15. Test biodegradowalności surfaktantu (Zahn-Wellens test)

3. Aktywne bioroztwory; Zawiesina bulionu zawierająca żywe kultury bakterii rozkładających zanieczyszczenia ropopochodne

Stosowano konsorcjum mikroorganizmów autochtonicznych, uzyskane z pobranej wcześniej z danego terenu próbki i namnożone w laboratorium. Namnażanie prowadzono na płynnym bulionie odżywczym (pepton, NaCl, wyciąg mięsny), inkubowany w temperaturze pokojowej (22°C) 50 godzin do osiągnięcia gęstości optycznej OD 600 równej wartości 1. Pomiar liczebności wykonano metodą spektrofotometryczną OD600 (Optical Density 600nm). W przypadku badań terenowych dozowano preparat wyprodukowany na bazie mikroorganizmów z danego terenu. W przypadku badań laboratoryjnych stosowano mieszaninę roztworów mikroorganizmów pobranych z obu terenów badawczych. Charakterystyka mikroorganizmów wchodzących w skład preparatu wykonana została w oparciu o technikę posiewów różnicujących na płytkach. Po wstępnej selekcji wiodących kolonii - inkubacja na podstawowym podłożu agarowym, wykonano dodatkowe posiewy na podłożu wybiórczo-różnicującym. Wiodąca populacja *Pseudomonas fluorescences* wykryta została na podłożu King B agar. Po inkubacji wykonano podstawowe badania mikroskopowe oraz testy zdolności do fluorescencji. Aby potwierdzić przynależność izolowanych bakterii do *P. fluorescences* wykonano

dodatkowo biochemiczny test na oksydazę, test fluorescencji w świetle UV, test hodowli na podłożu King B, test hodowli w temperaturze 4°C. Wyizolowane kolonie po analizie mikroskopowej posiadały kształt pałeczek. Analiza barwienia Grama wskazała, że są to bakterie Gram-ujemne. Kolonie te wykazywały zielonkawą fluorescencję pod wpływem emisji UV. Biochemiczny test na oksydazę cytochromową wskazał wyniki dodatni. Pozwala to wnioskować, iż wiodące kolonie należały do gatunku *P. fluorescences*.

4. Biopreparaty w formie immobilizowanej

Powyższe roztwory biologicznie aktywne, mikrokapsułowane w naturalnym żelu (alginian) z dodatkiem 1,5% kwasów huminowych jako środka poprawiającego właściwości gleby. Stosowane w tej metodzie kwasy huminowe otrzymywane są z bogatych w te substancje utworów skalnych – leonardytów, które z kolei stanowią odpad węglowego przemysłu wydobywczego, a proces ekstrakcji kwasów huminowych jest jednym z kierunków zagospodarowania tego odpadu. Mikrokapsułowanie wykonywano w laboratorium zgodnie z opracowaną wcześniej technologią. Czas sieciowania alginianu dobrano w taki sposób, by mikrokapsułki były utwardzone w całej objętości (Rysunek 16).



Rysunek 16. Biopreparat w formie mikrokapsułowanej

5.3. Przebieg badań laboratoryjnych

Zaplanowanie, założenie i prowadzenie doświadczenia kolumnowego w kontrolowanych warunkach klimatycznych.

Pierwszy etap eksperymentów laboratoryjnych obejmował wykonanie kilku modeli profili glebowych odwzorowujących najczęściej spotykane rodzaje gruntów industrioziemnych.

Na kolejnym etapie badań laboratoryjnych przewidziano wprowadzanie do kolumn substancji chemicznych i biopreparatów na bazie zbiorowisk autochtonicznych mikroorganizmów oraz przeprowadzenie szeregu eksperymentów *ex situ* w oparciu o wybrany wcześniej materiał glebowy. Przygotowane zostały odpowiednie roztwory substancji utleniających i surfaktantów oraz biopreparaty na bazie uzyskanego wcześniej materiału mikrobiologicznego, które zgodnie z wcześniejszym planem zaczęto wprowadzać do kolumn doświadczalnych.

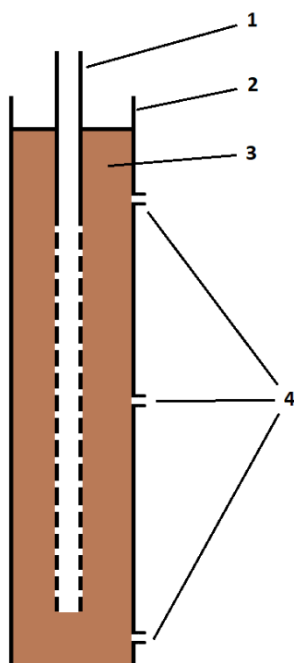
Założono, że na tym etapie do materiału glebowego zostanie wprowadzony czynnik biologiczny na bazie biopreparatu (bioaugmentacja). W tym celu zostały przygotowane mikrokapsułki otoczkowane alginianem sodu z dodatkiem bakterii (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*), które stanowią dominującą populację autochtoniczną w zanieczyszczonej glebie. W etapie kolumnowym zaplanowano także przeprowadzenie badań fizycznych i chemicznych gleby, zgodnie z metodyką opisaną powyżej.

Podobne badania przewidziano w skali mikro, aby móc w sposób ciągły kontrolować i rejestrować przebieg procesów glebowych i zmiany zachodzące w badanych próbach tj. ilość wytwarzanego dwutlenku węgla i pary wodnej oraz stopień zużycia tlenu w efekcie rozkładu związków ropopochodnych pod wpływem aktywności mikrobiologicznej. Doświadczenie zostało przeprowadzone przy użyciu analizatora gazowego EGA60 Geomor Technik oraz respirometru ECHO ER firmy Echo Instruments. Pierwsze urządzenie pozwala mierzyć stężenie emitowanego z próbek CO₂ i H₂O, drugie umożliwia pomiar między innymi stężenia CO₂, H₂O i zużycia tlenu w warunkach kontrolowanej wilgotności, temperatury, ciśnienia i przepływu powietrza. Badanie to pozwoliło na określenie poziomu respiracji gleb poddanych traktowaniu określonymi czynnikami (seryjne utlenianie i bioaugmentacja) oraz na określenie

intensywności i kinetyki rozkładu substancji ropopochodnych. W doświadczeniu zostały użyte czynniki utleniające, biosurfaktanty oraz czynniki biologiczne w odpowiednich kombinacjach.

5.3.1. Badania kolumnowe

Rozpoczęto pierwsze doświadczenie laboratoryjne. W tym celu przygotowano 7 rur PCV o średnicy 11 cm i długości 100 cm. Rury wypełniono gruntem zanieczyszczonym substancjami ropopochodnymi, pobranym z terenu 1. Na terenie dokonano wykopu odkrywkowego o wymiarach 1,2x1 m. Na głębokości ok 0,7 m natknięto się na grunt o wyraźnym, charakterystycznym zapachu i kolorze, wskazującym na silne zanieczyszczenie. Pobrano z tej warstwy około 250 kg materiału gruntowego do szczelnie zamykanych wiader z tworzywa sztucznego i przewieziono do laboratorium. Materiał miał charakter nasypu antropogenicznego, z przewagą piasku gliniastego, z dodatkiem żużla, barwy ciemnoszarej, o wyraźnym zapachu substancji ropopochodnych. Przed umieszczeniem w rurach próbkę gruntu dokładnie wymieszano w dużym pojemniku w celu ujednolicenia warunków w całej objętości próby. Usunięto też większe zanieczyszczenia w postaci kamieni i gruzu o ziarnach powyżej 2 cm. Tak przygotowany materiał umieszczono w kolumnach rurowych po 30 litrów gruntu do każdej kolumny. W każdej takiej rurze umieszczono centralnie współosiowo drugą rurę, perforowaną, o średnicy 4 cm i długości 100 cm. Kolumny nawiercono na wysokości 15cm od góry, w połowie wysokości i 15 cm od dołu. W tych punktach umieszczono kraniki spustowe do pobierania odcieków (Rysunek 17).



Rysunek 17. Schemat kolumny doświadczalnej. 1 - wewnętrzna rura perforowana, 2 - zewnętrzna rura kolumnowa, 3 - wsad badanego gruntu, 4 - kraniki odciekowe

Sześć kolumn przeznaczono na doświadczenie z dodatkami, siódma kolumna służyła za próbę porównawczą bez dodatków. Zakładano aplikację następujących dodatków: roztwór H_2O_2 do kolumny 1 i 2, roztwór biosurfaktantu do kolumny 3 i 4, roztwór aktywnych mikroorganizmów do kolumny 5 i 6, czysta woda do kolumny 7 w celu utrzymania porównywalnego stanu nawodnienia profilu. Zainstalowane kraniki miały służyć do poboru odcieków z różnych głębokości próby w celu oceny skuteczności działania dodatków doglebowych w zależności od poziomu. Wszystkie kolumny umieszczono w komorze fitotronowej, w warunkach kontrolowanych parametrów środowiskowych (temperatura, wilgotność, natężenie światła) (Rysunek 18).



Rysunek 18. Doświadczenie kolumnowe w komorze fitotronowej

Rozpoczęto dozowanie preparatów w ilości $0,5 \text{ dm}^3$ na kolumnę w odstępach dwutygodniowych. Planowano pobór próbek do badań na obecność frakcji olejowych

C₁₅-C₃₅ w przedziałach dwumiesięcznych, jednak pierwsze badanie próbek nie zwróciło wyników w postaci obecności frakcji olejowych. Demontaż kolumn ujawnił brak charakterystycznego zapachu substancji ropopochodnych w całej objętości badanego gruntu.

W celu wykluczenia błędu doświadczenie wykonano ponownie w dokładnie taki sam sposób i ponownie otrzymano ten sam negatywny wynik.

Prawdopodobnie mieszanie całości próby przed eksperymentem, powodujące bardzo dobre napowietrzenie gruntu w całej objętości, spowodowało intensywne przyspieszenie procesu rozkładu substancji ropopochodnych. Jednak ze względu na brak możliwości przeprowadzenia takiego procesu w warunkach in situ, nie było to przedmiotem zainteresowania w ramach tego doświadczenia. W związku z powyższym zaniechano kontynuowania eksperymentu w tej formie.

5.3.2. Badania mikrobiologiczne

W celu określenia liczebności i jakości mikroorganizmów z badanych terenów doświadczalnych wykonano następujące analizy mikrobiologiczne:

Z obu terenów pobrano próbki gleby z głębokości odpowiadającej największej koncentracji zanieczyszczeń substancjami ropopochodnymi. Próbka z terenu 1 zawierała 14 700 mg/kg s.m. frakcji olejowej C₁₅-C₃₅ a próbka z terenu 2 zawierała 13 400 mg/kg s.m. frakcji olejowej C₁₅-C₃₅.

Z każdej próbki gleby odważono 10 g materiału, przeniesiono do kolby płaskodennej, dodano 90 ml płynu do rozcieńczeń (jałowy bufor PBS) i wytrząsano przez 30 min. Pobrano 1 ml płynu znad osadu i przeniesiono do probówki zawierającej 9 ml bufora PBS. Probówkę wytrząsano 30 s. W ten sposób otrzymano rozcieńczenie 1:100. Analogiczne rozcieńczenia wykonano jeszcze dwukrotnie, otrzymując roztwory 1:1000 i 1:10000. Założono, że silnie skażona gleba będzie zawierała mniej mikroorganizmów niż gleba czysta i do posiewów testowych użyto tych trzech niskich rozcieńczeń (10^2 , 10^3 i 10^4).

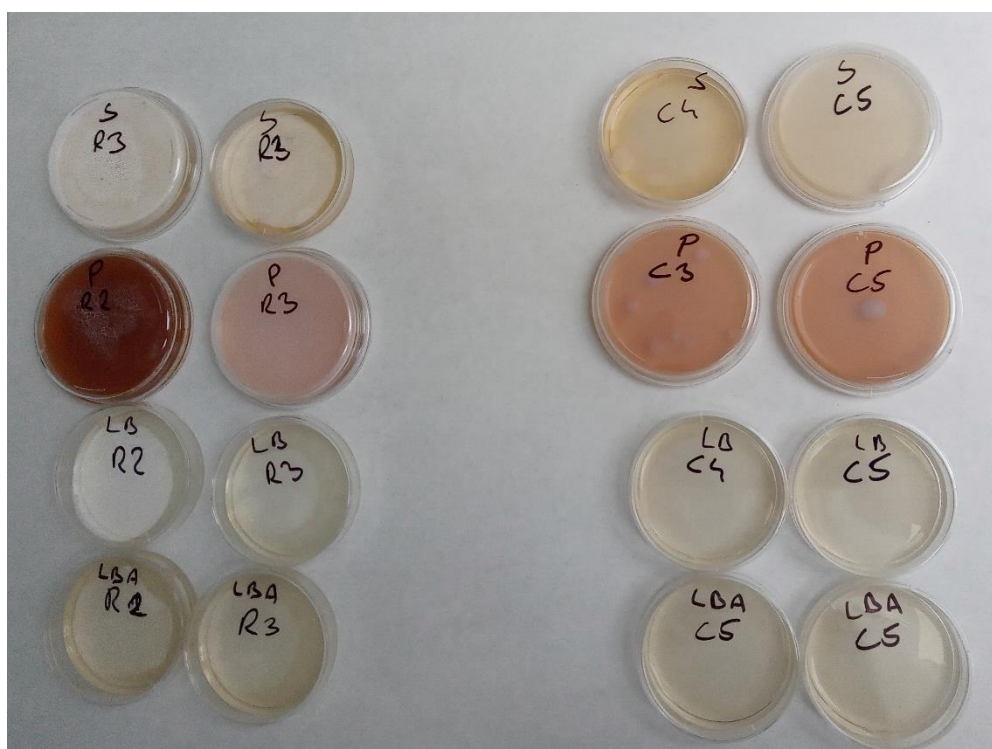
Tak przygotowany materiał płynny sprawdzono na obecność grzybów, promieniowców i bakterii.

Przygotowano trzy rodzaje pożywek mikrobiologicznych:

- dla hodowli bakterii - podłoże agarowe LB (Tryptone: 10 g/l, Yeast Extract: 5 g/l, Sodium Chloride: 5 g/l, Agar 15 g/l),
- dla hodowli promieniowców - podłoże agarowe jak wyżej plus 2% propionian sodu,
- dla hodowli grzybów - podłoże Sabourauda (2% agar, 2% glukoza, 1% BactoPeptone, 1% Yeast Extract).

Wysterylizowane podłoża wylano na wysterylizowane płytki Petriego a następnie posiano po 1ml przygotowanych wcześniej roztworów na każdy rodzaj podłoża w dwóch powtórzeniach.

Płytki inkubowano w temperaturze 29°C przez 96 godzin (Rysunek 19).



Rysunek 19. Część próbek inkubowanego materiału biologicznego na pożywkach różnicujących

Uzyskane wyniki zebrano w tabelach.

Doświadczenie to było jedną z przesłanek kolejnych działań, w których wszelkie założenia opierano na wykorzystaniu autochtonicznych szczepów bakteryjnych,

z pominięciem roli promieniowców i grzybów. Wszystkie bioroztwory przygotowywane do kolejnych zabiegów remediacyjnych bazowały na organizmach bakteryjnych.

5.3.3. Badania respirometryczne

Badania z zastosowaniem analizatora gazowego EGA60

Kolejne doświadczenie przeprowadzono w analizatorze gazowym EGA60, Geomorph Technik, który mierzy stężenie emitowanego z próbek CO₂ i H₂O (Rysunek 21). Badanie to pozwala na równoczesne określenie poziomu respiracji gleb poddanych traktowaniu określonymi czynnikami oraz pozwala na określenie intensywności i kinetyki rozkładu substancji ropopochodnych w czasie rzeczywistym.

Do badania użyto dwóch rodzajów substytutu gleby bazowej: podłoże ogrodowe torfowe zakupione w markecie ogrodniczym i niskiej jakości lekką glebę piaszczystą pozyskaną z pola. Przygotowano łącznie 16 próbek o masie 500 g każda, po 8 z każdego rodzaju materiału bazowego. Jako dodatki stosowano H₂O₂ (roztwór 7%), bulion aktywnych mikroorganizmów, surfaktant (roztwór roboczy 1:100). Substancje aktywne dodawano w ilości 20ml na każdą odważkę 500 g, dokładnie mieszano i umieszczano w kolejnych tubach urządzenia.

Próbki przygotowano wg następującego schematu (Tabela 6):

Tabela 6. Schemat przygotowania próbek do badań respirometrycznych w analizatorze gazowym EGA 60

Lp.	baza	olej napędowy	H ₂ O ₂	bulion	surfaktant
1	ziemia				
2	ziemia		+		
3	ziemia			+	
4	ziemia				+
5	ziemia	+			
6	ziemia	+	+		

Lp.	baza	olej napędowy	H ₂ O ₂	bulion	surfaktant
7	ziemia	+		+	
8	ziemia	+			+
9	torf				
10	torf		+		
11	torf			+	
12	torf				+
13	torf	+			
14	torf	+	+		
15	torf	+		+	
16	torf	+			+

Badania przeprowadzono w temperaturze pokojowej, w dwóch powtórzeniach, z identyczną konfiguracją mieszanin. Analiza powietrza glebowego odbywała się w sposób ciągły, do momentu wyraźnego spadku i stagnacji aktywności respiracyjnej próbek (czas 3 miesiące).



Rysunek 20. Analizator gazowy EGA60 z próbkami badanej gleby

Badania z zastosowaniem analizatora gazowego ECHO ER

Podobne doświadczenie przeprowadzono w respirometrze ECHO, który umożliwia pomiar stężenia CO_2 , H_2O , zużycia tlenu i ciśnienia w warunkach kontrolowanej wilgotności, temperatury, ciśnienia i przepływu powietrza (Rysunek 22). Badanie to pozwala na jednoczesne określenie poziomu respiracji gleb poddanych traktowaniu określonymi czynnikami oraz określenie intensywności i kinetyki rozkładu substancji ropopochodnych w czasie rzeczywistym, czyli ich biodegradacji.



Rysunek 21. Praca z urządzeniem ECHO

Do przeprowadzenia doświadczenia użyto powszechnie dostępnego, marketowego substytutu ziemi ogrodowej wykonanego z mieszaniny mielonej kory, kompostu i włókien drzewnych. Ze względu na zasadę ochrony złóż torfowych wybrano produkt beztorfowy.

Partię ziemi dokładnie wymieszano ze znaną ilością oleju napędowego. W ten sposób utworzono bazę do eksperymentu. Jedną próbkę tak przygotowanej bazy przebadano na obecność substancji ropopochodnych w celu dokładnego określenia warunków początkowych eksperymentu. Kolejną próbkę zamknięto w szczelnym naczyniu szklanym jako próbkę archiwalną, kontrolną, nie poddawaną żadnym działaniom. Z pozostałej części utworzono 12 próbek o takiej samej masie (560g).

Próbki przygotowano wg następującego schematu, opisanego w Tabeli nr. 7.

Tabela 7. Schemat przygotowania próbek do badań respirometrycznych w analizatorze gazowym ECHO

Nr próbki:	1	2,3,4	5,6,7	8,9,10	11,12
Dodatek:	bez dodatku	biopreparat (kapsułki)	surfaktant	H ₂ O ₂	biopreparat (kapsułki) +surfaktant

Do próbki numer 1 nie dodano żadnej substancji pomocniczej. Stanowiła ona próbę kontrolną.

Do próbek numer 2,3,4 dodano bulion aktywnych mikroorganizmów w postaci immobilizowanej w mikrokapsułkach alginianowych, w ilości 10% wagowych co stanowiło 56 g kapsułek na próbkę.

Do próbek 5,6,7 dodano roztworu biosurfaktantu w rozcieńczeniu 1:40, w objętości 10ml.

Do próbek 8,9,10 dodano 7% roztwór H₂O₂ w ilości 10 ml.

Do próbek 11,12 dodano mikrokapsułki i biosurfaktant w ilości 56 g mikrokapsułek i 10 ml surfaktantu.

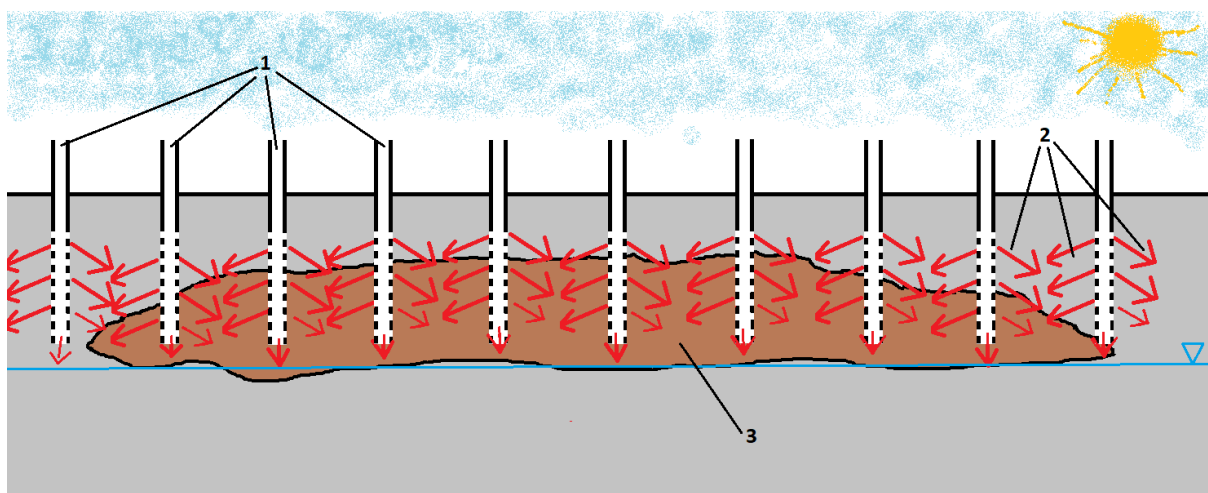
Doświadczenie prowadzono w temperaturze 35°C przez 33 dni (pierwsze powtórzenie) i przez 48 dni (drugie powtórzenie). Przez pojemniki z próbkami przepuszczano w trybie ciągłym jednakową ilość powietrza pod stałym ciśnieniem i przy kontrolowanej wilgotności. Co 30 minut dokonywano dla każdej próbki pomiaru stężeń gazów respiracyjnych w powietrzu wylotowym.

Po zakończeniu eksperymentu zbadano wszystkie próbki, włącznie z próbką archiwalną, na zawartość frakcji oleju C₁₂-C₃₅.

5.4. Przebieg badań terenowych

Teren 1

Prace wstępne rozpoczęto w maju 2020 roku w zakresie przygotowania terenu do realizacji zabiegów remediacyjnych oraz montażu niezbędnej infrastruktury technologicznej. Wycięto krzewy porastające teren i utrudniające prowadzenie prac. Na podstawie wcześniejszych badań monitoringowych powierzchnię skażenia określono na 500-600 m² a miąższość na ok 2-2,5 m. W siatce co 4-5 m (z uwzględnieniem przeszkód terenowych) równomiernie zainstalowano rury PCV o długości 2 m, perforowane do połowy długości. Rury wkopano na głębokość około 1,5 m tak, żeby zapewnić efektywną dystrybucję preparatów remediacyjnych, i żeby strefa perforowana częściowo sięgała ponad strop warstwy skażonej, która w tym rejonie została zidentyfikowana na głębokości 0,6-0,8 m (Rysunek 22).



Rysunek 22. Schemat instalacji terenowej. 1 - perforowane rury iniekcyjne, 2 - kierunek infiltracji roztworów aktywnych, 3 - warstwa skażonego gruntu

Łącznie użyto 80 rur o średnicy 5 cm (do późniejszej iniekcji roztworów roboczych) i 10 rur o średnicy 11 cm, zainstalowanych do głębokości 4m p.p.t. (do późniejszej iniekcji roztworów roboczych i monitoringu jakości wód gruntowych) (Rysunek 23 i 24).



Rysunek 23. Mapka terenu 1 z zaznaczonym obszarem skażonym i punktami lokalizacji rur iniekcyjnych (czerwone) i monitoringowych (żółte)

Pobrano też próbki gruntu z warstwy skażonej w celu identyfikacji i namnożenia w warunkach laboratoryjnych mikroorganizmów autochtonicznych, rozkładających substancje ropopochodne.



Rysunek 24. Widok zainstalowanych rur iniekcyjnych

W czerwcu 2020 wykonano pierwszą serię zabiegów polegających na cotygodniowej aplikacji roztworu H_2O_2 . Wykonano łącznie 3 aplikacje po 600 litrów roztworu każda (po 5 litrów roztworu na każdą rurę ϕ 5 cm i 20 litrów roztworu na każdą rurę ϕ 11 cm). Zaobserwowano gwałtowne reakcje w gruncie, słabnące z każdą kolejną aplikacją (Rysunek 25).



Rysunek 25. Gwałtowna reakcja po aplikacji roztworów utleniających

Roztwory utleniające stosowano tylko w jednym cyklu, w pierwszym roku, na początku całego procesu. W kolejnych latach nie powtarzano fazy utleniania chemicznego w gruncie. Od lipca rozpoczęto aplikację bioroztworów i substancji pomocniczych.

Zabiegi prowadzono w odstępach dwutygodniowych naprzemiennie stosując roztwór biosurfaktantu i efektywne mikroorganizmy glebowe, każdorazowo w ilości ok 600 litrów na zabieg (analogicznie jak wcześniejsze roztwory utleniające). Korzystając ze sprzyjającej pogody aplikacje prowadzono cyklicznie do połowy listopada.

Równocześnie zastosowano powierzchniową aplikację mikrobiologicznego preparatu mikrokapsułkowanego. Pierwszy zabieg przeprowadzono na początku lipca, kolejne w połowie sierpnia i na początku września. W celu optymalnego wykorzystania właściwości preparatów mikrokapsułkowanych i zabezpieczenia ich przed procesem wysychania rozprawdzano je równomiernie po powierzchni terenu a następnie wprowadzano płytko pod powierzchnię gruntu metodą wertykulacji. Jednorazowo aplikowano 400 kg preparatu mikrokapsułkowanego, a dokładny termin aplikacji ustalano z uwzględnieniem prognozy pogody w taki sposób, żeby w możliwie krótkim czasie po zabiegu nastąpiły opady deszczu.

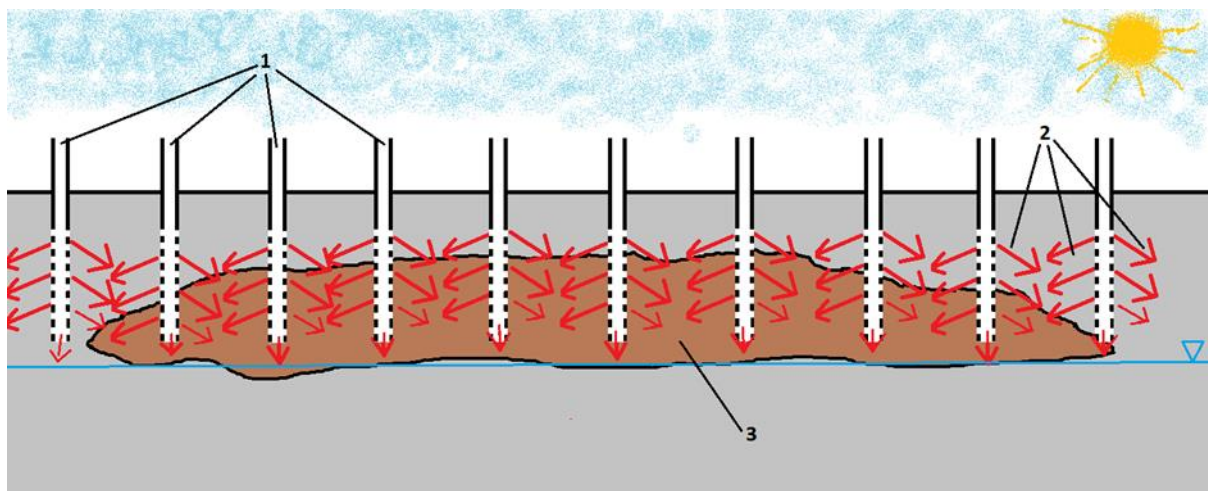
W następnych latach kontynuowano proces w cyklicznych powtórzeniach, z użyciem bioroztworów, biosurfaktantów i preparatów mikrokapsułkowanych, przeprowadzając proces w trakcie każdego kolejnego procesu wegetacyjnego (kwiecień,- październik).

Po każdym sezonie wegetacyjnym pobierano próbki wody i gruntu do analizy, zgodnie z wymaganiami zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 5 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi. Wyznaczono 10 punktów poboru prób glebowych, pokrywających się z ostatnimi punktami poboru z okresu przedremediacyjnego.

Teren 2 - zabiegi analogiczne

Działania naprawcze rozpoczęto wiosną 2021 roku w zakresie przygotowania terenu do realizacji zabiegów remediacyjnych oraz montażu niezbędnej infrastruktury technologicznej. Na podstawie wcześniejszych badań monitoringowych powierzchnię skażenia określono na 400-500 m² a miąższość na ok 1,5-2 m. W siatce co około 4-5 m (z uwzględnieniem przeszkód terenowych) w miarę możliwości równomiernie zainstalowano rury PCV o długości 2 m, perforowane do połowy długości. Rury wkopano na głębokość około 1,5 m tak, żeby zapewnić efektywną dystrybucję

preparatów remediacyjnych, i żeby strefa perforowana częściowo sięgała ponad strop warstwy skażonej, która w tym rejonie została zidentyfikowana na głębokości 1,3-1,5 m (Rysunek 26 i 27).



Rysunek 26. Schemat instalacji terenowej. 1 - perforowane rury iniekcyjne, 2 – kierunek infiltracji roztworów aktywnych, 3 – warstwa skażonego gruntu

Łącznie użyto 50 rur o średnicy 5 cm (do późniejszej iniekcji roztworów roboczych). Pobrano też próbki gruntu z warstwy skażonej w celu identyfikacji i namnożenia w warunkach laboratoryjnych mikroorganizmów autochtonicznych, rozkładających substancje ropopochodne.



Rysunek 27. Mapa terenu 2 z zaznaczonym obszarem skażonym i punktami lokalizacji rur iniekcyjnych

W maju 2021 roku wykonano pierwszą serię zabiegów polegających na cotygodniowej aplikacji roztworu H_2O_2 . Wykonano łącznie 3 aplikacje po 400 litrów roztworu każda (po około 7-8 litrów roztworu na każdą rurę fi 5cm). Zaobserwowano gwałtowne reakcje w gruncie, słabnące z każdą kolejną aplikacją.

Roztwory utleniające stosowano tylko w jednym cyklu, w pierwszym roku, na początku całego procesu. W kolejnych latach nie powtarzano fazy utleniania chemicznego w gruncie. Pod koniec czerwca 2021 roku rozpoczęto aplikację bioroztworów i substancji pomocniczych. Zabiegi prowadzono w odstępach trzytygodniowych naprzemiennie stosując roztwór biosurfaktantu i efektywne mikroorganizmy glebowe, każdorazowo w ilości ok 400 litrów na zabieg (analogicznie jak wcześniejsze roztwory utleniające). Korzystając ze sprzyjającej pogody aplikacje prowadzono cyklicznie do połowy listopada 2021 roku.



Rysunek 28. Widok terenu 2 przygotowanego do iniekcji dogłębowych

Równocześnie zastosowano powierzchniową aplikację mikrobiologicznego preparatu mikrokapsułkowanego. Pierwszy zabieg przeprowadzono na początku czerwca, kolejne w połowie lipca oraz na początku i pod koniec września 2021 roku. W celu optymalnego wykorzystania właściwości preparatów mikrokapsułkowanych i zabezpieczenia ich przed procesem wysychania rozprowadzano je równomiernie po powierzchni terenu, a następnie wprowadzano płytko pod powierzchnię gruntu metodą wertykulacji. Część preparatów mikrokapsułkowanych dodawano też bezpośrednio do rur iniekcyjnych. Jednorazowo aplikowano 300 kg preparatu mikrokapsułkowanego (200kg na powierzchnię i 100 kg do wnętrza rur), a dokładny termin aplikacji ustalano z uwzględnieniem prognozy pogody w taki sposób, żeby w możliwie krótkim czasie po zabiegu nastąpiły opady deszczu.

W następnych latach kontynuowano proces w cyklicznych powtórzeniach, z użyciem bioroztworów, biosurfaktantów i preparatów mikrokapsułkowanych, przeprowadzając proces w trakcie każdego kolejnego procesu wegetacyjnego (kwiecień- październik).

Po każdym sezonie wegetacyjnym pobierano próbki gruntu do analizy, zgodnie z wymaganiami zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 5 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi.

Wyznaczono 6 punktów poboru prób glebowych, pokrywających się z ostatnimi punktami poboru z okresu przedremediacyjnego.

5.5. Modelowanie rozkładu zanieczyszczeń

Model matematyczny rozkładu substancji ropopochodnych z dodatkiem biostymulantów.

Celem opracowanego modelu było matematyczne odwzorowanie przebiegającego procesu biodegradacji substancji ropopochodnych w glebie dla opracowanej metody hybrydowej z wykorzystaniem autochtonicznych mikroorganizmów immobilizowanych w mikrokapsułkach alginianowych oraz biosurfaktantów. Model ten miał na celu określenie, jak zmieniało się stężenie substancji ropopochodnych (głównie frakcji C₁₂-C₃₅) w czasie trzech lat remediacji (2020–2022) oraz walidację skuteczności zastosowanej metody oczyszczania gleby.

W pracy przyjęto następujące założenia modelu:

- Proces biodegradacji substancji ropopochodnych podlega kinetyce pierwszego rzędu, co oznacza, że szybkość biodegradacji jest proporcjonalna do aktualnego stężenia zanieczyszczeń.
- Dodatek mikroorganizmów autochtonicznych i biosurfaktantu zwiększa efektywność degradacji, co jest uwzględnione przez współczynnik biostymulacji (α).
- Model uwzględnia trzy lata badań (2020–2022) i opiera się na średnich wartościach stężeń substancji ropopochodnych w próbkach gleby dla terenu 2.
- Model zakłada także brak dodatkowych zewnętrznych źródeł zanieczyszczeń.
- Model zakłada jednorodność przestrzenną, co oznacza, że wartości stężeń dla każdego roku są uśrednione, co eliminuje wpływ niejednorodności gleby na wyniki.

Zazwyczaj rozkład substancji ropopochodnych w glebie można opisać jako proces pierwszorzędowy, gdzie stężenie substancji zanieczyszczającej maleje w czasie zgodnie z równaniem kinetyki pierwszego rzędu:

$$\frac{dC}{dt} = -kC$$

Gdzie:

C - stężenie substancji ropopochodnych w czasie,

k - współczynnik rozkładu (biodegradacji),

$\frac{dC}{dt}$ - szybkość zmiany stężenia substancji w czasie

Dla opracowanego modelu uwzględniono biostymulację surfaktantami i mikroorganizmami.

Postać matematyczna modelu

$$C(t) = C_0 \cdot e^{-kt} \cdot (1 - \alpha \ln(t + 1))$$

Gdzie:

$C(t)$ - stężenie substancji ropopochodnych w glebie po czasie t [mg/kg s.m.],

C_0 - początkowe stężenie substancji ropopochodnych [mg/kg s.m.],

k - współczynnik biodegradacji,

α - współczynnik biostymulacji,

t - czas trwania bioremediacji [lata].

Do opracowania modelu wykorzystano następujące dane wejściowe z badań terenowych dla terenu 2.

Czas [lata]: 0 (2020), 1 (2021), 2 (2022)

Średnie stężenie frakcji oleju (C_{12} - C_{35}) [mg/kg s.m.]:

- 2020: 3183,9
- 2021: 2797,4
- 2022: 169,9

Po dopasowaniu modelu do danych terenowych uzyskano następujące wartości parametrów:

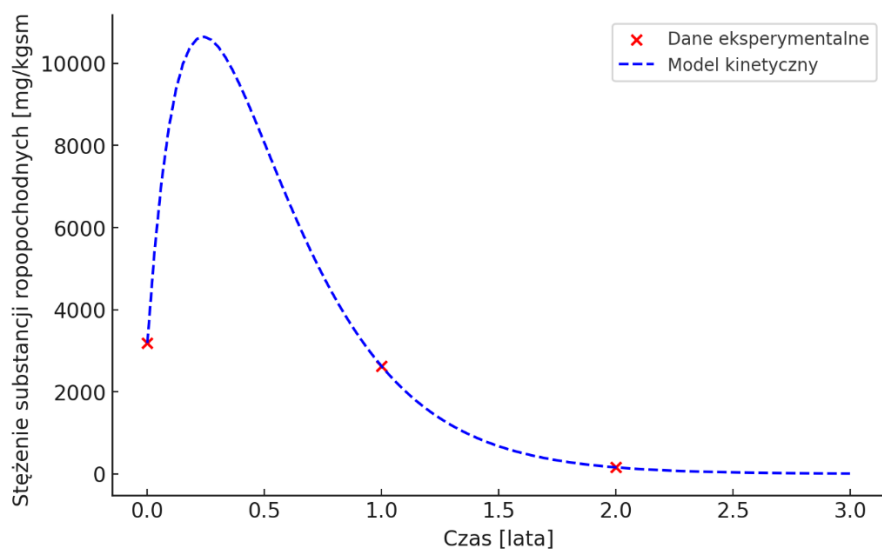
- $k = 3,25$ (współczynnik biodegradacji),
- $C_0 = 3183.9$ mg/kg sm (początkowe stężenie substancji ropopochodnych),
- $\alpha = -29,3$ (współczynnik biostymulacji).

Dokonano walidacji modelu. W tym celu wyznaczono wartość RMSE (od ang. root mean square error, czyli średniej kwadratowej błędów).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (C_{exp} - C_{model})^2}$$

$$RMSE = 2,67 \times 10^{-13}$$

Uzyskany wynik ma bardzo niską wartość, co oznacza, że model bardzo dobrze dopasowuje się do danych eksperymentalnych. Na rysunku (Rysunek 29) przedstawiono graficznie model. Wykres wskazuje, że model odwzorowuje spadek stężenia substancji ropopochodnych.



Rysunek 29. Model biodegradacji substancji ropopochodnych z biostymulacją metodą hybrydową

W przygotowaniu modelu wykorzystano język programowania Python. W metodzie dopasowania modelu zastosowano metodę najmniejszych kwadratów (ang. Least Squares Regression) do oszacowania wartości parametrów k i α .

6. Omówienie badań i dyskusja wyników

6.1. Wyniki badań laboratoryjnych

6.1.1. Wyniki analiz gleby

Podstawowe parametry fizykochemiczne próbek gruntów pobranych z terenów 1 i 2 (Tabela 8).

Tabela 8. Zestawienie podstawowych parametrów fizykochemicznych obu terenów doświadczalnych

	Teren 1	Teren 2
pH w H ₂ O	7,5 - 7,7	7,3 - 7,7
pH w KCl	6,4 - 7,1	6,9 - 7,1
Sucha masa [%]	66,5 – 96,2	83,2 – 94,7
Przepuszczalność [m/s]	0,00008 - <0,00000001	0,00042 - <0,00000001
Zawartość azotu ogólnego	0,22-0,46 g N·kg ⁻¹	0,19-0,39 g N·kg ⁻¹
Zawartość fosforu P	295 – 322 mg/kg	282 – 307 mg/kg

Wartości pH kształtują się na dość wysokim poziomie jak na grunty zanieczyszczone substancjami ropopochodnymi, gdyż zanieczyszczenia tego typu z reguły zakwaszają glebę. Należy jednak pamiętać, że są to tereny przekształcone antropogenicznie, a na ich powierzchni występuje tłuczeń kolejowy, który ze względu na budowę i właściwości chemiczne, może wpływać na podniesienie wartości pH.

Zestawienie wyników (Tabela 8) przedstawia maksymalne i minimalne wartości z analiz kilkudziesięciu próbek pojedynczych pobranych z warstwy skażonej z danego terenu.

Wyniki badań granulometrycznych przedstawiają analizę próbki zbiorczej powstałej przez uśrednienie próbek pojedynczych pobranych z warstwy skażonej z danego terenu.

Badania potwierdziły, że na obu terenach, poza nielicznymi przewarstwieniami, występują grunty przepuszczalne o wodoprzepuszczalności wyższej niż 1×10^{-7} m/s.

Skład granulometryczny gruntów z omawianych terenów przedstawia się następująco:

Dla terenu 1:

Analiza sitowa

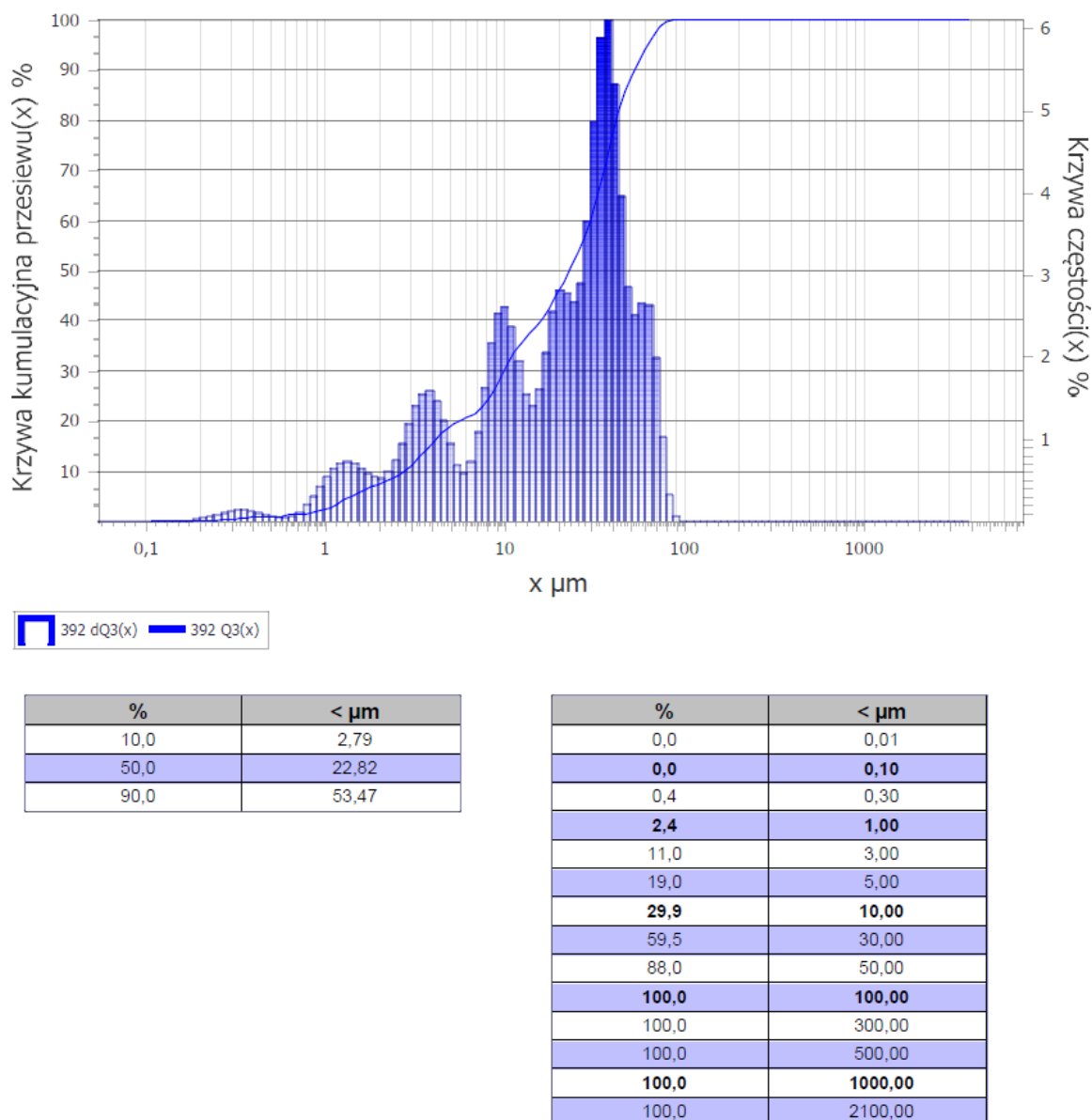
Tabela 9. Wyniki analizy sitowej gruntu z terenu 1

Rozmiar oczka sita [mm]	Udział procentowy [%]
10	2,21
5	3,65
2	9,15
1,6	3,77
1,4	3,85
1	10,58
0,5	26,99
0,25	20,74
0,1	11,67
0,063	4,45
Poniżej 0,063	2,93

Sitowa analiza granulometryczna gruntu z terenu 1 wykazała obecność wszystkich identyfikowanych frakcji granulometrycznych. Udziały procentowe wszystkich frakcji przedstawiono na rysunku (Tabela 9). Dominującą frakcją w analizowanej próbce, stanowiącą 26,99% jest klasa ziarnowa 0,5-1,0 mm. Najmniejszy udział procentowy (2,21%) wykazano dla frakcji powyżej 10 mm. Suma frakcji żwirowych 2-40 mm wynosi dla danej próbki 15,01%, suma frakcji piaskowych 0,05-2,0 mm wynosi 82,34%,

a suma frakcji pyłowych 0,002-0,05 mm wynosi 2,65%. Frakcji ilowej o wymiarach mniejszych niż 0,002 mm nie stwierdzono w analizowanej próbce.

Analiza laserowa frakcji poniżej 0,063mm:



Rysunek 30. Wyniki analizy laserowej gruntu z terenu 1

Laserowa analiza granulometryczna gruntu o średnicy mniejszej niż 0,063 mm z terenu 1 wykazała obecność następujących frakcji granulometrycznych: 0,3-3,0 μm , 3-10 μm , 10-50 μm , 50-100 μm . Udziały procentowe wszystkich frakcji przedstawiono na rysunku (Rysunek 30). Dominującą frakcją w analizowanej próbce, stanowiącą

58,1% jest klasa ziarnowa 10-50 μm . Najmniejszy udział procentowy (11,0%) wykazano dla frakcji 0,3-3,0 μm . Frakcja piaskowa o średnicy > 50 μm stanowi 12%. Frakcje o wymiarach większych niż 100 μm nie występują w analizowanej próbce.

Dla terenu 2:

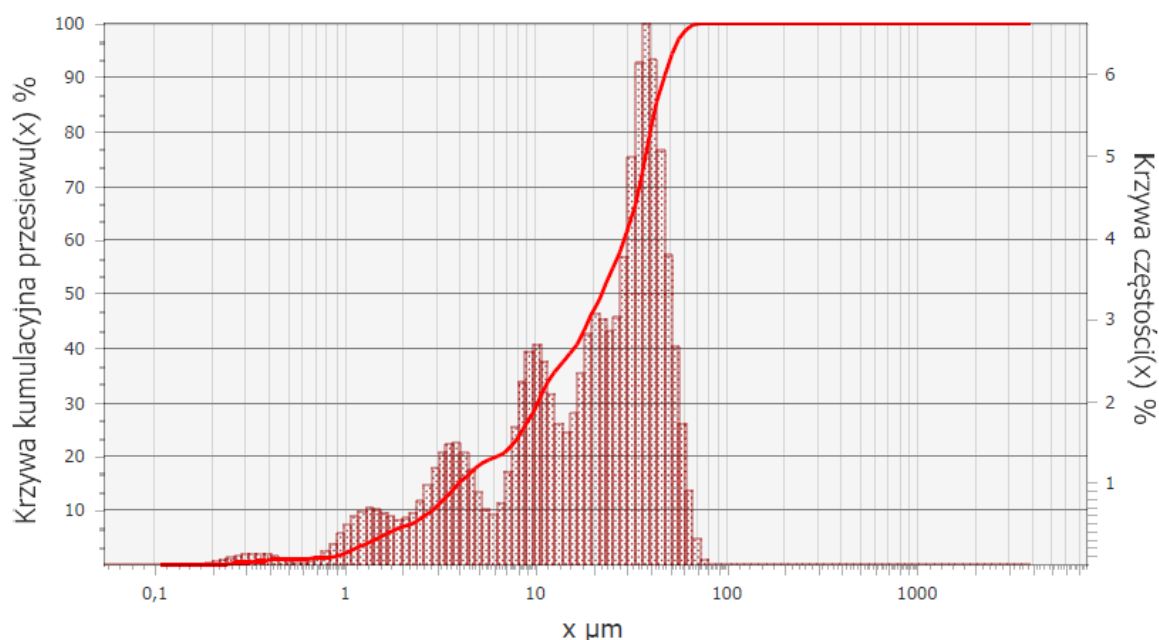
Analiza sitowa:

Tabela 10. Wyniki analizy sitowej gruntu z terenu 2

Rozmiar oczka sita [mm]	Udział procentowy
10	0,62
5	1,23
2	3,86
1,6	22,10
1,4	22,33
1	28,84
0,5	16,57
0,25	2,01
0,1	0,39
0,063	0,90
Poniżej 0,063	1,16

Sitowa analiza granulometryczna gruntu z terenu 2 wykazała obecność wszystkich identyfikowanych frakcji granulometrycznych. Udziały procentowe wszystkich frakcji przedstawiono na rysunku (Tabela 10). Dominującą frakcją w analizowanej próbce, stanowiącą 28,84% jest klasa ziarnowa 1,0-1,4 mm. Najmniejszy udział procentowy (0,39%) wykazano dla frakcji 0,063-0,1 mm. Suma frakcji żwirowych 2-40 mm wynosi dla danej próbki 5,71%, suma frakcji piaskowych 0,05-2,0 mm wynosi 93,19%, a suma frakcji pyłowych 0,002-0,05 mm wynosi 1,1%. Frakcji ilowej o wymiarach mniejszych niż 0,002 mm nie stwierdzono w analizowanej próbce.

Analiza laserowa frakcji poniżej 0,063mm:



Mean	23,7 μm	0,37	Mode	37,46 μm
------	---------	------	------	----------

x in μm	Q3 (x) in %	dQ3(x) in %
0	0	0
0,1	0	0
0,3	0,4	0,4
1	2,1	1,7
3	10,6	8,5
5	18,3	7,7
10	29,4	11,2
30	61,3	31,9
50	93,3	32
100	100	6,7
300	100	0
500	100	0
1 000	100	0
2 100	100	0

Q3(x) in %	x in μm
10	2,9
50	21,9
90	46,5

Rysunek 31. Wyniki analizy laserowej gruntu z terenu 2

Laserowa analiza granulometryczna gruntu o średnicy mniejszej niż 0,063 mm z terenu 2 wykazała obecność następujących frakcji granulometrycznych: 0,3-3,0 μm, 3-10 μm, 10-50 μm, 50-100 μm. Udziały procentowe wszystkich frakcji przedstawiono na rysunku (Rysunek 31). Dominującą frakcją w analizowanej próbce, stanowiącą 63,9% jest klasa ziarnowa 10-50 μm. Najmniejszy udział procentowy (10,2%) wykazano dla frakcji 0,3-3,0 μm. Frakcja piaskowa o średnicy > 50 μm stanowi 6,7%. Frakcje o wymiarach większych niż 100 μm nie występują w analizowanej próbce.

6.1.2. Wyniki badań mikrobiologicznych

W jednym gramie zdrowej gleby uprawnej występuje około 10^6 - 10^8 komórek bakterii, 10^4 - 10^6 konidiów promieniowców, 10^2 - 10^4 zarodników grzybów. Przeprowadzone doświadczenie pokazało, że substancje ropopochodne wywierają silny negatywny wpływ na mikroorganizmy glebowe. W tych analizowanych przypadkach gleba była poddana działaniu frakcji olejowej przez ponad 20 lat. Spowodowało to redukcję ilościową wszystkich form mikroorganizmów, a w praktyce całkowite wyeliminowanie grzybów z warstwy skażonej i niemal całkowite wyeliminowanie promieniowców. Zasadnym wydaje się wniosek, iż promieniowce i grzyby źle znoszą obecność substancji ropopochodnych w środowisku glebowym, zwłaszcza w wyższych stężeniach. W konsekwencji tych spostrzeżeń bioaugmentacja prowadzona w oparciu o te mało odporne organizmy zdaje się być nieadekwatna do oczekiwanych wyników i już na etapie założeń przegrywa z systemem bazującym na autochtonicznych organizmach bakteryjnych.

Liczebność i rodzaj mikrobioty w próbkach z badanego terenu przedstawiają tabele (Tabela 11 i 12).

Tabela 11. Wyniki badań mikrobiologicznych gruntu z terenu 1

Średnia liczba jtk w glebie z terenu 1			
rozcieńczenie rodzaj podłoża	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
bakterie	32	5	0
promieniowce	1	0	0
grzyby	0	0	0

Tabela 12. Wyniki badań mikrobiologicznych gruntu z terenu 2

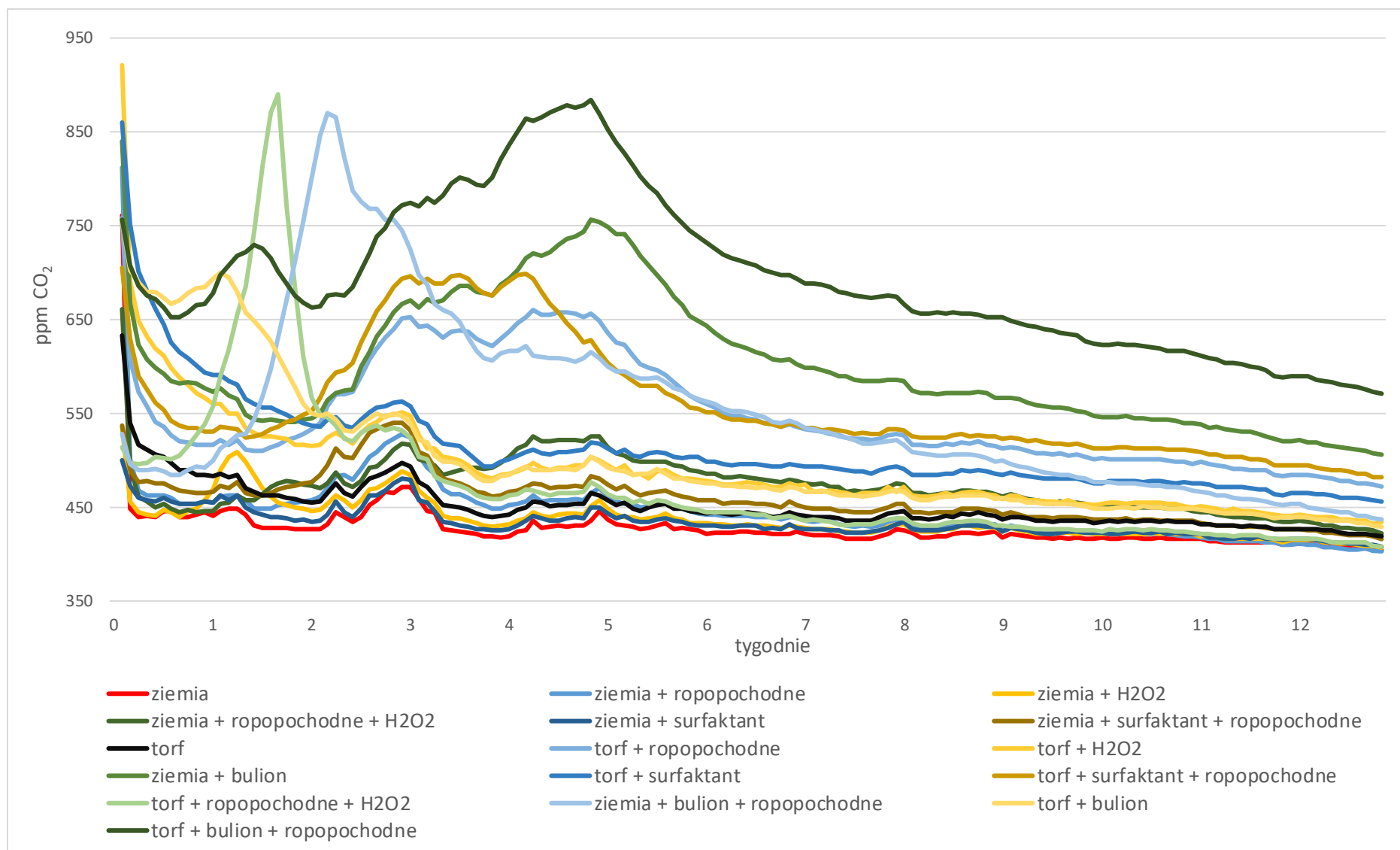
Średnia liczba jtk w glebie z terenu 2			
rozcieńczenie rodzaj podłoża	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
bakterie	58	8	1
promieniowce	2	0	0
grzyby	0	0	0

W glebach zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi zarówno ogólna liczba mikroorganizmów jak i bioróżnorodność drastycznie spada w porównaniu do gleb nieskażonych. Szczególną wrażliwość na obecność zanieczyszczeń wykazują grzyby i promieniowce.

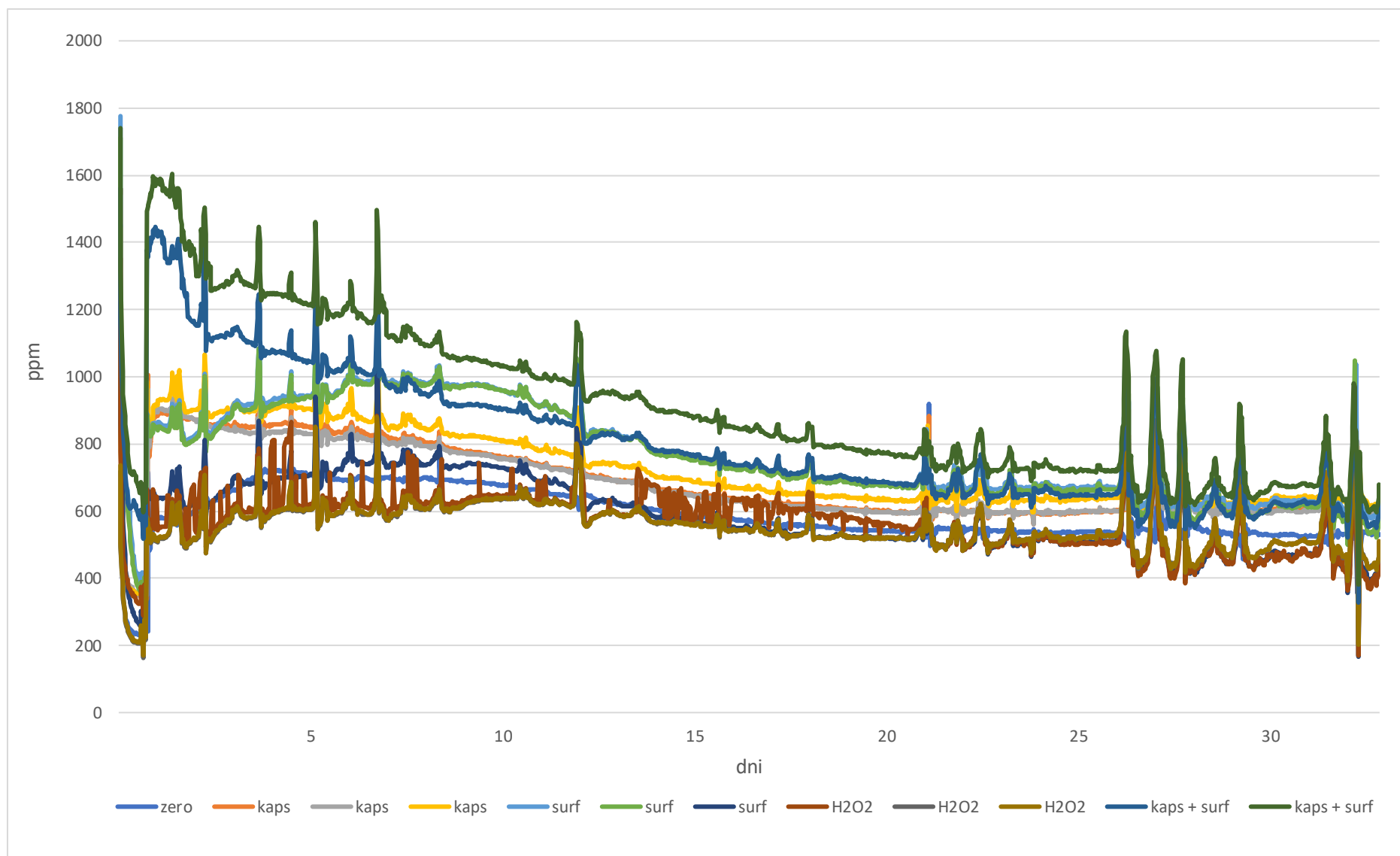
6.1.3. Wyniki badań respirometrycznych

Wspólną cechą dla większości próbek z dodatkami w teście w respirometrze EGA był początkowy wzrost aktywności (intensywny wzrost), a po pewnym czasie stopniowe wygaszanie produkcji CO₂ i obniżenie oraz stabilizowanie się aktywności glebowej dla wszystkich próbek (Rysunek 32). Nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy procesami w glebie torfowej a glebie piaszczystej.

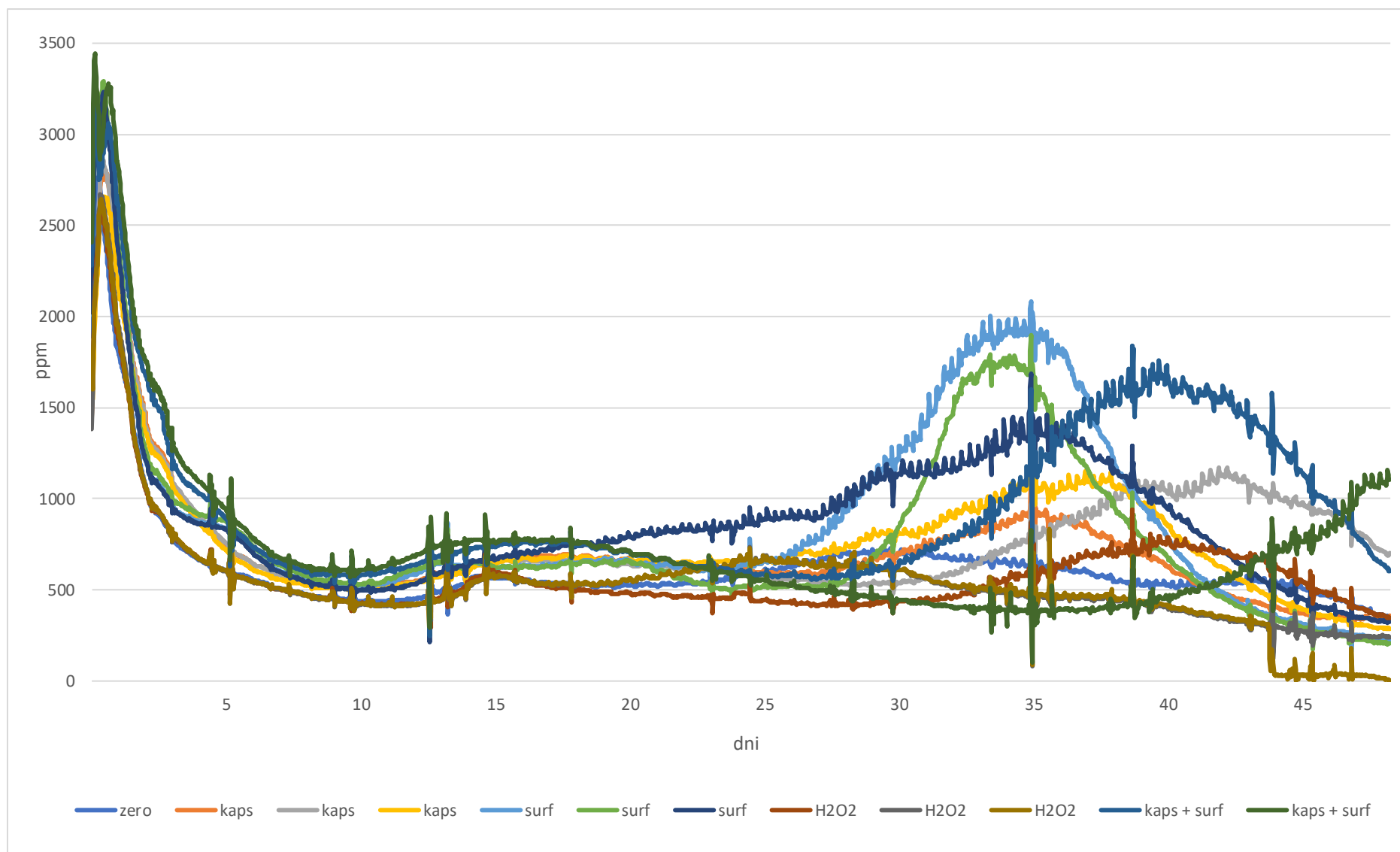
Na początku eksperymentu w 33-dniowym teście na urządzeniu ECHO aktywność glebowa gwałtownie rośnie, następnie powoli, jednostajnie opada (Rysunek 33). Wyjątkiem są próbki z dodatkiem surfaktantu, w których aktywność nie rośnie tak gwałtownie, za to tendencja wzrostowa utrzymuje się przez dłuższy czas. Zdecydowanie największą aktywność wykazują próbki z dodatkiem surfaktantu i mix surfaktantu z kapsułkami. Najmniejsza aktywność dotyczy próbek z dodatkiem H₂O₂.



Rysunek 32. Emisja CO₂ z różnych gruntów z różnymi dodatkami w respirometrze EGA



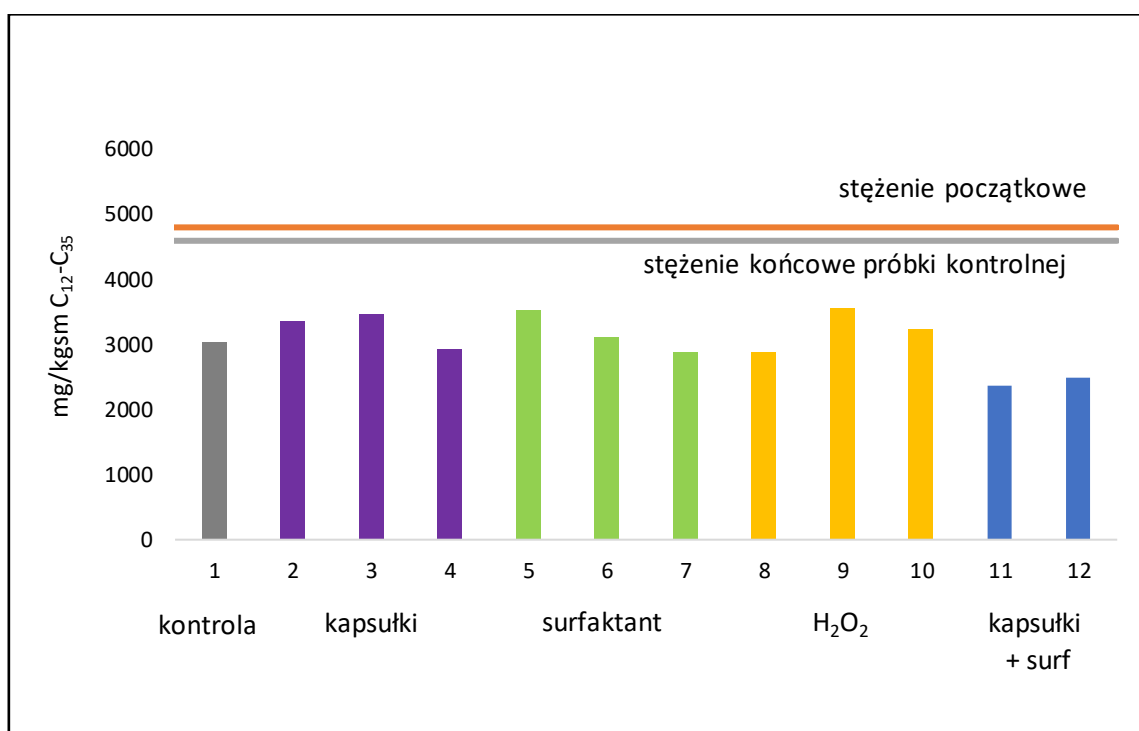
Rysunek 33. Emisja CO₂ w teście na urządzeniu ECHO przez 33 dni



Rysunek 34. Emisja CO₂ w teście na urządzeniu ECHO przez 48 dni

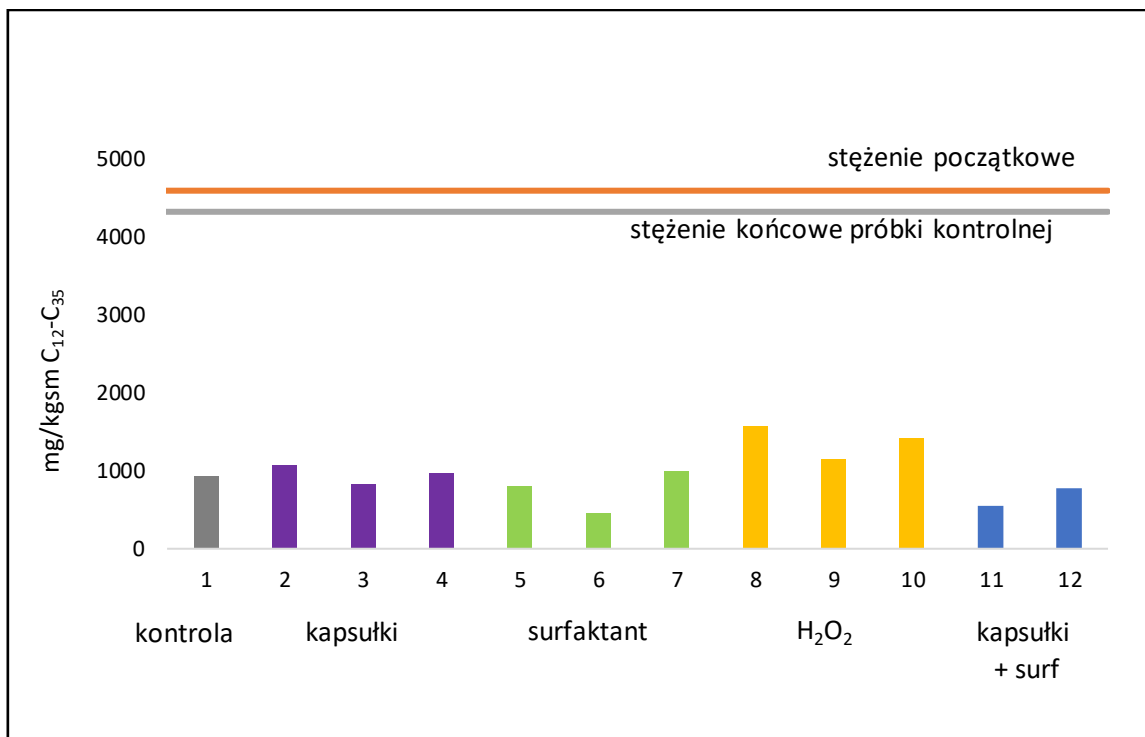
Wydłużenie czasu eksperymentu na respirometrze ECHO pozwoliło zaobserwować drugą fazę procesu. Po około 30 dniach nastąpił ponowny wzrost intensywności transpiracji większości próbek, tym razem nie tak gwałtowny jak we wcześniejszym eksperymencie, ale rozciągnięty w czasie. Największą aktywność zarówno w początkowej jak i w drugiej fazie procesu wykazywały próbki z dodatkiem surfaktantu i mieszaniny surfaktantu oraz kapsułek z bakteriami (Rysunek 34).

Po zakończeniu eksperymentu respirometrycznego zbadano wszystkie próbki, włącznie z próbką archiwalną, na zawartość frakcji oleju $C_{12}-C_{35}$ (Rysunki 35-38).



Rysunek 35. Zmiany stężenia frakcji $C_{12}-C_{35}$ dla zastosowanych dodatków w glebie po 33 dniach eksperymentu

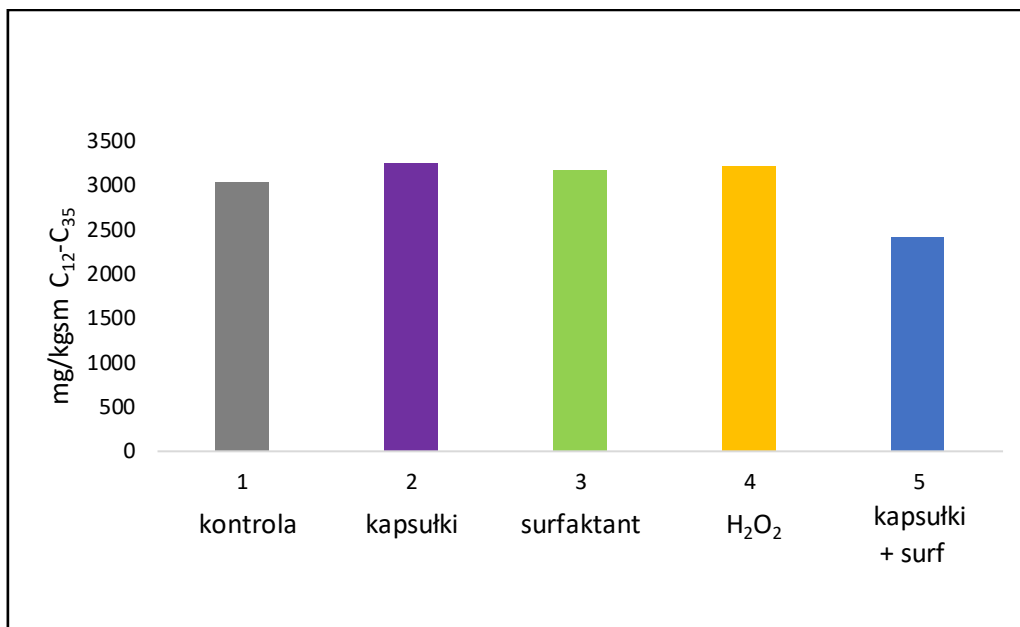
Wyniki analizy ANOVA dla zmian zawartości $C_{12}-C_{35}$ w różnych grupach eksperymentalnych: statystyka F: 10, 42 , wartość p: 0.01 ($p < 0.05$, co oznacza istotne różnice między grupami).



Rysunek 36. Zmiany stężenia frakcji $C_{12}-C_{35}$ dla zastosowanych dodatków w glebie po 48 dniach eksperymentu

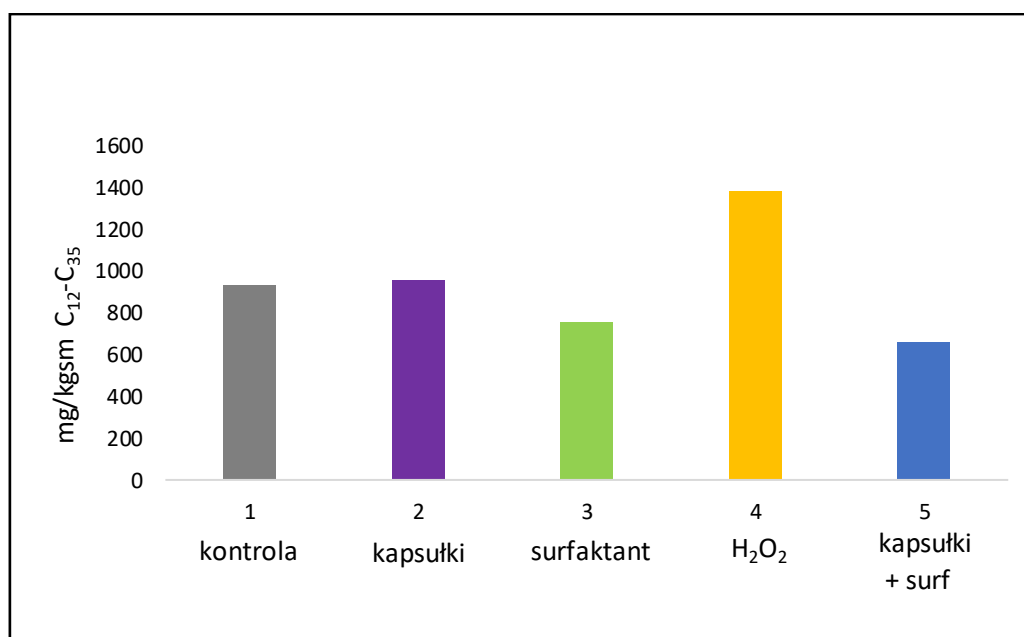
Wyniki analizy ANOVA dla zmian zawartości $C_{12}-C_{35}$ w różnych grupach eksperymentalnych: statystyka F: 10,55, wartość p: 0.0 ($p < 0.05$, co oznacza istotne różnice między grupami).

W obu przypadkach koncentracja frakcji olejowej na zakończenie eksperymentu zmniejszyła się. Dotyczyło to zarówno próbek poddanych badaniu, jak i próbek archiwalnych, zamkniętych w szczelnym naczyniu bez wymiany gazowej z otoczeniem.



Rysunek 37. Zmiany stężenia C₁₂-C₃₅ dla zastosowanych dodatków w glebie po 33 dniach; Wartości średnie

Wyniki analizy ANOVA dla zmian zawartości C₁₂-C₃₅ w różnych grupach eksperymentalnych: statystyka F: 20,31, wartość p: 0.0 (p < 0.05, co oznacza istotne różnice między grupami).



Rysunek 38. Zmiany stężenia C₁₂-C₃₅ dla zastosowanych dodatków w glebie po 48 dniach; Wartości średnie

Wyniki analizy ANOVA dla zmian zawartości C₁₂-C₃₅ w różnych grupach eksperymentalnych: statystyka F: 32,20, wartość p: 0.01 ($p < 0.05$, co oznacza istotne różnice między grupami).

Zmiany w próbkach archiwalnych, do których nie wprowadzono żadnych dodatków i nie poddano żadnemu działaniu, były nieznaczne. W pierwszym przypadku zaobserwowano obniżenie z poziomu początkowego 4829 mg/kg s.m. do poziomu 4594 mg/kg s.m. po 33 dniach, co stanowi 5,8% spadku zawartości substancji skażających. W drugim przypadku zaobserwowano obniżenie z poziomu początkowego 4615 mg/kg s.m. do poziomu 4329 mg/kg s.m. po 48 dniach co stanowi 6,6% spadku.

Zmiany w próbkach eksperymentalnych, do których dodano preparaty pomocnicze, były zdecydowanie bardziej widoczne i dotyczyły wszystkich badanych mieszanin w podobnym stopniu.

W przypadku testu 33 dniowego były to spadki stężenia substancji ropopochodnych odpowiednio o 32,7% (kapsułki), 34,3% (surfaktant), 33,3% (H₂O₂), 49,8% (kapsułki plus surfaktant).

W przypadku testu 48 dniowego spadki stężenia wynosiły odpowiednio: 77,9% (kapsułki), 82,6% (surfaktant), 68,1% (H₂O₂), 84,8% (kapsułki plus surfaktant).

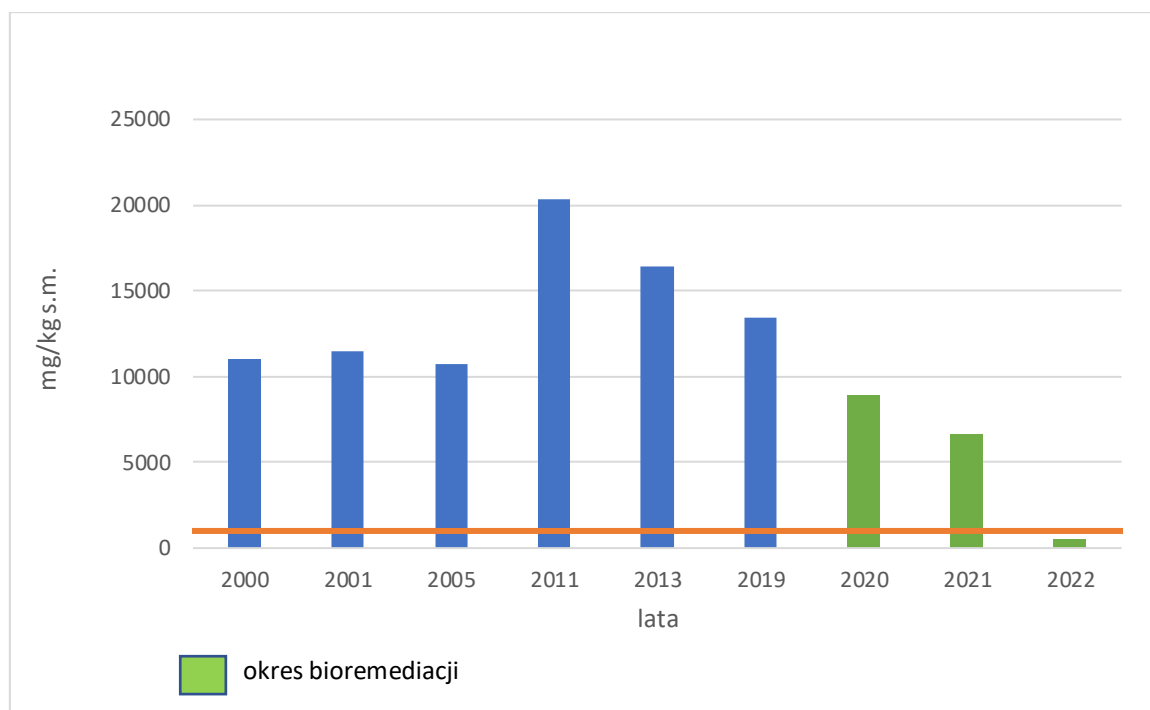
Na uwagę zasługuje rozkład ropopochodnych w próbce bez dodatków, poddanej jedynie wentylacji powietrzem o tej samej wilgotności, temperaturze i objętości jak w przypadku pozostałych próbek. Poziom dekompozycji frakcji olejowej był zbliżony do próbek potraktowanych substancjami dodatkowymi. W pierwszym przypadku (test 33 dniowy) wynosił on 37% a w drugim (test 48 dniowy) 78,6%.

6.2. Wyniki badań z doświadczeń terenowych

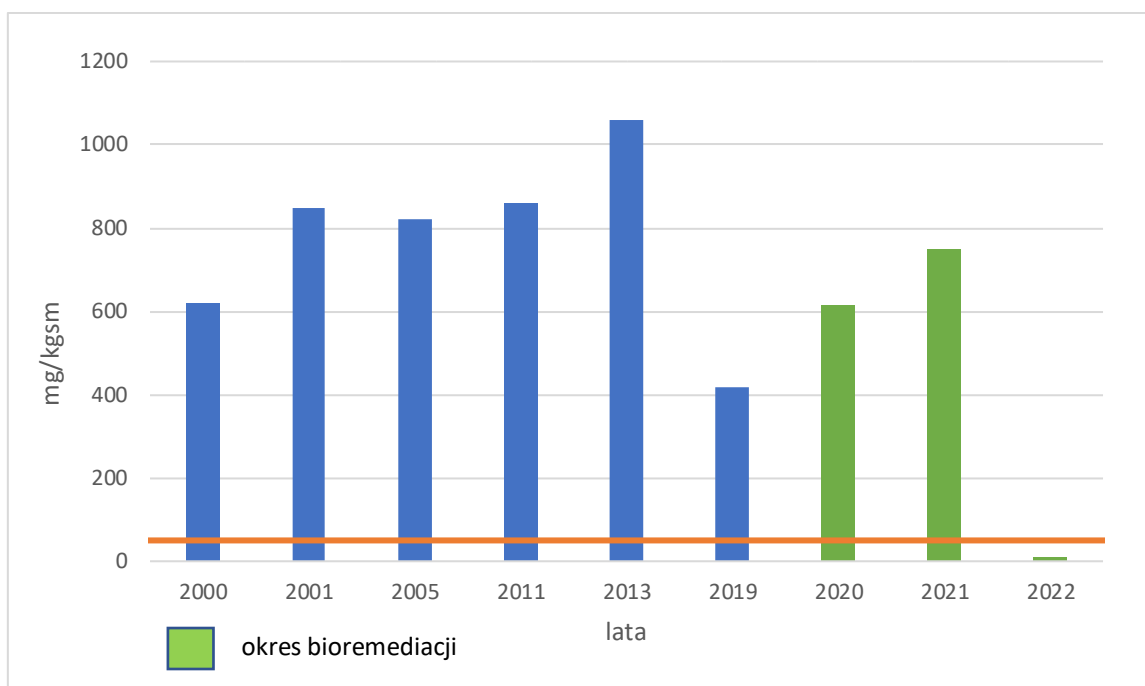
Omawiane tereny od momentu wyłączenia z użytkowania były nieregularnie badane na obecność substancji ropopochodnych (benzyny C₆ - C₁₂ i oleje C₁₂ - C₃₅) w gruncie. Regularne, coroczne badania podjęto dopiero w momencie rozpoczęcia doświadczenia polowego w roku 2020 (teren 1) oraz w roku 2021 (teren 2)

i prowadzono do momentu uzyskania oczekiwanego efektu środowiskowego. Już pobieżna analiza danych archiwalnych zbieranych od 2000 roku pokazuje, jak długo substancje ropopochodne mogą stagnować w środowisku gruntowym w niezmienionej formie.

Teren 1



Rysunek 39. Maksymalne stężenia frakcji oleju C_{12} - C_{35} w gruncie terenu 1; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)



Rysunek 40. Maksymalne stężenia frakcji benzyn $C_6 - C_{12}$ w gruncie terenu 1; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)

Teren 1 był użytkowany jako stacja/magazyn paliw przez niemal 20 lat. Mając na uwadze sposób gospodarowania i podejście do problematyki ochrony środowiska w tamtych latach można przyjąć, że cały czas aktywnej działalności stacji był okresem, w którym następowało powolne, ale systematyczne zwiększanie ładunku zanieczyszczeń substancji ropopochodnych w gruncie pod stacją. Na dzień wyłączenia obiektu z użytkowania stężenie substancji skażających przekraczało co najmniej kilkunastokrotnie dopuszczalne normy. Archiwalne badania monitoringowe pokazują, że pomimo odcięcia źródła zanieczyszczeń, stężenie substancji ropopochodnych w gruncie nie zmieniało się przez prawie dwie dekady. Istotne zmiany wartości w niektórych latach mogły być spowodowane brakiem konsekwencji w zakresie punktów poboru próbek (każdy kolejny pobór dokonywany był w innym miejscu). Wysoce prawdopodobne jest zatem, że rzeczywisty poziom zanieczyszczeń w czasie wyłączenia obiektu z użytkowania, a przed rozpoczęciem działań naprawczych, bliższy jest odczytanym wartościom maksymalnym (Rysunek 39,40).

Tabela 13. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 1 na zawartość substancji ropopochodnych po pierwszym sezonie remediacji w 2020 roku [mg/kg s.m.]

Nr punktu poboru	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
1	22,5	228	82,7
2	131	1350	82,9
3	201	1750	96,2
4	250	2270	95,1
5	615	8900	88,3
6	274	8520	70,7
7	280	5500	67,1
8	197	993	83,7
9	164	998	81,6
10	261	1330	79,6

Próbki w roku 2020 pobrano z 10 wcześniej wyznaczonych punktów poboru prób glebowych, z głębokości 2 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało połowie miąższości warstwy skażonej (Tabela 13).

Tabela 14. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 1 na zawartość substancji ropopochodnych po drugim sezonie remediacji 2021r [mg/kg s.m.]

Nr punktu poboru z roku 2020	Nr punktu poboru	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
1	1	40,2	2490	83,8
	2	22,2	253	77,1
2	3	57	1160	76,8
	4	23,9	249	73,8
3	5	750,0	6640	87,5
4	6	111	2070	73,6
5	7	32,1	1300	84,7
6	8	61,9	963	82,0
7	9	16,8	1150	81,4
8	10	93,6	4370	79,1
9	11	181	5840	71,7
10	12	209	4970	78,1

Próbki w roku 2021 pobrano z 10 wcześniej wyznaczonych punktów poboru prób glebowych, z głębokości 2 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało połowie miąższości warstwy skażonej. W dwóch punktach pobrano po jednej dodatkowej próbce z głębokości 3 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało spągowi warstwy skażonej (Tabela 14).

Tabela 15. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 1 na zawartość substancji ropopochodnych po trzecim sezonie remediacji 2022r [mg/kg s.m.]

Nr punktu poboru z roku 2020	Nr punktu poboru	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
1	1	<1	105	78,7
	2	<1	116	78,2
	3	<1	135	80,0
2	4	<1	210	82,5
	5	5,37	189	81,1
	6	2,86	264	86,6
3	7	3,76	284	81,7
	8	6,92	171	80,9
	9	10,00	34,2	77,9
4	10	3,66	38,6	76,8
	11	3,31	96,7	77,5
	12	<1	249	93,4
5	13	<1	<30	86,2
	14	<1	<30	75,8
	15	2,65	<30	71,5
6	16	3,30	<30	72,0
	17	8,61	34,6	74,9
	18	9,7	52,6	74,6
7	19	10,0	<30	69,4
	20	<1	<30	67,1
	21	<1	<30	76,5
8	22	4,96	52,2	73,4
	23	9,06	74,0	75,3
	24	9,34	63,8	73,8

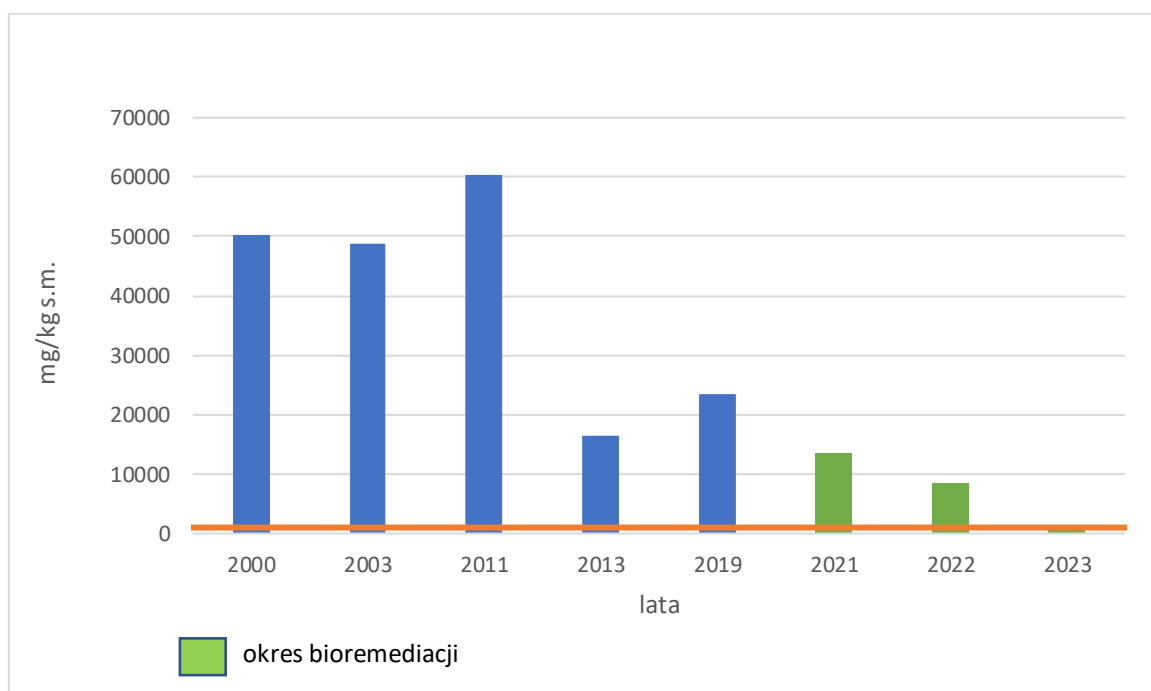
Nr punktu poboru z roku 2020	Nr punktu poboru	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
9	25	3,68	<30	70,3
	26	<1	<30	66,5
	27	<1	<30	70,9
10	28	<1	<30	66,6
	29	<1	<30	78,3
	30	<1	<30	79,7
	31	9,6	157	77,2
	32	6,58	140	77,0
	33	6,64	92,5	80,4
	34	3,29	<30	79,4
	35	<1	<30	79,4
	36	10,00	520	67,1
	37	10,00	500	82,4
	38	8,91	198	80,9
	39	3,60	152	78,3
	40	<1	<30	78,6
	41	2,20	165	80,6
	42	2,43	<30	71,3

Próbki w roku 2022 pobrano z 10 wcześniej wyznaczonych punktów poboru prób glebowych, z głębokości 2 m p.p.t. Wstępne analizy próbek po trzecim sezonie wykonywania zabiegów remediacyjnych zwróciły pozytywne wyniki w zakresie jakości gruntów. W związku z tym zwiększono liczbę próbek i obszar kontrolowany. Dodatkowe próbki pobrano z tych samych 10 punktów, ale z głębokości 1 m p.p.t. i 3 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało stropowi i spągowi warstwy skażonej. Pobrano próbki również spoza wcześniej okonturowanego zasięgu skażenia w celu wykluczenia przemieszczenia się plamy zanieczyszczeń w gruncie wskutek działania wprowadzanych substancji. Pobrano w ten sposób 12 dodatkowych

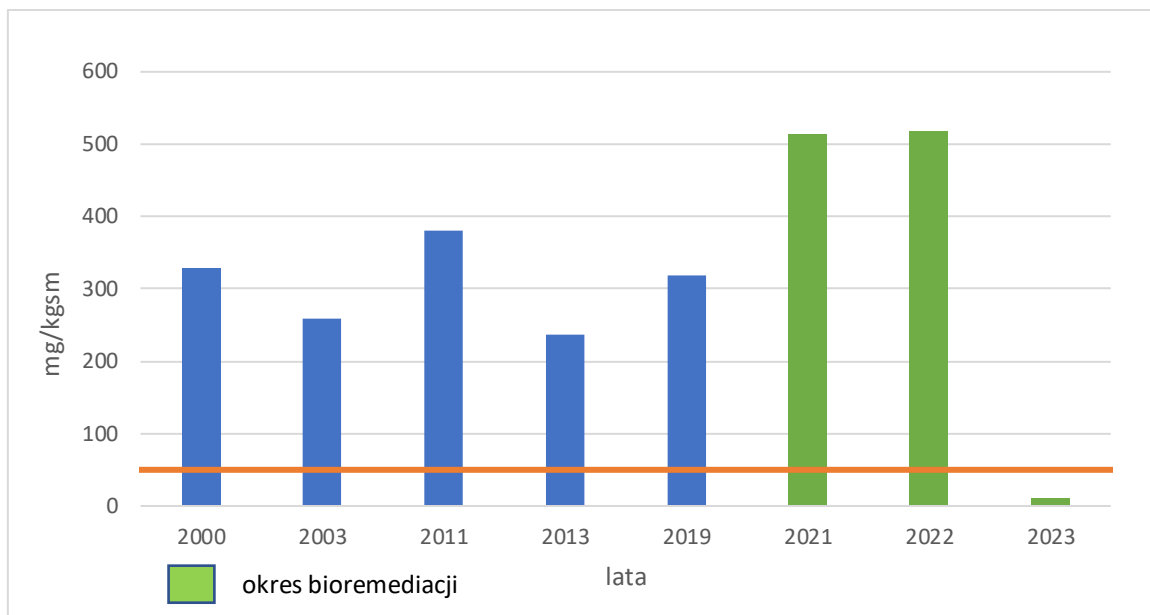
próbek z punktów okalających teren skażony, z głębokości 2 m p.p.t. Próbki z bezpośredniego sąsiedztwa obszaru poddanego zabiegom remediacyjnym nie zawierały ponadnormatywnych ilości substancji ropopochodnych (Tabela 15).

Teren 2

Teren 2 był użytkowany w podobnym charakterze jak teren 1, ale w dłuższym przedziale czasu, obejmującym ponad 30 lat. W tym przypadku zmierzony poziom zanieczyszczeń osiągnął w ostatnim okresie działalności stacji ponad 50-cio krotność dopuszczalnej wartości i utrzymywał się na bardzo wysokim poziomie przez kolejne kilkanaście lat. Pomimo korzystniejszych parametrów fizycznych w porównaniu do terenu 1 (mniejsza zawartość drobnych frakcji granulometrycznych, większa przepuszczalność profilu glebowego) z upływem lat nie nastąpiło znaczące samooczyszczenie terenu i 15 lat po zaprzestaniu użytkowania obiektu stężenie zanieczyszczeń ropopochodnych przekraczało aktualne normy ponad 20 krotnie.



Rysunek 41. Maksymalne stężenia frakcji oleju $C_{12} - C_{35}$ w gruncie terenu 2; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)



Rysunek 42. Maksymalne stężenia frakcji benzyn C₆ – C₁₂ w gruncie terenu 2; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)

Tabela 16. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 2 na zawartość substancji ropopochodnych po pierwszym sezonie remediacji w 2021 roku [mg/kg s.m.]

Lp.	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
1	150	7910	91,4
2	139	6640	90,4
3	257	13540	89,2
4	344	8120	89,1
5	480	7180	85,5
6	548	7020	83,2

Próbki w roku 2021 pobrano z 6 wcześniej wyznaczonych punktów poboru prób glebowych, z głębokości 2,5 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało połowie miąższości warstwy skażonej (Tabela 16).

Tabela 17. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 2 na zawartość substancji ropopochodnych po drugim sezonie remediacji w 2022 roku [mg/kg s.m.]

Nr punktu poboru z roku 2021	Nr punktu poboru	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
1	1	188	2040	90,4
	2	220	7690	90,5
2	3	158	8420	87,8
3	4	227	5460	89,6
4	5	75	2220	94,6
5	6	57,1	2070	94,7
6	7	181	4520	89,0

Próbki w roku 2022 pobrano z 6 wcześniej wyznaczonych punktów poboru prób glebowych, z głębokości 2,5 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało połowie miąższości warstwy skażonej. W jednym punkcie pobrano jedną dodatkową próbkę z głębokości 3,2 m ppt, co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało spągowi warstwy skażonej (Tabela 17).

Podobnie jak w przypadku terenu 1, po trzecim sezonie remediacji uzyskano satysfakcjonujące wyniki, więc zwiększono liczbę próbek i obszar kontrolowany. Pobrano próbki również spoza wcześniej okonturowanego zasięgu skażenia w celu wykluczenia przemieszczenia się plamy zanieczyszczeń w gruncie wskutek działania wprowadzanych substancji. Dodatkowe próbki pobrano z tych samych 6 punktów, ale z głębokości 1,8 m p.p.t. i 3,2 m p.p.t., co zgodnie z wcześniejszymi badaniami odpowiadało stropowi i spągowi warstwy skażonej. Pobrano próbki również spoza wcześniej okonturowanego zasięgu skażenia w celu wykluczenia przemieszczenia się plamy zanieczyszczeń w gruncie wskutek działania wprowadzanych substancji. Pobrano w ten sposób 8 dodatkowych próbek z punktów okalających teren skażony, z głębokości 2,5 m p.p.t. Próbki z bezpośredniego sąsiedztwa obszaru poddanego zabiegom remediacyjnym nie zawierały ponadnormatywnych ilości substancji ropopochodnych (Tabela 18).

Tabela 18. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 2 na zawartość substancji ropopochodnych po trzecim sezonie remediacji w 2023 roku [mg/kg s.m.]

Nr punktu poboru z roku 2021	Nr punktu poboru	frakcja benzyn C ₆ -C ₁₂	frakcja oleju C ₁₂ -C ₃₅	Sucha masa [%]
1	1	<1	<30	88,31
	2	<1	<30	90,93
	3	<1	<30	93,72
2	4	<1	32	89,46
	5	<1	<30	92,94
	6	<1	<30	93,59
3	7	<1	<30	89,95
	8	<1	<30	91,04
	9	<1	<30	92,55
4	10	<1	190	90,75
	11	10	730	92,2
	12	<1	<30	92,53
5	13	<1	<30	92,20
	14	<1	<30	90,55
	15	<1	<30	93,54
6	16	<1	150	92,82
	17	<1	290	92,32
	18	<1	200	92,92
	19	<1	<30	90,96
	20	<1	220	88,72
	21	<1	180	92,68
	22	<1	150	90,87
	23	<1	120	89,77
	24	<1	<30	92,50
	25	<1	276	92,76
	26	<1	120	88,56

Dla obu terenów charakterystyczne jest wieloletnie utrzymywanie się wysokich stężeń substancji ropopochodnych w gruncie i wyraźny spadek tych wartości po rozpoczęciu procesu remediacji. Wahania poziomu zawartości zanieczyszczeń w czasie objętym monitoringiem archiwalnym mogą wynikać ze zmian punktów poboru próbek w kolejnych latach monitoringu, a czasem z wpływu dodatkowych czynników jak np. pobór i analiza próbek z terenu 2 w roku 2013, parę dni po wyjątkowo obfitych i długotrwałych opadach deszczu. Próbkę gruntu analizowane w czasie trwania działań remediacyjnych pobierane były konsekwentnie z tych samych punktów terenowych, a punkty te odpowiadały w miarę możliwości tym samym miejscom co ostatnie punkty poboru próbek z okresu przedremediacyjnego.

Ciekawe wyniki zwraca analiza gruntu pod kątem zawartości węglowodorów o krótszym łańcuchu węglowym (frakcji benzyn C_6 – C_{12}).

Benzyny nie były przedmiotem obrotu handlowego czy magazynowania na tych terenach, zatem jedynym logicznym uzasadnieniem ich pojawienia się i zwiększania stężenia w profilu glebowym wydaje się być dekompozycja długich łańcuchów cząsteczek frakcji olejowej C_{12} – C_{35} . Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy dekompozycja ta jest wynikiem wieloetapowej oksydacji katalitycznej i cyklicznych metabolicznych przemian prowadzących przez alkohol, aldehyd i kwas ostatecznie do dwutlenku węgla i wody. W każdym takim cyklu nie ulegają rozerwaniu jednocześnie wszystkie wiązania C-C w łańcuchu, tylko stopniowo odrywany jest kolejny atom węgla. To zjawisko tłumaczyłoby również zmiany jakościowe i ilościowe zachodzące w gruncie zanieczyszczonym w trakcie procesu remediacji. Każdorazowo spadek stężeń frakcji olejowej związany jest ze wzrostem zawartości frakcji benzyn w profilu glebowym, a stężenie benzyn ulega gwałtownej redukcji pod koniec procesu, wraz z wyczerpaniem źródła – degradacją zanieczyszczeń olejowych.

Poza szczegółowo opisanymi dwoma terenami eksperymentalnymi, w latach 2020-2024 przy użyciu tego systemu prowadzono również działania remediacyjne na innych, mniej dokładnie udokumentowanych historycznie terenach zanieczyszczonych. We wszystkich przypadkach uzyskano pozytywny efekt środowiskowy w czasie zdecydowanie krótszym od planowanego według „klasycznych” rozwiązań.

Wyniki tych działań przedstawia tabela 19.

Tabela 19. Porównanie efektywności klasycznych systemów i systemu opartego na preparatach mikrokapsułkowanych; Efekty zastosowania bioremediacji in situ z użyciem preparatów kapsułkowanych na różnych terenach w latach 2020-2024

Lp	Teren	Substancje toksyczne	Projektowany czas remediacji wg klasycznych rozwiązań	Rzeczywisty czas remediacji z użyciem prep. kapsułkowanych
1	L I	C ₆ -C ₁₂ , C ₁₂ -C ₃₅	3 lata	1 sezon wegetacyjny
2	C	C ₆ -C ₁₂ , C ₁₂ -C ₃₅	3 lata	1 sezon wegetacyjny
3	O	C ₆ -C ₁₂ , C ₁₂ -C ₃₅ , BTEXS	4 lata	1 rok
4	T.O.	C ₆ -C ₁₂ , C ₁₂ -C ₃₅	3 lata	1 rok
5	L II	C ₆ -C ₁₂ , C ₁₂ -C ₃₅	4 lata	2 lata
6	K	C ₆ -C ₁₂ , C ₁₂ -C ₃₅ , BTEXS	8 lat	2 lata

6.3. Dyskusja wyników

Niniejsza praca doktorska miała na celu między innymi wprowadzenie innowacyjnych modyfikacji klasycznego procesu remediacji gleb oraz zbadania ich wpływu na szybkość i efektywność usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych. W oparciu

o dostępną wiedzę i wyniki aktualnych doświadczeń udało się zweryfikować zakładane tezy, zaproponować nowe rozwiązania i przebadać ich skuteczność w warunkach laboratoryjnych i terenowych.

Dostępne publikacje naukowe wskazują obniżenie pH jako cechę charakterystyczną gruntów skażonych substancjami ropopochodnymi (Składowska, 2020), jednak badane w ramach tej pracy tereny nie wykazywały tej cechy. Należy jednak pamiętać, że są to tereny przekształcone antropogenicznie, a na ich powierzchni występuje mineralny tłuczeń kolejowy, który ze względu na budowę i właściwości chemiczne, może wpływać na podniesienie wartości pH. Ponadto niektórzy badacze wskazują benzo(a)piren jako główną substancję odpowiedzialną za obniżenie pH (Sui i in., 2021), a na terenach badanych przez autora tej pracy związek ten nie został zidentyfikowany.

Powszechnie znane jest toksyczne oddziaływanie substancji ropopochodnych na mikroorganizmy glebowe, a w konsekwencji spadek liczebności bakterii i grzybów (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022). Niniejsza praca potwierdziła te dane, przy czym zauważono, że w badanych profilach glebowych największą wrażliwość wykazywały grzyby (całkowita eliminacja z warstwy skażonej o wysokim stężeniu oleju), nieco mniejszą promieniowce, a najlepiej przystosowanymi mikroorganizmami okazały się w tych przypadkach bakterie.

Wśród związków ropopochodnych powszechnie zanieczyszczających glebę i ziemię wielu autorów wymienia cały bukiet substancji, m.in. benzynę, naftę, olej napędowy, smary, BTEXS i WWA (Adedeji i in., 2022; Ropek, Gospodarek, 2022), jednak kilkunastoletnie doświadczenie branżowe autora tej pracy pokazuje, że na terenach narażonych na oddziaływanie związków ropopochodnych najczęściej w profilu glebowym pojawia się frakcja olejów C_{12} - C_{35} , frakcja benzyn C_6 - C_{12} (często jako wtórna konsekwencja zanieczyszczenia olejem) i związki z grupy BTEXS. Na terenach badanych w ramach niniejszego przewodu występowały tylko frakcje benzyn i olejów,

dlatego też podczas doświadczeń laboratoryjnych skupiono się również tylko na tych substancjach.

Znane jest zróżnicowanie tempa rozkładu poszczególnych węglowodorów i ogólna zasada, że im większa, bardziej złożona cząsteczka, tym wolniejsza dekompozycja (Wojtkowicz i in., 2022). Jednak frakcje lotne o prostym, krótkim łańcuchu węglowym i niskiej masie cząsteczkowej, mogą być obecne nawet w lekkim profilu glebowym przez długie lata, nie tyle dzięki długoletniej stagnacji w gruncie, co przez długotrwałe uwalnianie się z rozkładu źródła wtórnego. Na terenach badanych w ramach tej pracy frakcje lotne poniżej 12 atomów węgla w cząsteczce wykrywano w dużej ilości ponad 20 lat po odcięciu pierwotnego źródła zanieczyszczeń, a pochodziły one z rozkładu związków o bardziej złożonej budowie cząsteczek.

Biodegradacja mikrobiologiczna węglowodorów ropopochodnych może zachodzić zarówno w procesach aerobowych jak i anaerobowych (Cabral i in., 2022). Jednak w przypadku procesów *in situ* wspomaganych jakimikolwiek substancjami dodawanymi do układu z zewnątrz (biopreparaty, substancje dodatkowe), z punktu widzenia praktyki i logiki, znaczenie mają tylko procesy tlenowe. Jak pokazały przeprowadzone przez autora doświadczenia, na drodze przemian tlenowych możliwy jest szybki i wysoce skuteczny proces dekompozycji ropopochodnych z grupy benzyn i olejów. Ponieważ rozkład wszystkich związków ropopochodnych dokonuje się na drodze podobnych przemian biochemicznych, należy się spodziewać, że pozostałe substancje niebezpieczne również ulegną dekompozycji w toku opracowanej tu metody, choć z pewnością w wolniejszym tempie.

Jednym z ciekawszych aspektów tego opracowania są wyniki chemicznego utleniania w gruncie. Literatura naukowa szeroko opisuje możliwość stosowania metod opierających się na reakcji chemicznego utleniania substancji ropopochodnych z wykorzystaniem środków takich jak ozon, nadtlenek wodoru, odczynnik Fentona, nadsiarczany czy nadmanganiany (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022). Remediacja chemiczna jest zalecana przede wszystkim w początkowych etapach przetwarzania zanieczyszczeń, jako „dawka uderzeniowa” do wstępnego rozkładu związków trudno degradowalnych (Adedeji i in., 2022). W polskich realiach ekonomicznych stosuje się na tym etapie niemal wyłącznie nadtlenek wodoru jako środek tani i łatwo dostępny. Wykonane badania laboratoryjne nie potwierdziły skuteczności utleniaczy w tym

zakresie, a potencjalna niewątpliwa szkodliwość tych substancji dla środowiska zdecydowała o całkowitej rezygnacji z ich udziału w opracowywanym systemie.

Naukowcy na całym świecie pracują nad wykorzystaniem różnych substancji i organizmów żywych do dekompozycji substancji toksycznych. Poza licznymi informacjami o udziale bakterii w tym procesie, istnieją również badania na temat roli grzybów i alg (Daâssi i Qabil Almaghribi, 2022) a nawet organizmów wyższych takich jak prosionki (Gospodarek i in., 2022) czy dżdżownice (Lv i in., 2022). Najprostszym, a zarazem najbardziej wydajnym rozwiązaniem, wydaje się jednak być skorzystanie z podpowiedzi Natury i wykorzystanie autochtonicznych organizmów pobranych ze skażonego gruntu. To rozumowanie motywowało autora tej pracy, a jak pokazały wyniki badań, ten tok postępowania jest właściwy.

Substancje powierzchniowo czynne (surfaktanty) od dawna pełnią rolę wspomagania fizycznego w różnego typu procesach oczyszczania gleb. Mechanizm ich działania zmniejszającego napięcie powierzchniowe w układzie ciecz-ciało stałe jest dobrze znany i opisany (Rakowska, 2020), podobnie jak emulgowanie zanieczyszczeń ułatwiające ich dostępność dla mikroorganizmów (Da Silva i in., 2021). Od pewnego czasu kładzie się nacisk na stosowanie w operacjach środowiskowych substancji pochodzenia naturalnego (Selva Filho i in., 2023). Doświadczenia w ramach niniejszej pracy, zarówno laboratoryjne jak i terenowe, były przeprowadzane z użyciem wyłącznie substancji „zielonych”, biodegradowalnych, o niskim oddziaływaniu na środowisko, a wyniki badań potwierdziły wysoką skuteczność biosurfaktantów jako substancji wspomagających proces rozkładu zanieczyszczeń ropopochodnych.

7. Wnioski

Realizowana praca obejmowała badania nad opracowaniem i zastosowaniem hybrydowej metody usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych ze środowiska gruntowo-wodnego z użyciem preparatów immobilizowanych.

Sformułowane wnioski z przeprowadzonych badań

Zasadniczą rolę w procesie rozkładu substancji ropopochodnych w gruncie odgrywa dostępność tlenu i wody, przy czym oba te warunki muszą być spełnione łącznie. W środowisku o odpowiedniej wilgotności i dostępie tlenu mogą intensywnie działać mikroorganizmy, które traktują ropopochodne jako źródło węgla.

Mechaniczne wymieszanie gruntu, a następnie odcięcie go od dostępu tlenu, powoduje nieznaczny rozkład substancji ropopochodnych w próbce. Mechaniczne wymieszanie gruntu, a następnie utrzymywanie dostępu tlenu (wentylacja), powoduje rozkład substancji ropopochodnych na poziomie zbliżonym do próbek z dodatkami substancji wspomagających remediację. Pokazało to zarówno pierwsze doświadczenie kolumnowe, jak i późniejsze badania respiracyjne.

Stosowanie wody utlenionej może wprowadzać dodatkowy ładunek tlenu do profilu glebowego, jednak na dłuższą metę okazuje się być metodą najmniej skuteczną. H_2O_2 nie wchodzi w bezpośrednią reakcję z substancjami ropopochodnymi, zatem nie rozkłada ich na drodze prostej reakcji chemicznego utleniania.

Dekompozycja substancji ropopochodnych odbywa się na drodze szeregu przemian biochemicznych przebiegających przy udziale enzymów bakteryjnych. To one zatem są czynnikiem warunkującym ten proces. Działanie negatywne może wynikać z silnych właściwości bakteriobójczych wody utlenionej, a co za tym idzie, z niszczenia flory bakteryjnej odpowiedzialnej za proces bioaugmentacji. Początkowa intensywna dynamika procesu obserwowana w analizatorach gazowych może być związana z reakcją utleniania mikroflory glebowej i naturalnych, glebowych substancji organicznych, ale nie wynika z oczekiwanego rozkładu zanieczyszczeń ropopochodnych. Woda utleniona nie może być też stosowana jako składnik mieszanin substancji wspomagających proces (bioroztwory, surfaktanty, preparaty mikrokapsułkowane), ponieważ wchodzi z nimi w reakcję chemiczną i niszczy je.

Również z punktu widzenia założenia, że w procesie remediacji gleb należy preferować substancje naturalne, stosowanie roztworów H_2O_2 może i powinno być zaniechane.

Odpowiednio dobrana substancja powierzchniowo czynna jako dodatek pomocniczy ma kluczowe znaczenie dla przebiegu procesu. Dodatek biosurfaktantu do próbki powoduje częściową emulgację zanieczyszczeń i poprawia ich dostępność dla mikroorganizmów. W próbkach z dodatkiem surfaktantu proces rozkładu dodatków ropopochodnych przebiegał wyraźnie szybciej niż w pozostałych próbkach. Skuteczność procesu była wyższa w próbkach z dodatkiem samego surfaktantu niż w próbkach z dodatkiem samego bioroztworu mikrokapsułkowanego. Najwyraźniej sam dodatek surfaktantu umożliwia efektywniejszą pracę istniejących w glebie mikroorganizmów autochtonicznych.

Połączenie surfaktantu i bioroztworu mikrokapsułkowanego w jednej próbce wywołało efekt synergistyczny i największą skuteczność procesu ze wszystkich badanych wariantów.

Początkowo emisja CO_2 jest większa, następnie szybko opada, by po dłuższym czasie znów wzrosnąć. Prawdopodobnie jest to związane z coraz mniejszym stężeniem substancji toksycznych w gruncie i namnażaniem mikroorganizmów w takich warunkach. Większe stężenia działają negatywnie na bakterie glebowe ograniczając ich wzrost. Stąd ich liczebność, a co za tym idzie tempo i skuteczność dekompozycji substancji ropopochodnych jest niższa. W momencie, kiedy stężenie substancji toksycznych spada, warunki środowiskowe stają się korzystniejsze dla bytowania bakterii, ich liczebność wzrasta, co odbija się również na wzroście tempa rozkładu substancji ropopochodnych.

Wspomniana zmiana respiracji glebowej w czasie dotyczy wszystkich próbek, poza tymi z dodatkiem H_2O_2 , gdzie poziom produkcji CO_2 po fazie początkowej był niski i stabilny przez cały czas trwania eksperymentu. To kolejny argument przemawiający za rezygnacją z wody utlenionej w procesie bioremediacji.

Stwierdzono, że rozkład substancji ropopochodnych przy udziale mikroorganizmów glebowych nie jest skokowy. Monitoring próbek pobieranych z terenu w trakcie procesu remediacji wykazał wzrost frakcji benzyn przy jednoczesnym silnym spadku frakcji olejów, co świadczy o stopniowej dekompozycji długich łańcuchów węglowych.

Immobilizowanie efektywnych mikroorganizmów glebowych w formie preparatu mikrokapsułkowanego powoduje wielokrotne wydłużenie żywotności preparatu, efekt powolnego, kontrolowanego uwalniania substancji aktywnych, możliwość precyzyjnego, długotrwałego dozowania w konkretnym punkcie profilu glebowego oraz zwiększoną odporność na stresy glebowe takie jak np. przesuszanie, przemarzanie czy wypłukiwanie. Całkowity rozkład mikrokapsulek polimerowych w glebie trwa około 2-3 tygodnie (w zależności intensywności procesów glebowych), co oznacza stopniowe uwalnianie mikroorganizmów i substancji pomocniczych przez cały ten czas. Zjawiska pogodowe mogące wystąpić w tym okresie, które w tradycyjnym podejściu mogą niekorzystnie oddziaływać na proces bioremediacji (np. nawałne opady deszczu wypłukujące tradycyjne bioroztwory z profilu glebowego), w przypadku preparatów immobilizowanych nie tylko nie zakłócają procesu, ale także wspomagają go przez wprowadzanie ładunku tlenu rozpuszczonego w wodzie opadowej i rozprowadzanie substancji uwalnianych z mikrokapsulek w głąb profilu glebowego. Z punktu widzenia logistyki procesu nie jest konieczne wielokrotne uzupełnianie, dolewanie preparatów w tym czasie, gdyż dzieje się to niejako automatycznie przez cały okres „życia” produktu w gruncie.

Odpowiednie połączenie działania różnych substancji, szczególnie bioroztworu mikrokapsułkowanego i biosurfaktantu w jeden system, daje bardzo dobry efekt synergistyczny nie tylko w skali laboratoryjnej, ale także, co ważniejsze, w skali zastosowania terenowego.

Sformułowano następujące wnioski końcowe:

- Utleniacze chemiczne nie mają wpływu lub wpływają negatywnie na przebieg procesu dekompozycji substancji ropopochodnych w gruncie.
- Dodatek biosurfaktantów przyspiesza proces rozkładu substancji ropopochodnych w środowisku gruntowo-wodnym.
- Mikroorganizmy glebowe, szczególnie z grupy bakterii, są niezbędnym ogniwem procesu a najwyższą skuteczność wykazują organizmy autochtoniczne.
- Zastosowanie biopreparatów w formie immobilizowanej na nośniku biopolimerowym zwiększa, stabilizuje i zabezpiecza pulę efektywnych bakterii glebowych.

- Użycie preparatów pochodzenia naturalnego ogranicza presję chemiczną na środowisko, umożliwia szybkie odtworzenie naturalnej równowagi mikrobiologicznej i dzięki biodegradacji nie zostawia śladów chemicznych.
- Połączenie działania surfaktantów, biopreparatów płynnych i immobilizowanych w jeden hybrydowy system daje efekt synergistyczny.
- Proponowany system stanowi wysokoskuteczną, łatwą w stosowaniu i ekonomiczną metodę usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych ze środowiska gruntowo-wodnego.

8. Opis wdrożenia

Zastosowanie

Opisany system wspomaganej bioremediacji został opracowany z przeznaczeniem do usuwania z profilu glebowego najbardziej powszechnych zanieczyszczeń ropopochodnych takich jak benzyny i oleje (C_6 - C_{12} i C_{12} - C_{35}) w miejscu ich uwolnienia do środowiska. Badania prowadzone w ramach tej pracy doktorskiej potwierdziły skuteczność działania w tym zakresie, a późniejsze doświadczenia spływające z innych terenów, gdzie zastosowano ten system, nie ujętych w niniejszej rozprawie pokazują, że okazał się skuteczny również w przypadku innych substancji skażających, takich jak: węglowodory aromatyczne (benzen, etylobenzen, toluen, ksyleny, styren) czy wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Istnieje uzasadnione przypuszczenie, że proces ten będzie skuteczny w przypadku wszystkich zanieczyszczeń węglowodorowych, których dekompozycja odbywa się drogą podobnych przemian biochemicznych.

Szczególne zastosowanie system ten ma w przypadku remediacji *in situ* niewielkich, gęsto zabudowanych terenów (np. mała stacja benzynowa pośród wysokiej zabudowy mieszkalnej lub część terenu złożonej, działającej instalacji przemysłowej), gdzie wszelkie prace ziemne są utrudnione lub związane z dużym ryzykiem i dużymi kosztami dodatkowymi.

Dzięki zastosowaniu innowacyjnej metody immobilizacji preparatów aktywnych możliwe jest zabezpieczenie kondycji efektywnych mikroorganizmów autochtonicznych, co czyni preparat odpowiednim do użycia w miejscach o szczególnie wysokim stężeniu substancji toksycznych, toksycznym dla większości mikroorganizmów glebowych (wartości powyżej kilkunastu tysięcy mg/kg suchej masy gruntu).

Zakładany tok prac bioremediacyjnych

Projektowany system wysokowydajnej remediacji *in-situ* podzielony został na kilka etapów.

Podział proponowanych prac pozwala na właściwą organizację harmonogramu działań oraz zapewnia maksymalne wykorzystanie sił i środków, z uwzględnieniem naturalnej

rocznej zmienności tempa procesów biologicznych. Etap pierwszy i drugi można przeprowadzać w dowolnej porze roku, choć optymalne dla tych prac są miesiące zimne (listopad-kwiecień). Etapy kolejne należy przeprowadzać jedynie w miesiącach podwyższonej aktywności wegetacyjnej. Ma to ogromne znaczenie dla efektywnej realizacji procesu biologicznego przebiegającego w tej części prac. Najkorzystniejszym i najbardziej wydajnym okresem jest czas pomiędzy kwietniem a listopadem (miesiące ciepłe).

Biologiczne etapy remediacji należy przeprowadzać przy użyciu rodzimych, autochtonicznych szczepów mikroorganizmów. Nie są wykorzystywane żadne obce, inwazyjne bądź chorobotwórcze mikroorganizmy, w szczególności nie są używane organizmy modyfikowane genetycznie.

Pozyskiwanie biologicznego materiału autochtonicznego odbywa się przez pobór próbek glebowych powszechnie dostępnymi metodami poboru. Istotne jest, aby poboru dokonywać z warstwy skażonej, co zagwarantuje obecność mikroorganizmów zarówno odpornych na szkodliwe działanie danej substancji, jak i wykorzystujących tę substancję jako źródło węgla. W zależności od głębokości zalegania zanieczyszczeń poboru prób dokonywać można metodami ręcznymi lub mechanicznymi. Przy płytkim zaleganiu zanieczyszczeń wystarczające są metody ręczne – wiercenie obrotowymi świdrami ręcznymi lub wykonywanie odkrywki glebowej przy pomocy szpadla. Jeśli próbki trzeba pobrać z większej głębokości, należy stosować dostępne metody mechaniczne, takie jak: wszelkie świdry obrotowe z napędem mechanicznym, wiertła i sondy dynamiczne (wbijane udarowo lub ciśnieniowo). Należy pobrać próby z kilku punktów i zmieszać je ze sobą. Ilość pobranego materiału glebowego zależy od wielkości terenu zanieczyszczonego (powierzchni i miąższości warstwy skażonej). Zazwyczaj do wyprodukowania w szybkim czasie wystarczającej ilości biopreparatu wystarczy próba zbiorcza wielkości kilku, kilkunastu kilogramów. Próbki „startowe” mogą być mniejsze, ale wówczas wyprodukowanie odpowiedniej ilości biopreparatu może zająć więcej czasu.

Cały proces zaprojektowano z uwzględnieniem zasad ochrony zasobów, gospodarki obiegu zamkniętego, ochrony bioróżnorodności i minimalizowania użycia substancji syntetycznych.

Po przeanalizowaniu wyników doświadczeń laboratoryjnych i rozpatrzeniu wszelkich kosztów i korzyści postanowiono zrezygnować z wprowadzania do profilu glebowego

utleniaczy chemicznych, które wcześniej brano pod uwagę jako etap początkowy powyższych badań (chemiczne utlenianie w gruncie). W świetle niniejszej pracy ich pozytywna rola w procesie remediacji gleb *in-situ* wydają się być marginalna, a potencjalny negatywny wpływ na wolumen organizmów żywych stwarza zagrożenie uczynienia więcej szkód środowiskowych niż pożytku.

Stosowane preparaty

Opracowany system oparto na połączeniu działania specjalnie dobranego surfaktantu, mikrobiologicznego preparatu płynnego i tego samego preparatu immobilizowanego (mikrokapsułkowanego).

Stosuje się całkowicie biodegradowalny surfaktant pochodzenia naturalnego o stężeniu zgodnym z zaleceniami producenta. We wszystkich przypadkach używano specjalistycznego koncentratu surfaktantu przeznaczonego do wspomagania oczyszczania gruntów z substancji ropopochodnych, będącego pod względem chemicznym mieszaniną soli sodowych glikolipidów otrzymywanych w procesie przeróbki surowców naturalnych pochodzenia roślinnego. Zgodnie z doświadczeniem roztwór roboczy powinien być roztworem wodnym powstałym w wyniku zmieszania koncentratu z wodą w stosunku od 1:40 do 1:100. W pracach terenowych należy zastosować rozcieńczenie 1:40 i stopniowo, w miarę postępu prac remediacyjnych i zmniejszaniu się koncentracji zanieczyszczeń, zwiększać stopień rozcieńczenia do poziomu 1:100.

Istota biopreparatu mikrokapsułkowanego polega na tym, że składnik aktywny biopreparatu w postaci zawiesiny drobnoustrojów zostaje wymieszany z alginianem sodu, a następnie wkraplany do roztworu wodnego zawierającego jony wapnia. W kontakcie z jonami wapnia alginian ulega reakcji sieciowania tworząc nierozpuszczalne w wodzie polimerowe kapsułki. Czas reakcji dobrany jest w taki sposób, żeby w wyniku sieciowania utwardzeniu uległa cała objętość kropli dozowanej mieszaniny. Biopreparat wymieszany z alginianem zostaje immobilizowany w całej objętości kapsułki, a utwardzony polimer staje się nośnikiem o przedłużonej trwałości. Dzięki powolnemu rozkładowi w profilu glebowym preparat charakteryzuje się efektem długotrwałego, kontrolowanego uwalniania materiału biologicznego do środowiska, większą, w porównaniu do preparatów płynnych, odpornością na niekorzystne warunki środowiskowe oraz wyższą efektywnością działania.

Sposób wytwarzania biopreparatu immobilizownego opiera się na przyjętym przez autora wzorcu postępowania, polegającym na tym, że składnik aktywny preparatu w postaci autochtonicznych mikroorganizmów glebowych pobranych z danego terenu zanieczyszczonego umieszcza się w naczyniu zawierającym od 98,5 do 99,45% wagowych pożywki płynnej, po czym umieszcza się w bioreaktorze i poddaje inkubacji przy ciągłym mieszaniu przez okres od 24 do 48 godzin w temperaturze od 18°C do 27°C, przy prędkości mieszania nie większej niż 150 obrotów na minutę. Po zakończeniu inkubacji do bulionu bakteryjnego dodaje się 10% wagowych 5 do 8% roztworu alginianu sodu i 1,5% wagowych 30% roztworu kwasu huminowego. Preparat miesza się dokładnie w naczyniu zbiorczym przez pół godziny, po czym tak uzyskaną mieszaninę wkrapla się za pomocą systemu deszczownic do zbiornika z 2 do 3% roztworem chlorku wapnia. Powstałe granulki preparatu oddziela się z roztworu chlorku wapnia poprzez filtrację sitową. Stosunek wagowy wkraplanej mieszaniny do roztworu sieciującego powinien wynosić co najmniej 1 do 2. Tak przygotowany biopreparat mikrokapsułkowany jest gotowy do użycia w procesach remediacji gleb.

Proces produkcyjny jest niskotemperaturowy i niskociśnieniowy, żaden z etapów produkcyjnych nie stanowi zagrożenia dla życia komórek mikroorganizmów.

Stosowany sprzęt i urządzenia

Wdrażany system bazuje na możliwie jak najmniejszej ingerencji mechanicznej w strukturę gleby. Do jego zastosowania w terenie wystarczą podstawowe narzędzia. Nie jest potrzebny ciężki sprzęt budowlany. Niezbędne są narzędzia do wywiercenia otworów, do których montowane są rury iniekcyjne. W praktyce, w zależności od wymaganej głębokości, stosowane są ręczne lub samojezdne wiertnice spalinowe. Do orurowania otworów wlewowych doskonale nadają się popularne rury kanalizacyjne PP lub PCV o średnicy od 50 do 110 mm. Do transportu bioroztworów i biopreparatów można stosować pojemniki budowlane, kanistry z tworzyw sztucznych i większe zbiorniki typu Mauser. Zarówno rury wlewowe, jak i wszelkie opakowania transportowe, można i należy wykorzystywać wielokrotnie.

Etapy wdrażanego procesu

Etap 1 - wstępne przygotowanie terenu do realizacji zabiegów remediacyjnych. W ramach tego etapu należy przeprowadzić prace polegające na wstępnym uporządkowaniu i zabezpieczeniu terenu oraz dostosowaniu go do przeprowadzenia planowanych działań. Następnie teren poddawany jest szczegółowemu mapowaniu techniką GPS. Na podstawie wcześniej uzyskanych danych środowiskowych, a w szczególności map wskazujących zasięg zanieczyszczenia w planie i w przekroju, wyznacza się przyszłe punkty aplikacji preparatów doglebowych. Punkty te należy wyznaczyć w taki sposób, aby nie tylko równomiernie pokrywały obszar zanieczyszczony, ale i znajdowały się obwodowo poza konturem tego obszaru. W zależności od rodzaju gruntu, jego przepuszczalności i koncentracji zanieczyszczeń optymalne odległości pomiędzy punktami powinny wynosić 2-5 m.

Prace wstępne mogą także obejmować zapewnienie dróg dostępu, uwzględnienie istniejącej infrastruktury, usuwanie części szaty roślinnej np. koszenie wysokich traw, redukcję zarośli, przycinanie gałęzi drzew, itp. Ingerencję w rozwiniętą szatę roślinną na terenie prac należy ograniczyć do niezbędnego minimum, gdyż wszelkie formy życia biologicznego sprzyjają procesowi oczyszczania gleb i gruntów.

Na tym etapie pobiera się próbki skażonego gruntu zgodnie z wcześniej opisanymi wytycznymi, służącego jako materiał bazowy do namnażania autochtonicznych mikroorganizmów glebowych, a w późniejszym czasie produkcji aktywnych biopreparatów.

Etap 2 – Wykonanie i montaż infrastruktury remediacyjnej

Na podstawie siatki otworów wlewowych opracowanej w etapie pierwszym należy wykonać odwierty i zamontować w nich perforowane rury do iniekcji doglebowej. W zależności od stopnia przepuszczalności gruntu rury mogą być osiatkowane (polecane dla gruntów spoistych) lub bez osiatkowania (odpowiednie dla gruntów przepuszczalnych). Rury należy instalować w zależności od lokalizacji zanieczyszczenia w taki sposób, żeby zapewnić efektywną dystrybucję preparatów remediacyjnych i aby strefa perforowana częściowo sięgała ponad strop warstwy skażonej. Powinny też być łatwo dostępne z powierzchni terenu, zatem przy ostatecznym planowaniu ich lokalizacji należy uwzględnić ewentualne przeszkody terenowe. Na potrzeby projektowanych zabiegów minimalna średnica użytych rur powinna wynosić 50 mm. Tak przygotowane punkty stanowią nie tylko otwory wlewowe dla preparatów płynnych, ale również drogę dozowania dla polimerowych

preparatów immobilizowanych. Poza czasem aplikowania substancji remediacyjnych pełnią one również funkcję pasywnego systemu wentylacyjnego wprowadzającego dodatkowy wolumen tlenu atmosferycznego do profilu glebowego.

Etap 3 – Aplikacja roztworów przygotowawczych

Zabieg ukierunkowany jest na częściową modyfikację parametrów fizycznych i chemicznych środowiska, tak aby aplikowane mikroorganizmy miały lepsze warunki do wzrostu i rozwoju. Ten etap opiera się na dostarczeniu do gruntu substancji zmniejszających napięcie powierzchniowe (surfaktantów), dzięki czemu poprawiają one dostępność zanieczyszczeń dla mikroorganizmów. W zależności od głębokości zalegania zanieczyszczenia surfaktant można również aplikować powierzchniowo poprzez rozdeszczowywanie na całym obszarze prac. Przyjęto zasadę przeliczania każdorazowego dozowania preparatów w ilości minimum 1 litr roztworu roboczego surfaktantu, 1 litr bioroztworu i 0,5-1 kg biopreparatu mikrokapsułkowanego na 1 m² powierzchni skażenia. Wszystkie składniki systemu są preparatami bezpiecznymi dla środowiska i nie jest możliwe „przedawkowanie” ich, mogące wywołać szkodę w środowisku. Stosowane w opracowanym systemie surfaktanty są substancjami pochodzenia naturalnego, całkowicie biodegradowalnymi. Dzięki temu nie stanowią zagrożenia i nie obciążają środowiska, działają jedynie w miejscu aplikacji i szybko znikają z profilu glebowego. Ponadto substancje te nie mają agresywnego działania niszczącego na maszyny i urządzenia, które mogą być używane w tym procesie, takie jak pompy, zbiorniki, dysze, rury itp. Odbija się to zatem pozytywnie na kosztach sprzętowych, a ewentualne prace związane z czyszczeniem czy wymianą zużywalnych elementów ograniczają się do minimum.

Etap 4 – Realizacja właściwego procesu bioaugmentacji

Istotą proponowanej technologii jest wykorzystanie rurowego, pasywnego systemu do dystrybucji w głąb gruntu biologicznego czynnika aktywnego (niepatogenne, autochtoniczne drobnoustroje o aktywności biodegradacyjnej) w dwóch formach roboczych – roztworu płynnego oraz polimerowego biopreparatu immobilizowanego w formie mikrokapsulek. W przypadku, gdy zanieczyszczenia zalegają płytko pod powierzchnią terenu, a także w celu ogólnej intensyfikacji procesu, proponowany zabieg można uzupełniać o powierzchniowy oprysk obszaru prac preparatem płynnym oraz powierzchniowe rozsiewanie mikrokapsulek. W takim przypadku kapsułki należy

zabezpieczyć przed wysychaniem poprzez prosty zabieg agrotechniczny powodujący przykrycie ich niewielką warstwą ziemi (np. przegrabienie lub płytka wertykulacja).

Prace etapu 4 należy powtarzać cyklicznie, corocznie, przynajmniej trzy razy w czasie trwania sezonu wegetacyjnego (na początku, w połowie i pod koniec sezonu), aż do uzyskania pożądanego efektu środowiskowego. Optymalnie zaleca się stosowanie powtórzeń zabiegów co około dwa miesiące.

Etap 5 – Zakończenie procesu.

Ostatni etap prac polega na przeprowadzeniu działań demontażowych i uprzątnięciu terenu poprzez usunięcie ewentualnych zabezpieczeń, tymczasowych ogrodzeń i wszystkich rur służących do przeprowadzenia zadania. Prace demontażowe należy wykonywać w taki sposób, aby w jak największym stopniu zapewnić odzysk materiałów, mogących ponownie posłużyć przy kolejnym zadaniu.

W trakcie systemowych działań remediacyjnych należy prowadzić monitoring stanu środowiska gruntowo-wodnego poprzez systematyczny coroczny pobór i analizę próbek gleby i wody. Kontrole należy wykonywać co najmniej raz w roku, po zakończeniu prac w danym sezonie. Całość procesu należy ująć w raporcie końcowym zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami i wymaganiami właściciela terenu.

Uproszczona porównawcza analiza kosztów i korzyści

Porównanie metod oczyszczania gleb *in situ* opartych na klasycznych bioroztworach i wdrażanym hybrydowym systemie z użyciem bioroztworów immobilizowanych przedstawia Tabela 20.

Poza policzalnymi korzyściami ekonomicznymi, zastosowanie wysokoefektywnego systemu oczyszczania gleb wywołuje szereg korzyści środowiskowych i społecznych takich jak: zmniejszenie zanieczyszczenia gleby i wód gruntowych, poprawa bioróżnorodności i jakości środowiska, redukcja emisji CO₂, poprawa warunków życia okolicznych mieszkańców.

Tabela 20. Zestawienie podstawowych kosztów i korzyści prac remediacyjnych prowadzonych klasycznymi metodami i metodą hybrydową

Lp.	Podstawowe obszary kosztów i korzyści	„klasyczny” system remediacji	wdrażany system remediacji
1	Wielkość obszaru zanieczyszczonego, stężenie i rodzaj zanieczyszczeń	zbliżone	
2	Koszty badań i analiz wstępnych	zbliżone	
3	Koszty infrastruktury remediacyjnej in situ	zbliżone	
4	Koszty zaplecza laboratoryjnego		Nieznacznie wyższe (wymagana linia do immobilizacji biopreparatów)
5	Koszt materiałów eksploatacyjnych		Sumarycznie niższe o 50-70%
6	Koszty energii		Sumarycznie niższe o 50-70%
7	Koszty pracy personelu		Sumarycznie niższe o 70-80%
8	Koszty transportu		Sumarycznie niższe o 50-70%
9	Uniknięcie kar środowiskowych		Szybsze wywiązanie się z obowiązków
10	Możliwość wykorzystania terenu (inwestycje budowlane)		Szybciej o 50-70%

9. Literatura

- [1] Adedeji, J. A., Tetteh, E. K., Opoku Amankwa, M., Asante-Sackey, D., Ofori-Frimpong, S., Armah, E. K., Rathilal, S., Mohammadi, A. H., & Chetty, M. (2022). Microbial bioremediation and biodegradation of petroleum products - A mini review. *Applied Sciences*, 12(23), 12212, 1-24.
- [2] Ahmad, A. A., Muhammad, I., Shah, T., Kalwar, Q., Zhang, J., Liang, Z., Mei, D., Juanshan, Z., Yan, P., Zhi, D. X., J & Rui-Jun, L. (2020). Remediation methods of crude oil contaminated soil. *World Journal of Agriculture and Soil Science*, 4(3), 8, 1-6.
- [3] Akpokodje, O. I., Juwah, H. O., & Uguru, H. (2022). Impacts of petroleum spills on geotechnical properties of soils: A review. *Journal of Engineering Innovations and Applications*, 1(1), 1-6.
- [4] Aljamali, N. M., Khdur, R., & Alfatlawi, I. O. (2021). Physical and chemical adsorption and its applications. *International Journal of Thermodynamics and Chemical Kinetics*, 7(2), 1-8.
- [5] Ambaye, T. G., Chebbi, A., Formicola, F., Prasad, S., Gomez, F. H., Franzetti, A., & Vaccari, M. (2022). Remediation of soil polluted with petroleum hydrocarbons and its reuse for agriculture: Recent progress, challenges, and perspectives. *Chemosphere*, 293, 133572, 1-14.
- [6] Antonkiewicz, J., & Gworek, B. (2023). Remediacja zanieczyszczonych gleb i ziem. PWN, I, 89-91, 159-163.
- [7] Apul, O. G., Arrowsmith, S., Hall, C. A., Miranda, E. M., Alam, F., Dahlen, P., Sra K., Kamath R., McMillen S. J., Sihota N., Wasterhoff P., Krajmalnik-Brown R., & Delgado, A. G. (2022). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in a weathered, unsaturated soil is inhibited by peroxide oxidants. *Journal of Hazardous Materials*, 433, 128770, 1-7.
- [8] Bodziony, A., Lis, A., & Gliniak, M. (2021). Unieszkodliwianie zanieczyszczeń ropopochodnych w glebie—porównanie metod chemicznych i mikrobiologicznych. *Infrastruktura i środowisko w gospodarce o obiegu zamkniętym*, 181-184.

- [9] Borysiewicz, M., Kowalik-Pilarska, E., Siess, G., & Wojciechowicz, H. (2020). Ocena zagrożeń środowiskowych wywołanych przez poważne awarie przemysłowe. *Badania na rzecz poprawy bezpieczeństwa w zakładach przemysłowych stwarzających zagrożenie poza swoim terenem*, 151, 154, 156.
- [10] Brzeszcz, J. (2023). Drobnoustroje środowiskowe, zdolne do jednoczesnego rozkładu węglowodorów alifatycznych i aromatycznych: perspektywy wykorzystania w praktyce bioremediacji gleb zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi (Doctoral dissertation), 19.
- [11] Brzeszcz, J., & Kapusta, P. (2021). Życie towarzyszące naturalnym, powierzchniowym wyciekom węglowodorów. *Nafta-Gaz*, 77, 645, 646.
- [12] Cabral, L., Giovanella, P., Pellizzer, E. P., Teramoto, E. H., Kiang, C. H., & Sette, L. D. (2022). Microbial communities in petroleum-contaminated sites: structure and metabolisms. *Chemosphere*, 286, 131752, 2-28.
- [13] Calenciuc, C., Fdez-Sanromán, A., Lama, G., Annamalai, S., Sanromán, A., & Pazos, M. (2022). Recent developments in advanced oxidation processes for organics-polluted soil reclamation. *Catalysts*, 12(1), 64, 2.
- [14] Cauduro, G. P., Leal, A. L., Lopes, T. F., Marmitt, M., & Valiati, V. H. (2020). Differential expression and PAH degradation: what *Burkholderia vietnamiensis* G4 can tell us?. *International journal of microbiology*, 2020(1), 8831331, 6.
- [15] Daâssi, D., & Qabil Almaghribi, F. (2022). Petroleum-contaminated soil: environmental occurrence and remediation strategies. *3 Biotech*, 12(6), 139, 1-12.
- [16] Dankaka, S. M., Muhammad, J. B., Usman, S., Jagaba, A. H., & Abdullahi, N. (2023). Phenol biodegradation by *Acinetobacter baumannii* and *Citrobacter sedlakii* isolated from petroleum products contaminated environment. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 8, 100468, 7.
- [17] Da Silva, I. G. S., de Almeida, F. C. G., da Rocha e Silva, N. M. P., de Oliveira, J. T. R., Converti, A., & Sarubbo, L. A. (2021). Application of green surfactants in the remediation of soils contaminated by hydrocarbons. *Processes*, 9(9), 1666, 2.
- [18] Gospodarek, J., Petryszak, P., Kafel, A., & Paśmionka, I. B. (2022). *Porcellio scaber* Latr. and *Lumbricus terrestris* L.—PAHs content and remediation of long-term

aging soil contamination with petroleum products during a single-and two-species experiment. *Energies*, 15(21), 7835, 1-20.

[19] Guzik, U., Kaczorek, E., Wojcieszńska, D., & Krysiak, M. (2010). Mikrobiologiczny rozkład alkanów ropopochodnych, 1021, 1022.

[20] Hewelke, E., & Gozdowski, D. (2020). Hydrophysical properties of sandy clay contaminated by petroleum hydrocarbon. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(9), 9697-9706.

[21] Ishaya, S., Usman, S., Nweke, O. D., Adams, N. H., Umar, R., Ilyasu, N. S., Jagaba, A. H., Atangwho, I. J., & Yakasai, H. M. (2023). Degradation of used engine oil by alcaligenes sp. strain isolated from oil contaminated site: isolation, identification, and optimization of the growth parameters. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 8, 100516, 6.

[22] Izdebska-Mucha, D., Trzciński, J., & Klein, M. (2021). Wpływ zanieczyszczenia olejem napędowym na uziarnienie i plastyczność mad z rejonu Warszawa-Siekierki. *Przegląd Geologiczny*, 69(12), 805, 807, 809.

[23] Kasman, M., Hadrah, H., & Sy, S. (2021). Remediation of hydrocarbon contaminated soil using alkyl benzene sulfonate: preliminary study. *Indonesian Journal of Industrial Research*, 11(1), 73-78.

[24] Kołodziejski, Ł., & Tobiszewski, M. (2021). Ocena zieloności różnych metod oznaczania substancji ropopochodnych w wodzie i glebie. *Książka streszczeń*, 61.

[25] Konur, O. (2021). Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Contaminated Soils: A Review of the Research. *Petrodiesel Fuels*, 995-1013.

[26] Li, Y. T., Li, D., Lai, L. J., & Li, Y. H. (2020). Remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil by using activated persulfate with ultrasound and ultrasound/Fe. *Chemosphere*, 238, 124657, 1,3.

[27] Li, Y., Zhao, L., Chen, F., Jin, K. S., Fallgren, P. H., & Chen, L. (2020). Oxidation of nine petroleum hydrocarbon compounds by combined hydrogen peroxide/sodium persulfate catalyzed by siderite. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 25655-25663.

- [28] Luo, X., Gong, H., He, Z., Zhang, P., & He, L. (2021). Recent advances in applications of power ultrasound for petroleum industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105337, 1-9.
- [29] Lv, Y., Bao, J., & Zhu, L. (2022). A comprehensive review of recent and perspective technologies and challenges for the remediation of oil-contaminated sites. *Energy Reports*, 8, 7976-7988.
- [30] Mendrycka, M., Mucha, K., & Stawarz, S. (2013). Bioremediacja związków ropopochodnych oraz szlaki ich biodegradacji. *Postępy mikrobiologii*, 52, 397-408.
- [31] Miksch, K., Felis, E., Kalka, J., Sochacki, A., & Drzymała, J. (2016). Mikrozanieczyszczenia w środowisku–występowanie, interakcje, usuwanie. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 18(3), 1-84.
- [32] Minnikova, T., Ruseva, A., & Kolesnikov, S. (2022). Assessment of ecological state of soils contaminated by petroleum hydrocarbons after bioremediation. *Environmental Processes*, 9(3), 49, 2-4.
- [33] Mordecai, G. A. N. A., Olusanya, C. S., Shaba, A. D., Adamu, B. B., & Idris, A. D. (2021). Biodegradation of diesel and crude oil using *Corynebacterium* sp and *Lysinobacillus fusiformis* 5b stimulated with biosurfactant, biochar and iron oxide nanoparticles. *Covenant Journal of Physical and Life Sciences*, 9(2), 8.
- [34] Morya, R., Salvachúa, D., & Thakur, I. S. (2020). Burkholderia: an untapped but promising bacterial genus for the conversion of aromatic compounds. *Trends in Biotechnology*, 38(9), 963-975.
- [35] Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 2 lipca 2021 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o ochronie gruntów rolnych i leśnych. Dz.U. 2021 poz. 1326.
- [36] Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 2 sierpnia 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o zapasach ropy naftowej, produktów naftowych i gazu ziemnego oraz zasadach postępowania w sytuacjach zagrożenia bezpieczeństwa paliwowego państwa i zakłóceń na rynku naftowym. Dz.U. 2023 poz. 1650.

- [37] Ogutcu, H., Kantar, F., Alaylar, B., Numanoglu Cevik, Y., & Gulluce, M. (2022). Isolation and characterization of hydrocarbon and petroleum degrading bacteria from polluted soil with petroleum and derivatives by MALDI-TOF MS method. *Geomicrobiology Journal*, 39(9), 757-766.
- [38] Olukanni, O. D., Famuyiwa, T., Oyenuga, S., Ojo, T., Dare, P. A., Awotula, A. O., & Osuntoki, A. A. (2022). Enhanced Biodegradation of Phenanthrene by *Comamonas testosteroni* Strain T in the Presence of Limiting Concentration of Triton x-100. *Environmental Processes*, 9(4), 57, 1-16.
- [39] Państwowy Instytut Geologiczny – Państwowy Instytut Badawczy, Zasoby i wydobywanie kopalin w 2023 r. (2024), 1.
- [40] PIG-PIB, Czapigo-Czapla, Brzeziński, <https://www.pgi.gov.pl/surowce/energetyczne/ropa-naftowa.html>, data dostępu: 02.08.2024.
- [41] Polska Organizacja Przemysłu i Handlu Naftowego, Raport roczny POPIHN Przemysł i handel naftowy 2023 (2024), 22, 23.
- [42] Primerano, K., Mirwald, J., & Hofko, B. (2024). Asphaltenes and maltenes in crude oil and bitumen: A comprehensive review of properties, separation methods, and insights into structure, reactivity and aging. *Fuel*, 368, 131616, 1-19.
- [43] Rakowska, J. (2020). Remediation of diesel-contaminated soil enhanced with firefighting foam application. *Scientific Reports*, 10(1), 8824, 2, 4, 7.
- [44] Ropek, D. R., & Gospodarek, J. (2022). Entomopathogenic Nematode *Steinernema feltiae* as an Indicator of Soil Pollution with Oil Derivatives in Bioremediation Process. *Agriculture*, 12(12), 2033, 1-4, 8.
- [45] Rozporządzenie Ministra Klimatu i Środowiska z dnia 26 lutego 2021 r. w sprawie szczegółowego sposobu obniżania ilości zapasów obowiązkowych ropy naftowej lub paliw. Dz.U. 2021 poz. 421.
- [46] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi. Dz.U. 2016 poz. 1395.
- [47] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1099/2008 z dnia 22 października 2008 r. w sprawie statystyki energii.

- [48] Rusin, M., Gospodarek, J., Nadgórska-Socha, A., & Barczyk, G. (2017). Effect of petroleum-derived substances on life history traits of black bean aphid (*Aphis fabae* Scop.) and on the growth and chemical composition of broad bean. *Ecotoxicology*, 26, 315.
- [49] Rusin, M., Gospodarek, J., & Nadgórska-Socha, A. (2021). Time-delayed effect of petroleum-derived products in soil and their bioremediation on plant–herbivore interaction. *Archives of Environmental Protection*, 47(3), 71.
- [50] Sales da Silva, I. G., Gomes de Almeida, F. C., Padilha da Rocha e Silva, N. M., Casazza, A. A., Converti, A., & Asfora Sarubbo, L. (2020). Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies*, 13(18), 4664, 4-18.
- [51] Sarıkoç, S. (2020). Fuels of the diesel-gasoline engines and their properties. *Diesel and Gasoline Engines*, 31, 31-36.
- [52] Selva Filho, A. A. P., Converti, A., Soares da Silva, R. D. C. F., & Sarubbo, L. A. (2023). Biosurfactants as multifunctional remediation agents of environmental pollutants generated by the petroleum industry. *Energies*, 16(3), 1209, 1-19.
- [53] Shishkova, I., Stratiev, D., Kolev, I. V., Nenov, S., Nedanovski, D., Atanassov, K., Ivanov V., & Ribagin, S. (2022). Challenges in petroleum characterization—A review. *Energies*, 15(20), 7765, 1-33.
- [54] Skłodowska, M. (2020). Fitoremediacja gleb skażonych substancjami ropopochodnymi przy zastosowaniu mieszanki traw i łąk kwietnych. *Środowisko przyrodnicze jako obszar badań*, III, 72, 73.
- [55] Sozina, I. D., & Danilov, A. S. (2023). Microbiological remediation of oil-contaminated soils. *Записки Горного института*, (260 (eng)), 297-312.
- [56] Sui, X., Wang, X., Li, Y., & Ji, H. (2021). Remediation of petroleum-contaminated soils with microbial and microbial combined methods: Advances, mechanisms, and challenges. *Sustainability*, 13(16), 9267, 1-22.
- [57] Sumathi, K., & Manian, R. (2024). Degradation and inhibition kinetics of phenanthrene by *Alcaligenes ammonioxydans*, [VITRPS2] strain isolated from petroleum-contaminated soil. *Discover Applied Sciences*, 6(5), 255, 3.

- [58] Usman, M., Jellali, S., Anastopoulos, I., Charabi, Y., Hameed, B. H., & Hanna, K. (2022). Fenton oxidation for soil remediation: A critical review of observations in historically contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127670, 8,10.
- [59] Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska. Dz.U. 2001 nr 62 poz. 627.
- [60] Wojtowicz, K., Steliga, T., & Skalski, T. (2022). Badania laboratoryjne wpływu dodatku γ -PGA na efektywność biodegradacji węglowodorów ropopochodnych. *Nafta-Gaz*, 78, 669, 670, 676.
- [61] Wojtowicz, K., & Steliga, T. (2023). Zastosowanie *Lotus corniculatus* w badaniach biodegradacji TPH i WWA wspomaganą fitoremediacją. *Nafta-Gaz*, 79(7), 443-454.
- [62] Wu, Y., Liu, X., Dong, Q., Xiao, M., Li, B., Topalović, O., Tao O., Tang X., Huang R., Chen G., Li H., Chen Y., Feng Y., & Wang, C. (2022). Remediation of petroleum hydrocarbons-contaminated soil: Analysis based on Chinese patents. *Chemosphere*, 297, 134173, 2.
- [63] Wyszowski, M., & Kordala, N. (2022). Trace element contents in petrol-contaminated soil following the application of compost and mineral materials. *Materials*, 15(15), 5233, 1-3, 8, 9.
- [64] Yang, Z. H., Sheu, Y. T., Dong, C. D., Chen, C. W., Chen, S., & Kao, C. M. (2020). Remediation of phenol-contaminated groundwater using in situ Fenton and persulfate oxidation: performance and mechanism studies. *DWT*, 175, 359-368.
- [65] Zhang, Y., Ding, T., & Chen, M. (2024). Ecotoxicity Assessment of Four Oxidizing Agents for Remediation of BTEXs-Contaminated Soil. *Water, Air, & Soil Pollution*, 235(6), 368, 1-15.
- [66] Zhao, J., Zhang, A., Heroux, P., Sun, Z., & Liu, Y. (2021). Remediation of diesel fuel polluted soil using dielectric barrier discharge plasma. *Chemical Engineering Journal*, 417, 128143, 1-7.

10. Spis rysunków

Rysunek 1. Procentowy udział zanieczyszczeń występujących w glebie (Bodziony i in., 2021, zmodyfikowano).....	14
Rysunek 2. Zasoby i wydobywanie ropy naftowej w Polsce w latach 1989-2023 (PIG-PIB, Czapigo-Czapla i Brzeziński, 2024)	15
Rysunek 3. Główne źródła i skutki zanieczyszczeń pochodnymi ropy naftowej (opracowanie własne, na podstawie Ambaye i in., 2022)	21
Rysunek 4. Rozprzestrzenianie się węglowodorów ropopochodnych w środowisku gruntowo-wodnym (Mendrycka i in., 2013)	22
Rysunek 5. Zdolność rozkładu dla frakcji ropy naftowej (opracowanie własne)	23
Rysunek 6. Mikroorganizmy uczestniczące w procesie rozkładu związków ropopochodnych (opracowanie własne, na podstawie Adedeji i in., 2022)	24
Rysunek 7. Biodegradacja tlenowa alkanów nasyconych o prostych łańcuchach (Mendrycka i in., 2013)	25
Rysunek 8. Szlaki biodegradacji węglowodorów aromatycznych (Brzeszcz, 2023)	26
Rysunek 9. Biodegradacja cykloheksanu (Guzik i in., 2010)	26
Rysunek 10. Charakterystyka mikroorganizmów odpowiednich do procesu biodegradacji substancji ropopochodnych (na podstawie Wojkowicz i in., 2022)	40
Rysunek 11. Tworzenie miceli - ułożenie cząsteczek na granicy faz (a), w wodzie i oleju (b) (Salves da Silva i in., 2020, zmodyfikowano)	42
Rysunek 12. Podział surfaktantów ze względu na ich pochodzenie (na podstawie Da Silva i in., 2021)	43
Rysunek 13. Rozkład zanieczyszczeń ropopochodnych w gruncie i ich wpływ na bioróżnorodność organizmów glebowych	43
Rysunek 14. Zmiana rozkładu zanieczyszczeń w gruncie pod wpływem działania surfaktantów	44
Rysunek 15. Test biodegradowalności surfaktantu (Zahn-Wellens test)	60
Rysunek 16. Biopreparat w formie mikrokapsułkowanej	61
Rysunek 17. Schemat kolumny doświadczalnej. 1 - wewnętrzna rura perforowana, 2 - zewnętrzna rura kolumnowa, 3 - wsad badanego gruntu, 4 - kraniki odciekowe	64
Rysunek 18. Doświadczenie kolumnowe w komorze fitotronowej	65
Rysunek 19. Część próbek inkubowanego materiału biologicznego na pożywkach różnicujących	67
Rysunek 20. Analizator gazowy EGA60 z próbkami badanej gleby	70
Rysunek 21. Praca z urządzeniem ECHO	71
Rysunek 22. Schemat instalacji terenowej. 1 - perforowane rury iniekcyjne, 2 - kierunek infiltracji roztworów aktywnych, 3 - warstwa skażonego gruntu	73
Rysunek 23. Mapka terenu 1 z zaznaczonym obszarem skażonym i punktami lokalizacji rur iniekcyjnych (czerwone) i monitoringowych (żółte)	74
Rysunek 24. Widok zainstalowanych rur iniekcyjnych	74
Rysunek 25. Gwałtowna reakcja po aplikacji roztworów utleniających	75
Rysunek 26. Schemat instalacji terenowej. 1 - perforowane rury iniekcyjne, 2 – kierunek infiltracji roztworów aktywnych, 3 – warstwa skażonego gruntu	77
Rysunek 27. Mapka terenu 2 z zaznaczonym obszarem skażonym i punktami lokalizacji rur iniekcyjnych	78
Rysunek 28. Widok terenu 2 przygotowanego do iniekcji doglebowych	79
Rysunek 29. Model biodegradacji substancji ropopochodnych z biostymulacją metodą hybrydową	83
Rysunek 30. Wyniki analizy laserowej gruntu z terenu 1	86

Rysunek 31. Wyniki analizy laserowej gruntu z terenu 2	88
Rysunek 32. Emisja CO ₂ z różnych gruntów z różnymi dodatkami w respirometrze EGA	91
Rysunek 33. Emisja CO ₂ w teście na urządzeniu ECHO przez 33 dni	92
Rysunek 34. Emisja CO ₂ w teście na urządzeniu ECHO przez 48 dni	93
Rysunek 35. Zmiany stężenia frakcji C ₁₂ -C ₃₅ dla zastosowanych dodatków w glebie po 33 dniach eksperymentu	94
Rysunek 36. Zmiany stężenia frakcji C ₁₂ -C ₃₅ dla zastosowanych dodatków w glebie po 48 dniach eksperymentu	95
Rysunek 37. Zmiany stężenia C ₁₂ -C ₃₅ dla zastosowanych dodatków w glebie po 33 dniach; Wartości średnie	96
Rysunek 38. Zmiany stężenia C ₁₂ -C ₃₅ dla zastosowanych dodatków w glebie po 48 dniach; Wartości średnie	96
Rysunek 39. Maksymalne stężenia frakcji oleju C ₁₂ - C ₃₅ w gruncie terenu 1; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)	98
Rysunek 40. Maksymalne stężenia frakcji benzyn C ₆ - C ₁₂ w gruncie terenu 1; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)	99
Rysunek 41. Maksymalne stężenia frakcji oleju C ₁₂ – C ₃₅ w gruncie terenu 2; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)	104
Rysunek 42. Maksymalne stężenia frakcji benzyn C ₆ – C ₁₂ w gruncie terenu 2; Dane archiwalne (kolor niebieski) i z lat prowadzenia procesu remediacji (kolor zielony)	105

11. Spis tabel

Tabela 1. Podział węglowodorów ropopochodnych (na podstawie Ahmad i in., 2020, Sarikoć, 2020, Ogutcu i in., 2022, Wojtkowicz i in., 2022, Antonkiewicz i Gworek, 2023, Primerano i in., 2024).....	16
Tabela 2. Metody fizyczne remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi.....	30
Tabela 3. Metody chemiczne remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi.....	32
Tabela 4. Metody biologiczne remediacji gruntów zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi.....	35
Tabela 5. Wybrane rodzaje bakterii wykorzystywane jako komponenty preparatów mikrobiologicznych.....	41
Tabela 6. Schemat przygotowania próbek do badań respirometrycznych w analizatorze gazowym EGA 60.....	68
Tabela 7. Schemat przygotowania próbek do badań respirometrycznych w analizatorze gazowym ECHO.....	72
Tabela 8. Zestawienie podstawowych parametrów fizykochemicznych obu terenów doświadczalnych.....	84
Tabela 9. Wyniki analizy sitowej gruntu z terenu 1.....	85
Tabela 10. Wyniki analizy sitowej gruntu z terenu 2.....	87
Tabela 11. Wyniki badań mikrobiologicznych gruntu z terenu 1.....	89
Tabela 12. Wyniki badań mikrobiologicznych gruntu z terenu 2.....	90
Tabela 13. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 1 na zawartość substancji ropopochodnych po pierwszym sezonie remediacji w 2020 roku [mg/kg s.m.].....	100
Tabela 14. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 1 na zawartość substancji ropopochodnych po drugim sezonie remediacji 2021r [mg/kg s.m.].....	101
Tabela 15. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 1 na zawartość substancji ropopochodnych po trzecim sezonie remediacji 2022r [mg/kg s.m.].....	102
Tabela 16. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 2 na zawartość substancji ropopochodnych po pierwszym sezonie remediacji w 2021 roku [mg/kg s.m.].....	105
Tabela 17. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 2 na zawartość substancji ropopochodnych po drugim sezonie remediacji w 2022 roku [mg/kg s.m.].....	106
Tabela 18. Wyniki badania próbek glebowych z terenu 2 na zawartość substancji ropopochodnych po trzecim sezonie remediacji w 2023 roku [mg/kg s.m.].....	107
Tabela 19. Porównanie efektywności klasycznych systemów i systemu opartego na preparatach mikrokapsułkowanych; Efekty zastosowania bioremediacji in situ z użyciem preparatów kapsułkowanych na różnych terenach w latach 2020-2024.....	109
Tabela 20. Zestawienie podstawowych kosztów i korzyści prac remediacyjnych prowadzonych klasycznymi metodami i metodą hybrydową.....	124