

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta



Bakalářská práce

**Biodegradace ropných uhlovodíků v podzemních
vodách pomocí permeabilních reaktivních bariér**

Ivana Matějčková

Vedoucí práce: Doc. Ing. Jan Tříška, CSc.

České Budějovice, duben 2010

Matějčková, I. 2010. Biodegradace ropných uhlovodíků v podzemních vodách pomocí permeabilních reaktivních bariér

[Biodegradation of Crude Oil Hydrocarbons in Groundwater by Permeable Reactive Barriers. Bc. Thesis, in Czech.] 23 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Tato práce představuje grantovou žádost na projekt zabývající se biodegradací ropných uhlovodíků v podzemních vodách pomocí permeabilních reaktivních bariér. Těžiště projektu spočívá v optimalizaci množství živin a doby zdržení u dvou polo-provozních permeabilních reaktivních bariér na dvou různých lokalitách.

Annotation:

This work represents the grant application for project dealing with biodegradation of crude oil hydrocarbons in groundwater by permeable reactive barriers. The project is focused on the optimalization of nutrient supply and residence time for the two pilot permeable reactive barriers.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č.111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené elektronické podobě ve veřejné části databáze STAG na internetových stránkách Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

V Českých Budějovicích dne 30. dubna 2010

Ivana Matějčková

Shrnutí projektu

V současné době se odstraňování polutantů z podzemních vod věnuje ve světě velká pozornost a jednou skupinou problematických polutantů jsou ropné uhlovodíky. Perspektivní technologií pro odstraňování polutantů z míst lokálního znečištění jsou permeabilní reaktivní bariéry (PRB), které jsou umístěny do toku podzemní vody a určité reakce, probíhající v bariéře, vedou k odstranění vybraných kontaminantů. Ropné uhlovodíky jsou v PRB degradovány díky přítomným mikroorganismům, které jsou přichyceny na nosném materiálu. Účinnost biodegradace je závislá na kombinaci faktorů jako dostatek živin, dostatek akceptoru elektronů (př. kyslík u aerobní biodegradace), teplota, pH a dostatečně dlouhá doba zdržení vody na bariéře.

V ČR se jedná o technologii poměrně novou a předpokládá se její využití v celé řadě problematických lokalit. Firma MikroChem LKT s.r.o., která se touto problematikou zabývá, dosud vybuodovala poloprovozní PRB na lokalitě v Soběslavi a na druhé lokalitě v Horném Hričově na Slovensku je již výstavba naplánována. Důvodem výstavby menší, poloprovozní PRB, která je nad zemí a podzemní voda je do ní čerpána, je získání potřebných informací k realizaci PRB s větší kapacitou. Lokalita v Horném Hričově je kontaminovaná ropnými uhlovodíky v rozmezí od C₁₀ do C₂₀ (převážně alifatické a minoritně uhlovodíky skupiny BTEX), zatímco lokalita v Soběslavi složitými polycyklickými aromatickými uhlovodíky. Poloprovozní PRB v Soběslavi byla v roce 2009 v provozu první sezónu, avšak dosavadní výsledky biodegradace nebyly uspokojivé, proto by bylo třeba optimalizovat vstupní podmínky. Optimalizace přísunu živin a optimalizace doby zdržení, jako nejlépe ovlivnitelných faktorů na poloprovozních PRB, by vedla k vyšší účinnosti biodegradace. Stejný experiment by se provedl na lokalitě v Horném Hričově, kde jsou očekávány jiné optimální podmínky z důvodu kontaminace jednoduššími uhlovodíky.

Výsledky navrhované optimalizace budou aplikovatelné na další PRB s větší kapacitou, které mohou být vybudovány v nadcházejících letech na dalších problematických lokalitách České republiky, popřípadě Slovenské republiky.

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. Ing. Janu Třískovi, CSc. za vedení bakalářské práce. Velké poděkování patří Mgr. Mariu Byssovi, Ph.D., zaměstnanci firmy MikroChem LKT, s.r.o., za praktické rady a obětavou pomoc. Dále děkuji Ing. Jiřímu Bártovi, Ph.D., RNDr. Jakubu Borovcovi, Ph.D. a RNDr. Martinu Haisovi Ph.D. za užitečné rady. A v neposlední řadě Mgr. Petru Kotasovi za poskytnutí potřebných materiálů a ochotu při práci v laboratoři.

Obsah

1. Současný stav poznání	1
1. 1. Podzemní voda a problém znečištění	1
1.1.1. Ropa a ropné frakce jako zdroj znečištění podzemních vod.....	1
1.2. Permeabilní reaktivní bariéry	2
1.2.1. Srovnání technologií PRB a „pump and treat“	3
1.2.2. Využívané typy PRB.....	4
1.3. Faktory ovlivňující biodegradaci ropných uhlovodíků	5
1.4. Sledované lokality a přítomné skupiny ropných uhlovodíků.....	8
1.4.1. Lokalita v Horném Hričově kontaminovaná motorovou naftou	8
1.4.2. Lokalita v Soběslavi kontaminovaná kreosotovými oleji	9
1.5. Shrnutí informací v kontextu s plánovaným projektem	11
2. Cíle projektu	12
3. Hypotézy	12
4. Návrh experimentu	12
4.1. Vstupní podmínky	12
4.2. Dosavadní výsledky biodegradace na lokalitě v Soběslavi.....	13
4.3. Provedení experimentů	14
4.3.1. Stanovení optimálního množství dodávaných živin	14
4.3.2. Stanovení optimální doby zdržení.....	15
4.4. Časový harmonogram projektu	17
4.5. Finanční náročnost projektu	17
5. Závěr.....	18
6. Literatura.....	19

Seznam použitých zkratek:

BTEX	Benzen, toluen, ethylbenzen a skupina xylenů
ČSN	Česká technická norma (zkratka z původního názvu - Československá státní norma)
EN	Evropská norma
EPA	Environmental Protection Agency - Agentura pro ochranu ŽP v USA
ISO	International Organization for Standardization - Mezinárodní organizace pro standardizaci
MŽP	Ministerstvo životního prostředí
NRC	National Research Council - Národní výzkumná rada v USA
PAH	Polycyclic aromatic hydrocarbons - polycyklické aromatické uhlovodíky
PRB	Permeable reactive barrier - permeabilní reaktivní bariéra

1. Současný stav poznání

1. 1. Podzemní voda a problém znečištění

Podzemní voda je po ledovcích druhým největším zásobníkem sladké vody na Zemi a tvoří třetinu celkového objemu pevninské vody. Je významnou částí koloběhu vody v přírodě, která probíhá pod zemským povrchem. Uváděné množství podzemních vod je 10^{16} m³, což je stokrát více než v jezerech a řekách. Bez tohoto stálého, i když pro nás neviditelného, toku by nebyly žádné prameny řek, ani samotné řeky (Roux 1995).

Podzemní voda je v některých případech důležitým zdrojem surové vody, která se dále upravuje na vodu pitnou. Tento zdroj je však ohrožen z důvodu zvyšujícího se znečištění (Farhadian et al. 2008). Zhoršování kvality podzemní vody je třeba zamezit, aby mohla být i nadále takto využívána. Půda částečně chrání podzemní vodu od povrchové kontaminace, ale při velkém rozvoji průmyslu tato ochrana zdaleka nestačí a polutanty se k podzemní vodě dostanou (Kalff 2002).

1.1.1. Ropa a ropné frakce jako zdroj znečištění podzemních vod

Ropné uhlovodíky patří mezi čtyři nejčastější kontaminanty podzemních vod, společně s chlorovanými sloučeninami, dusičnany a těžkými kovy (EPA 2002). Z důvodu velké spotřeby ropy po celém světě je výskyt ropných uhlovodíků v podzemních vodách bohužel na vzestupu. Ropa je důležitým zdrojem energie a surovinou pro chemický průmysl a nadále jimi zůstane (NRC 2002). Proto můžeme předpokládat, že s ropnými uhlovodíky jako zdrojem znečištění se budeme potýkat stále. Podzemní vody a též půdy jsou často kontaminovány ropnými uhlovodíky, které i přes technologické pokroky a technické opatření unikají z ložisek ropy v podzemí, továren, ropovodů nebo při transportu ropy (Kermanshahi et al. 2005).

Přítomnost ropných uhlovodíků má vliv na organoleptické vlastnosti vody (Pelikán 1983). Některé sloučeniny mají navíc negativní vlivy na organismy (karcinogenní vlastnosti polycyklických aromatických uhlovodíků). Při tak rychlém růstu výskytu ropného znečištění v podzemních vodách, jaké je v poslední době pozorováno, je potřeba možnosti jeho odstraňování dále zkoumat a zdokonalovat.

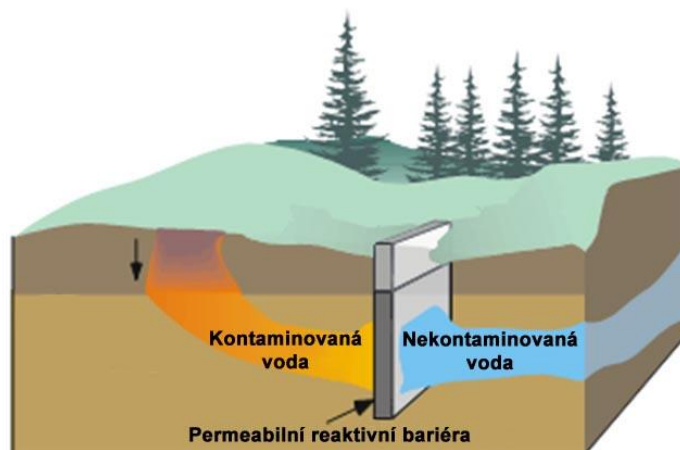
Metodický pokyn odboru pro ekologické škody MŽP Kritéria znečištění ze-
min a podzemní vody z roku 1996 udává tři limitní koncentrace pro jednotlivé zne-
čišťující látky v podzemních vodách odpovídající mírným znečištěním (kritéria A),
znečištěním s možným negativním vlivem (kritéria B) a znečištěním s možným vý-
znamným negativním vlivem (kritéria C) (Metodický pokyn odboru pro ekologické
škody MŽP č. 3). Limitní koncentrace pro uhlovodíky, které se mohou vyskytovat
v ropě a ropných frakcích, jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1: Limitní koncentrace pro uhlovodíky vyskytující se v ropě a ropných frakcích
v podzemních vodách (Metodický pokyn odboru pro ekologické škody MŽP č. 3).

	Kritéria A [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	Kritéria B [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	Kritéria C [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]
Alifatické uhlovodíky (nehalogenované)	50	500	1 000
BTEX- benzen	0,2	15	30
- ethylbenzen	0,2	150	300
- toluen	0,2	350	700
- xyleny	0,2	250	500
PAH celkem	0,15	60	120

1.2. Permeabilní reaktivní bariéry

Permeabilní reaktivní bariéra (PRB – z anglického spojení permeable reactive barrier) je nová technologie pro odstraňování nečistot z podzemních vod, která je situována přímo do místa znečištění, neboli *in-situ*. PRB tvoří stěna s reaktivním materiálem, která je v podzemí vertikálně umístěna do toku znečištěné podzemní vody (Obr. 1). Jak voda protéká bariérou, procesy probíhající na stěně bariéry vedou k odstranění kontaminace. Procesy mohou být podle typu znečištění založeny na fyzikálním principu (např. sorpce), chemickém principu (např. oxidace) nebo biologickém principu (např. biodegradace) (McGovern et al. 2002). Právě biologická degradace, kdy kontaminanty jsou rozkládány mikroorganismy, je perspektivní variantou. Většina ropných uhlovodíků podléhá biodegradaci dobře, proto je to nejlepší způsob jejich odstranění (Melenová & Demnerová 2004). Praktické využití mají PRB především v místech lokálních ekologických zátěží, které byly způsobeny provozem továrny, závodu apod. (McGovern et al. 2002). Velikost bariéry se odvíjí od velikosti znečištěného území, délka se řádově pohybuje v desítkách metrů (Day et al. 1999, Guerin et al. 2002, McGovern et al. 2002). Odhadovaná životnost PRB na lokalitě je 10 až 15 let (Boshoff 2007).



Obr. 1: Odstranění znečištění z podzemních vod pomocí permeabilní reaktivní bariéry (EPA 1998a).

1.2.1. Srovnání technologií PRB a „pump and treat“

Technologie PRB je mnohem výhodnější v porovnání s *ex-situ* metodou zvanou „pump and treat“ (v překladu „odčerpat a upravit“), kdy je kontaminovaná podzemní voda odčerpána, půda vytěžena a za účelem provedení dekontaminace převezena na jiné, určené místo (Day et al. 1999, Permeable Reactive Barriers 2002). Díky tomu, že k odstranění kontaminantů v PRB dochází přímo na lokalitě (*in-situ*), se technologie zlevní až o 75 %. Nejvyšší náklady jsou vynaloženy na výstavbu PRB (Day et al. 1999). Výhody i nevýhody PRB, oproti „pump and treat“, jsou uvedeny v tabulce 2.

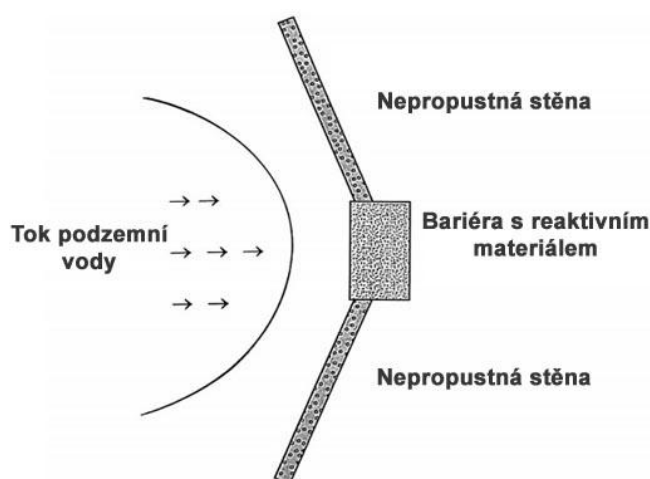
Tab. 2: Srovnání výhod a nevýhod technologií PRB a „pump and treat“.

	<i>In-situ</i> PRB	<i>Ex-situ</i> „pump and treat“
Energetická náročnost	+	—
Finanční náročnost	+	—
Poškození lokality	+	—
Vliv na celkový tok podzemní vody	+	—
Narušení okolních provozů	+	—
Kontrolovatelnost průběhu procesu	—	+
Doba potřebná pro odstranění polutantů	—	+

1.2.2. Využívané typy PRB

PRB může tvořit pouze kontinuální stěna s reaktivním materiálem, která je umístěna přes celou šířku toku podzemní vody na znečištěné lokalitě, jak je zřejmé z obrázku 1. Druhým typem je takzvaná „nálevka a brána“ („funnel and gate“), kdy je tok vody usměrňován nepropustnými stěnami (např. z nepropustné folie) do brány obsahující reaktivní materiál (Obr. 2). Výhodou tohoto typu bariéry je, že se v případě nutnosti obměny reaktivního materiálu, či v případě potřeby jiných dodatečných úprav, na lokalitě zasahuje pouze do samotné brány (Permeable Reactive Barriers 2002). Množství potřebného reaktivního materiálu je u kontinuální stěny i u „nálevky a brány“ podobné. Záleží především na objemu procházející vody a ne na délce reaktivní bariéry (Day et al. 1999). S tloušťkou bariéry se mění doba zdržení protékající vody, která je důležitá právě u biodegradace ropných uhlovodíků. Proto je varianta kratší a silnější bariéry u „nálevky a brány“ výhodnější než varianta delší a užší kontinuální stěny.

PRB typu „nálevka a brána“ využívající biodegradaci ropných uhlovodíků byla úspěšně aplikována například v německém Offenbachu k odstranění ropných uhlovodíků z okolí bývalé továrny na asfalt (Shad et al. 2007). Druhým příkladem je bariéra v kanadské Albertě v blízkosti plynárny (EPA 1999, EPA 2002).



Obr. 2: Schéma PRB typu „nálevka a brána“ („funnel and gate“) (Day et al. 1999).

1.3. Faktory ovlivňující biodegradaci ropných uhlovodíků

Pro účinnou biodegradaci je důležité, aby byly splněny tyto podmínky: dostatek živin, dostatek akceptoru elektronů (většinou kyslík), dostatečně dlouhá doba zdržení vody v bariéře, vhodná teplota a pH a v neposlední řadě dostatečné množství degradujících mikroorganismů, které jsou v PRB přichyceny na nosném materiálu (Vieira et al. 2009a, Höhener et al. 1998, Scow & Hicks 2005). Pokud některý z faktorů není ideální, může se přistoupit k několika uvedeným opatřením, díky kterým bude biodegradace účinnější. O aktuálních podmínkách informuje monitorovací zařízení, které je součástí bariéry. Po dobu fungování PRB monitoruje některé vybrané faktory, většinou obsah živin, obsah kyslíku, teplotu a někdy pH (Permeable Reactive Barriers 2002).

Živiny

Zdrojem uhlíku jsou ropné uhlovodíky, které chceme odstranit. Kromě uhlíku musí být přítomny i další prvky jako dusík a fosfor. Optimální poměr C:N:P závisí na koncentraci uhlovodíků, podmínkách prostředí a na schopnosti mikroorganismů degradovat polutanty. Proto se optimální poměr u každého systému mírně liší (Venosa & Zhu 2003). Udávané poměry C:N:P se pohybují kolem hodnot 120:10:1 (Atlas 1981, Nikolopoulou et al. 2007, Vieira et al. 2009a). Při nedostatečně rychlém průběhu biodegradace se účinnost zvýší biostimulací, neboli přidáním sloučenin, které následně budou využity jako zdroj živin (Höhener et al. 1998, Venosa & Zhu 2003). Zdrojem dusíku jsou nejčastěji dusičnany a zdrojem fosforu nejčastěji fosforečnany. Často jsou tyto dva prvky dodávány společně v podobě komerčně vyráběných živin (Nikolopoulou & Kalogerakis 2009). Možným příkladem je roztok zvaný N,P-sol využívaný firmou MikroChem LKT s.r.o. (MikroChem LKT s.r.o. 2009).

Akceptory elektronů

Akceptory elektronů, potřebné pro degradaci uhlovodíků, jsou odlišné pro aerobní a anaerobní biodegradaci. Při aerobní se akceptorem elektronů stává rozpuštěný kyslík (Ulrich et al. 2009). V případě anaerobní jsou jimi dusičnany, sírany nebo železitý kationt (Krumbholz et al. 1996). Většina mikroorganismů k metabolismu uhlovodíků kyslík potřebuje, a tak je rychlost biodegradace za anaerobních podmínek nižší (Atlas 1995). Kyslík ale bývá v podzemních vodách limitujícím faktorem. Aerobní podmínky se mohou vytvořit aerací, neboli provzdušňováním (Farhadian et al.

2008), což však zdraží cenu provozu. Přijatelnější, ale dosud méně ověřená, je přerušovaná aerace, která probíhá jen v určitých časových intervalech (Vieira et al. 2009b). Další metodou je dodávání sloučenin, ze kterých se kyslík uvolní. Úspěšně byl využit peroxid vodíku (H_2O_2) (Menendez-Vega et al. 2007, Shad et al. 2007) a také směs peroxidu vápenatého a hořečnatého (CaO_2 , MgO_2) (Lin et al. 2010).

Degradující mikroorganismy

Ideální je využít původní mikroorganismy z vybrané lokality (Höhener et al. 1998, Dann et al. 2009, Vieira et al. 2007). V místech znečištěných ropnými uhlovodíky se již degradující mikroorganismy nacházejí, jejich množství rychle narůstá a někdy mohou tvořit až 100 % všech přítomných mikroorganismů (Atlas 1981). Pokud nejsou přítomny v dostatečném množství, může se společenstvo rozšířit o nepůvodní degradující mikroorganismy takzvanou bioaugmentací (Leahy & Colwell 1990, Scow & Hicks 2005). Bioaugmentace je založena na znalostech o metabolismu přítomných i přidávaných mikroorganismů (Venosa & Zhu 2003). Více studií porovnávající efektivnost bioaugmentace a biostimulace (dodávání živin) se shoduje, že bioaugmentace není tolik výhodná, protože společenstvo mikroorganismů nebývá limitujícím faktorem, na rozdíl od živin (Venosa et al 1996, Rosenberg & Ron 1996, Menendez-Vega et al. 2007).

Do biodegradace je zapojeno více druhů mikroorganismů, které jsou na sobě nejspíše závislé (Ghazali et al. 2004). Je možné, že jeden druh odstraní metabolit jiného druhu, který dokáže některou ze sloučenin degradovat pouze částečně, a degradace je tím pádem efektivnější (Richard & Vogel 1999). V laboratorních podmínkách byla biodegradace ropných uhlovodíků prokázána převážně u rodu *Pseudomonas* sp. (Hong et al. 2005, Richard & Vogel 1999, Vieira et al. 2007), dále *Achromobacter* sp. (Richard & Vogel 1999), *Bacillus* sp. (Ghazali et al. 2004, Vieira et al. 2007) a *Micrococcus* sp. (Ghazali et al. 2004). Degradujícími mikroorganismy jsou i kvasinky jako *Candida tropicalis* a *Candida rugosa* (Ijah 1998, Rocha et al. 2007), ale nejsou tak významné, zvláště ne ve středoevropských podmínkách. Zjišťování přesného složení společenstva mikroorganismů na lokalitě je složité a v podstatě nepotřebné. V praxi se biodegradace lépe kontroluje mírou odbourání a ne přesným určením přítomných druhů (Shad et al. 2007, EPA 1999, MikroChem LKT s.r.o. 2009).

Nosný materiál pro mikroorganismy

Při využití biologických procesů v PRB musí být stěna tvořena vhodným nosným materiálem, na který se přichytí mikroorganismy a vytvoří biofilm. Dobré vlastnosti pro plnění funkce nosného materiálu má například porézní keramzit. Tento materiál je používán firmou MikroChem LKT s.r.o. Dalšími navrhovanými materiály touto firmou jsou porézní zeolit a substráty EHF1 a Siporax, což jsou keramické filtrační materiály využívané v akvaristice (MikroChem LKT s r.o. 2009).

Doba zdržení

Při degradaci ropných uhlovodíků v PRB je důležité, aby kontaminovaná voda byla dostatečně dlouho v kontaktu s bariérou. V opačném případě dojde k biodegradaci jen nevyhovujícího množství kontaminantů. Doba zdržení je závislá na délce bariéry a rychlosti toku podzemní vody. Uváděné hodnoty se pohybují v rozmezí 24-72 hodin (EPA 1999, Shad et al. 2007). Pokud je jednou bariéra vybudována, doba zdržení je tím určena a kromě menších rozdílů, způsobených změnami počasí, je neměnná. Proto je důležité tloušťku bariéry odvodit od potřebné doby zdržení. Požadované informace můžeme získat vytvořením 3D modelu PRB zahrnujícího parametry lokality (Lee et al. 2009), popřípadě provedením laboratorních pokusů (Shad et al. 2007). V návrhu experimentu je popsáno zjištění požadované doby zdržení na polo-provozní PRB, kde se doba zdržení díky čerpání podzemní vody může měnit.

Teplota a pH

Teplota a pH jsou důležitými faktory biodegradace, ale v podzemní vodě nedochází ani v jednom případě k velkým výkyvům. Teplota obvykle klesá s hloubkou a v hloubce kolem 20 m je již poměrně stálá s hodnotami kolem 8-12 °C. Ideální teplota pro biodegradaci se pohybuje až kolem 25-30 °C, ale při nižších teplotách podzemních vod též probíhá (Rahman et al. 2002).

Rozmezí pH podzemních vod je 5-7,5 v závislosti na chemickém složení hornin (Pitter 1999). Neutrální pH je pro průběh biodegradace nejlepší (Venosa & Zhu 2003).

1.4. Sledované lokality a přítomné skupiny ropných uhlovodíků

Před realizací plně provozní PRB v České republice se firma MikroChem LKT s.r.o., zabývající se touto technologií, rozhodla vybudovat dvě poloprovozní PRB na dvou vybraných lokalitách. Jejich zkušební provoz by měl vést k výsledkům využitelným právě při výstavbě PRB s větší kapacitou. První lokalita se nachází na Slovensku blízko obce Horný Hričov a je kontaminovaná motorovou naftou obsahující uhlovodíky v rozmezí od C_{10} do C_{20} , převážně alifatické a minoritně uhlovodíky skupiny BTEX. Na druhé lokalitě v Soběslavi docházelo ke kontaminaci kreosotovými oleji, které obsahují složité polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH). Na lokalitě v Horném Hričově je naplánována výstavba poloprovozní PRB a předpokládá se, že tak budou kontaminanty z lokality odstraněny. Na lokalitě v Soběslavi poloprovozní PRB již v provozu je, avšak dosavadní výsledky biodegradace nebyly vyhovující. Poloprovozní PRB je v tomto případě ve tvaru válce o objemu cca 600 l, nachází se nad zemí a kontaminovaná podzemní voda je do ní čerpadlem čerpána. Nosným materiálem pro mikroorganismy je keramzit. Do reaktivní zóny poloprovozní PRB je kvůli zajištění aerobních podmínek přiváděn vzduch a peristaltickým čerpadlem živiny (fosfor a dusík ve formě komerčně vyráběného roztoku N,P-solu). Stejným způsobem bude vybudována i poloprovozní PRB na lokalitě v Horném Hričově (MikroChem LKT s.r.o. 2007, MikroChem LKT s.r.o. 2008).

1.4.1. Lokalita v Horném Hričově kontaminovaná motorovou naftou

První lokalita se nachází v areálu terminálu Slovnaftu, a.s., který se rozkládá nedaleko obce Horný Hričov, okres Žilina, Slovensko. Terminál byl uveden do provozu v letech 1984 až 1989 a v současné době se zde motorová paliva skladují a distribuují čerpacím stanicím. Již při výstavbě byly zjištěny úniky ropných uhlovodíků. V současnosti je odhadováno, že se v areálu nachází cca 3400 m³ kontaminovaných zemin a 225 m³ kontaminované podzemní vody. Naměřené koncentrace nafty ve vodě se pohybovaly v rozmezí 1,9-6 mg·l⁻¹. Ve vzorcích motorové nafty kontaminující lokalitu byly nalezeny uhlovodíky v rozmezí od C_{10} do C_{20} , převážně alifatické a minoritně uhlovodíky skupiny BTEX (MikroChem LKT s.r.o. 2007). Směs těchto uhlovodíků odpovídá obvyklému složení motorové nafty (Wang & Brown 2008). Motorová nafta obsahuje menší množství polycyklických aromatických uhlovodíků a zde jejich výskyt nebyl potvrzen (MikroChem LKT s.r.o. 2007).

Přítomné jednoduché *n*-alkany jsou nejlépe degradovatelné uhlovodíky. Větvené alkany se degradují kvůli přítomným methylovým substituentům o něco hůře (Wang et al. 1998). Alkany jsou oxidovány na příslušný alkohol, aldehyd a posléze na odpovídající mastnou kyselinu, jak je znázorněno na obrázku 3 (Venosa & Zhu 2003). Mastné kyseliny jsou dále odbourávány systémem β -oxidace (Rosenberg & Ron 1996).



Obr. 3: Schéma aerobní biodegradace alkanů

Z přítomné skupiny sloučenin BTEX se největší pozornost věnuje benzenu, protože je karcinogenní a navíc ve vodě nejlépe rozpustný (EPA 1998b). V České republice je limit v pitných vodách pro benzen $0,001 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Příloha č. 1 k vyhlášce č. 252/2004 Sb.). Pro srovnání ve Spojených státech amerických je limit podle EPA $0,005 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (EPA 2006).

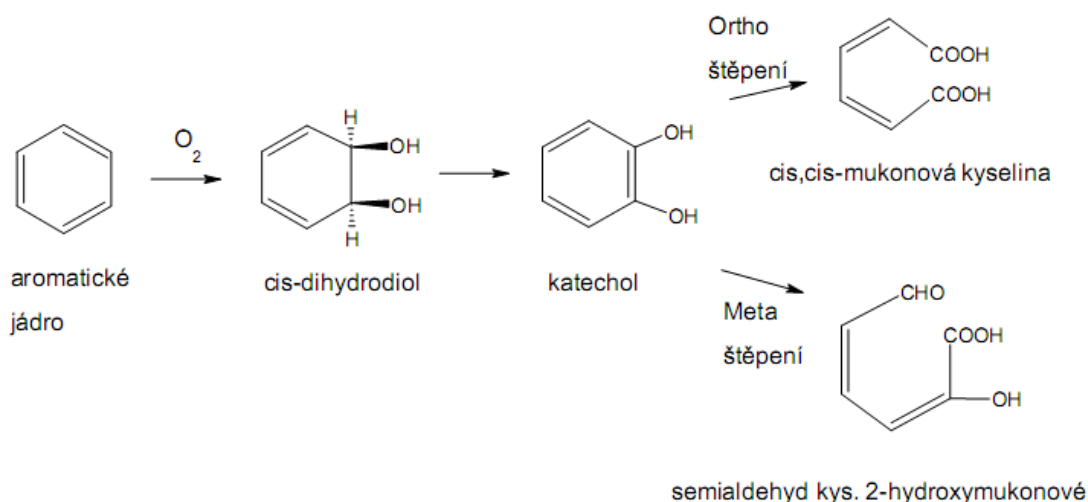
1.4.2. Lokalita v Soběslavi kontaminovaná kreosotovými oleji

Druhá lokalita se nachází v Soběslavi v areálu Jihočeských dřevařských závodů, a.s. Více než sto let zde probíhala výroba především dřevěných železničních pražců (MikroChem LKT s.r.o. 2008). Docházelo zde k únikům kreosotových impregnačních olejů, ve kterých se vyskytují převážně polycyklické aromatické uhlovodíky (Sved et al. 1997). Analýza procentuálního zastoupení jednotlivých PAH ve vzorcích prokázala vždy vysoce dominantní podíl (90-98 %) PAH se dvěma, třemi, případně čtyřmi aromatickými jádry v molekule (např. acenaften, fluoren, fenanthren, anthracen, fluoranthen a pyren) (MikroChem LKT s.r.o. 2009).

PAH jsou v životním prostředí velice odolné. Jejich odolnost je tím větší, čím je molekulová hmotnost PAH vyšší, tzn. čím je více aromatických jader v molekule PAH. Jejich přítomnost je ve vodě nežádoucí především z důvodu kumulace v lipofilních tkáních a karcinogenních vlastností některých z nich (Bojes & Pope 2007, Chauhan et al. 2008). V České republice je proto limit pro skupinu PAH v pitných vodách $0,1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (hodnota se vztahuje na součet kvantitativně stanovených

specifických látek: benzo[*b*]fluoranthen, benzo[*k*]fluoranthen, benzo[*ghi*]perylene, indeno[1,2,3-*cd*]pyren). Nejnebezpečnějším PAH je benzo[*a*]pyren, jehož limitní koncentrace je udávána zvlášť a činí $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Příloha č. 1 k vyhlášce 252/2004 Sb.). Pro srovnání limit benzo[*a*]pyrenu udávaný agenturou U.S. EPA je $0,002 \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (EPA 2006).

Některé mikroorganismy jsou schopny PAH i přes jejich vlastnosti využít. Biodegradace PAH s třemi i čtyřmi aromatickými jádry jsou náležitě prostudované (Juhász 2000, Kanaly & Harayma 2000, Watanabe 2001). Nejčastěji pozorovaná degradace aromatického jádra začíná oxidací jádra začleněním obou atomů molekulárního kyslíku za vzniku *cis*-dihydrodiolu, který je rearomatizován na katechol. Pokračuje rozštěpením kruhu katecholu na dikarboxylovou kyselinu: *cis*, *cis*-mukonovou (*ortho* štěpení), nebo rozštěpením na semialdehyd karboxylové kyseliny: semialdehyd kyseliny 2-hydroxymukonové (*meta* štěpení). Štěpení aromatického jádra je schematicky znázorněno na obr. 4. Degradace proběhne postupně na všech aromatických jádrech sloučeniny (Atlas 1981, Mueller et al. 1996).



Obr. 4: Schéma aerobní biodegradace aromatického jádra.

PAH s pěti a více aromatickými jádry mikroorganismy degradují spíše jako vedlejší produkt a pro růst využívají jednodušší uhlovodíky (kometabolismus) (Venosa & Zhu 2003). Metabolické dráhy ale nejsou přesně známy (Rosenberg & Ron 1996).

1.5. Shrnutí informací v kontextu s plánovaným projektem

Teoretická část práce, věnovaná současnému stavu poznání, ukázala nutnost řešení problému znečištění podzemních vod. Pro lokální znečištění je ideální využít technologii PRB aplikovanou přímo v místě znečištění. Tato technologie je mnohem ekonomičtější a zároveň šetrnější k životnímu prostředí než složité převážení vody a půdy za účelem dekontaminace. V textu byly uvedeny dva typy bariér, ze kterých je pro odstranění ropných uhlovodíků výhodnější typ „nálevka a brána“ („funnel and gate“).

Při odstraňování ropných uhlovodíků probíhá v PRB biodegradace díky přítomným mikroorganismům, které jsou přichyceny na nosném materiálu, jako např. keramzit. Nejlepší je pro bariéru využít mikroorganismy přímo z vybrané kontaminované lokality. Biodegradace je ovlivněna přítomností živin, přítomností akceptoru elektronů, dobou zdržení vody, teplotou a pH. Živiny se dodávají většinou v podobě komerčně vyráběných směsí dusičnanů a fosforečnanů. Akceptorem elektronů je při aerobní degradaci kyslík. Aerobní biodegradace je rychlejší než anaerobní, ale protože kyslík bývá v podzemních vodách limitující, bariéra se většinou provzdušňuje uměle a kyslík se udržuje na stálých hodnotách. Doba zdržení vody na bariéře je velice důležitá, ale zároveň ve vybudované PRB již neovlivnitelná. Proto je důležité předem vědět, jak dlouhá doba je pro účinnou biodegradaci třeba. Teplota a pH jsou v podzemní vodě poměrně stálé.

Navrhovaný projekt se bude zabývat optimalizací potřebného množství živin s ohledem na ideální poměr C:N:P a optimalizací potřebné doby zdržení pro účinnou biodegradaci dvou znečištění způsobených odlišnými ropnými uhlovodíky (ropné uhlovodíky v rozmezí od C_{10} do C_{20} vs. složité PAH). V poloprovozních PRB je možné dobu zdržení jednoduše měnit, protože voda je do bariéry čerpána. Teplota a pH budou konstantní a dodávaný kyslík bude na konstantních hodnotách udržován aerací. Na lokalitě v Horném Hričově je výstavba poloprovozní PRB firmou Mikro-Chem LKT. s.r.o. naplánována. Na lokalitě v Soběslavi poloprovozní PRB byla již jeden rok v provozu, ale dosavadní výsledky nebyly vyhovující. Proto optimalizace uvedených faktorů povede k účinnější biodegradaci na těchto dvou lokalitách a zároveň se výsledné hodnoty stanou podkladem pro další projekty zabývající se aplikací PRB na lokality kontaminované ropnými uhlovodíky.

2. Cíle projektu

1. Stanovit optimální množství dodávaných živin na lokalitě v Horném Hričově a na lokalitě v Soběslavi s ohledem na ideální poměr C:N:P pro biodegradaci.
2. Stanovit optimální dobu zdržení pro účinnou biodegradaci v poloprovozní PRB na lokalitě v Horném Hričově a na lokalitě v Soběslavi.

3. Hypotézy

1. Biodegradace ropných uhlovodíků probíhá účinně, pokud je dodáním živin splněn ideální poměr C:N:P.
2. Biodegradace ropných uhlovodíků probíhá účinně při zajištění optimální doby zdržení vody.

4. Návrh experimentu

4.1. Vstupní podmínky

Po dokončení výstavby poloprovozní PRB na lokalitě v Horném Hričově budou mít obě sledované poloprovozní PRB stejné technické parametry a budou provozovány stejným způsobem. Poloprovozní PRB je ve tvaru válce (objem cca 600 l) a čerpadlem je do ní kontaminovaná podzemní voda čerpána. Jako nosný materiál pro degradující mikroorganismy je zvolen keramzit. Do reaktivní zóny poloprovozní PRB je přiváděn vzduch a peristaltickým čerpadlem živiny (dosud byl využíván pouze roztok N,P-sol).

Navrhované experimenty budou probíhat při konstantní teplotě 10 °C, která bude v teplých měsících zajištěna chladicím zařízením, a při konstantním pH 7. Dále bude aeraci zajištěna konstantní koncentrace kyslíku ve vodě, přičemž rozpustnost kyslíku ve vodě o teplotě 10 °C je 11,29 mg·l⁻¹ (Kalff 2002). Tyto tři faktory (teplota, pH, množství rozpuštěného kyslíku) budou měřené monitorovacím zařízením, které je součástí poloprovozní bariéry. V období listopad až březen se předpokládá pozastavení provozu z důvodu nízkých teplot.

4.2. Dosavadní výsledky biodegradace na lokalitě v Soběslavi

Poloprovozní PRB na lokalitě v Soběslavi byla spuštěna na jaře roku 2009 (MikroChem LKT s.r.o. 2009). Výsledky analýz při vstupu a po výstupu z poloprovozní PRB jsou shrnuty v následující tabulce 3.

Tab. 3: Koncentrace PAH ve vzorcích vody na vstupu a na výstupu z poloprovozní PRB na lokalitě v Soběslavi. (MikroChem LKT s.r.o. 2009).

Datum vzorkování	Koncentrace PAH [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]		Úspěšnost odstranění PAH [%]
	Vstup	Výstup	
22. 4. 2009	38,4	12,4	68
11. 5. 2009	31,5	6,7	79
29. 5. 2009	10,2	5,2	49
15. 6. 2009	210,1	45,4	78
23. 6. 2009	140,3	152,9	-9
2. 7. 2009	394,6	202,8	49
10. 7. 2009	85,4	64,2	25
5. 8. 2009	59	33,2	44
13. 8. 2009	26,4	18,1	31
3. 9. 2009	17,1	14,7	14
12. 10. 2009	406,8	283,3	30
3. 11. 2009	93,01	74,1	20
13. 11. 2009	185,44	210,35	-13

Výsledky biodegradace probíhající na poloprovozní PRB byly očekávány lepší. K porovnávání výsledků je třeba použít procentuální úspěšnost odstranění PAH, protože koncentrace na vstupu kolísají. Firma MikroChem LKT s.r.o. kvůli snižující se účinnosti v červenci 2009 přistoupila ke změně podmínek: prodloužení doby zdržení kontaminované vody v aparatuře z 6 na 12 hodin, zvýšení aerace o třetinu a zdvojnásobení dávek živin v podobě N,P-solu. Došlo však jen ke krátkodobému zlepšení (MikroChem LKT s.r.o. 2009). Pro další provoz PRB je nutné provést změny vedoucí k vylepšení účinnosti.

4.3. Provedení experimentů

4.3.1. Stanovení optimálního množství dodávaných živin

Jak již bylo diskutováno v teoretické části práce, udávané ideální poměry C:N:P se pohybují kolem hodnot 120:10:1 (Atlas 1981, Nikolopoulou et al. 2007, Vieira et al. 2009a). Složení roztoku N,P-sol, dosud využívaného firmou MikroChem LKT s.r.o., je hydrogenfosforečnan amonný ((NH₄)₂HPO₄), dihydrogenfosforečnan amonný (NH₄H₂PO₄) a voda (Lovochemie, a.s. 2003). Tento původní koncentrát je ředěn tak, aby výsledná koncentrace roztoku byla cca 150 mg·l⁻¹ dusíku a 198 mg·l⁻¹ fosforu (MikroChem LKT s.r.o. 2009). Již z těchto hodnot, kdy množství fosforu je větší než množství dusíku, vyplývá, že při využití pouze tohoto roztoku nemůže být ideálního poměru C:N:P dosaženo. Možné řešení, které bude firmě MikroChem LKT s.r.o. navrženo, je vybrat kromě roztoku N,P-sol ještě jiný zdroj dusíku, pravděpodobně dusičnan.

Při stanovení optimálního množství dodávaných živin je třeba zohlednit přibližné koncentrace ropných uhlovodíků v podzemní vodě. Proto pro obě lokality bude provedena analýza deseti vzorků v průběhu jednoho měsíce pro zjištění této koncentrace. Odběr vzorků se řídí převážně českou technickou normou Jakost vod - Odběr vzorků - Část 3 (ČSN EN ISO 5667-3) a samotná analýza vzorků bude provedena podle české technické normy pro stanovení nepolárních extrahovatelných látek (ČSN EN ISO 9377-2). Pro lokalitu v Soběslavi budou analýzy provedeny v analytické laboratoři Akademie věd ČR v Českých Budějovicích, v případě slovenské lokality v Horném Hričově budou analýzy zajištěny externím pracovníkem firmy MikroChem LKT s.r.o. Ze získaných výsledků odvozené optimální množství živin (N,P-sol, další vybraný zdroj dusíku) pro danou lokalitu bude využito v druhé části experimentu.

Protože firma MikroChem LKT s.r.o. dosud dávkovala živiny pouze v určitých intervalech (MikroChem LKT s.r.o. 2009), bude firmě navrženo, aby byl zajištěn kontinuální přísun. Tím pádem by živiny byly stále v dostatečném množství a předešlo by se tak k jejich kolísání.

4.3.2. Stanovení optimální doby zdržení

Tato část experimentu částečně vychází z úspěšně aplikovaných PRB v zahraničí, kde referenčními analyty byly relativně podobné skupiny sloučenin jako na řešených lokalitách.

PRB v kanadské Albertě v blízkosti plynárny (EPA 1999, EPA 2002)

- referenční analyty: jednoduché aromatické uhlovodíky skupiny BTEX,
- průměrná doba zdržení: **24 hodin** (snížení koncentrací cca z $12 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ na $10 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$).

PRB v německém Offenbachu v okolí továrny na asfalt (Shad et al. 2007)

- referenční analyty: skupina BTEX, skupina PAH (především naftalen),
- průměrná doba zdržení: **36-72 hodin**, při době zdržení 72 hodin odstraněno 99 % sledovaných sloučenin, včetně PAH.

Z výše uvedených informací předpokládáme, že potřebná doba zdržení vody ani na jedné z lokalit nebude kratší než 24 hodin a naopak nebude delší než 72 hodin. Pro zjištění optimální doby zdržení bude na lokalitách po určitých intervalech provedena změna v čerpání podzemní vody, kterou se aktuální doba zdržení změní (s ohledem na omezení provozu v zimních měsících). V průběhu experimentu bude čerpadlem zajištěn kontinuální přísun optimálního množství živin (viz kapitola 4.3.1.). Přehledný návrh je uveden v tabulce 4.

Tab. 4: Návrh délky časových intervalů pro aktuální doby zdržení vody.

	1.	2.	3.	4.	5.
Aktuální doba zdržení [h]	24	36	48	60	72
Časový interval s aktuální dobou zdržení (měsíce)	Duben	Květen	Červen	Červenec, Srpen	Září, Říjen

V intervalech stejně dlouhých jako aktuální doba zdržení bude odebrán kontrolní vzorek vody před vstupem do poloprovozní PRB a kontrolní vzorek vody při výstupu z PRB. Tyto vzorky podají informaci o účinnosti biodegradace při aktuální době zdržení vody. Jako slepé stanovení bude využit vzorek vody, která na stejně dlouhou dobu, jako aktuální doba zdržení, bude načerpána do nádoby pouze s keramzitem (tzn., nedochází zde k biodegradaci).

Vzorky budou odebírány do tmavých skleněných vzorkovnic se zamezením přístupu vzduchu a před transportem do laboratoře budou uchovávány v lednici. Odebírání vzorků bude provedeno vždy stejným postupem, aby bylo dosaženo standardizace podmínek. Pokyny pro manipulaci se vzorky a konzervaci vzorků jsou uvedeny v české technické normě Jakost vod - Odběr vzorků - Část 3 (ČSN EN ISO 5667-3). Analýza vzorků v laboratoři bude provedena co možná nejdříve standardním způsobem podle české normy pro stanovení nepolárních extrahovatelných látek (ČSN EN ISO 9377-2). Pro lokalitu v Soběslavi budou analýzy provedeny v analytické laboratoři Akademie věd ČR v Českých Budějovicích. V případě slovenské lokality v Horném Hričově budou analýzy většinou zajištěny externím pracovníkem firmy MikroChem LKT s.r.o. Celkový počet odebraných vzorků pro určitou dobu zdržení vody na každé lokalitě bude konzultován s firmou MikroChem LKT s.r.o. Předpokládáme, že provedeme přibližně deset popsanych odběrů a analýz pro každou dobu zdržení vody pro získání dostatečného množství dat, aby statistické vyhodnocení výsledků bylo průkazné.

4.4. Časový harmonogram projektu

Navrhované experimenty budou na obou lokalitách provedeny stejným způsobem ve dvou letech (dvou sezónách).

Tab. 5: Časový plán pro navrhované experimenty.

Časový plán pro roky 2011, 2012			
Úloha a časový interval provedení	Březen	Duben-říjen	Listopad-prosinec
Stanovení optimálního množství živin			
Stanovení optimální doby zdržení			
Statistické zpracování získaných dat			

4.5. Finanční náročnost projektu

Tab. 6: Finanční náročnost projektu navrženého na dobu dvou let.

	1. rok řešení	2. rok řešení	Projekt
Osobní náklady (2 pracovníci)	160 000	160 000	320 000
Náklady na materiál, provoz a údržbu	150 000	150 000	300 000
Další provozní náklady (chemikálie apod.)	20 000	20 000	40 000
Náklady na služby (externí analýzy apod.)	30 000	30 000	60 000
Cestovní náklady	50 000	50 000	100 000
Doplňkové (režijní) náklady	50 000	50 000	100 000
CELKEM	460 000	460 000	920 000

5. Závěr

Permeabilní reaktivní bariéry jsou novou, perspektivní technologií pro odstraňování polutantů z podzemních vod na místech lokálního znečištění. V České republice je mnoho takovýchto míst lokálního znečištění, které bylo způsobeno unikajícími ropnými uhlovodíky především z továren, závodů apod. Proto se v budoucích letech předpokládá výstavba několika PRB pro odstranění kontaminace na některých problematických lokalitách.

Aplikací PRB v České republice se zabývá firma MikroChem LKT s.r.o., která vybudovala poloprovozní PRB na lokalitě v Soběslavi a v současné době je realizována výstavba poloprovozní PRB na slovenské lokalitě v Horném Hričově. Hlavním důvodem provozu dvou poloprovozních PRB je získání informací užitečných pro výstavbu PRB s větší kapacitou. Lokalita v Horném Hričově je kontaminovaná uhlovodíky v rozmezí od C_{10} do C_{20} , převážně alifatickými a minoritně uhlovodíky skupiny BTEX. Lokalita v Soběslavi je kontaminovaná složitými polycyklickými aromatickými uhlovodíky. Realizací navrhovaných experimentů, zabývajících se stanovením optimálního množství dodávaných živin a stanovením optimální doby zdržení, budou optimalizovány podmínky pro biodegradaci. Tyto optimalizace povedou k lepší účinnosti probíhající biodegradace. Předpokládá se, že nalezené optimální podmínky pro vybrané lokality budou odlišné z důvodu kontaminace rozdílnými ropnými uhlovodíky.

Realizací navrhovaného projektu dojde k efektivnějšímu odstranění kontaminantů na těchto dvou vybraných lokalitách a zároveň získaná data budou potřebnou informací pro další PRB, které mohou být vybudovány v nadcházejících letech na dalších problematických lokalitách České republiky, popřípadě Slovenské republiky.

6. Literatura

Atlas, R. M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiological Reviews* 45: 180-209.

Atlas, R. M. 1995. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. *Marine Pollution Bulletin* 31: 178-182.

Bojes, H. K., Pope, P. G. 2007. Characterization of EPA's 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tank bottom solids and associated contaminated soils at oil exploration and production sites in Texas. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 47: 288-295.

Boshoff, G. 2007. PRBs: What can go wrong? *Proceedings of the 3rd International Symposium on PRB and Reactive Zones*, 23-25.

Chauhan, A., Fazlurrahman, Oakeshott, J. G., Jain, R. K. 2008. Bacterial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Strategies for bioremediation. *Indian Journal of Microbiology* 48: 95-113.

Dann, A. L., Cooper, R. S., Bowman, J. P. 2009. Investigation and optimization of a passively operated compost-based system for remediation of acidic, highly iron- and sulfate-rich industrial waste water. *Water Research* 43: 2302-2316.

Day, S. R., O'Hannesin S. F., Marsden, L. 1999. Geotechnical techniques for the construction of reactive barriers. *Journal of Hazardous Materials B67*: 285-297.

EPA 1998a. Permeable reactive barrier technologies for contaminant remediation. United States Environmental Protection Agency, EPA/600/R-98/125.

EPA 1998b. Carcinogenic effects of benzene: an update. United States Environmental Protection Agency, EPA/600/P-97/001F.

EPA 1999. Field application of in situ remediation technologies: Permeable reactive barriers. United States Environmental Protection Agency, EPA/542/R-99/002.

EPA 2002. Field applications of in situ remediation technologies: Permeable reactive barriers. United States Environmental Protection Agency.

EPA 2006. Edition of the drinking water standards and health advisories. Office of Water. United States Environmental Protection Agency, EPA 822-R-06-013.

Farhadian, M., Vachelard, C., Duchez, D., Larroche, C. 2008. In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: A review. *Bioresource Technology* 99: 5296-5308.

Ghazali, F. M., Rahman, R. N. Z. A., Salleh, A. B., Basri, M. 2004. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation* 54: 61-67.

Guerin, T. F., Horner, S., McGovern, T., Davey, B. 2002. An application of permeable reactive barrier technology to petroleum hydrocarbon contaminated groundwater. *Water Research* 36: 15-24.

Höhener, P., Hunkeler, D., Hess, A., Bregnard, T., Zeyer, J. 1998. Methodology for the evaluation of engineered in situ bioremediation: lessons from a case study. *Journal of Microbiological Methods* 32: 179-192.

Hong, J. H., Kim, J., Choi, O. K., Cho, K., Ryu, H. W. 2005. Characterization of a diesel-degrading bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* IU5, isolated from oil-contaminated soil in Korea. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 21: 381-384.

Ijah, U. J. J. 1998. Studies on relative capabilities of bacterial and yeast isolates from tropical soil in degrading crude oil. *Waste Management* 18: 293-299.

Juhasz, A. L. 2000. Microbial degradation and detoxication of high molecular weight PAH by *Stenotrophomonas maltophilia* strain, VUN 10003. *Letters in Applied Microbiology* 30: 396-401.

Kalff, J. 2002. *Limnology*. Prentice-Hall, New Jersey, 592 p.

Kanaly, R. A., Harayama S. 2000. Biodegradation of high molecular-weight PAH by bacteria. *Journal of Bacteriology* 182: 2059-2067.

Kermanshahi pour, A., Karamanev, D., Margaritis, A. 2005. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in an immobilized cell airlift bioreaktor. *Water Research* 39: 3704-3714.

Krumbholz, L. R., Caldwell, M. E., Suflita, J. M. 1996. Biodegradation of BTEX hydrocarbons under anaerobic conditions. *Bioremediation Principles and applications*, Edited by: Crawford, R. L., Crawford, D. L., Cambridge University Press, Cambridge, 400 p.

Leahy, J. G., Colwell, R. R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Review* 54: 305-315.

Lee, J., Graettinger, A. J., Moylan, J., Reeves, H. W. 2009. Directed site exploration for permeable reactive barrier design. *Journal of Hazardous Materials* 162: 222-229.

Lin, C.-W., Chen, L.-H., I, Y.-P., Lai, C.-Y. 2010. BTEX-contaminated groundwater remediation using an oxygen-releasing reactive barrier. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 33: 383-391.

Lovochemie, a.s. 2003. Bezpečnostní list podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006. Název výrobku: NP sol NP 8-24. Lovosice.

McGovern, T., Guerin, T. F., Horner, S., Davey, B. 2002. Design, construction and operation of a funnel and gate *in-situ* permeable reactive barrier for remediation of petroleum hydrocarbons in groundwater. *Water, Air, and Soil Pollution* 136: 11-31.

Melenová, I., Demnerová, K. 2004. Nové možnosti odstraňování polutantů ze životního prostředí a využití multifunkčního permeabilního bariérového systému - multibariéry. *Chemické Listy* 98: 908-915.

Menendez-Vega, D., Gallego, J. L. R., Pelaez, A. I., Fernandez de Cordoba, G., Moreno, J., Muñoz, D., Sanchez, J. 2007. Engineered *in situ* bioremediation of soil and groundwater polluted with weathered hydrocarbons. *European Journal of Soil Biology* 43: 310-321.

MikroChem LKT s.r.o. 2007. Roční výzkumná zpráva projektu FT-TA3/077: Remediaci podzemních vod s využitím permeabilních reaktivních bariér, Třeboň.

MikroChem LKT s.r.o. 2008. Roční výzkumná zpráva projektu FT-TA3/077: Remediaci podzemních vod s využitím permeabilních reaktivních bariér, Třeboň.

MikroChem LKT s.r.o. 2009. Roční výzkumná zpráva projektu FT-TA3/077: Remediaci podzemních vod s využitím permeabilních reaktivních bariér, Třeboň.

Mueller, J. G., Cerniglia, C. E., Pritchard, P. H. 1996. Bioremediation of environments contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bioremediation Principles and applications*, Edited by: Crawford, R. L., Crawford, D. L., Cambridge University Press, Cambridge, 400 p.

Nikolopoulou, M., Pasadakis, N., Kalogerakis, N. 2007. Enhanced bioremediation of crude oil utilizing lipophilic fertilizers. *Desalination* 211: 286-295.

Nikolopoulou, M., Kalogerakis, N. 2009. Biostimulation strategies for fresh and chronically polluted marine environments with petroleum hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 84: 802-807.

NRC (National Research Council) 2002. Oil in the sea: Inputs, fates, and effects. *Spill Science & Technology Bulletin* 7: 197-199.

Pelikán, V. 1983. Ochrana podzemních vod. SNTL (Nakladatelství technické literatury), Praha, 321 p.

Permeable Reactive Barriers 2002. Perchlorate treatment technology. AFCEE/ERT Fact Sheet.

Pitter, P. 1999. Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT, Praha, 568 p.

Rahman, K. S. M., Thahira-Rahman, J., Lakshmanaperumalsamy, P., Banat, I. M. 2002. Towards efficient crude oil degradation by a mixed bacterial consortium. *Bioresource Technology* 85: 257-261.

Richard, J. Y., Vogel, T. M. 1999. Characterization of a soil bacterial consortium capable of degrading diesel fuel. *International Biodeterioration & Biodegradation* 40: 93-100.

- Rocha, L. L., de Aguiar Cordeiro, R., Cavalcante, R. M., do Nascimento, R. F., Martins, S. C. S., Santaella, S. T., Melo, V. M. M. 2007. Isolation and characterization of phenol-degrading yeasts from an oil refinery wastewater in Brazil. *Mycopathologia* 164: 183-188.
- Rosenberg, E., Ron, E. Z. 1996. Bioremediation of petroleum contamination. *Bioremediation principles and applications*, Edited by: Crawford, R. L., Crawford, D. L., Cambridge University Press, Cambridge, 100-124, 400 p.
- Roux, J. C. 1995. The evolution of groundwater quality in France: Perspectives for enduring use for human consumption. *The Science of the Total Environment* 171: 3-16.
- Scow, K. M., Hicks, K. A. 2005. Natural attenuation and enhanced bioremediation of organic contaminants in groundwater. *Current Opinion In Biotechnology* 16: 246-253.
- Shad, H., Weingran, Ch., Tiehm, A., Müller, A., Jacob, H. 2007. Pilot test and field implementation of a funnel-and-gate biobarrier on a former tar factory site. *Proceedings of the 3rd International Symposium on PRB and Reactive Zones*, 87-90.
- Sved, D. W., Roberts, Jr, M. H., Van Veld, A. V. 1997. Toxicity of sediments contaminated with fractions of creosote. *Water Research* 31: 294-300.
- Ulrich, A. C., Guigard, S. E., Foght, J. M., Semple, K. M., Pooley, K., Armstrong, J. E., Biggar, K. W. 2009. Effect of salt on aerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated groundwater. *Biodegradation* 20: 27-38.
- Venosa, A. D., Suidan, M., Wrenn, B. A., Strohmeier, K. L., Haines, J. R., Eberhart, B. L., King, D., Holder, E. 1996. Bioremediation of an experimental oil spill on the shoreline of Delaware Bay. *Environmental Science & Technology* 30: 1764-1775.
- Venosa, A. D., Zhu, X. 2003. Biodegradation of crude oil contaminating marine shorelines and freshwater wetlands. *Spill Science & Technology Bulletin* 2: 163-178.
- Vieira, P. A., Vieira, R. B., de França, F. P., Cardoso, V. L. 2007. Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. *Journal of Hazardous Materials* 140: 52-59.
- Vieira, P. A., Faria, S., Vieira, R. B., De França, F. P., Cardoso, V. L. 2009a. Statistical analysis and optimization of nitrogen, phosphorus, and inoculum concentrations for the biodegradation of petroleum hydrocarbons by response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 427-438.
- Vieira, P. A., Vieira, R. B., Faria, S., Ribeiro, E. J., Cardoso, V. L. 2009b. Biodegradation of diesel oil and gasoline contaminated effluent employing intermittent aeration. *Journal of Hazardous Materials* 168: 1366-1372.
- Wang, Z., Fingas, M., Blenkinsopp, S., Sergy, G., Landriault, M., Sigouin, L., Foght, J., Semple, K., Westlake, D. W. S. 1998. Comparison of oil composition changes due to biodegradation and physical weathering in different oils. *Journal of Chromatography A* 809: 89-107.

Wang, Z., Brown, C. 2008. Chemical fingerprinting of petroleum hydrocarbon. Methods in Environmental Forensics, Edited by: Mudge, S. M., CRC Press, Boca Raton, 386 p.

Watanabe, K. 2001. Microorganisms relevant to bioremediation. Current Opinion in Biotechnology 12: 237-241.

Právní předpisy, normy a metodické pokyny

Metodický pokyn odboru pro ekologické škody MŽP České republiky č. 3- Kritéria znečištění zemin a podzemní vody. 1996. Odbor pro ekologické škody MŽP.

ČSN EN ISO 5667-3 Jakost vod - Odběr vzorků - Část 3: Pokyny pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi. 1994. Český normalizační institut.

ČSN EN ISO 9377-2 Jakost vod - Stanovení nepolárních extrahovatelných látek - Část 2: Metoda plynové chromatografie po extrakci rozpouštědlem. 2001. Český normalizační institut.

Příloha č. 1 k vyhlášce č. 252/2004 Sb. Mikrobiologické, biologické, fyzikální, chemické a organoleptické ukazatele pitné vody a jejich hygienické limity. Vyhláška 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. Ministerstvo zdravotnictví.