

Smiljana Korunić - Koščina, Marija Mioč, Vedranka Bobić

ISSN 0350-350X

GOMABN 42, 3, 153-176

Stručni rad /Professional Paper

UDK 628.3 : 577.4 : 615.9 : 543.97 : 543.682

## EKOTOKSIČNOST KAO BIOLOŠKI POKAZATELJ ONEČIŠĆENJA RAFINERIJSKIH OTPADNIH VODA

### Sažetak

*Kompletnim tretmanom obrade procesnih otpadnih voda i provedbom sveobuhvatnog programa ispitivanja kakvoće izlaznog efluenta ostvaruje se u Rafineriji nafte Rijeka (RNR) vrlo učinkovita zaštita recipijenta i očuvanje prirodne biološke ravnoteže morskog ekosustava.*

*Temeljem zakonske regulative potrebno je provoditi ispitivanje ekotoksičnosti izlaznih otpadnih voda prije ispuštanja u more radi ocjene utjecaja na ekosustav mora.*

*U program praćenja kakvoće rafinerijskog efluenta, te podzemnih voda, ekotoksikološka ispitivanja uključena su od 1997. godine, te se raspoložuje petogodišnjim rezultatima što sa stajališta znanstveno stručne obrade podataka predstavlja potrebni minimum praćenja za definiranje značajnosti utjecaja bioloških čimbenika.*

*Za određivanje toksičnosti otpadnih i podzemnih voda korištena je njemačka standardna metoda po DIN-u (DIN 38 412-L-34). To je bioluminiscentna metoda koja spada među testove kratkog trajanja, a kao test organizmi korištene su fluorescentne bakterije. Metoda je prilagođena mjerenju toksičnosti industrijskih otpadnih voda koje u pravilu sadrže povišene koncentracije soli.*

*Ispitivanja ekotoksičnosti provode se već šestu godinu i sakupljeni podaci predstavljaju relevantne rezultate na osnovi kojih se mogu definirati zaključci o mogućem djelovanju intoksikacije prisutnih organskih ili anorganskih otrova, bilo s lokalnim ili resorptivnim učincima na test organizam. Osim toga, pri ocjeni stanja mora u koji se ispušta pročišćena rafinerijska otpadna voda, treba voditi računa o pratećim interakcijskim procesima, odnosno pokušati utvrditi opseg uzajamnog*

*djelovanja svih kemijsko-fizikalnih i bioloških pratećih parametara na test organizme, uz prepoznavanje korelacijskih odnosa. Jedino na taj način mogu se razgraničiti i vrednovati biodepresivni ili biostimulativni učinci ispitivane otpadne vode na ekosustav recipijenta u koji se ispuštaju.*

*Cilj rada i obrade rezultata ekotoksičnosti efluenta je utvrđivanje vrste i opsega mogućih utjecaja RNR na onečišćenja mora kao recipijenta, sa svrhom poboljšanja kakvoće izlazne vode i bolje ekološke zaštite morskih biocenoza.*

## 1. UVOD

Posljedice onečišćenja morskog ekosustava otpadnim vodama mogu biti vrlo drastične i dugoročne jer se narušava prirodni balans, koji može obuhvatiti ne samo biocenotički sastav i strukturu već i funkcionalnost odnosnog ekosustava. Kompletna kakvoća efluenta može se utvrditi sustavnim ispitivanjem kemijskih, fizikalnih i bioloških parametara, odnosno primjenom kvalitetnog i cjelovitog programa praćenja kakvoće izlazne otpadne vode.

Spoznaja značenja i utjecaja provedbe ekotoksikoloških ispitivanja temelji se na neposrednom utvrđivanju indikacija i posljedica djelovanja testirane otpadne vode na izabrani test organizam ili test biocenozu, te na kontinuitetu praćenja svih utjecajnih čimbenika u odabranom vremenskom razdoblju.

U radu je predstavljen dio praktičnih iskustava i saznanja do kojih se došlo tijekom višegodišnjeg rada na realizaciji projekta metodologije praćenja ekotoksičnosti otpadnih voda. Na navedenom projektu radi širi tim u kojem sudjeluje veći broj stručnih i znanstvenih djelatnika, svaki sa svog aspekta stručnosti i disciplinarnog pristupa: Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci (Zavod za kemiju i biokemiju), te Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba.

Polazeći od konstatacije da nekontrolirano ispuštanje toksičnih tvari iz industrije može imati nesagledive posljedice na stanje okoliša, zakonska regulativa definirala je obvezu ispitivanja ekotoksičnosti izlaznih otpadnih voda prije ispuštanja u recipijent temeljnim aktom utvrđivanja uvjeta rada onečišćivača - Vodopravnom dozvolom.

Uzevši u obzir sve rafinerijske aktivnosti: 1. preradu sirove nafte (kakvoća sirovine), 2. proizvodnju naftnih derivata, 3. energetske potrošnje, 4. skladištenje, te konačno 5. transport, odnosno prekrcaj nafte i derivata, postoji u RNR čitav niz, točnije 74 identificiranih, prepoznatih i vrednovanih (kvantifikacijski izraženih) aspekata okoliša, koji imaju ili bi mogli imati značajan utjecaj na okruženje RN Rijeka.

## 2. ZNAČAJNI ASPEKTI OKOLIŠA

Aspekti okoliša prepoznati sa stajališta procjene procesa čine prvi korak na kojem se u logičnom slijedu utvrđuje politika zaštite okoliša, te definiraju ciljevi i zadaci

zaštite okoliša. Definiranje značaja pojedinih aspekata provodi se metodologijom koja uključuje tri bitna čimbenika: zakonodavstvo, primjenu najbolje dostupne tehnologije i stajališta zainteresiranih strana.

Identifikacija aspekata u RNR provedena je, dakle, poštivanjem zakonske regulative i provedbom poslovne strategije koja integrira sva pitanja okoliša u cjelovitu politiku zaštite okoliša, proširujući zahtjeve i na ona područja koja nisu zakonski regulirana, te osigurava nadziranje svih utjecaja u Sustavu upravljanja okolišem ISO 14001. Osnovni elementi za identificiranje i vrednovanje aspekata su emisije onečišćujućih tvari u okoliš.

Značaj pojedinog utjecaja na okoliš iskazan je primjenom kriterija i formiranjem Liste 20 značajnih aspekata okoliša, među kojima onečišćenje mora, odnosno onečišćenje tla i podzemlja imaju prioritetni značaj. U interferenciji s ostalim elementima emisije trebaju biti strogo nadzirane i upravljane u cilju postizanja održive proizvodnje energije i razvoja.

Temeljem odrednica definiranih odredbama Zakona o vodama (N.N. br. 107/95) i Pravilnikom o uvjetima ispuštanja otpadnih voda (N.N. br. 93/96), uvedena je, uz dosadašnje fizikalno-kemijske pokazatelje kakvoće efluenta, obveza praćenja i ispitivanja bioloških pokazatelja.

U Rafineriji nafte Rijeka ekotoksikološka ispitivanja izlazne otpadne vode provode se kontinuirano od 1997. godine, te se raspolaže petogodišnjim rezultatima, što sa stajališta znanstveno stručne obrade podataka predstavlja potrebiti minimum za definiranje značajnosti utjecaja bioloških čimbenika.

Sukladno postupku Sustava upravljanja okolišem ISO 14000: U postupanju s otpadnim vodama (OP – 46.13 ) provodi se nadzor i monitoring prema utvrđenom programu praćenja kvalitete izlaznog efluenta, te sustavno realiziraju aktivnosti odnosnih ekoloških programa sa svrhom postizanja poboljšanja kakvoće izlaznog efluenta i bolje zaštite mora. Program ispitivanja kakvoće otpadnih voda izrađen je na temelju zakonskih i podzakonskih odrednica, te obveza navedenih u Vodopravnoj dozvoli za RNR.

### 3. TOKSINI

Otrovi se mogu rabiti i stavljati u promet ako je toksikološkom ocjenom utvrđeno da njihova uporaba u namijenjene svrhe i na određeni način nije štetna za zdravlje ljudi i ne djeluje štetno na okoliš. Pored fizikalno-kemijskih pokazatelja za ocjenjivanje kakvoće efluenta značajni su i biološki parametri, u prvom redu stupanj toksičnosti otpadne vode. Ekotoksičnost predstavlja relativno novi parametar i u praktičnoj provedbi i sa stajališta primjenjivosti legislative.

Otrova je mnogo i ima ih svuda. Na ključno pitanje: Koje su tvari toksične? često se citira Paracelzus (1493.-1541.): "Sve su tvari otrov, jer su sve tvari otrovne kvalitete. Neka je tvar otrovna samo zbog doze."

Zakonska definicija navodi u čl. 2 Zakona o otrovima (N.N. 27/99) da se "otrovima smatraju tvari prirodnoga ili sintetskoga podrijetla i proizvodi od tih tvari, koji uneseni u ljudsko tijelo ili u dodiru s ljudskim tijelom mogu ugroziti život i zdravlje ljudi ili štetno djelovati na okoliš, te tvari čijom razgradnjom ili uništavanjem nastaju otrovne tvari." Sa stajališta industrijskih polutanata toksin je bilo koja tvar, koja se nalazi u procesnoj vodi i koja nakon prodora u tijelo vodenih organizama može svojim specifičnim djelovanjem ugroziti njihovo zdravlje i život. Toksični učinci mogu biti letalni - smrtonosni i subletalni, koji obuhvaćaju biokemijske ili fiziološke promjene te promjene u rastu, razvoju, ponašanju ili razmnožavanju. Djelovanje otrova na organizme ovisi o njegovoj koncentraciji i/ili trajanju izloženosti. Za toksikološku ocjenu nužna su kemijska, biološka, toksikodinamička, toksikokinetička i druga odgovarajuća ispitivanja, koja se moraju proširiti na sve medije s kojima čovjek može na bilo koji način doći u doticaj.

Testovi toksičnosti se temelje na izlaganju, odnosno ispitivanju učinka različitih toksičnih tvari na test organizme - biote. Za određivanje mogućih štetnih učinaka toksičnih polutanata na žive organizme najčešće ispitivani test je određivanje mortaliteta, kao posljedice intoksikacije. S ekološkog stajališta narušena fiziologija, sterilnost ili promjene ponašanja mogu imati isti konačni učinak na populaciju kao i brzo ugibanje jedinki.

### 3.1 Biotestovi u biološkoj valorizaciji otpadnih voda

Testovi toksičnosti neophodni su za ocjenu onečišćenosti vodenih medija, jer fizikalne i kemijske analize nisu dostatne za definiciju svih mogućih štetnih učinaka polutanata na žive organizme. Da bi se odredilo djelovanje polutanata na vodene organizme, koriste se akvatički testovi toksičnosti otpadnih voda, koji se mogu provoditi na različitim integracijskim razinama žive tvari od stanica do organizama, odnosno populacija i ekosustava. Poznat je niz metoda koje služe za ispitivanje toksičnosti, a izbor test organizama ovisi ne samo o vrsti ispitivanog vodenog medija već i o svrsi samog testa, osjetljivosti vrste prema toksičnoj tvari i čimbenicima koji se prate, ekološkom značenju vrste (karakteristične za ispitivani ekosustav), poznavanju životnog ciklusa vrste, ali i mogućnostima laboratorija.

Biotestovi ("bioassays") su eksperimentalne ekološke metode za određivanje granične vrijednosti tolerancije pri izlaganju odabranih bioloških modela - test organizama, utjecaju različitih toksičnih tvari. Najčešće korišteni test ispitivanja je mortalitet na razini biocenoze. Svrha testova toksičnosti je da se ocijeni koncentracija toksikanta koja je letalna za 50 % organizama određene vrste unutar određenog vremenskog razdoblja, a definira se kao srednja letalna koncentracija LC<sub>50</sub>. Prema trajanju trovanja razlikuje se 24-satna LC<sub>50</sub>, 96-satna-LC<sub>50</sub>, itd.

### 3.2 Test organizmi u biološkoj valorizaciji otpadnih voda

Test organizmi su biološki modeli (bioindikator) na kojima se provodi praćenje djelovanja različitih toksičnih tvari, a najčešći oblik ispitivanja je mortalitet. Osnova

biotesta je praćenje utjecaja koncentracijskog gradijenta otpadne vode u kontroliranim uvjetima među kojima je koncentracija otpadne vode jedina promjenjiva veličina. Izbor bioindikatora ovisi o svrsi testa, specifičnostima ekosustava, karakteristikama otpadne vode i recipijenta, ali i mogućnostima laboratorija.

Tablica 1: Pregled različitih vrsta standardnih bioindikatora

	Test organizam	Metoda	Instrument	Načelo
1.	<i>Daphnia magna</i> Straus (Crustacea)	HRN EN ISO 6431: 2000 Test akutne toksičnosti	Oprema za uzgoj jedinki u laboratorijskim uvjetima, mikroskop i standardni laboratorijski pribor	Slatkovodni račić/inhibicija pokretljivosti - optička opservacija mortaliteta gravidnih jedinki
2.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ( dr. Lange LUMISTox luminous Bacteria, LCK480)	DIN 38412-L34 (ISO/DIS 11384)	Luminometar-Monolight 2010	Luminiscentna bakterija / inhibicija emitiranja svjetlosti
3.	<i>Skeletonema costatum</i> ili <i>Pheodactylum tricornutum</i>	ISO 10253	Aparat za membransku filtraciju, autoklav, pH-metar, mikroskop	Morske alge/ inhibicija rasta
4.	<i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>	ISO 8692	Aparat za membransku filtraciju, autoklav, pH-metar, mikroskop	Planktonske slatkovodne alge / inhibicija rasta
5.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ili Yeast Toxicity Test	YTT (Dvoraček, Stilinović, 1997.)	Serum boce vol. 125 cm <sup>3</sup> , igle sa štrcaljkom, pH-metar, magnetna miješalica.	Kvaščeve gljivice/ ihibicija fermentacije i smanjenje količine nastalog CO <sub>2</sub> .

### 3.3 Intoksikacija i mehanizmi djelovanja

Ekofikasnost je ogledalo djelovanja niza pokazatelja onečišćenja rafinerijskih otpadnih voda, koji se promatraju kao tzv. vezani pokazatelji. Dobro poznavanje ovih parametara, kao i dugogodišnje praćenje fizikalnih i kemijskih analiza procesnih otpadnih voda utjecalo je na izbor metodologije ispitivanja i odabir test organizama.

Svrha utvrđene ekotoksičnosti jest odrediti i definirati moguće posljedice u hranidbenom lancu ekosustava recipijenta do kojih bi moglo doći u slučajevima kada se prepoznata toksična tvar ispusti u recipijent u prekomjernoj koncentraciji. Sva djelovanja intoksikacije, koja može biti uvjetovana različitim organskim ili anorganskim intoksikantima (prirodnim ili sintetičkim otrovima), narušavaju normalno ustrojstvo protoplazme i, dovodeći do reverzibilnih procesa, u njoj izazivaju poremećaje s posljedicama narušavanja prirodne biološke ravnoteže. Učinci mogu

imati mutageni ili kancerogeni karakter ovisno o stanju organizama i djelovanju zaštitnih fizioloških mehanizama intoksikacije.

#### **4. OPTEREĆENOST RAFINERIJSKIH OTPADNIH VODA I EKOTOKSIČNOST**

Petrokemijski kompleksi, kakve su rafinerije nafte, generiraju otpadne vode u koje dopijevaju različite toksične tvari: ulja i masti, odnosno ugljikovodici (BTX i PAH), fenoli, sulfidi, cijanidi, suspendirane tvari, amonijak i drugi prioritetni polutanti uključivši teške metale, koji mogu biti odgovorni za onečišćenje i ekotoksični učinak. Različite toksične komponente mogu štetno utjecati na autopurifikacijske procese recipijenta i ometati procese biološke razgradnje, te ih djelomično ili u potpunosti reducirati. Pored toga, zbog relativno laganog prodiranja otpadnih voda u podzemlje, npr. zbog propuštanja kanalizacijskog sustava, mogu izazvati onečišćenje podzemnih voda ili inhibiciju metaboličkih procesa u podzemlju uz posljedični poremećaj biološke ravnoteže. Iako se radi o moru kao recipijentu s velikim faktorom razrjeđenja, posljedice onečišćenja morskog ekosustava otpadnim vodama mogu biti vrlo drastične i dugoročne, jer se narušava prirodni balans koji može obuhvatiti ne samo biocenotički sastav i strukturu, nego i funkcionalnost postojećeg ekosustava.

U RNR procesne otpadne vode pročišćavaju se na centralnom uređaju za obradu voda sastavljenom od mehaničkog, kemijskog i biološkog dijela, a nakon tretmana ispuštaju se u more putem dugog podmorskog ispusta i završavaju u Kvarnerskom zaljevu.

##### **4.1 Bioluminiscentna metoda - DIN 38412-L-34**

Određivanje biološke toksičnosti pomoću svijetlećih bakterija opisano je u DIN-ovim standardima i temelji se na pronalaženju učinaka niza razrjeđenja uzorka otpadne vode na emitiranje svjetlosti od fluorescentnih bakterija *Photobacterium phosphoreum*.

Toksičnost rafinerijskih otpadnih voda prati se već šestu godinu bioluminiscentnom metodom DIN 38412-L34. Metoda je prilagođena za ispitivanje toksičnosti industrijskih otpadnih voda koje sadrže povišene koncentracije soli.

Metoda se ubraja u testove kratkog trajanja i s obzirom na vrijeme trajanja testa (30 min) ima veliku prednost u odnosu na ostale "short term" metode koje traju obično 48 ili 96 sati. Bioindikator, fluorescentne bakterije *Photobacterium phosphoreum*, emitiraju svjetlost ujednačenog intenziteta, danju i noću, kao normalni sastavni dio svog metabolizma. Mjerenjem intenziteta emitirane svjetlosti moguće je utvrditi svako oštećenje bakterijskog metabolizma nastalog kao posljedica djelovanja toksina.

#### 4.1.1 Način rada metode

Biotest toksičnosti, korištenjem luminiscentnih bakterija *Photobacterium phosphoreum* kao bioindikatora, izvodi se pripremom razrjeđivanja uzoraka s pH reguliranim na  $7,0 \pm 0,2$  u 2% -tnoj otopini NaCl. Sastavlja se geometrijski niz razrjeđenja uzorka G (redni broj razrjeđenja) = 1,2,3,4,6,8,12,16,24,32, 48, 64, itd. po potrebi. Izbor koncentracija otpadne vode temelji se na iskustvu i znanju kvalitativnih karakteristika procesnih otpadnih voda, te se ovisno o fizikalnim i kemijskim značajkama mogu izvoditi promjenjive logaritamske serije koncentracija. Kao kontrola koristi se 2% otopina soli. Kontrola (slijepa proba) se priređuje kao test otopina po istom slijedu razrjeđenja, ali bez dodavanja otpadne vode. Volumen test suspenzije iznosi 0,2 ml ili 0,5 ml, a konačni volumen u kivetama 1 ml. Razrjeđenja uzorka i neposredno prije aktivirana suspenzija bakterija inkubiraju se na temperaturi od  $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Luminometrom se mjeri intenzitet oslobođene svjetlosti prije miješanja probe sa suspenzijom bakterija ( $I_0$ ) te nakon 30 minuta ( $I_{30}$ ). Matematički se izražava gašenje luminiscencije, odnosno (% $H_{30}$ ), uz faktor korekcije KF izračunat iz kvocijenta intenziteta svjetlosti kontrolnog uzorka očitane nakon 30 minuta i početnog intenziteta svjetlosti oslobođene od test mikroorganizama. Inhibicija luminiscencije (%  $H_{30}$ ) izračunava se po matematičkom izrazu:

$$\% H_{30} = (I_{kor30} - I_{30}) / I_{kor30} \times 100$$

#### 4.1.2 Aparati

Za mjerenje toksičnosti primjenom bakterija kao bioindikatora koristi se aparat MONOLIGHT 2010 Luminometer.

#### 4.1.3 Izražavanje rezultata

Konačni rezultat izražava se kao broj razrjeđenja kod kojega je inhibicija oslobođene svjetlosti manja od 20%, odnosno  $G_L < 20\%$ .  $G_L = 1$  označava potpuno netoksičan uzorak.

U nedostatku hrvatskih propisa za ocjenu rezultata ispitivanja koriste se kao usporedna vrijednost austrijski propisi, iako oni u potpunosti ne odgovaraju karakteristikama i načinu obrade rafinerijskih otpadnih voda.

## 5. OBRADA PROCESNIH OTPADNIH VODA RNR

U RN Rijeka otpadne vode se pročišćavaju na centralnom uređaju za obradu voda, koji se sastoji od tri sekcije: 1. mehaničke obrade egalizacijom, 2. kemijske obrade – flokulacije i flotacije i 3. biološke obrade tipa konvencionalne aeracije aktivnim muljem. Uz to, kao zasebne tehnološke cjeline, postoje predobrada otpadnih voda striperima, te gravitacijski ugušćivač mulja. Uređaj je u radu od 1980. godine, a doživio je nekoliko konceptualnih promjena u načinu rada u skladu s tendencijom poboljšanja kakvoće efluenta. U razdoblju do 1985. godine rekonstruiran je manji dio izgrađenog projekta tvrtke Lurgi koji se odnosi na predobradu otpadne lužine. U sljedećih desetak godina, do 1994., uređaj za obradu voda radi na inovativnom

načelu poznatom pod imenom «Endotot». Izgradnjom postrojenja MHC/HDS i dodatnim novim opterećenjem u influentima uslijedile su promjene u doziranju nutrijenata u biološkoj sekciji, te niz manjih koncepcijskih zahvata sa svrhom optimizacije rada uređaja i kontinuirane kakvoće efluenta kao rezultat porasta ekoeфикаsnosti procesa pročišćavanja otpadnih voda.

### 5.1 Kakvoća rafinerijskog efluenta

Tablica 2: Rezultati kakvoće efluenta po godinama ispitivanja

Godina	Suspendirane tvari mg/l	KPK mgO <sub>2</sub> /l	EC <sub>20</sub> %	EC <sub>50</sub> %	GL%
1997.	25,7	196,9	15,2	52,1	14
1998.	18,8	115,1	15,3	45,5	26
1999.	18,8	118,8	20,8	41,9	21
2000.	37,9	113,7	5,9	31,0	21
2001.	20,7	95,0	10,5	37,2	18
2002.	13,8	85,4	5,4	22,5	19

Tablica 3: Nalaz ekotoksičnosti otpadnih voda RNR uzorkovan 28.02.2002. godine

Uzorak	EC <sub>20</sub>	EC <sub>50</sub>	GL	Ekotoksičnost
P <sub>1</sub>	100	100	1	Netoksično
P <sub>2</sub>	100	100	1	Netoksično
P <sub>3</sub>	100	100	1	Netoksično
<b>Ispust 1.</b>	<b>5,6</b>	<b>27,3</b>	<b>16</b>	<b>Toksično*</b>

\* Ocjena uzorka izvedena je, u nedostatku hrvatskog standarda, prema austrijskim propisima u odnosu na DIN metodu (AEV Erdölverarbeitung, 1996.) prema kojima uzorak s vrijednostima  $G_L \leq 8$  nije toksičan.

### 5.2 Razvojne tendencije

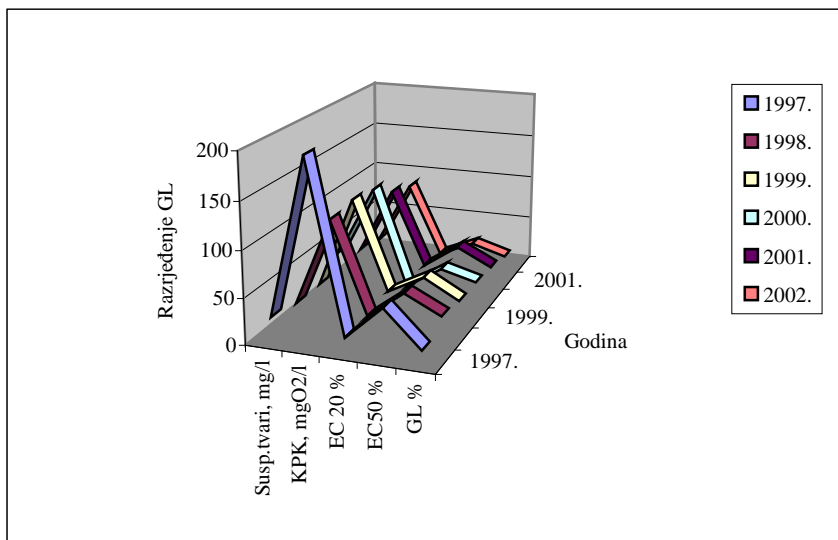
Tehnološke opcije ili neke od razvojnih tendencija, koje proizlaze iz dosadašnjeg rada, baze podataka i operativnih iskustava mogu se grupirati na sljedeći način:

- korištenje reciklaže otpadne vode,
- evaporacija,
- rasplinjavanje i
- kombinirana obrada.



U radu je opisan način praćenja toksičnosti otpadnih voda primjenom metode koja zadovoljava zahtjevnost procesnih otpadnih voda petrokemijske industrije. Iz dosadašnjih petogodišnjih iskustava može se izraditi prijedlog kriterija ocjene ekoefikasnosti, odnosno definirati granične vrijednosti prema metodologiji i karakteristikama otpadnih voda i kategoriji recipijenta.

Slika 1: Ekotoksičnost otpadnih voda



## 6. NAČELO ODRŽIVOG RAZVOJA

Slijedeći načelo održivog razvoja, posebno u odnosu na zahtjev ekoefikasnosti, u RN Rijeka ostvaren je jedan od ciljeva – porast kakvoće izlaznog efluenta i zaštite morskog ekosustava.

Primjenom testova toksičnosti fotobakterijama dana je nova dimenzija utvrđivanju kakvoće morskih ekosustava. Petogodišnjim sustavnim praćenjem ekotoksičnosti otpadnih voda stvoreni su preduvjeti za utvrđivanje uzroka ekotoksičnosti.

Rezimirajući postignute rezultate kao cjelinu ostvareno je:

- Primjenom načela postupnog unapređivanja tehnologije obrade otpadnih voda usavršeni su pojedini manji segmenti postrojenja za obradu voda, uz korištenje postojećih instalacija.
- Inovacijskim pristupom i korištenjem vlastitih tehnoloških rješenja obrade procesnih otpadnih voda održavana je primjerena kakvoća izlaznog efluenta.
- Stalnom suradnjom s drugim znanstvenim institucijama i visokoškolskim ustanovama – fakultetima, unaprijeđen je metodološki pristup ispitivanja.

- Timskim radom, zajedničkim naporima, znanjem i iskustvom ostvarena je bolja i efikasnija zaštita mora i priobalja.
- Otvorenim pristupom i transparentnim odnosom pronađen je dodatni način za promociju vlastite tvrtke i porast ugleda u javnosti i poslovnom svijetu.

Tablica 4: Vodeni uzorak Ispust 1, pH uzorka 6,69; predobrađen filtracijom

Test	lo	lk <sub>30</sub>	lk <sub>30</sub> /lo	Fk <sub>30</sub> u %
80 %	2 664	1 614		
80 %	2 604	1 710	0,6313	2,5
50 %	4 926	3 822		
50 %	5 131	3 989	0,7767	0,1

Test	G	lo*	l <sub>T30</sub>	lc <sub>30</sub>	H <sub>30</sub> (%)	H <sub>30</sub>	H <sub>30</sub> (%)	F <sub>30</sub>
80 %*								
		2 622	431	1 655	74,0			
	1	2 563	435	1 618	73,1	73,5	0,4	2,78
50 %								
		5 217	1 419	4 052	65,0			
	2	5 519	1 500	4 286	65,0	64,99	0,0	1,86
		5 097	1 877	3 959	52,6			
	3	5 244	1 972	4 073	51,6	52,1	0,5	1,09
		5 297	1 971	4 114	52,1			
	4	5 400	2 076	4 194	50,5	51,3	0,8	1,05
		5 351	2 218	4 156	46,6			
	6	5 409	2 381	4 201	43,3	45,0	1,7	0,82
		5 214	2 989	4 049	26,2			
	8	5 634	3 055	4 376	30,2	28,2	2,0	0,39
		4 996	2 988	3 880	23,0			
	12	5 141	3 011	3 993	24,6	23,8	0,8	0,31
		5 109	3 329	3 968	16,1			
	16	5 229	3 499	4 061	13,8	15,0	1,1	0,18

\* volumen test suspenzije ( 0,2 ili 0,5 ml)

\* lo = konačni volumen u kivetama (1ml)

lk<sub>30</sub> = devijacija u postocima, dobivena iz srednjih vrijednosti usporednih mjerenja

H<sub>30</sub> = devijacija H<sub>30</sub> u postocima, dobivena iz srednjih vrijednosti usporednih mjerenja

EC<sub>20</sub> i EC<sub>50</sub> = vrijednosti dobivene linearnom regresijom

## 7. ŠTO I KAKO DALJE?

- U cilju pravodobnog utvrđivanja toksikološkog aspekta otpadne vode i smanjenja rizika i opasnosti za vodene recipijente, a posebno more, smatramo da je nužno zakonski verificirati više referentnih metoda za ispitivanje ekotoksičnosti, te urediti istraživanje, način praćenja i obrade (monitoring) ekotoksikološkog parametra kao jednako vrijednog ostalim fizikalnim i kemijskim pokazateljima onečišćenja okoliša.
- Uvažavanjem stručne i znanstvene suradnje između industrijskih onečišćivača i visokoškolskih ustanova (instituta i fakulteta) vrednovati potrebe i strateško značenje zaštite voda u rješavanju pitanja odgovornog i nadasve racionalnog gospodarenja vodama u Hrvatskoj.
- Nadamo se da će dosadašnja iskustva i ostvareni rezultati, te dokumentacija kojom raspoložemo, a koji su dijelom ovdje prezentirani, dati poticaj i ohrabrenje drugim onečišćivačima da nas slijede i prate u realizaciji općeg cilja pravodobnog informiranja i senzibiliziranja javnosti.

## 8. ZAKLJUČAK

Sažimajući sve aktivnosti koje su do sada realizirane u RNR, a u svezi cjekolupnog projekta praćenja ekotoksičnosti otpadnih voda učinjeno je slijedeće:

1. Definirani su značajni aspekti proizvodnih aktivnosti- upravljanje procesima, prerada nafte i proizvodnja naftnih derivata, skladištenje i transport, izvor su emisija onečišćujućih tvari, koje interferiraju i mogu različitim putevima dospjeti u okruženje i ugroziti morski ekosustav.
2. Uvažavajući načela održivog razvoja postavljeni su ciljevi u segmentu zaštite voda i programi za njihovu realizaciju, utemeljeni na relacijama:  
Investicije = Kakvoća ---- Dobit ----- Ekologija
3. Nadzor nad kvantitetom (koncentracijama) onečišćujućih tvari u procesnim otpadnim vodama iz pogona usklađen je s odredbama zakona i propisa iz područja zaštite voda (vodopravna dozvola).
4. U odnosu na parametar ekoefikasnosti u RNR se slijedio i ostvario cilj ispitivanja ekotoksičnosti pročišćene otpadne vode odgovarajućom metodologijom.
5. Operativa u kombinaciji sa stručnim i znanstvenim radom može poslužiti pri izradi kriterija za ocjenu toksičnosti industrijskih otpadnih voda. Iz dosadašnjih petogodišnjih rezultata može se izraditi prijedlog kriterija ocjene ekoefikasnosti, odnosno definirati granične vrijednosti sukladno metodologiji i karakteristikama otpadnih voda i kategoriji recipijenta.
6. U Zavodu za javno zdravstvo grada Zagreba radi se na ispitivanju toksičnosti primjenom algi kao test organizama. U tijeku su analize na rafinerijskim izlaznim

otpadnim vodama, koje su korištene kao ispitne upravo zbog mogućih komparabilnih podataka i relevantnih zaključaka.

7. Pridržavanjem načela međunarodne norme i primjenom sustava ISO 14001 omogućuje se ispunjavanje zakonskih zahtjeva, uvažavanje zahtjeva zainteresiranih strana, ispunjavanje očekivanja kupaca i povećavanje ugleda u javnosti.

## ECOTOXIC COMPOUND AS BIOLOGICAL PARAMETER FOR ESTIMATION QUALITY OF THE REFINERY WASTEWATER

### *Abstract*

*With the complete treatment of processing the wastewater and application of overall quality effluent research, the Petroleum Refinery Rijeka is practicing a very effective recipient protection and sustaining natural biological sea ecosystem balance.*

*According to legislative regulations, the research of ecotoxicity of the discharged wastewater is needed before releasing it in the sea because of the evaluation of its affliction on the sea ecosystem.*

*Ecotoxicological research is included in the programme of monitoring quality of the refinery effluent and ground waters since 1997. Consequently, the 5 year results are available, which is, according to scientific data processing minimum, obligatory for defining the significance of biological parameter affliction.*

*Standard German Method DIN is used in order to determine toxicity of the discharge and ground waters. The bio-illuminating method is one among the short term tests, where fluorescent bacteria is used as the test organism. This method is adjusted to measurement of toxicity of the industrial discharge waters that contain high levels of salinity in most cases. Information gathered in toxicity research for 6th year now, are relevant foundation to draw conclusions on possible intoxication of organic and inorganic poisons, both local and resorptive effects on test organisms.*

*Furthermore, when evaluating state of the sea receiving recycled refinery wastewater, the side-effect interaction*

*processes should be taken into the account, i.e. an effort should be taken to determine the measure of interactive influence of all chemical, physical and biological parameters on test organisms, with the recognition of collating relations. This is a unique way to separate and evaluate bio-depressive and bio-stimulative effects of the examined wastewater on recipient ecosystem.*

*The aim of the paper and data processing on ecotoxicity of the effluent is to determine the sort and the amount of Petroleum Refinery Rijeka influence on the sea pollution with a purpose of improving quality of the discharged wastewater and ecological protection of biocenosis.*

## 1. INTRODUCTION

The consequences of the sea ecosystem pollution by wastewaters may be very drastic and persistent because they impair the natural balance which may encompass not only the biocenotic system and structure, but also the functionality of the ecosystem in question. The effluents' overall quality may be ascertained through a systematic testing of chemical, physical and biological parameters, i.e. through the application of a good quality and substantial programme of monitoring the quality of discharged wastewater.

Realization of the significance and impact of performing ecotoxicological research is based on the immediate identification of indications and consequences of the tested wastewater impact on the chosen test organism or test biocenosis, as well as on a continuous monitoring of all influential factors within the given period of time.

The paper presents a part of the practical experience and knowledge collected during several years of work on implementing the project of the methodology of monitoring the ecotoxicity of wastewaters. The said project involves a team encompassing a number of experts and scientists from various areas of expertise and with different disciplinary approaches: The Rijeka University Faculty of Medicine (Institute for Chemistry and Biochemistry), and the City of Zagreb Public Health Institute.

Starting from the realization that uncontrolled discharge of industrial toxic substances may bear irreversible environmental consequences, the legal regulations have set the obligation of testing the ecotoxicity of discharged wastewaters before their release into the recipient, through the basic document of identifying the polluter's operating conditions – the water permit.

Taking into account all refinery activities: 1. crude oil processing (feed quality), 2. generation of oil products, 3. energy consumption, 4. storage, and, finally 5. transportation, i.e. reloading of oil and its products, Rijeka Oil Refinery has a number – 74 to be exact – of identified, recognized and evaluated (quantified) environmental aspects, which have or could have a significant impact on the environment surrounding the Rijeka Oil Refinery.

## 2. SIGNIFICANT ENVIRONMENTAL ASPECTS

Environmental aspects recognized from the viewpoint of process estimation are the first step towards identifying the environmental protection policy, and defining the goals and tasks of environmental protection. Defining the significance of individual aspects is performed according to the methodology encompassing three significant factors: legislation, application of the best available technology, and attitudes of the interested parties.

Identification of aspects at Rijeka Oil Refinery has thus been performed respecting legal regulations and implementing business strategy integrating all environmental issues into a comprehensive environmental protection policy, spreading requirements also to the areas that have not been legally regulated, and ensuring the monitoring of all impacts within the ISO 14001 Environmental Management System. The basic elements for identifying and evaluating the aspects are the pollutants' environmental emissions.

The significance of a given environmental impact has been stated through criteria application and forming of the List of 20 Significant Environmental Aspects, among which sea pollution i.e. soil and underground pollution have priority significance. Interfering with other elements, the emissions must be strictly surveilled and managed for the purpose of achieving sustainable energy generation and development.

In compliance with the guidelines set by the Water Act stipulations (N.N. n<sup>o</sup>. 107/95) and the Regulations on the Conditions of Discharging Wastewaters (N.N. n<sup>o</sup>. 93/96), apart from the so far physico-chemical indicators of effluent quality, the need of monitoring and testing biological indicators has also been introduced.

At the Rijeka Oil Refinery, the ecotoxicological testing of discharged wastewaters has been continuously performed since 1997. This means that we have at our disposal five year monitoring data, which is – from the viewpoint of scientific data processing - constitutes the necessary minimum for defining the significance of the biological factors' impact.

In compliance with the procedure of the ISO 14000 Environmental Management System: Handling Wastewaters (OP – 46.13 ), surveillance and monitoring are being performed according to the defined programme of monitoring the quality of discharged effluent. Also, the related environmental programmes are being implemented in order to achieve quality improvement of the discharged effluent and better sea protection. The programme of testing wastewater quality has been elaborated on the basis of legal and sublegal guidelines, as well as obligations stated in the Refinery's Water Permit.

## 3. TOXINS

Poisons may be used and marketed provided that the toxicological evaluation has established that their use is for the intended purposes only and is not human health

or environmentally hazardous. Apart from the physico-chemical indicators, of importance for evaluating effluent quality are also biological parameters, primarily wastewater toxicity degree. Ecotoxicity constitutes a relatively new parameter, both in practical application, and from the viewpoint of legislation applicability.

Poisons are many and they are everywhere. Frequent answer to the critical question: "Which substances are toxic?" is often that of Paracelsus (1493-1541): "All substances are poisons, for they all have poisonous quality. A given substance is considered poisonous only due to its dosage."

The legal definition stated in art. 2. of the Poisons Act (N.N. 27/99) says that "considered as poisons are the substances of natural or synthetic origin and products made of them, which, once introduced into human body or in contact with human body, may jeopardize human health or bear a harmful environmental impact, as well as substances through the disintegration or destruction of which poisonous substances are generated." From the aspect of industrial pollutants, toxin is any substance contained in the processed water which after penetration into the body of water organisms may through its specific activity jeopardize their health and life. Toxic effects may be lethal – deadly, and sublethal, encompassing biochemical or physiological changes, as well as changes in the growth, development, behaviour or procreation. The effect of the poison on organisms depends on its concentration and/or exposure duration. The toxicological evaluation requires chemical, biological, toxicodynamic, toxicokinetic and other suitable tests, which must be expanded to all the media with which man can come into contact in any way.

Toxicity tests are based on the exposure, i.e. testing the effect of various toxic substances on test organisms – the biota. The most frequent test determining possible hazardous effects of toxic pollutants on living organisms is the identification of mortality, as a consequence of intoxication. From the environmental point of view, impaired physiology, sterility or behavioural changes may have the same final effect on population as the fast dying out of specimens.

### **3.1 Biotests in the Biological Valorization of Wastewaters**

Toxicity tests are essential for evaluating the pollution level of water media because physical and chemical analyses are not sufficient for defining all the possible harmful pollutant effects on living organisms. In order to identify the effect of pollutants on water organisms, aquatic tests of wastewater toxicity are used, which may be performed on various living substance integration levels from cells to organisms, i.e. populations and ecosystems. There is a number of methods serving for testing toxicity, while the choice of test organisms does not depend solely on the type of the tested water medium, but also on the purpose of the test itself, sensitivity of the species to the toxic substance and the factors being monitored, environmental significance of the species (characteristic for the tested ecosystem), knowledge of the species' life cycle, but also on laboratory possibilities.

Bioassays are experimental environmental methods for setting the limit tolerance value at the exposure of selected biological models - test organisms, to the impact of various toxic substances. The most frequently used test is mortality on the level of biocenosis. The purpose of toxicity tests is to evaluate the concentration of the toxicant which is lethal for 50% of organisms of a given species within a certain period of time, while it is defined as the medium lethal concentration  $LC_{50}$ . According to the duration of the poisoning, we may distinguish 24-hour  $LC_{50}$ , 96-hour- $LC_{50}$ , etc.

### 3.2 Test organisms in the Biological Valorization of Wastewaters

Test organisms are biological models (bioindicators) on which the monitoring of various toxic substances' activity is being performed, with the most frequent form of testing being mortality. The basis of the bioassay is monitoring the impact of the wastewater concentration gradient under controlled conditions, with wastewater concentration being the only changeable value. The choice of bioindicator depends on the test purpose, ecosystem's specificities, wastewater and recipient characteristics, and also laboratory possibilities.

Table 1: A review of various kinds of standard bioindicators

	Test organism	Method	Instrument	Principle
1.	<i>Daphnia magna</i> Straus (Crustacea)	HRN EN ISO 6431: 2000 Acute toxicity test	Equipment for raising specimens under laboratory conditions, microscope and standard laboratory gear	Freshwater shrimp/inhibition of movement - optical observation of pregnant specimens' mortality
2.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ( dr. Lange LUMISTox luminous Bacteria, LCK480)	DIN 38412-L34 (ISO/DIS 11384)	Luminometer-Monolight 2010	Luminiscent bacterium / inhibition of light emission
3.	<i>Skeletonema costatum</i> or <i>Pheodactylum tricornutum</i>	ISO 10253	Device for membrane filtration, autoclave, pH-meter, microscope	Sea algae/ growth inhibition
4.	<i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>	ISO 8692	Device for membrane filtration, autoclave, pH-meter, microscope	Planctone freshwater algae / growth inhibition
5.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> or Yeast Toxicity Test	YTT (Dvoraček, Stilinović, 1997)	Serum bottles vol. 125 cm <sup>3</sup> , needles with syringes, pH-meter, magnetic mixer.	Yeast fungi/ fermentation inhibition and reduction of generated CO <sub>2</sub> .

### 3.3 Intoxication and Activity Mechanisms

Ecoefficiency is the mirror of the activity of a number of indicators of refinery wastewater pollution, observed as the so called linked indicators. Good knowledge



of these parameters, as well as the long-term monitoring of physical and chemical analyses of processed wastewaters, has had an impact on the choice of test methodology and test organisms.

The purpose of the identified ecotoxicity is to identify and define the possible consequences or repercussions in the recipient ecosystem's feeding chain which could occur in cases where the identified toxic substance is discharged into the recipient in excessive concentration. All intoxication effects, which may be conditioned by various organic or inorganic intoxicants (natural or synthetic poisons), impair the normal organization of protoplasm, and, by leading to reversible processes, cause disturbances in it, resulting in the impairment of natural biological balance. The effects may be mutagenic or cancerogenic, depending on the condition of organisms and the activity of the protective physiological intoxication mechanisms.

#### **4. THE CHARGE OF REFINERY WASTEWATERS AND ECOTOXICITY**

Petrochemical complexes, such as oil refineries, generate wastewaters containing various toxic substances: oils and greases, i.e. hydrocarbons (BTX and PAH), phenols, sulfides, cyanides, suspended matters, ammonia, and other priority pollutants, including heavy metals, which may be responsible for pollution and ecotoxic effect. Various toxic components may have a harmful impact on the selfpurification processes of the recipient and hinder biodegradability processes, by partially or completely reducing them. Moreover, due to a relatively easy penetration of wastewaters into the underground, e.g. due to sewerage system leakage, they may cause pollution of underground waters or inhibition of metabolic processes in the underground with the resulting disturbance of the biological balance. Although we are here dealing with the sea as recipient, having a high dilution factor, the consequences of the marine ecosystem pollution by wastewaters may be very drastic and persistent, because what is impaired is the natural balance encompassing not only the biocenotic composition and structure, but also the functionality of the existing ecosystem.

At Rijeka Oil Refinery, the wastewaters are being purified at the central wastewater treatment plant consisting of mechanical, chemical and biological sections, and, after treatment, they are being discharged into the sea through a long submarine outlet and end up in the Kvarner Bay.

##### **4.1 Bioluminescent Method - DIN 38412-L-34**

Determination of biological toxicity using luminiscent bacteria is described in the DIN standards and is based on identifying the effects of a number of wastewater dilutions on light emission on the part of the fluorescent bacteria *Photobacterium phosphoreum*.

The toxicity of refinery wastewaters has been monitored for the sixth year now using the bioluminescent method DIN 38412-L34. The method has been adapted for toxicity testing of industrial wastewaters usually containing increased salinity levels.

The method is one among the short-term tests, and, given the test duration (30 min), has a great advantage over other "short-term" methods which usually last 48 or 96 hours. Bioindicators, fluorescent bacteria *Photobacterium phosphoreum*, are emitting light of an even intensity, day and night, as a normal part of their metabolism. By measuring the intensity of emitted light, it is possible to identify any damage of the bacterial metabolism resulting from toxin activity.

#### 4.1.1 The Method's Principle of Operation

Toxicity bioassay, using luminiscent bacteria *Photobacterium phosphoreum* as bioindicators, is performed by preparing diluted samples in a 2% NaCl solution with pH set at  $7.0 \pm 0.2$ . The geometric sequence of sample dilution G (dilution number) is being determined = 1,2,3,4,6,8,12,16,24,32,48,64 etc. as necessary. The choice of wastewater concentration is based on experience and knowledge of qualitative properties of wastewaters. Depending on the chemical and physical properties, changeable logarithm concentration series may be performed. As control, the 2% salt solution is being used. The control (blind trial) is prepared as a test solution according to the same dilution order, but without wastewater addition. The suspension volume test amounts to 0.2 ml or 0.5 ml, and the final volume in 1 ml cuvettes. Diluted samples and freshly activated bacterial suspension are incubated at the temperature of  $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . Luminometer is used to measure the intensity of released light before mixing the trial with bacterial suspension ( $I_0$ ), and after 30 minutes ( $I_{30}$ ). Disappearance of luminiscence, i.e. (% $H_{30}$ ) is expressed mathematically, with a correction factor CF calculated from the control sample light intensity quotient read off after 30 minutes and the initial light intensity released on the part of the test microorganisms. Luminiscence inhibition (% $H_{30}$ ) is calculated after the following mathematical expression:

$$\% H_{30} = (I_{kor_{30}} - I_{30}) / I_{kor_{30}} \times 100$$

#### 4.1.2 The Test Apparatus

For toxicity measurement applying bacteria as bioindicators, the MONOLIGHT 2010 Luminometer is being used.

#### 4.1.3 Expression of Results

The final result is expressed as the number of dilutions in which the inhibition of released light is less than 20%, i.e.  $GL < 20\%$ .  $GL = 1$  marks a completely non-toxic sample.

Lacking Croatian regulations for the evaluation of test results, used as a comparative value are Austrian regulations, although they do not entirely match the refinery wastewater properties or the way of their processing.

## 5. TREATMENT OF THE RIJEKA OIL REFINERY WASTEWATERS

At the Rijeka Oil Refinery, wastewaters are treated at the central wastewater treatment plant, consisting of three sections: mechanical treatment with equalization, chemical treatment – flocculation and flotation, and biological treatment of the conventional aeration type with active sludge. Apart from that, as individual technological units, there is the wastewater pretreatment using strippers, and gravitational sludge thickener. The plant has been operative since 1980, having undergone several conceptual changes in the manner of operation given the tendency to upgrade effluent quality. In the period before 1985 a smaller part of the project constructed by the Lurgi company was reconstructed, encompassing the pretreatment of waste alkali. Through the next about a dozen years, by 1994, the wastewater treatment plant was operating according to the innovative principle known as «Endotot». Through the construction of the MHC/HDS plant and additional new load in the form of influents, there were changes in the dosage of nutrients in the biological section, as well as a number of minor conceptual undertakings with the purpose of optimizing the plant operation and achieving a continuous effluent quality as a result of increase in the ecoefficiency of the wastewater treatment process.

### 5.1 The Refinery Effluent Quality

Table 2: Effluent Quality Results per Years of Testing

Year	Suspended matter mg/l	KPK mgO <sub>2</sub> /l	EC <sub>20</sub> %	EC <sub>50</sub> %	GL %
1997.	25,7	196,9	15,2	52,1	14
1998.	18,8	115,1	15,3	45,5	26
1999.	18,8	118,8	20,8	41,9	21
2000.	37,9	113,7	5,9	31,0	21
2001.	20,7	95,0	10,5	37,2	18
2002.	13,8	85,4	5,4	22,5	19

### 5.2 Development Trends

Technological options or some development trends, which result from the so far work, database, and operational experience, may be grouped in the following way:

- using wastewater recycling
- evaporation
- gasification, and
- combined treatment

The paper describes the manner of monitoring the toxicity of wastewaters by applying the method meeting the requirements imposed upon petrochemical

industry wastewaters. From the so far five-year experience it is possible to elaborate the proposal of ecoefficiency evaluation criteria, i.e. define the limit values according to the wastewater methodology and properties, as well as recipient category.

Table 3: Rijeka Oil Refinery wastewater ecotoxicity find sampled on 28/02/2002

Sample	EC <sub>20</sub>	EC <sub>50</sub>	GL	Ecotoxicity
P <sub>1</sub>	100	100	1	Non-toxic
P <sub>2</sub>	100	100	1	Non-toxic
P <sub>3</sub>	100	100	1	Non-toxic
<b>Discharge 1.</b>	<b>5,6</b>	<b>27,3</b>	<b>16</b>	<b>Toxic*</b>

\* Sample evaluation was – lacking Croatian standard – performed according to Austrian regulations with regard to DIN method (AEV ERDOLVERARBEITUNG, 1996), according to which sample with values  $G_L \leq 8$  is not considered toxic.

Figure 1: Wastewater ecotoxicity

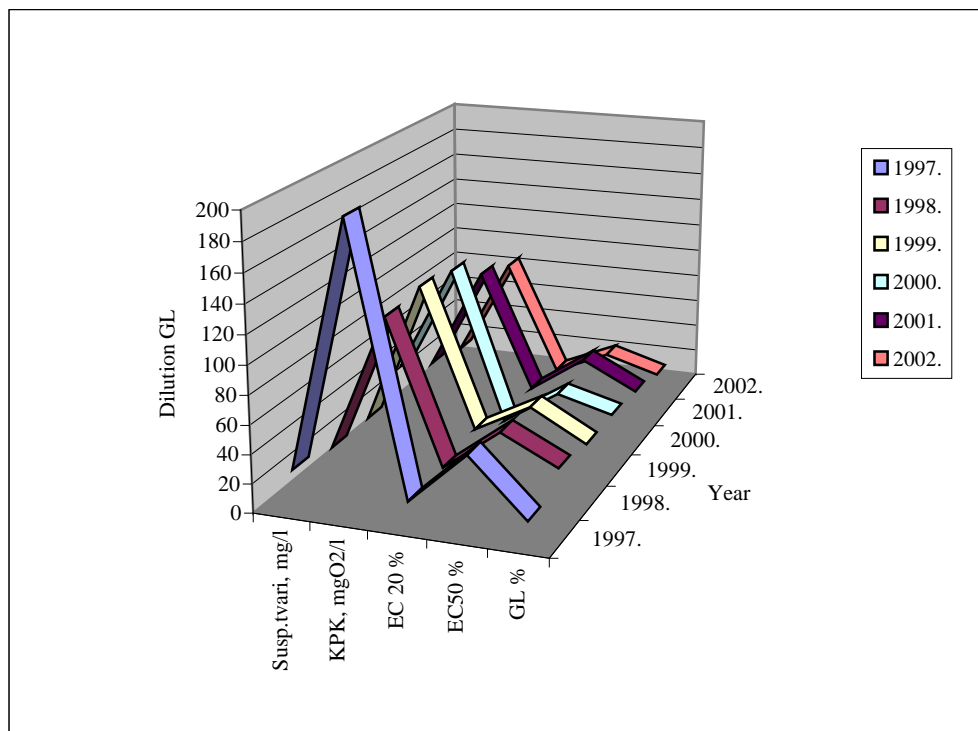


Table 4: Wastewater sample Discharge 1, sample pH 6,69; pretreated by filtration

Test	lo	lk <sub>30</sub>	lk <sub>30</sub> /lo	Fk <sub>30</sub> u %
80 %	2 664	1 614		
80 %	2 604	1 710	0,6313	2,5
50 %	4 926	3 822		
50 %	5 131	3 989	0,7767	0,1

Test	G	lo*	lr <sub>30</sub>	lc <sub>30</sub>	H <sub>30</sub> (%)	H <sub>30</sub>	H <sub>30</sub> (%)	F <sub>30</sub>
80 %*								
		2 622	431	1 655	74,0			
	1	2 563	435	1 618	73,1	73,5	0,4	2,78
50 %								
		5 217	1 419	4 052	65,0			
	2	5 519	1 500	4 286	65,0	64,99	0,0	1,86
		5 097	1 877	3 959	52,6			
	3	5 244	1 972	4 073	51,6	52,1	0,5	1,09
		5 297	1 971	4 114	52,1			
	4	5 400	2 076	4 194	50,5	51,3	0,8	1,05
		5 351	2 218	4 156	46,6			
	6	5 409	2 381	4 201	43,3	45,0	1,7	0,82
		5 214	2 989	4 049	26,2			
	8	5 634	3 055	4 376	30,2	28,2	2,0	0,39
		4 996	2 988	3 880	23,0			
	12	5 141	3 011	3 993	24,6	23,8	0,8	0,31
		5 109	3 329	3 968	16,1			
	16	5 229	3 499	4 061	13,8	15,0	1,1	0,18

\* test suspension volume (0.2 or 0.5 ml)

\* lo = final volume in cuvettes (1ml)

lk<sub>30</sub> = Deviation in percentage, obtained from the mean values of comparative measurements

H<sub>30</sub> = H<sub>30</sub> Deviation in percentage, obtained from the mean values of comparative measurements

EC<sub>20</sub> i EC<sub>50</sub> = values obtained through linear regression

## 6. THE SUSTAINABLE DEVELOPMENT PRINCIPLE

Following the sustainable development principle, particularly with regard to the ecoefficiency requirement, the Rijeka Oil Refinery has reached one of the two goals – increased quality of discharged effluent and marine ecosystem protection.

By applying toxicity tests using photobacteria, a new dimension has been added to the quality determination of marine ecosystems. Through a systematic five-year monitoring of wastewater ecotoxicity, preconditions have been met for identifying the causes of ecotoxicity.

By resuming the achieved results into a single whole, we may claim to have established the following:

- By applying the principle of gradual wastewater treatment technology advancement, certain minor segments of the wastewater treatment plant have been upgraded, using the existing equipment.
- Through innovative approach and use of the refinery's own technological solutions of wastewater treatment, the proper quality of discharged effluent has been maintained.
- Through a constant co-operation with other scientific institutions and faculties, the methodological testing approach has been advanced.
- Team work, joint efforts, knowledge and experience have brought about a better and more efficient protection of the sea and its surroundings.
- Open approach and transparent relations have found an additional way for the company's promotion and increase of its reputation in public and in the business world.

## 7. WHAT COMES NEXT?

- For the purpose of a timely identification of wastewater toxicological aspect and its reduced risk and threat for the aquatic recipients, especially the sea, it is our opinion that several referential methods for ecotoxicity testing must be legally verified, stipulating research, as well as the way of monitoring and processing ecotoxicological parameters as equally valuable as other physical and chemical environmental pollution indicators.
- Appreciating expert and scientific co-operation between industrial polluters and high educational institutions (institutes and faculties), it is necessary to evaluate the needs and the strategic importance of water protection in resolving the issue of a responsible and most of all rational water management in Croatia.
- It is our hope that the so far experience and the results achieved, as well as the available documentation, which have partly been presented here, shall serve as an incentive and encouragement to other polluters to follow us in the achievement of the common goal of timely information and awareness raising of the public.

## 8. CONCLUSION

By summing up all the activities which have so far been realized at the Rijeka Oil Refinery, and with regard to the overall project of monitoring wastewater ecotoxicity, the following has been done:

Defined were significant aspects of production activities - process management, oil processing and production of oil products, storage and transportation, as sources of pollutant emissions interfering with the marine ecosystem, since they may reach and hence threaten it in various ways.

Appreciating sustainable development principles, goals have been set in the water protection segment, together with their implementation programmes, based on the following relations:

Investments = Quality ---- Profit ----- Ecology

Control over the quantity (concentrations) of pollutants in industrial wastewaters has been co-ordinated with stipulations of acts and regulations from the area of water protection (water permits).

With regard to the ecoefficiency parameter, the Rijeka Oil Refinery has pursued and reached the goal of testing the ecotoxicity of treated wastewater using appropriate methodology.

Operational level combined with expert and scientific work may serve in the elaboration of criteria for evaluating the toxicity of industrial wastewaters. The so far five-year results may serve for the elaboration of a proposal of criteria for ecoefficiency evaluation, i.e. definition of limit values consistent with the methodology, wastewater properties and recipient category.

The City of Zagreb Public Health Institute is working on toxicity testing using algae as test organisms. Analyses of refinery wastewaters are currently under way. They have been used as test waters in view of the possibility of data comparison and reaching of relevant conclusions.

By respecting the principles of international standards and applying the ISO 14001 system, it becomes possible to meet the legal requirements, appreciate the requirements of the interested parties, meet customer expectations, and upgrade public reputation.

**Literatura / References:**

1. Smjernice Europske zajednice za ekotoksikološka ispitivanja, 1997., Zagreb
2. DIN 38412-L34; TESTVERFAHREN MIT WASSERORGANISMEN (Gruppe L), Bestimmung der Hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von Photobacterium phosphoreum, 1993.
3. HRN EN ISO 6431:2000; KAKVOĆA VODE–Određivanje inhibicije pokretljivosti Daphnia magna Straus – Test akutne toksičnosti
4. ISO 10523:1995; WATER QUALITY –Marine algal growth inhibition test with Skeletonema costatum and Phaeodactylum tricornutum
5. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17<sup>th</sup> ed. APHA, AWWA, WPCF, Washington D.C. (1989.)
6. L. Dvoraček, B. Stilinović, USPOREDNO ODREĐIVANJE TOKSIČNOSTI INDUSTRIJSKIH OTPADNIH VODA METODOM INHIBICIJE BAKTERIJSKOG RASTA I YTT- TESTOM, Hrvatska vodoprivreda 4, 1997.
7. B. Kolar, EKOTOKSIKOLOŠKI TESTI ZA VREDNOTENJE KVALITETE OTPADNE VODE, Inštitut za varstvo okolja pri Zavodu za zdravstveno varstvo Maribor
8. O.J. Hao, Cheng-Fang Lin, Fu-Tien Jeng, Zen-Chyuan Chen, USE OF MICROTOX TESTS FOR SCREENING INDUSTRIAL WASTEWATER TOXICITY, Elsevier Science, 1996.
9. V. Dragičević, S. Korunić-Košćina, D. Donelli : AROMATSKI UGLJIKOVODICI U OTPADNIM VODAMA RNR, Hrvatski skup kemičara, 1993.g.
10. O. Nikolić, S. Korunić-Košćina, R. Đonlija, R. Domitrović, UNAPRIJEĐIVANJE OBRADA OTPADNIH VODA RAFINERIJE NAFTE KROZ PRINCIPLE ODRŽIVOG RAZVOJA, Gospodarstvo i okoliš, 1997.

ključne riječi:	key words:
628.3 otpadna voda	waste water
577.4 : 615.9 ekotoksičnost	ecotoxicity
543.97 analiza biološkim metodama	analysis by biological methods
543.682 metoda praćenja	method of monitoring

**Autori/Authors:**

Smiljana Korunić-Košćina<sup>1</sup>, dipl.ing., Marija Mioč<sup>1</sup>, dipl.ing.  
Vedranka Bobić<sup>2</sup>, dipl.ing.

<sup>1</sup>INA Rafinerija nafte Rijeka, <sup>2</sup>INA SSRII Zagreb

**Primljeno/Received:**

14.9.2002.