

# Природно преčiшћаванје и стимулирана биоремедијација подземних вода загађених нафтним угљоводоничима; Natural attenuation and enhanced bioremediation of groundwater contaminated by petroleum hydrocarbons

Nenad M. Marić



Дигитални репозиторијум Рударско-геолошког факултета Универзитета у Београду

[ДР РГФ]

Природно пречишћаванје и стимулирана биоремедијација подземних вода загађених нафтним угљоводоничима; Natural attenuation and enhanced bioremediation of groundwater contaminated by petroleum hydrocarbons | Nenad M. Marić | Универзитет у Београду | 2016-09-26 | |

<http://dr.rgf.bg.ac.rs/s/repo/item/0004050>

Дигитални репозиторијум Рударско-геолошког факултета Универзитета у Београду омогућава приступ издањима Факултета и радovima запослених доступним у слободном приступу. - Претрага репозиторијума доступна је на [www.dr.rgf.bg.ac.rs](http://www.dr.rgf.bg.ac.rs)

The Digital repository of The University of Belgrade Faculty of Mining and Geology archives faculty publications available in open access, as well as the employees' publications. - The Repository is available at: [www.dr.rgf.bg.ac.rs](http://www.dr.rgf.bg.ac.rs)

UNIVERZITET U BEOGRADU  
RUDARSKO-GEOLOŠKI FAKULTET

Nenad M. Marić

**PRIRODNO PREČIŠĆAVANJE I  
STIMULISANA BIOREMEDIJACIJA  
PODZEMNIH VODA ZAGAĐENIH  
NAFTNIM UGLJOVODONICIMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2015

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF MINING AND GEOLOGY

Nenad M. Marić

**NATURAL ATTENUATION AND  
ENHANCED BIOREMEDIATION OF  
GROUNDWATER CONTAMINATED BY  
PETROLEUM HYDROCARBONS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

***Mentori:*** dr Petar Papić, redovni profesor  
Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu  
Uža naučna oblast: Hidrogeoeкологија

dr Vladimir Beškoski, docent  
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu  
Uža naučna oblast: Biohemija

***Članovi komisije:*** dr Milenko Pušić, redovni profesor  
Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu  
Uža naučna oblast: Vodosnabdevanje i menadžment  
podzemnih voda

dr Ivan Matić, redovni profesor u penziji  
Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu  
Uža naučna oblast: Hidrogeoeкологија

***Datum odbrane:***

***Datum promocije:***

*majci, ocu i bratu*

*Svaki vid bavljenja istraživačkim radom u našim uslovima smatram privilegijom. Ova prilika ukazana mi je Projektom Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (43004).*

*Mojim mentorima Prof. dr Petru Papiću i Doc. dr Vladimiru Bežkoskom se najiskrenije zahvaljujem na svestranoj pomoći koja je bila od presudnog značaja za završetak doktorskih studija ovom disertacijom. Bez njihove podrške ne bih uspeo da dodem do željenog cilja.*

*Želim posebno da se zahvalim Prof. dr Ivanu Matiću na pomoći tokom istraživačkog rada, bez čije podrške ne bih uspeo da realizujem istraživanja obuhvaćena ovom disertacijom.*

*Prof. dr Milenku Pušiću sam zahvalan na podršci tokom višegodišnje saradnje i retkoj prilici da učim od njega.*

*Pomoć i podrška koju sam imao od strane Prof. dr Miroslava M. Vrvica, dr Mile Ilić, dr Gordane Gojgić-Cvijović i dr Srđana Miletića prevazilaze svaki institucionalni okvir. Zahvaljujem se što su mi otvorili vrata svoje laboratorije od prvog dana saradnje na zajedničkom Projektu.*

*Imao sam zadovoljstvo da saradujem sa većinom profesora i kolega istraživača sa Departmana za hidrogeologiju. Posebno se zahvaljujem dr Jani Štrbački i Ljiljani Vasić na pomoći u fazi obrade podataka i pripremi disertacije.*

*Na iskrenoj prijateljskoj pomoći pri realizaciji terenskih istraživanja zahvalan sam Draganu Miloševiću, Maksimu Pavićeviću, Stefanu Pavliću i Aleksandru Tozevu.*

*Inspiraciju i nepresušni izvor motivacije nalazio sam u životnom i naučnom putu Mihajla Pupina. Zahvaljujem se porodici na podršci i razumevanju.*

*Autor*

## **Prirodno prečišćavanje i stimulirana bioremedijacija podzemnih voda zagađenih naftnim ugljovodonicima**

### **Sažetak**

Disertacija se konceptualno sastoji iz dva dela kojima je obuhvaćen pasivan (prirodno prečišćavanje) i aktivan remedijacioni pristup (stimulirana bioremedijacija) kod podzemnih voda zagađenih naftnim ugljovodonicima.

U prvom delu disertacije prikazani su rezultati osmatranja procesa prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom. Tragovi zagađenja naftnim ugljovodonicima pronađeni su 20 godina nakon prosipanja kerozina. Ovo je stvorilo osnovu za proučavanje efekata dugotrajne izloženosti podzemnih voda procesima biodegradacije u terenskim uslovima. Uočeno je da se snižene koncentracije elektron akceptora ( $O_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ) i povišene koncentracije metaboličkih produkata biodegradacije (Mn, Fe) poklapaju sa najvišim vrednostima parametara organskog zagađenja u podzemnim vodama (Total Organic Carbon - TOC, Total Petroleum Hydrocarbons - TPH). Utvrđen je uticaj aerobne respiracije, redukcije nitrata, redukcije mangana (IV), redukcije gvožđa (III) i redukcije sulfata na hemijski sastav podzemnih voda. Uticaj metanogeneze je utvrđen na osnovu promena u izotopskom sastavu podzemnih voda, koncentracije  $\delta^{13}C_{DIC}$  su za oko 12 ‰ više u zoni pod uticajem biodegradacije u odnosu na ostatak područja istraživanja.

Registrovano zagađenje podzemnih voda ne potiče od aromatičnih jedinjenja (benzena, toluena, etilbenzena, ksilena - BTEX i stirena), već od zasićenih ugljovodonika. Redukcija sulfata kao pojedinačni mehanizam poseduje najveći pojedinačni kapacitet za biodegradaciju komponenti BTEX.

Najvišim koncentracijama TOC odgovaraju višestruko povišene koncentracije Al i  $SiO_2$  u zoni povišene kiselosti pod uticajem biodegradacije naftnih ugljovodonika. Pretpostavljeno je da je dugotrajna izloženost intenzivnim procesima biodegradacije ubrzala rastvaranje silikatnih minerala u vodonosnoj sredini.

Drugim delom disertacije obuhvaćena je primena stimulisane *in situ* bioremedijacije podzemnih voda. Remedijacioni tretman je izveden kombinacijom biostimulacije i bioaugmentacije. Biostimulacija je izvedena dodavanjem hranljivih supstanci i vodonik-peroksida kao hemijskog oksidanta. Bioaugmentacija je izvedena dodavanjem konzorcijuma zimogenih mikroorganizama, prethodno izolovanih iz zagađenih podzemnih voda. Tokom 60 dana tretmana postignuta je potpuna razgradnja svih komponenti zagađenja. Koncentracije naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama na kraju tretmana bile su niže od 0,5 mg/l.

**Ključne reči:** podzemne vode, naftni ugljovodonici, kerozin, prirodno prečišćavanje, stimulisana bioremedijacija

**Naučna oblast:** Geološko inženjerstvo

**Uža naučna oblast:** Hidrogeoeкологија

**UDK:** 628.161.2:547.912(043.3)  
628.112:502.174(043.3)



## Natural attenuation and enhanced bioremediation of groundwater contaminated by petroleum hydrocarbons

### Abstract

This dissertation consists of two parts, a passive (natural attenuation) and an active remediation approach (enhanced bioremediation) for groundwater contaminated by petroleum hydrocarbons.

In the first part of this dissertation, results of the monitoring of natural attenuation processes at a site of historical contamination by kerosene are presented. Traces of petroleum hydrocarbon contamination were found 20 years after the kerosene spill. This provided a basis for the monitoring of long term groundwater exposure to biodegradation processes in field conditions. It was observed that decreased electron acceptor concentrations ( $O_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ) and increased concentrations of metabolic biodegradation products (Mn, Fe) corresponded to the highest values of the organic contamination parameters (Total Organic Carbon - TOC, Total Petroleum Hydrocarbons - TPH) in groundwater. The impact of aerobic respiration, nitrate reduction, reduction of manganese (IV), reduction of iron (III) and sulphate reduction on the chemical composition of groundwater was determined. Methanogenesis impact was determined on the basis of the changes in groundwater isotopic composition.  $\delta^{13}C_{DIC}$  values were 12 ‰ higher in the biodegradation affected zone in comparison to the rest of the study area.

The observed contamination of groundwater did not originate from aromatics (benzene, ethylbenzene, xylene, toluene - BTEX and styrene), but from saturated hydrocarbons. Sulfate reduction had the largest single capacity for the biodegradation of BTEX compounds.

The highest TOC concentrations corresponded to several times increased concentrations of Al and  $SiO_2$  in the zone of elevated acidity affected by biodegradation of petroleum hydrocarbons. It was assumed that long-term exposure to intense biodegradation processes has enhanced the dissolution of silicate minerals from the aquifer.

The second part of this dissertation includes the application of enhanced *in situ* groundwater bioremediation. Remediation treatment was conducted by a combination of biostimulation and bioaugmentation. Biostimulation was conducted by injection of nutrients and hydrogen peroxide as a chemical oxidant. Bioaugmentation was achieved by injection of a zymogenous consortium of microorganisms, previously isolated from the contaminated groundwater. During 60 days of the treatment, complete degradation of all contamination compounds was achieved. The concentration of petroleum hydrocarbons in groundwater at the end of the treatment was less than 0.5 mg/l.

**Key words:** groundwater, petroleum hydrocarbons, kerosene, natural attenuation, enhanced bioremediation

**Scientific field:** Geological engineering

**Special topic:** Hydrogeoecology

**UDC:** 628.161.2:547.912(043.3)  
628.112:502.174(043.3)

## Sadržaj

<b>1.</b>	<b>Uvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Pregled literature .....</b>	<b>3</b>
2.1.	Podzemne vode kao životni resurs .....	4
2.2.	Nafta i njeni derivati .....	6
2.2.1.	Poreklo i sastav sirove nafte .....	6
2.2.2.	Nafta i njeni derivati kao izvori energije .....	9
2.3.	Zagađivanje podzemnih voda naftnim ugljovodonicima .....	11
2.4.	Bioremedijacija .....	16
2.4.1.	Uslovi i tehnologije primene bioremedijacije .....	16
2.4.2.	Procesi prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama .....	20
	2.4.2.1. Preporuke za osmatranje prirodnog prečišćavanja ...	23
	2.4.2.2. Prirodno prečišćavanje kao remedijacioni pristup ...	27
2.4.3.	Stimulisana <i>in situ</i> bioremedijacija podzemnih voda .....	29
2.5.	Mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama .....	33
2.5.1.	Aerobni mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika .....	36
2.5.2.	Anaerobni mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika .....	38
2.5.3.	Osmatranje efekata biodegradacije naftnih ugljovodonika u terenskim uslovima .....	40
<b>3.</b>	<b>Materijal i metode .....</b>	<b>43</b>
3.1.	Uzorkovanje .....	44
3.1.1.	Uzimanje uzoraka za proučavanje prirodnog prečišćavanja .....	44
3.1.2.	Uzimanje uzoraka kod primene stimulisane <i>in situ</i> bioremedijacije podzemnih voda .....	45
3.2.	Analitičke metode .....	47
3.3.	Mikrobiološke metode .....	51
3.4.	Obrada podataka prikupljenih eksperimentalnim putem .....	57
<b>4.</b>	<b>Rezultati i diskusija .....</b>	<b>58</b>
4.1.	Prirodno prečišćavanje na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom .....	59
4.1.1.	Rezultati prethodnih istraživanja na lokaciji u Vitanovcu ....	60
	4.1.1.1. Geološke karakteristike područja istraživanja .....	60
	4.1.1.2. Hidrogeološke karakteristike područja istraživanja.....	62
	4.1.1.3. Rezultati istražnih i sanacionih radova .....	65
4.1.2.	Karakterizacija lokacije istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu .....	71

4.1.2.1.	Fizičko-hemijske karakteristike zagađujuće supstance.....	71
4.1.2.2.	Karakterizacija sedimenata na lokaciji istorijskog zagađenja .....	72
4.1.2.3.	Hemijska i mikrobiološka karakterizacija podzemnih voda na lokaciji istorijskog zagađenja...	76
4.1.2.4.	Uslovi strujanja podzemnih voda na lokaciji istorijskog zagađenja.....	86
4.1.3.	Osmatranje efekata prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama .....	89
4.1.3.1.	Analiza koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije u podzemnim vodama .....	89
4.1.3.2.	Uticaj biodegradacije na promene u izotopskom sastavu podzemnih voda .....	106
4.1.3.3.	Ocena uticaja biodegradacije na rastvorljivost silikata .....	110
4.1.4.	Analiza glavnih oksido-redukcionih procesa u podzemnim vodama.....	113
4.1.5.	Proračun kapaciteta za biodegradaciju BTEX u podzemnim vodama .....	124
<b>4.2.</b>	<b>Stimulisana <i>in situ</i> bioremedijacija podzemnih voda zagađenih naftnim ugljovodonicima .....</b>	<b>133</b>
4.2.1.	Opšte karakteristike područja istraživanja .....	134
4.2.2.	Hemijska i mikrobiološka karakterizacija lokacije zagađene naftnim ugljovodonicima .....	139
4.2.3.	Procena potencijala lokacije za primenu stimulisane <i>in situ</i> bioremedijacije .....	141
4.2.4.	Primena stimulisane <i>in situ</i> bioremedijacije podzemnih voda .....	142
<b>5.</b>	<b>Zaključak .....</b>	<b>149</b>
<b>6.</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>152</b>

## ***1. UVOD***

Narodna poslovice kaže da je "voda ukusna i zdrava ako prođe sedam kamenova". Skrivena poruka ove narodne mudrosti ukazuje na prečišćavajući potencijal sredine kroz koju se podzemne vode filtriraju.

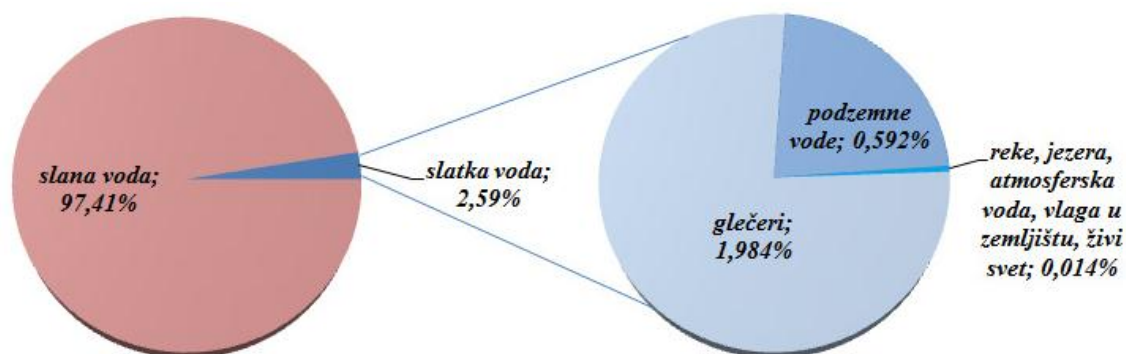
Prirodno prečišćavanje i stimulisana bioremedijacija obuhvaćeni ovom disertacijom predstavljaju samo različite vidove oslanjanja na potencijal izdani da umanju efekte zagađenja naftnim ugljovodonicima. Istraživanja prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama realizovana su na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu kod Kraljeva, dok je stimulisana *in situ* bioremedijacija primenjena na lokaciji fabrike "Nitex" u Nišu.

Rezultati istraživanja na obe lokacije ukazuju na mogućnost korišćenja i stimulacije prirodnih procesa u izdani, kako bi se umanjili efekti zagađenja naftnim ugljovodonicima.

## ***2. PREGLED LITERATURE***

## 2.1. Podzemne vode kao životni resurs

Iako voda pokriva dve trećine planete Zemlje, njena raspodela je krajnje neravnomerna. Tako, slatka voda čini manje od 3 % ukupne količine vode na našoj planeti (slika 2.1). Najveći deo slatke vode nije dostupan za korišćenje, jer se nalazi u obliku leda.



Slika 2.1. Svetska raspodela vode (Speidel and Agnew, 1988)

Ne uzimajući u obzir vodu u čvrstom agregatnom stanju, procenjuje se da podzemne vode čine oko 96 % slatke vode na našoj planeti (Shiklomanov and Rodda, 2003). Na značaj ovog dragocenog resursa ukazuju i sledeći podaci:

- podzemne vode obezbeđuju 25 do 40 % vode za piće na svetskom nivou (Vrba and van der Gun, 2004)
- 38% navodnjavanih površina na svetskom nivou navodnjava se podzemnim vodama (Margat and van der Gun, 2013)

Na nivou zemalja Evropske Unije 75 % stanovništva koristi podzemne voda kao izvor vodosnabdevanja (European Commission, 2008). Prema dostupnim podacima, udeo podzemnih voda u javnom vodosnabdevanju na teritoriji Republike Srbije iznosi između 75 i 80 %.

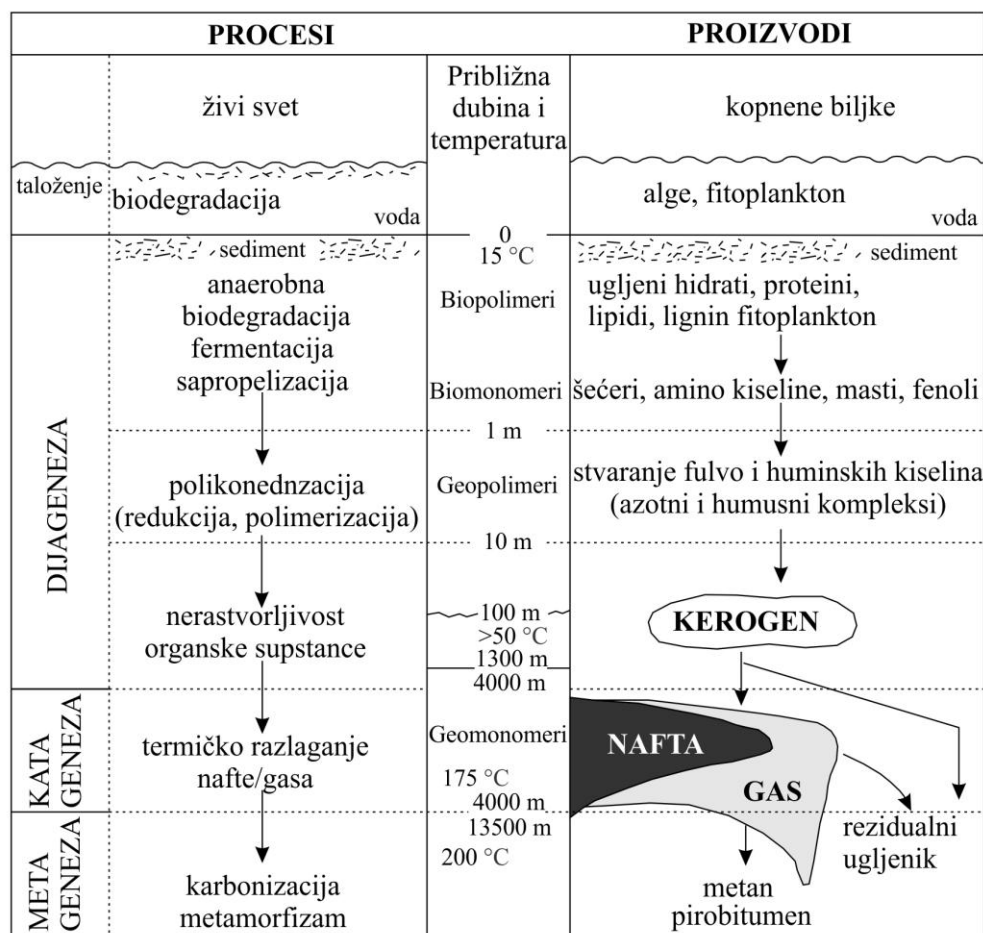


I pored svega navedenog, gazdovanje ovim resursom često nije u skladu sa njegovim značajem. Podzemne vode predstavljaju najeksploatisaniju mineralnu sirovinu na svetskom nivou (Margat and van der Gun, 2013). U uslovima ubrzanog rasta svetske populacije, može se očekivati dodatno oslanjanje na podzemne vode kao izvor vodosnabdevanja. Samim tim, zaštita i očuvanje ovog životnog resursa dobiće još veći značaj.

## 2.2. Nafta i njeni derivati

### 2.2.1. Poreklo i sastav sirove nafte

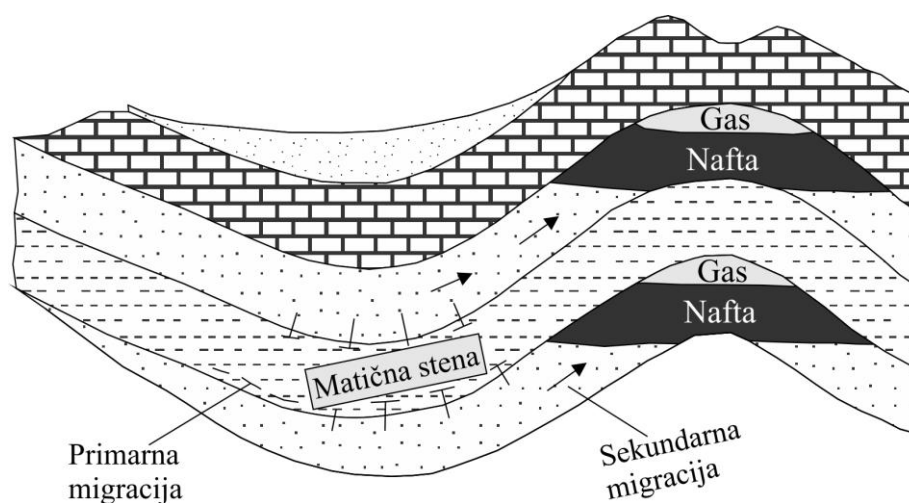
Reč nafta potiče od persijske reči *nafada*, što se može prevesti kao znoj zemlje. Ovaj drevni opis u značajnoj meri odgovara danas široko prihvaćenoj biogenoj teoriji nastanka sirove nafte. U skladu sa ovom teorijom, za naftu se može reći da predstavlja migrirani i akumulirani proizvod dijagenetskih i katagenetskih transformacija organske supstance u sedimentnim stenama (Jovančićević, 1998). Prikaz glavnih procesa i proizvoda transformacija organske supstance dat je na slici 2.2.



Slika 2.2. Procesi i proizvodi dijageneze, katageneze i metageneze (Ercegovac, 2002)

Dijageneza započinje neposredno nakon taloženja sedimenata u vodenoj sredini, u uslovima intenzivne mikrobiološke aktivnosti (Ernst, 1970). Evolucija ovog procesa dovodi do postepenog taloženja povlatnih slojeva i porasta temperature. Najznačajniji proizvod dijagenetske faze transformacije organske supstance jeste kerogen (Wiedemeier et al., 1999). Tokom katagenetske faze u uslovima visokih temperatura dolazi do razlaganja kerogena i nastanka sirove nafte (Dickey, 1986). Smatra se da idealna temperatura za konverziju kerogena u matičnim stenama iznosi od 80 do 150 °C, što u sedimentacionim basenima sa normalnim geotermским gradijentom odgovara dubini od 3 do 4 km (Ercegovac, 2002). Drugi značajan faktor koji utiče na nastanak sirove nafte jeste vreme, tj dužina izloženosti kerogena uslovima pogodnim za njegovu transformaciju. Waples (1985) navodi da se efekti transformacije kerogena tokom 1 miliona godina pri temperaturi od 100 °C, mogu smatrati uporedivim sa procesom trajanja 4 miliona godina pri temperaturi od 80 °C.

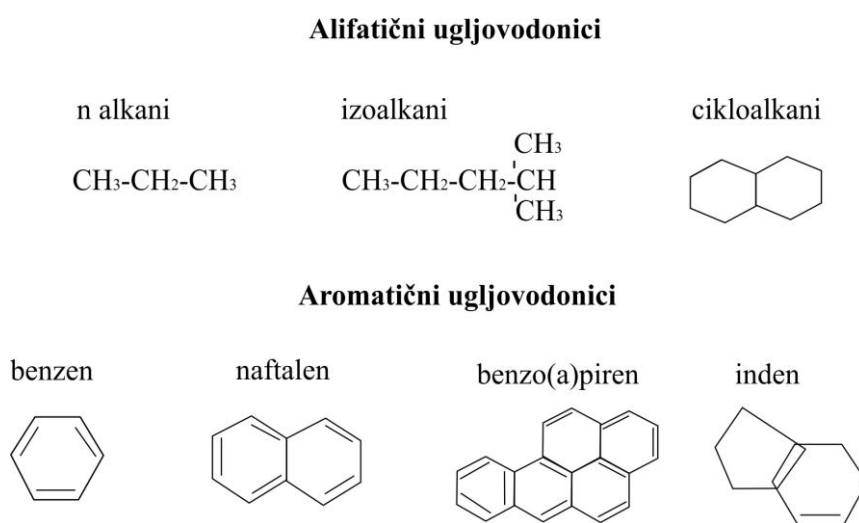
Nakon nastanka u matičnoj steni, pri povoljnim geološkim uslovima dolazi do migracije nafte ka rezervoar stenama. Pod migracijom se podrazumeva kretanje nafte od matične stene kroz porozne i propusne stenske mase do akumulacije u povoljnim geološkim sredinama (Ercegovac, 2002). Primarna migracija podrazumeva oslobađanje ugljovodonika iz matične stene, dok sekundarna migracija podrazumeva kretanje do rezervoar stene (slika 2.3).



Slika 2.3. Nastanak ležišta nafte i gasa (Tissot and Welte, 1978; Ercegovac, 2002)

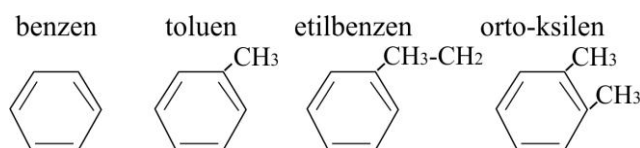
Čak i ovaj pojednostavljeni prikaz ukazuje na kompleksnost procesa nastanka sirove nafte, ništa manje nije složen ni njen hemijski sastav.

U hemijskom sastavu nafte učestvuje preko 600 različitih ugljovodonika (Hunt, 1979). Tipičan uzorak sirove nafte čini 25 % alkana, 50 % cikloalkana, 17 % aromatičnih ugljovodonika i 8 % asfaltena (Fetter, 1999). Tipske strukturne formule odabranih ugljovodonika prikazane su na slici 2.4.



Slika 2.4. Tipske strukturne formule odabranih ugljovodonika (Fetter, 1999)

Među aromatičnim ugljovodonicima najzastupljeniji su monociklični, tako se procenjuje da u aromatskoj frakciji prosečnog uzorka nafte oko 67 % čini benzenska struktura (Kuklinski et al., 1983). Formule monocikličnih aromatičnih ugljovodonika benzena, toluena, etilbenzena i ksilena, u literaturi poznatih pod akronimom BTEX, date su na slici 2.5.



Slika 2.5. Strukturne formule benzena, toluena, etilbenzena i ksilena (Fetter, 1999)

Goriva i maziva koja se dobijaju preradom nafte, iako homogenija po sastavu od sirove nafte, sadrže molekule različitih fizičko-hemijskih karakteristika (Beškoski et al., 2012). Alvarez and Illman (2006) navode da avionsko gorivo u svom hemijskom sastavu ima preko 300 različitih ugljovodonika. Stoga se ova široka grupa ugljovodonika koji potiču iz nafte, u literaturi često naziva naftnim ugljovodonicima.

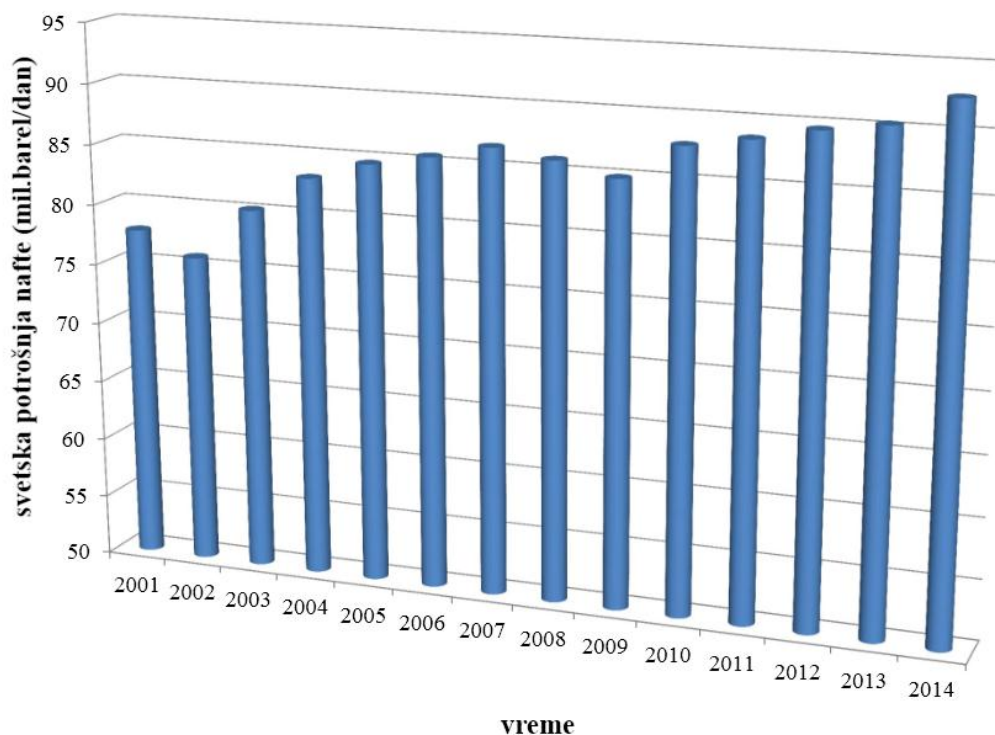
### 2.2.2. Nafta i njeni derivati kao izvori energije

Svoju pravu upotrebnu vrednost nafta je dobila tek pronalaskom motora sa unutrašnjim sagorevanjem. Usledila je velika ekspanzija u upotrebi koja je dovela do neophodnosti izdvajanja različitih derivata iz sirove nafte prema njihovoj nameni. Izdvajanje različitih frakcija iz sirove nafte zasniva se na njihovim različitim tačkama ključanja, postupkom koji se naziva frakciona destilacija. Cilj ovog postupka je dobijanje derivata koji će imati optimalne karakteristike za određenu namenu. Tako benzin sadrži lakše ugljovodonike koji brže sagorevaju pri nižim temperaturama, dok avionsko gorivo ima u sebi komponente viših temperatura ključanja, čijim sagorevanjem se oslobađa više energije. Tipične frakcije nastale destilacijom sirove nafte prikazane su u tabeli 2.1.

Tabela 2.1. Tipične frakcije nastale destilacijom nafte (Jovančićević i Vitorović, 2005).

Frakcija sirove nafte	Broj atoma ugljenika po molekulu	Temperatura ključanja frakcije (°C)
Prirodni gas, butan gas	C <sub>1</sub> - C <sub>4</sub>	< 20
Petroleter, rastvarači	C <sub>5</sub> - C <sub>6</sub>	20-60
Ligroin, rastvarači	C <sub>6</sub> - C <sub>7</sub>	60-100
Benzin	C <sub>5</sub> - C <sub>10</sub>	40-200
Kerozin	C <sub>12</sub> - C <sub>18</sub>	175-325
Gasno ulje, dizel gorivo, ulje za podmazivanje, mazut	> C <sub>12</sub>	250-400
Rafinisana mineralna ulja, lubriknti, maziva	> C <sub>20</sub>	neisparljive tečnosti

Upravo upotreba nafte i njenih derivata omogućila je nagli industrijski i privredni razvoj, pa se za današnju civilizaciju može reći da je zavisna od njenog korišćenja. Dvadeseti vek je u energentskom smislu bio vek nafte, trend porasta potrošnje nastavljen je i u ovom veku (slika 2.6).



Slika 2.6. Potrošnja nafte na svetskom nivou (<http://www.eia.gov>)

Napretkom tehnologije tokom poslednjih par godina došlo do ekspanzije u proizvodnji nafte i gasa iz nekonvencionalnih izvora. Kombinacijom horizontalnog bušenja i hidrauličkog lomljenja stvorena je tehnologija kojom je moguće dobijanje nafte i gasa iz slabije propusnih sedimenata. Ovaj tehnološki postupak je u tolikoj meri izazvao promene u proizvodnji, da 49% od ukupne količine sirove nafte proizvedene u SAD tokom 2014. godine potiče iz nekonvencionalnih izvora energije (<http://www.eia.gov>). U narednom periodu može se očekivati širenje ove tehnologije, što će dodatno povećati potencijal za proizvodnju nafte i njenih derivata na svetskom nivou.

### 2.3. Zagađivanje podzemnih voda naftnim ugljovodonicima

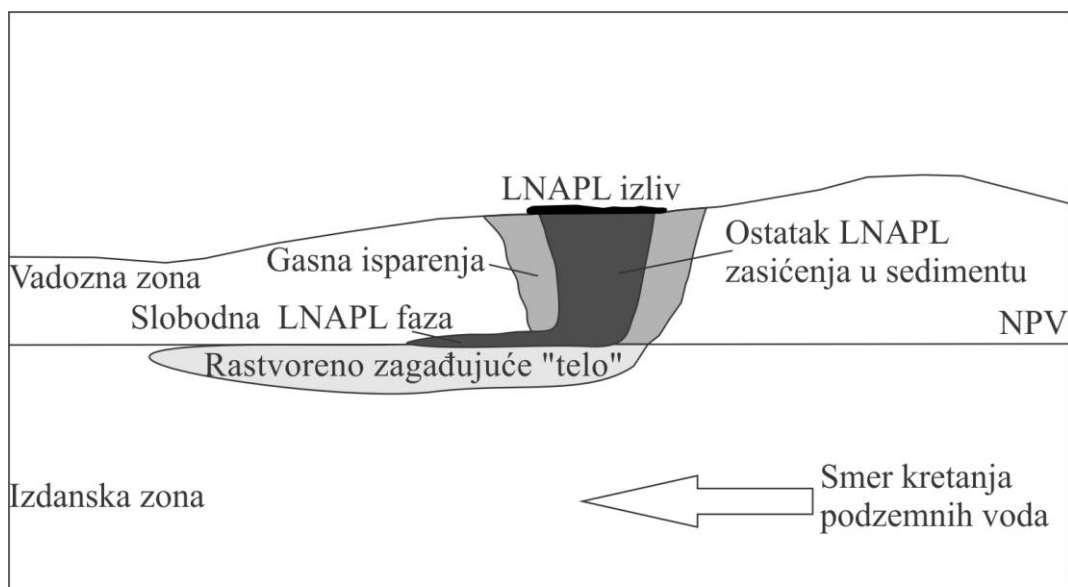
Bez obzira na tehnološki postupak dobijanja, iskustvo pokazuje da široka upotreba nafte i njenih derivata ima štetan uticaj na kvalitet životne sredine, između ostalog i podzemnih voda.

Tokom 80-ih godina prošlog veka postalo je jasno da curenje naftnih ugljovodonika iz podzemnih skladišta i cevovoda ima izrazito negativan uticaj na kvalitet plićih izdani. U.S. NRC (1993) navodi da zagađivanje sedimenata i podzemnih voda usled prosipanja naftnih ugljovodonika predstavlja problem koji narušava kvalitet vode za piće. U periodu od 1994 do 1996. godine na teritoriji SAD prosečno su se dešavala 83 akcidenta prosipanja naftnih ugljovodonika na godišnjem nivou (Delin et al., 1998). Među glavnim izvorima zagađenja podzemnih voda u SAD prvo mesto zauzimaju izlivi iz podzemnih rezervoara (La Grega et al., 1994; U.S. NRC, 1994, 1997; Alvarez and Illman, 2006):

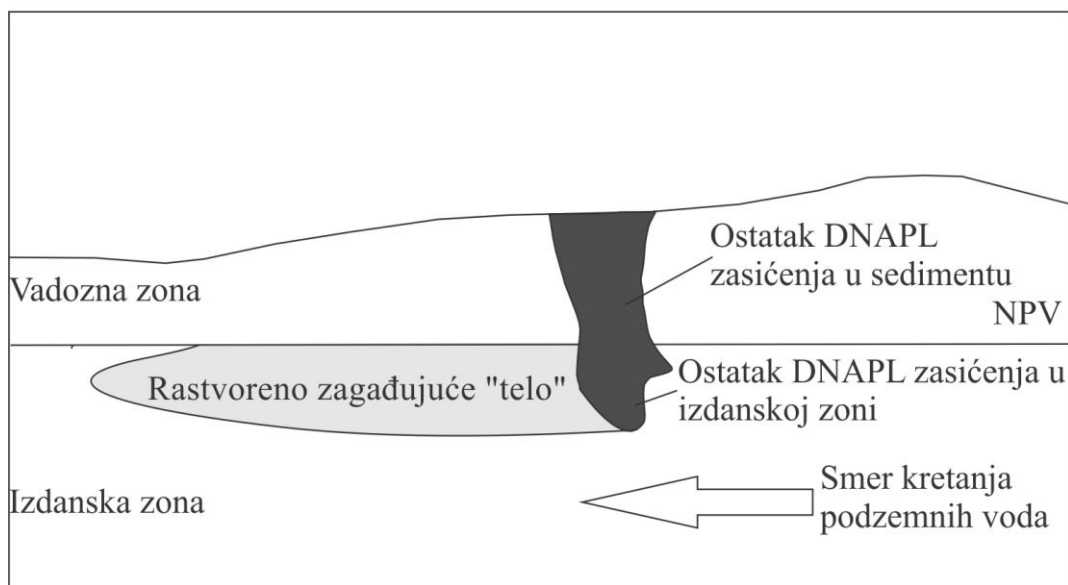
- Podzemni rezervoari (450 000)
- Deponije čvrstog i opasnog otpada (93 000)
- Lokacije za upravljanje opasnim otpadom (18 000)
- Otkrivene površinske jame (180 000)
- Septičke jame (20 miliona)
- Zone intenzivne upotrebe pesticida
- Napuštene naftne bušotine
- Intruzije slane vode duž obale
- Izlivi na površini terena

Veliki broj slučajeva zagađenja naftnim ugljovodonicima dovelo je do intenzivnog proučavanja njihovog "ponašanja" u hidrogeološkoj sredini. U prvom redu naftne ugljovodonike karakteriše jako ograničena rastvorljivost u vodi. S obzirom na velike razlike u pogledu hemijskog sastava, osnovna podela izvršena je na osnovu fizičkih karakteristika. Na osnovu razlike u gustini u odnosu na vodu, izvršena je podela na

lakšu (Light Non-Aqueous Phase Liquid - LNAPL) i gušću nevodenu fazu tečnosti (Dense Non-Aqueous Phase Liquid - DNAPL) - slika 2.7.



(a)



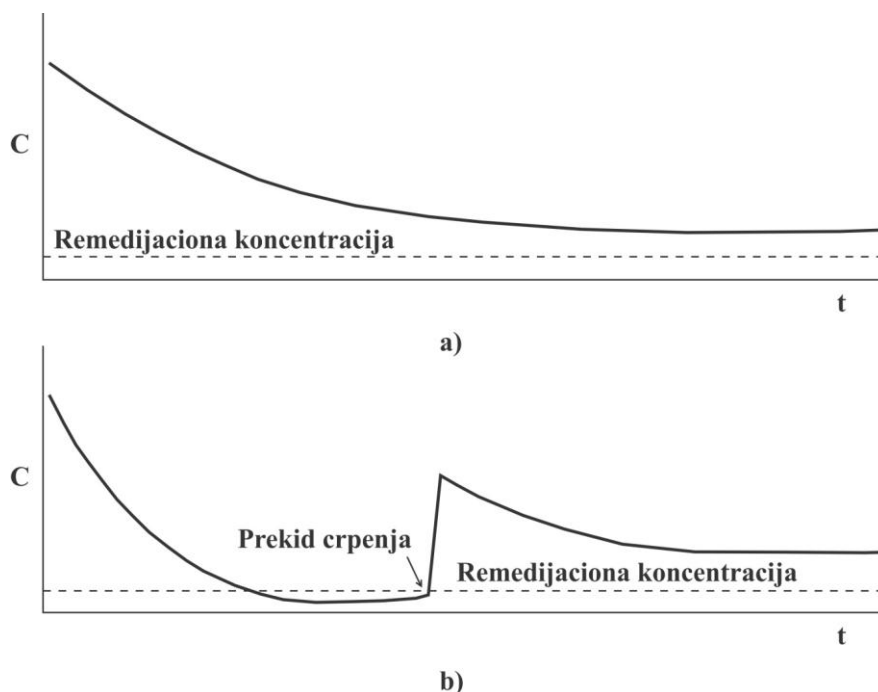
(b)

Slika 2.7. Šematski prikaz migracije (a) LNAPL i (b) DNAPL u podzemlju (Waterloo Centre for Ground Water Research, 1989; Krešić et al., 2006).



DNAPL fazu karakteriše postojanje zone zasićenja u samoj izdani, dok se zona zasićenja LNAPL fazom nalazi u nadizdanskoj zoni. Tako se LNAPL faza razliva po površini izdani, formirajući plutajući sloj u pravcu kretanja podzemnih voda. S obzirom na ograničenu rastvorljivost naftnih ugljovodonika, postojanje zona zasićenja predstavlja potencijalno dugoročan izvor za formiranje zagađujućih "tela" u podzemnim vodama.

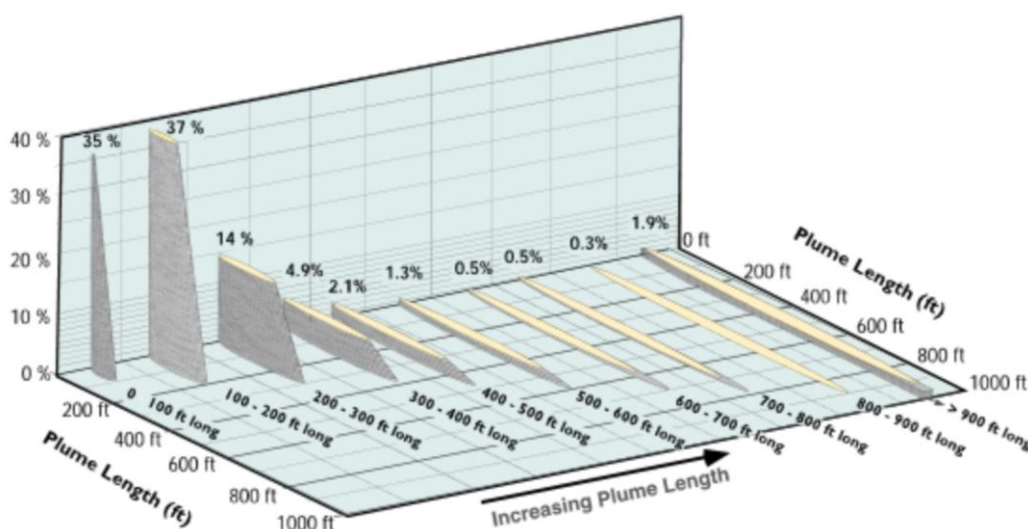
Učestalost i dugotrajnost zagađenja naftnim ugljovodonicima uslovlila je neophodnost razvoja mera remedijacije. Ranu fazu razvoja remedijacionih tretmana uglavnom je karakterisalo oslanjanje na fizičke metode uklanjanja zagađenja. U tom smislu, klasičnim remedijacionim tretmanom uklanjanja naftnih ugljovodnika iz podzemnih voda smatra se metoda "pumpaj i tretiraj". Suština ovog remedijacionog pristupa jeste crpenje zagađenih podzemnih voda i njihovo dalje tretiranje na površini terena. Ipak, brojni slučajevi primene ove remedijacione metode u praksi ukazali su na njenu nedovoljnu efikasnost. Karakteristični prateći efekti primene metode "pumpaj i tretiraj" prikazani su na slici 2.8.



Slika 2.8. Prateći efekti primene metode "pumpaj i tretiraj" u podzemnim vodama zagađenim naftnim ugljovodonicima (Wiedemeier et al., 1999)

Kao što se može videti, nedovoljna efikasnost ove metode najčešće se ogleda u nemogućnosti da se crpenjem koncentracije spuste ispod remedijacionih vrednosti (a) ili "povraćajem" koncentracija zagađenja nakon prestanka crpenja (b).

Jedan od glavnih razloga za oslanjanje na fizičke metode uklanjanja zagađenja bilo je nedovoljno poznavanje mikrobiologije plićih izdani. Chapelle (1999) navodi da su rana istraživanja ukazivala na veliki pad brojnosti bakterija sa dubinom u zemljištu, pa se pretpostavljalo da su pliće izdani većim delom sterilne. Upravo napredak na poljima mikrobiologije i geochemije omogućio je razvoj tretmana za remedijaciju naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama. U prilog ovome išao je i veliki broj slučajeva zagađenja, koji je ukazao i na određene sličnosti u pogledu "ponašanja" naftnih ugljovodonika u podzemlju. Poređenjem podataka sa 604 lokacije zagađene naftnim ugljovodonicima na teritoriji SAD, Newell and Conor (1998) ukazuju da oko 75 % zagađujućih "tela" rastvorenih u podzemnim voda ima dužinu ispod 200 stopa (1 feet = 0,3048 m), odnosno oko 60 m (slika 2.9).



Slika 2.9. Procentualna zastupljenost dužina zagađujućih "tela" rastvorenih naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama (Newell and Conor, 1998)

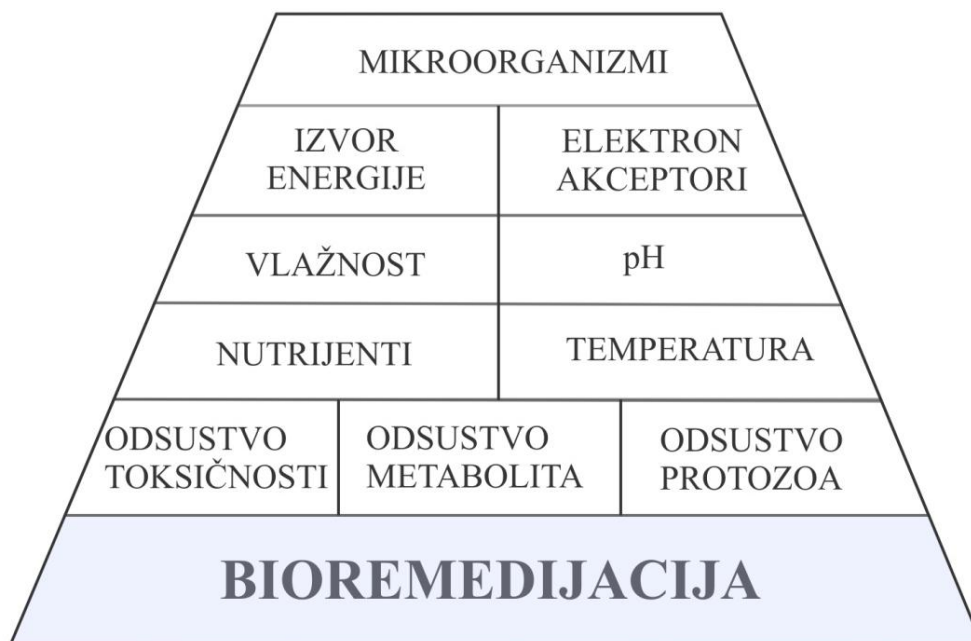
Ovako kratka rastojanja na koje zagađenje stiže ukazuju na značajan stepen interakcije sa sredinom i njen potencijal da umanja efekte zagađenja. Dalji razvoj remedijacionih metoda kod podzemnih voda zagađenih naftnim ugljovodonicima upravo je zasnovan na korišćenju prirodnog potencijala sredine. U tom smislu posebno mesto zauzima bioremedijacija, koja se u literaturi naziva i biotehnologijom životne sredine.

## 2.4. Bioremedijacija

### 2.4.1. Uslovi i tehnologije primene bioremedijacije

Zemljište i površinski sedimenti predstavljaju stanište velikog broja raznovrsnih mikroorganizama, počev od jednostavnih prokariotskih bakterija i cianobakterija do kompleksnih eukariotskih bakterija, algi, gljiva i protozoa (McNabb and Dunlap, 1975; Ghiorse and Wilson, 1988). Značaj ovih mikroorganizama prepoznat je tek u poslednjih par decenija, što je dovelo i do napretka u njihovom izučavanju. Müller (1999) navodi da oko 92 % svih mikroorganizama nastanjuje podzemlje, dok preostalih 8% nastanjuju površine kontinenata i okeane. Rezultati brojnih terenskih i laboratorijskih istraživanja pokazali su da mikroorganizmi prisutni u podzemlju imaju potencijal da vrše degradaciju komponenti benzina, kerozina, dizela i drugih derivata nafte (Wiedemeier et al., 1999).

Pod bioremedijacijom se podrazumeva upotreba živih organizama, prvenstveno mikroorganizama, u cilju degradacije zagađujućih supstanci do manje toksičnih oblika (Ilić, 2011). Počeci bioremedijacije ukazivali su da će veštački sojevi mikroorganizama stvoreni putem genetskog inženjeringa predstavljati njenu osnovu (Chapelle, 1999). Ipak, očekivni uspeh je ubrzo izostao, usled zanemarivanja prirodno prisutnih mikroorganizama na zagađenim lokacijama. Ovakvim pristupom zanemarena je činjenica da mikroorganizmi prirodno prisutni na zagađenim lokacijama najčešće poseduju bolje fiziološke i genetske predispozicije od veštački dodatih sojeva (Alvarez and Illman, 2006). Iskustva brojnih istraživača ukazuju da uspešna primena bioremedijacionih sistema zahteva ispunjenje čitavog niza uslova (slika 2.10). Upravo je napredak na poljima geohemije, mikrobiologije, procesa koji prate transport zagađujuće materije, značajno unapredio sposobnost kontrole i doveo do povećanja efikasnosti u primeni metoda bioremedijacije.



Slika 2.10. Uslovi za primenu metoda bioremedijacije (Cookson, 1995)

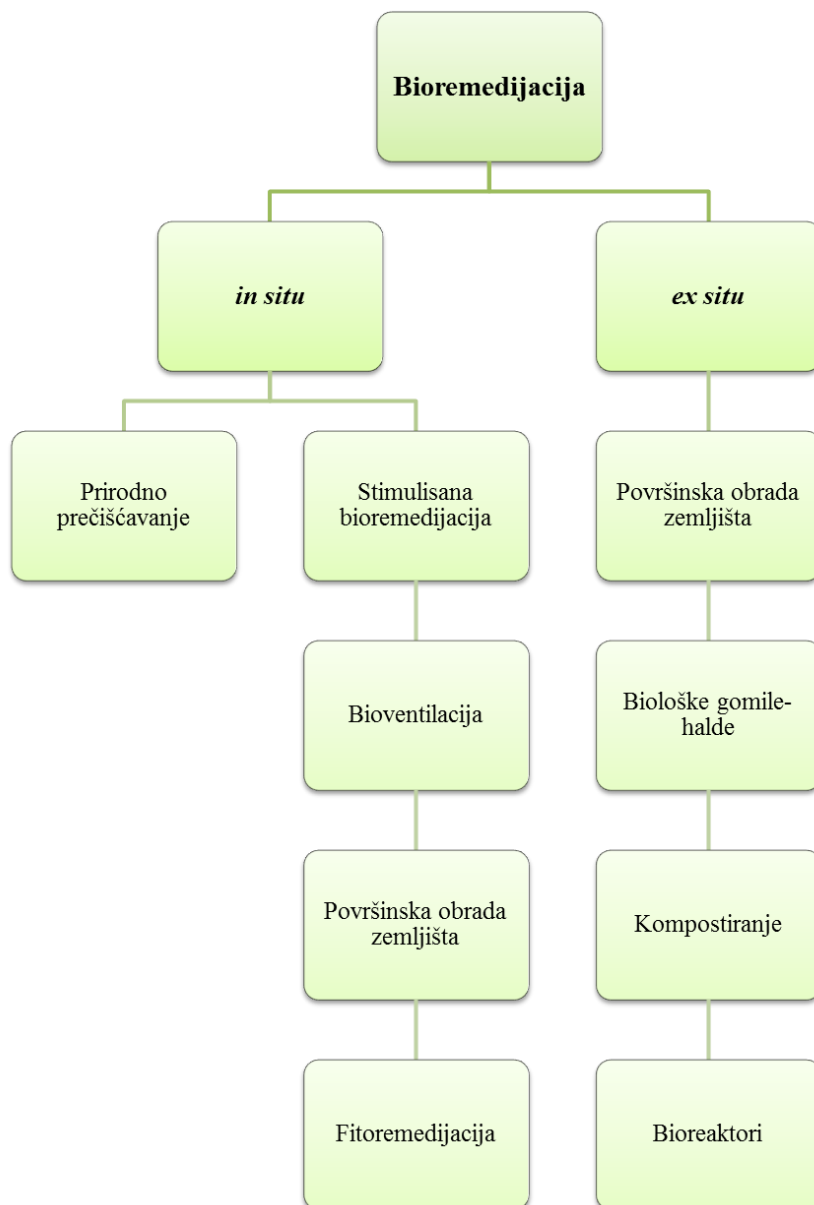
Mikroorganizmi sa metaboličkim kapacitetom da vrše degradaciju zagađenja predstavljaju prvi uslov za primenu bioremedijacije. Energetske potrebe mikroorganizama bazirane su na reakcijama oksido-redukcionog tipa, pri čemu organsko zagađenje predstavlja donor elektrona, dok neorganske komponente predstavljaju elektron akceptore.

Optimalne karakteristike sredine definisane su dovoljnom količinom vlage, prihvatljivom kiselošću sredine, optimalnom temperaturom i dovoljnom količinom hranljivih materija-nutrijenata. Vlažnost mora biti prisutna u toj meri da obezbedi funkcionisanje mikroorganizama, a sa druge strane ne prevelika da bi smanjila prisustvo kiseonika (Alvarez and Illman, 2006). Što se tiče pH vrednosti, optimalne uslove za aktivnost mikroorganizama predstavljaju neutralna do bazna sredina (Chapelle, 2001). Temperatura predstavlja jedan od najznačajnijih faktora sredine koji utiču na rast i razvoj mikrobiološke populacije. Pri višim temperaturama ubrzava se enzimska aktivnost i brzina biodegradacije, dok porast temperature iznad optimalnih vrednosti dovodi do uništenja strukture organskih jedinjenja kao što su enzimi, proteini i njihove neaktivnosti (Wiedemeier et al., 1999). Najveće brzine degradacije se dostižu pri

temperaturama od 30 do 40 °C za zemljište, 20 do 30 °C u slatkovodnim, odnosno 15 - 20 °C u morskim sredinama (Venosa and Zhu, 2003). Kada je reč o neorganskim hranljivim sastojcima, najčešće korišćeni od strane mikroorganizama su ugljenik, fosfor, azot, kao i metali u tragovima. Paul and Clark (1989) navode da odnos C:N:P = 30:5:1 omogućava nesmetan rast mikrobiološke populacije u izdani. Ukoliko je ipak neophodno dodavanje azota, odgovarajućim izvorima za bioremedijacione procese smatraju se amonijum-soli i nitrati (Bento et al., 2005; Chaillan et al., 2006).

Poslednji niz čine faktori koji mogu imati inhibirajuće dejstvo na aktivnost mikroorganizama, pa se kao optimalni uslovi sredine preporučuju: odsustvo visokih koncentracija toksičnih supstanci, odsustvo metabolita i protozoa koje napadaju bakterije. Kao što se može videti, biološki procesi se mogu smatrati zahtevnim u pogledu uslova neophodnih za njihovo odvijanje. U tom smislu neophodno je definisati i poboljšati ograničavajuće uslove sredine, kako bi se zadovoljile potrebe mikroorganizama koji vrše degradaciju.

Osnovna prednost bioremedijacije je u tome što se oslanja na prirodne procese čiji su produkti obično bezopasni, poput ugljen-dioksida, vode i ćelijske biomase (Beškoski et al., 2012). Po okončanju degradacije dolazi do pada brojnosti populacije biorazgrađivača, povratka u stanje slično uslovima pre zagađenja. Primena bioremedijacije često isključuje troškove transporta i odlaganja zagađenog materijala, što je čini jeftinijom u odnosu na druge remedijacione tretmane. Ipak, neophodno je naglasiti da je primena ovih metoda ograničena na jedinjenja podložna biodegradaciji. Zahtevnost bioremedijacije je u tome što podrazumeva razumevanje i prevazilaženje ograničavajućih faktora određene lokacije, što svaki slučaj primene čini jedinstvenim istraživačkim zadatkom. Prikaz bioremedijacionih tehnologija koje se odnose prvenstveno na sedimente i podzemne vode, dat je na slici 2.11.



Slika 2.11. Bioremedijacione tehnologije (Beškoski et al., 2012)

U zavisnosti od mesta primene razlikujemo *in situ* (primena na samoj lokaciji koja je zagađena) i *ex situ* bioremedijaciju (primena van lokacije koja je zagađena). *In situ* metode su uglavnom jeftinije za izvođenje, jer podrazumevaju tretman na lokaciji zagađenja, bez troškova iskopavanja i transporta (Khan et al., 2004; Kostić 2007). Tretman zagađenja može biti izveden kao stimulisan ili pasivan remedijacioni postupak. U tom smislu posebno mesto zauzima prirodno prečišćavanje (eng. natural attenuation), kao pasivan remedijacioni postupak koji ne zahteva ljudsku intervenciju. Kako su uslovi

sredine promenljivi i često nisu optimalni za rast mikroorganizama, primenjuju se različite tehnike koje omogućavaju njihovo poboljšanje. U današnjim uslovima bioremedijaciji pripada oko 25 % svih remedijacionih tretmana (Philp and Atlas, 2005; Alvarez and Illman, 2006). Razvoj i upotreba remedijacionih tehnologija u našoj zemlji je u početnoj fazi. S obzirom na predmet istraživanja u okviru ove disertacije, detaljniji osvrt na prirodno prečišćavanje i stimulisanu *in situ* bioremedijaciju podzemnih voda dat je u tekstu koji sledi.

#### **2.4.2. Procesi prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama**

Istraživanja koja su izvodili Rice et al. (1995), Wiedemeier et al. (1995), Buscheck et al. (1996), Mace et al. (1997) pokazuju da se 85 - 90 % rastvorenih zagađujućih "tela" naftnih ugljovodonika u SAD nalazi u fazi stagnacije ili smanjenja. Wiedemeier et al. (1999) navode da se ovakvi rezultati mogu tumačiti kao posledica dejstva procesa prirodnog prečišćavanja. Prirodno prečišćavanje se oslanja na prirodne procese da bi se postigli ciljevi remedijacije u vremenskom okviru koji je približan drugim aktivnijim metodama (U.S. EPA, 1999). Drugim rečima, prirodno prečišćavanje predstavlja pasivan remedijacioni postupak koji podrazumeva osmatranje procesa, bez njihovog stimulisanja. Prirodno prečišćavanje naftnih ugljovodonika u sedimentima i podzemnim vodama uključuje niz procesa među kojima su biodegradacija, sorpcija, disperzija, advekcija, razblaživanje i isparavanje (Rifai et al., 1995). Prema mehanizmu dejstva, procesi kojima dolazi do prirodnog prečišćavanja se mogu podeliti na destruktivne i nedestruktivne. Biodegradacija predstavlja jedini proces koji dovodi do smanjenja ukupne mase naftnih ugljovodonika (Bollinger et al., 1999). Sa druge strane, advekcija, disperzija i sorpcija su najznačajniji nedestruktivni procesi koji utiču na transport zagađenja u podzemnim vodama. Detaljniji osvrt na biodegradaciju dat je u okviru posebnog poglavlja, dok su pomenuti abiotički procesi prikazani u tekstu koji sledi.



### ***Advekcija***

Advekcija predstavlja transport rastvorene supstance usled kretanja podzemnih voda (Gorelick et. al. 1993). Tako će količina rastvorene supstance koja će biti transportovana zavistiti od njene koncentracije i proticaja podzemnih voda (Fetter, 1999). Kretanjem fronta zagađenja samo pod dejstvom advekcije, došlo bi do njegovog pomeranja bez promene vrednosti koncentracija (slika 2.12). Advekcija predstavlja glavni proces kojim dolazi do transporta zagađenja u izdani, direktno uslovljen brzinom kretanja podzemnih voda.

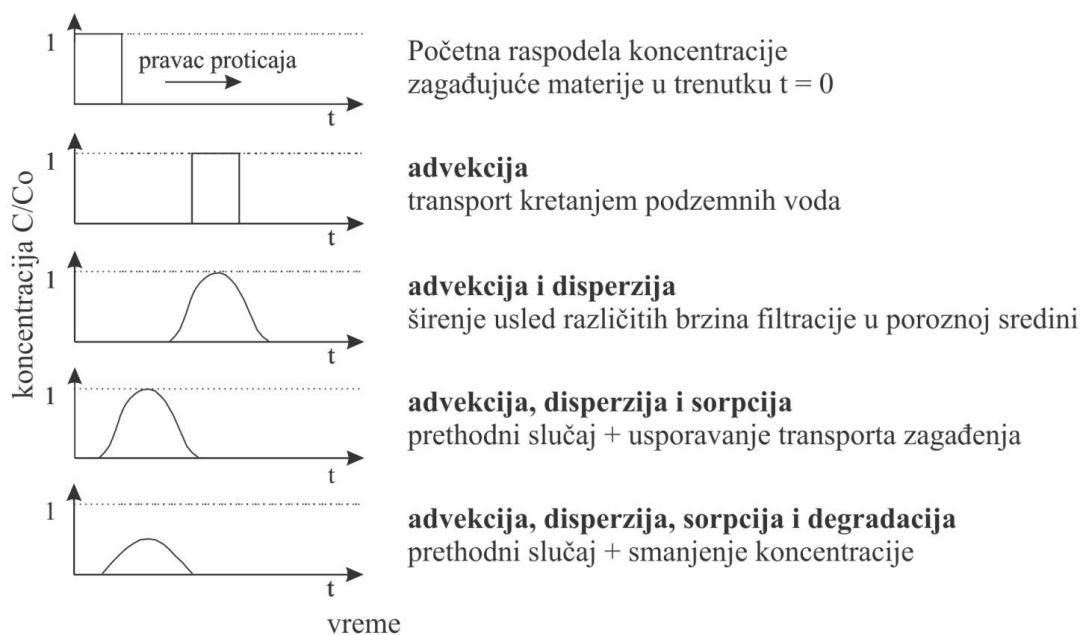
### ***Hidrodinamička disperzija***

Hidrodinamička disperzija predstavlja proces kojim se rastvorena materija rasejava duž toka podzemnih voda (Fetter, 1999). Dva različita procesa uzrokuju hidrodinamičku disperziju: molekularna difuzija i mehanička disperzija. Podzemne vode se kreću različitim brzinama kroz poroznu sredinu čime dolazi do mešanja zagađenih i nezagađenih voda. Ovo mešanje dovodi do razblaživanja fronta zagađenja i naziva se mehaničkom disperzijom (Fetter, 1999). Molekularna difuzija predstavlja težnju rastvora da se proširi iz oblasti veće u oblast manje koncentracije (Wiedemeier et al., 1999). Molekularna difuzija je značajna samo u slučajevima filtracije kroz slabopropusne sedimente, njen uticaj može biti zanemaren pri većim brzinama kretanja podzemnih voda (Davis et al., 1993). Udruženim dejstvom mehaničke disperzije i molekularne difuzije dolazi do prostornog širenja fronta zagađenja u okviru izdani (slika 2.12).

### ***Sorpcija***

Pod sorpcijom podrazumevamo procese kojima se zagađujuća supstanca rastvorena u podzemnoj vodi vezuje za čestice porozne sredine (Wiedemeier et al., 1999). Preciznije, pod ovim terminom podrazumevamo procese adsorpcije i apsorpcije. Adsorpcija predstavlja vezivanje rastvora na površinu čestica (Fetter, 1999), dok apsorpcija predstavlja vezivanje unutar zapremine čestica porozne sredine (Wood et al., 1990).

Iako dejstvom sorpcije ukupna masa i hemijski sastav zagađujuće materije u izdani ostaju nepromenjeni, značaj ovih procesa ogleda se u usporavanju kretanja fronta zagađenja (slika 2.12). Desorpcija predstavlja obrnut proces kojim zagađujuća supstanca prelazi iz čvrste u vodenu fazu. Rezultati brojnih istraživanja ukazuju da je brzina desorpcije višestruko manja u odnosu na sorpciju.



Slika 2.12. Uticaj advekcije, disperzije, sorpcije i degradacije na transport zagađenja u poroznoj sredini (Mersmann, 2003)

### Razblaživanje

Razblaživanje predstavlja proces uslovljen prihranjivanjem podzemnih voda. Značaj prihranjivanja podzemnih voda je u tome što dovodi do razblaživanja zagađenja, kao i što predstavlja doticaj nezagađenih voda, nosioca elektron akceptora (Wiedemeier et al., 1999). Tako prihranjivanje predstavlja proces koji doprinosi povećanju biodegradacionog kapaciteta izdani.

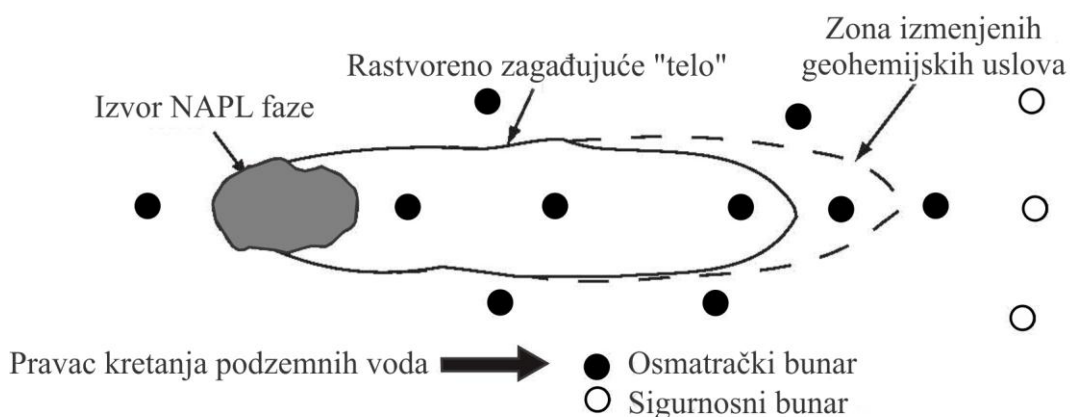
### ***Isparavanje***

Pod isparavanjem podrazumavamo proces prelaska rastvorene zagađujuće supstance iz tečne u gasovitu fazu (Wiedemeier et al., 1999). Chiang (1989) ukazuje da je manje od 5 % rastvorenog BTEX isparilo iz podzemnih voda. Na neznatan uticaj isparavanja na zagađenje rastvoreno u podzemnim vodama ukazuju McCarthy and Johnson (1992), dok Wiedemeier et al. (1999) tvrde da se uticaj ovog procesa može zanemariti.

Iako se pomenuti procesi odvijaju bez neophodnosti intervencije čoveka, primena prirodnog prečišćavanja kao remedijacionog postupka podrazumeva obavezu njihovog osmatranja. Detaljno istraživanje i osmatranje prirodnog prečišćavanja su neophodni u cilju potvrde da je došlo do redukcije zagađenja (US EPA 1999).

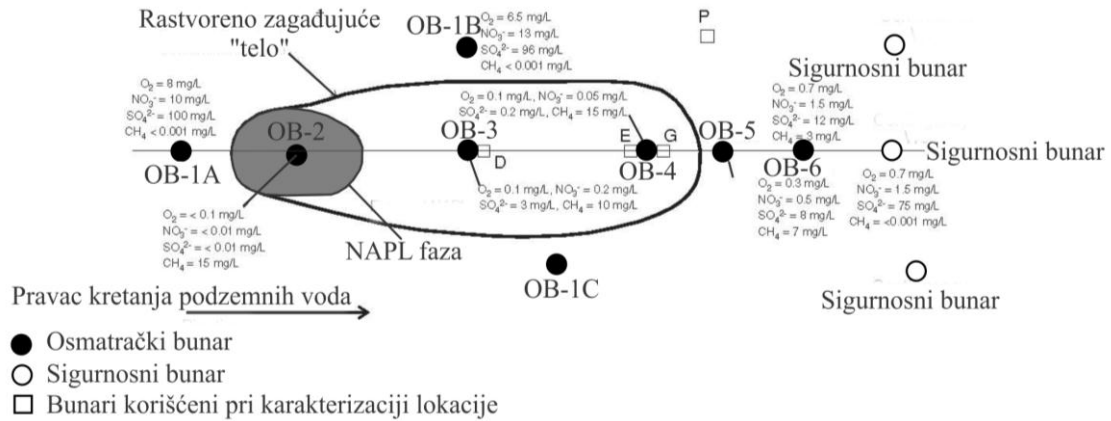
#### **2.4.2.1. Preporuke za osmatranje prirodnog prečišćavanja**

Preporuke za primenu prirodnog prečišćavanja kao remedijacionog postupka u SAD definisane su 1999. godine u okviru direktive U.S. EPA pod nazivom "Use of Monitored Natural Attenuation at Superfund, RCRA Corrective Action, and Underground Storage Tank Sites". Kao što se može zaključiti iz samog naziva, prirodno prečišćavanje kao pasivni remedijacioni postupak podrazumeva neophodnost izvođenja osmatranja. Osnovni razlog sve šire upotrebe prirodnog prečišćavanja u odnosu na druge invazivnije metode remedijacije jeste niža cena. Nedostaci ovog pristupa se ogledaju u dužini trajanja i neophodnosti osmatranja. Prema U.S. EPA (1999), programom osmatranja za svaku lokaciju treba definisati osmatračku mrežu, dimaniku uzorkovanja, tipove uzoraka i merenja. Program osmatranja treba koncipirati na taj način da se obezbedi osmatranje zagađujućeg "tela" u vremenu, sa ciljem da se potvrdi odvijanje procesa prirodnog prečišćavanja brzinom koja je dovoljna da zaštiti nizvodne receptore. Konceptualni pristup kod osmatranja prirodnog prečišćavanja dat je na slici 2.13.

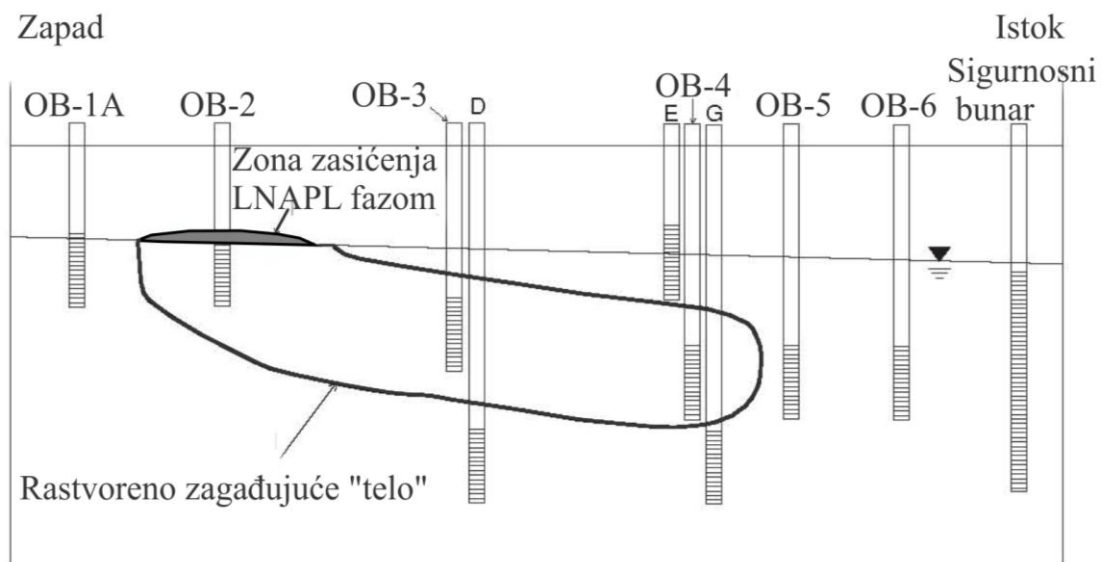


Slika 2.13. Šematski prikaz osmatranja prirodnog prečišćavanja  
(Wiedemeier et al., 2006)

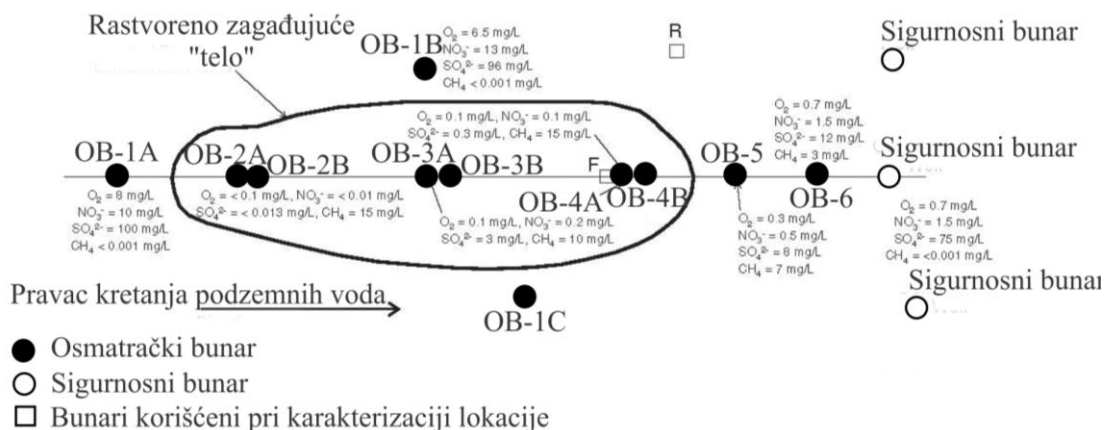
Prema ovom konceptu možemo razlikovati: zonu izvora NAPL faze, zonu rasprostranjenja rastvorenog zagađujućeg "tela" i zonu izmenjenih geohemijskih uslova. Uzorkovanje uzvodno od izvora zagađenja može da ukaže na promene koje bi mogle negativno uticati na stabilnost rastvorenog zagađujućeg "tela". Sa druge strane, osmatračka mreža nizvodno od zone izmenjenih geohemijskih uslova, sadrži i objekte za nepredviđene situacije (tzv. sigurnosne bunare). Šematski prikaz osmatračkih mreža u slučajevima zagađenja podzemnih voda LNAPL i DNAPL fazom dati su na slikama 2.14 - 2.17.



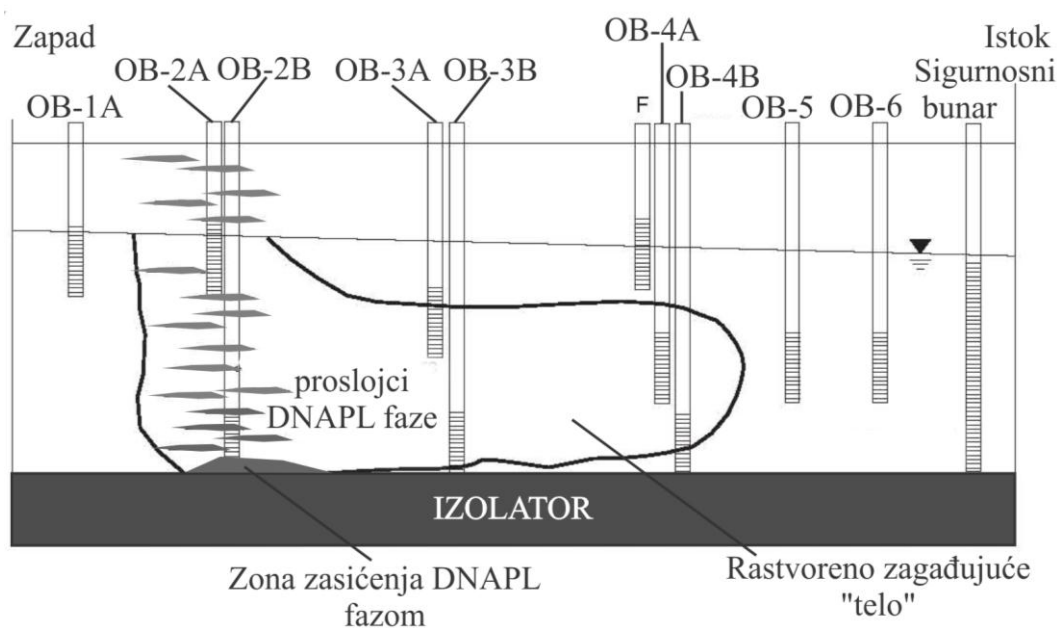
Slika 2.14. Šematski prikaz osmatračke mreže u slučaju zagađenja podzemnih voda LNAPL fazom - prikaz u planu (Wiedemeier et al., 2006)



Slika 2.15. Šematski prikaz osmatračke mreže u slučaju zagađenja podzemnih voda LNAPL fazom - prikaz u profilu (Wiedemeier et al., 2006)



Slika 2.16. Šematski prikaz osmatračke mreže u slučaju zagađenja podzemnih voda DNAPL fazom - prikaz u planu (Wiedemeier et al., 2006)



Slika 2.17. Šematski prikaz osmatračke mreže u slučaju zagađenja podzemnih voda DNAPL fazom - prikaz u profilu (Wiedemeier et al., 2006)

Svrha osmatranja jeste dobijanje potvrde da se prirodno prečišćavanje (posebno degradacija) dešava u skladu sa očekivanjima, kao i pravovremeno sticanje uvida u sve promene koje mogu da umanje efikasnost ovih procesa. Prema Wiedemeier et al. (2006)

kompletan obim parametara koje je neophodno osmatrati u podzemnim vodama, kod prirodnog prečišćavanja naftnih ugljovodonika, čine merenja:

- rastvorenog kiseonika
- nitrata
- gvožđa (II)
- sulfata
- metana
- temperature
- pH vrednosti
- elektroprovodljivosti
- oksido-redukcionog potencijala

Prema istim autorima, skraćeni obim geohemijskih parametara treba da sadrži merenja rastvorenog kiseonika, oksido-redukcionog potencijala, temperature i pH vrednosti. Detaljniji uvid u mehanizme prirodnog prečišćavanja mogu pružiti koncentracije mangana (II), rastvorenog organskog ugljenika, ugljen-dioksida i rastvorenog vodonika, mikrobiološke i izotopske analize (Wiedemeier et al., 2006). Interpretaciju rezultata osmatranja prirodnog prečišćavanja naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama detaljno su razradili Wiedemeier et al. (1995, 1999). Ciljevi koje treba da ispuni osmatranje efekata prirodnog prirodnog prečišćavanja će zavisiti od ciljeva remedijacije. Ovo će u različitim zakonskim regulativama biti različito definisano, suštinski osmatranja su neophodna u cilju zaštite ljudskog zdravlja i životne sredine. Treba imati u vidu da je primena prirodnog prečišćavanja ograničena na slučajeve gde su procesi koji kontrolišu degradaciju dobro poznati i primenjivi bez rizika.

#### **2.4.2.2. Prirodno prečišćavanje kao remedijacioni pristup**

Prema dostupnim podacima, SAD i Kanada su lideri na svetskom nivou u primeni prirodnog prečišćavanja kao remedijacionog tretmana. Tako je u okviru američkog Superfund Programa, u periodu od 1980 od 2010. godine u potpunosti očišćeno 1098 lokacija sa opasnim otpadom (OSWER, 2010). Od ovog broja prirodnom prečišćavanju

kao remedijacionom pristupu pripada 116 slučajeva (U.S. EPA, 2010). Lideri u primeni prirodnog prečišćavanja na nivou Evrope su Belgija, Nemačka i Holandija, u Velikoj Britaniji i Danskoj zabeležen je po jedan slučaj primene, dok u Francuskoj nije zabeležena primena prirodnog prečišćavanja (Declercq et al., 2012). Velike razlike u primeni prirodnog prečišćavanja u Evropi delom su posledica i različite zakonske regulative na nivou zemalja i regiona. Iako još uvek postoje države u kojima prirodno prečišćavanje nije primenjeno (npr. Francuska) ili još uvek nije zakonski prepoznato (npr. Finska), primena ovog remedijacionog pristupa na nivou Evrope je u porastu (Declercq et al., 2012).

Prirodno prečišćavanje nije prepoznato kao remedijacioni tretman u okviru postojeće zakonske regulative u Republici Srbiji. Na osnovu publikovanih podataka, može se reći da su istraživanja prirodnog prečišćavanja u našoj zemlji u početnoj fazi. Deo istraživanja na lokaciji izvorišta "Ratno ostrvo" u Novom Sadu realizovanih u okviru međunarodnih projekata, obuhvatio je istraživanje mogućnosti prirodnog prečišćavanja. Detaljniji prikaz ovih istraživanja dali su Dalmacija et al. (2004). Modelski aspekt prirodnog prečišćavanja detaljnije je u okviru doktorske disertacije prikazao Kaluđerović (2007).

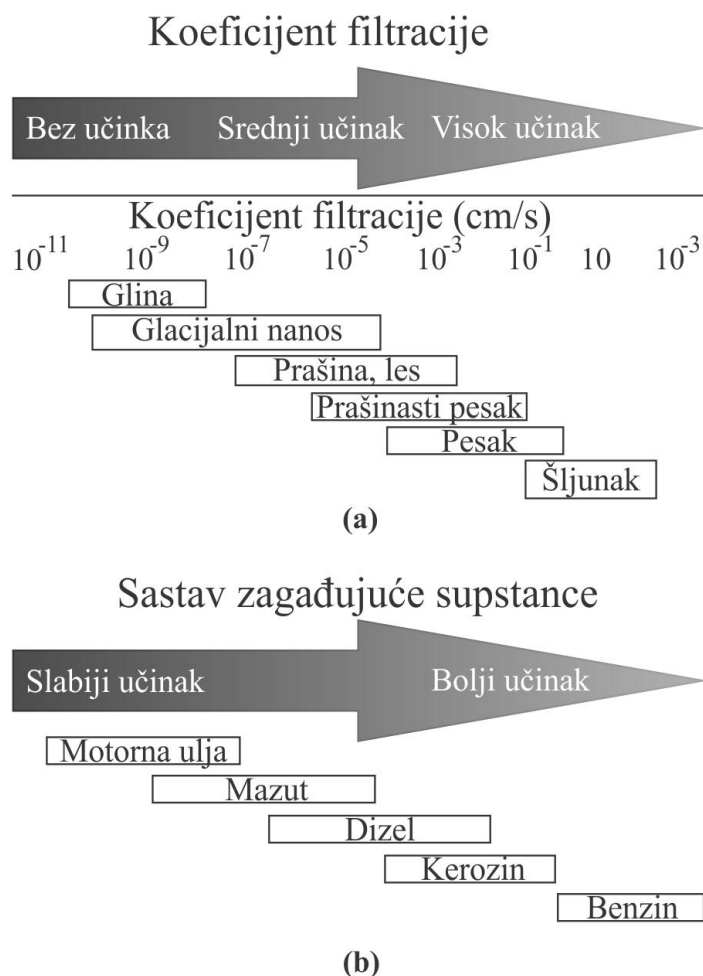


### 2.4.3. Stimulisana *in situ* bioremedijacija podzemnih voda

Cilj ovog tretmana u remedijaciji podzemnih voda jeste da se stimulacijom prevaziđu prirodni ograničavajući faktori sredine koji utiču na biodegradaciju zagađenja. Reč je o aktivnom remedijacinom postupku koji podrazumeva biostimulaciju i/ili bioaugmentaciju (Alvarez and Illman, 2006). Biostimulacija predstavlja znatno češći pristup kada je reč o naftnim ugljovodonicima. Na ovaj način, najčešće povećavanjem oksičnosti sredine, kao i dodavanjem fosfora i azota obezbeđuju se optimalni uslovi sredine za rast autohtonih mikroorganizama.

Pod bioaugmentacijom podrazumevamo dodavanje koncentrovane i specijalizovane populacije mikroorganizama (pojedinačni soj ili mešana kultura-konzorcijum) (Beškoski et al., 2012). U cilju dobijanja što boljih rezultata primenom bioaugmentacije, preporučuje se upotreba mikroorganizama izolovanih iz sedimenata sa zagađene lokacije (Horakova and Nemeč, 2000). Postupak pripreme mešane kulture, njenog umnožavanja i primene na zagađenoj lokaciji se naziva reinokulacija ili autohtona bioaugmentacija (Ueno et al., 2007; Beškoski et al., 2012).

Bez obzira da li se bioremedijacija izvodi biostimulacijom i/ili bioaugmentacijom, biodegradacija predstavlja osnovni mehanizam kojim dolazi do smanjenja zagađujuće supstance. U tom cilju, primeni stimulisane *in situ* bioremedijacije prethodi detaljno istraživanje zagađene lokacije kojim je neophodno utvrditi ograničavajuće faktore nakon čega je moguće pristupiti njihovom prevazilaženju. Uticaj filtracionih karakteristika sredine i karakteristika zagađujuće supstance na potencijalnu efikasnost bioremedijacije prikazana je na slici 2.18.

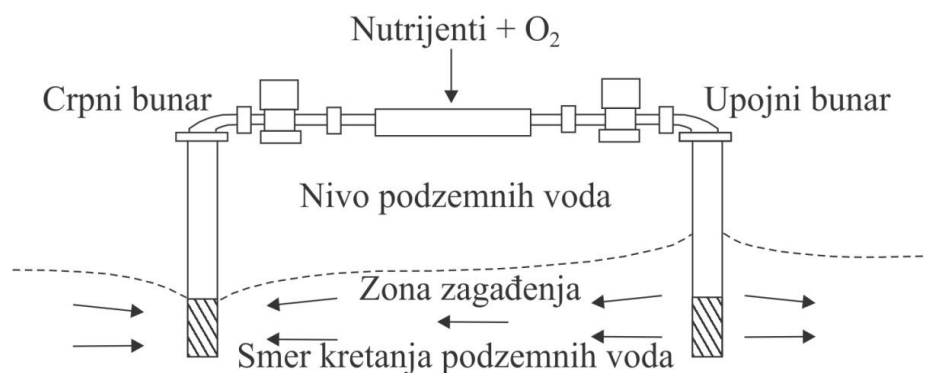


Slika 2.18. Prikaz potencijalne efikasnosti bioremedijacije na lokacijama zagađenim naftnim ugljovodonicima u zavisnosti od: (a) filtracionih karakteristika porozne sredine, (b) karakteristika zagađujuće supstance (Alvarez and Illman, 2006)

Ovakvim pristupom naglašen je značaj koeficijenta filtracije kao parametra koji definiše sposobnost sredine da distribuira nutrijente i elektron akceptore. Sa druge strane, biodegradabilnost je predstavljena kao posledica fizičko-hemijskih svojstava zagađujuće supstance.

Metodu dodavanja nutrijenata i kiseonika u izdan u cilju stimulacije biodegradacije naftnih ugljovodonika patentirao je Ričard Rejmond (Raymond, 1974). Chapelle (1999) navodi da mnogi sistemi za biostimulaciju koji su primenjivani u SAD predstavljaju modifikacije pomenutog patenta. Pored kiseonika, kao najčešći izvori elektron akceptora korišćeni su vodonik-peroksid (Wilson et al., 1994) i nitrati (Hutchins et al.,

1995; Vroblesky et al., 1997). Primena ovih izvora elektron akceptora imala je različitog uspeha, upravo u zavisnosti od filtracionih karakteristika sredine i fizičko-hemijskih karakteristika zagađujuće supstance. Šematski prikaz sistema za biostimulaciju dodavanjem kiseonika i nutrijenata prikazan je na slici 2.19. Glavne prednosti i nedostaci ovog remedijacionog pristupa prikazani su u tabeli 2.2.



Slika 2.19. Šematski prikaz sistema za biostimulaciju dodavanjem kiseonika i nutrijenata (Hughes et al., 2002)

Tabela 2.2. Glavne prednosti i nedostaci sistema za biostimulaciju (U.S. EPA, 1995)

Prednosti	Nedostaci
Široko dostupna i jeftina oprema	Mogućnost začepljenja injekcionih bunara usled mikrobiološke aktivnosti
Kraće vreme remedijacije u poređenju sa konvencionalnim metodama	Nemogućnost primene u sredinama sa $K < 10^{-4}$ cm/s
Nema odlaganja otpada	Visoke koncentracije zagađujuće supstance i njena slabija rastvorljivost mogu učiniti ovaj sistem manje efikasnim
Niža cena koštanja u odnosu na druge tretmane	Neophodnost stalnog nadgledanja i održavanja sistema
Pored zagađujuće supstance rastvorene u vodi, ovim sistemom se tretira i deo zagađenja adsorbovan na česticama materijala porozne sredine	

Parametar koji ima poseban značaj kod projektovanja sistema kojim se pospešuje oksičnost sredine jesu koncentracije gvožđa (II). Injektiranjem kiseonika u podzemnu vodu može doći do reakcije sa rastvorenim gvožđem što dovodi do formiranja

nerastvornog taloga gvožđa (III). Ovo posebno se odnosi na zone oko injekcionih bunara gde su koncentracije kiseonika najveće, pa može značajno otežati rad sistema (tabela 2.3). U toku istražnih radova koji prethode bioremedijaciji nikako ne treba zanemariti određivanje brojnosti mikrobiološke populacije. U.S. EPA (1995) navodi da granična vrednost broja bakterija za uspešnu primenu bioremedijacije, iznosi 1000 CFU/g (Colony Forming Units/g). Ispod ove vrednosti smatra se da su neophodna dodatna istraživanja.

Tabela 2.3. Potencijalni uticaj koncentracija gvožđa u podzemnim vodama na efikasnost rada sistema za biostimulaciju (U.S. EPA, 1995)

Koncentracija Fe <sup>2+</sup> u podzemnim vodama (mg/l)	Efikasnost sistema
Fe <sup>2+</sup> <10	Verovatno efikasan
10<Fe <sup>2+</sup> <20	Neophodno periodično testiranje, čišćenje ili zamena injekcionih bunara
Fe <sup>2+</sup> >20	Nije preporučljivo

Može se reći da se najveći broj primenjenih sistema za bioremedijaciju zasniva na povećanju dostupnosti elektron akceptora i nutrijenata. Dodavanje populacije mikroorganizama u cilju pospešenja biodegradacije u podzemnim vodama predstavlja znatno ređi pristup u remedijaciji. Chappelle (1999) navodi da za razliku od sedimenata, bioaugmentacija u podzemnim vodama nije našla širu primenu. U cilju postizanja što boljih rezultata, novija istraživanja uglavnom teže kombinovanoj primeni biostimulacije i bioaugmentacije. Bez obzira na oblik ljudske intervencije, biodegradacija predstavlja glavni proces kojim dolazi do smanjenja zagađenja naftnim ugljovodonicima u podzemnim vodama.

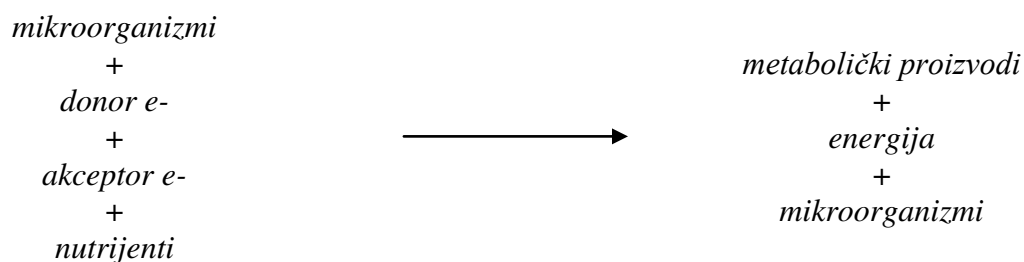
## 2.5. Mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama

U velikom broju slučajeva biodegradacija predstavlja najznačajniji mehanizam kojim dolazi do smanjenja mobilnosti organskog zagađenja rastvorenog u podzemnim vodama (U.S. NRC, 1993). Ovo je posledica toga što organsko zagađenje predstavlja supstrat za rast mikroorganizama, pa se tako naftni ugljovodonici razgrađuju do netoksičnih supstanci i na kraju mineralizuju, odnosno prevode do ugljen-dioksida i vode (Aleksander, 1999; Das and Chandran, 2011). U tom smislu mikroorganizmi koriste različite ugljovodonike kao izvor energije, ugljenika, azota i sumpora (Beškoski et al., 2012).

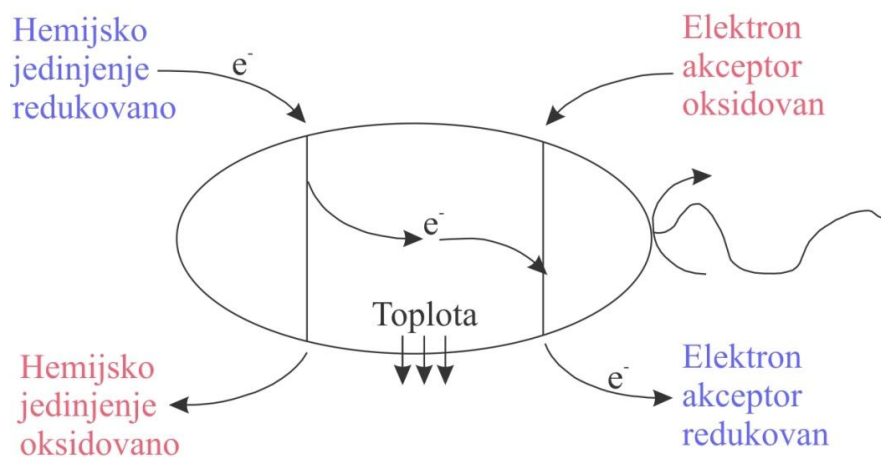
Značajan ograničavajući faktor koji utiče na odvijanje biodegradacije jeste oblik u kom je zagađujuća supstanca prisutna u podzemlju, neophodno je da bude rastvorena u podzemnoj vodi kako bi došlo do interakcije sa mikroorganizmima. Istovremeno, brzina biodegradacije je direktno uslovljena fizičko-hemijskim karakteristikama ugljovodonika koji dospeju u podzemlje. Kao opšta zakonitost uzima se da brzina biodegradacije opada u sledećem nizu: n-alkani > račvasti alkani > račvasti alkeni > n-alkil aromatična jedinjenja male molekulske mase > aromatična jedinjenja sa jednim prstenom > ciklični alkani > policiklični aromatični ugljovodonici >> asfalteni (Peters et al., 2005; Ward et al., 2009; Jovančićević et al., 2007; Šolević et al., 2011).

Dominantni rodovi mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike nafte su: *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium* i *Bacillus*; kod kvasaca: *Rhodotorulla*, *Candida*, *Sporobolomyces* i *Aureobasidium*; kod plesni: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* i *Phanerochaete* (Balba et al., 1998; Cerniglia and Sutherland, 2001; Kuhad and Gupta, 2009; Rahman et al., 2003).

Wiedemeier et al. (1999) daju opštu jednačinu biodegradacije:



Energetski okvir za mikrobiološku aktivnost predstavljaju oksido-redukcione reakcije, kojim dolazi do oksidacije organske zagađujuće supstance (otpuštanje elektrona), dok se elektron akceptor redukuje (slika 2.20).



Slika 2.20. Šematski prikaz oksido-redukcione reakcije (Alvarez and Illman, 2006)

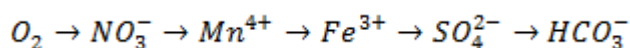
Prema ovoj postavci, zagađujuća supstanca predstavlja elektron donor. Elektron akceptori predstavljaju neorganske komponente koje imaju mogućnost primanja elektrona otpuštenih od strane drugih jedinjenja (U.S. EPA, 2012). Kako aktivnost mikroorganizama podleže u potpunosti zakonima termodinamike, u cilju dobijanja energije mikroorganizmi vrše sparivanje reakcije oksidacije naftnog ugljovodonika sa redukcijom elektron akceptora (Wiedemeier et al., 1999). U tom cilju neophodno je spariti endotermnu reakciju (oksidacija elektron donora) sa egzotermnom reakcijom (redukcija elektron akceptora). Što je veća razlika u energetsom potencijalu elektron donora i akceptora, vrednost Gibsove energije ( $\Delta G^\circ(W)$ ) će biti negativnija, što znači da

se pri reakciji oslobađanja više energije (tabela 4). Generalno, u slučajevima kada ne postoje ograničenja u prisustvu elektron donora i akceptora, reakcije će se odvijati tako da one pri kojima se oslobađa više energije imaju prednost nad onima koje su niže energetske vrednosti (Stumm and Morgan, 1981).

Tabela 2.4. Gibsova energija različitih mehanizama oksidacije organskog ugljenika (Christensen et al., 2000)

Proces	Reaktant	Produkt	$\Delta G^\circ(W)$ (kJ ekv <sup>-1</sup> )
Aerobna respiracija	$\frac{1}{4} \text{CH}_2\text{O} + \frac{1}{4} \text{O}_2$	$\frac{1}{4} \text{CO}_2 + \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$	-125
Denitrifikacija	$\frac{1}{4} \text{CH}_2\text{O} + \frac{1}{5} \text{NO}_3^- + \frac{1}{5} \text{H}^+$	$\frac{1}{4} \text{CO}_2 + \frac{1}{10} \text{N}_2 + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$	-119
Redukcija mangana	$\frac{1}{4} \text{CH}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{MnO}_2 + \frac{1}{2} \text{HCO}_3^- + \frac{1}{2} \text{H}^+$	$\frac{1}{4} \text{CO}_2 + \frac{1}{2} \text{MnCO}_3 + \frac{3}{4} \text{H}_2\text{O}$	-98
Redukcija gvožđa	$\frac{1}{4} \text{CH}_2\text{O} + \text{FeOOH} + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	$\frac{1}{4} \text{CO}_2 + \text{FeCO}_3 + \frac{7}{4} \text{H}_2\text{O}$	-42
Redukcija sulfata	$\frac{1}{4} \text{CH}_2\text{O} + \frac{1}{8} \text{SO}_4^{2-} + \frac{1}{8} \text{H}^+$	$\frac{1}{4} \text{CO}_2 + \frac{1}{8} \text{HS}^- + \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$	-25
Redukcija ugljen dioksida /fermentacija metana	$\frac{1}{4} \text{CH}_2\text{O}$	$\frac{1}{8} \text{CO}_2 + \frac{1}{8} \text{CH}_4$	-23

Imajući u vidu energetske vrednosti pomenutih reakcija, Alvarez and Illman (2006) daju klasičan redosled korišćenja elektron akceptora od strane mikroorganizama:

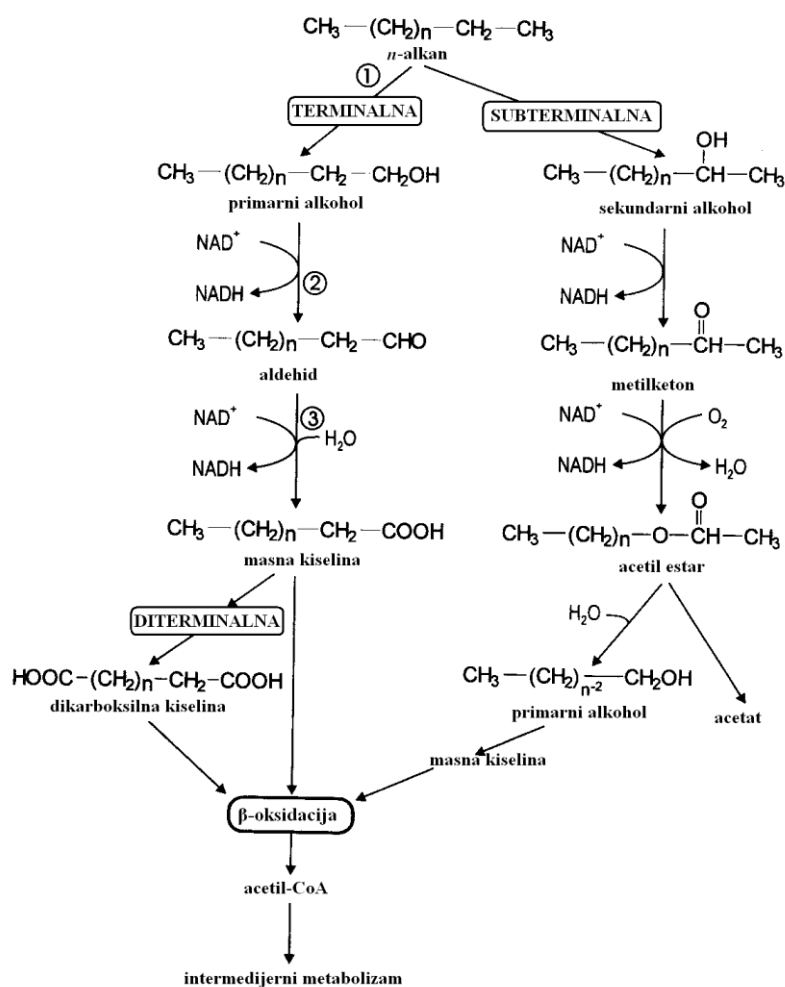


Tako molekularni kiseonik predstavlja primarni elektron akceptor kojim mikrobiološka zajednica dobija najviše energije, što daje prvenstvo aerobnoj biodegradaciji. Dalji razvoj anoksičnih uslova dovodi do biodegradacije naftnih ugljovodnika anaerobnim mehanizmima, čiji je redosled: denitrifikacija - redukcija mangana (IV) - redukcija gvožđa (III) - redukcija sulfata - metanogeneza.

### 2.5.1. Aerobni mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika

Najbrže razlaganje većine organskih zagađujućih supstanci se odvija u aerobnim uslovima, pri kojima ćelija dobija najviše energije (Venosa and Zhu, 2003). Početna biohemijska reakcija kod biodegradacije u aerobnim uslovima je ugrađivanje molekuskog kiseonika mono i dioksigenazama, a zatim prevođenje nastalih proizvoda u intermedijere centralnih metaboličkih putanja (Beškoski et al., 2012). Drugim rečima, mikroorganizmi vrše sintezu enzima koji transformišu organsko jedinjenje do oblika koji je moguće uklopiti u njihov metabolizam. U cilju sticanja uvida u složenost degradacije koja se odvija dejstvom mikroorganizama, na slici 2.21 je prikazan mehanizam razgradnje *n*-alkana (C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>). Bez ulaženja u detalje prikazanog mehanizma, svaki od prikazanih koraka karakteriše niz transformacija tokom kojih dejstvom enzima (1. *n*-alkan monooksigenaza; 2. alkohol dehidrogenaza; 3. aldehid-dehidrogenaza) nastaju različiti međuproizvodi (primarni alkohol, aldehid, masna kiselina).



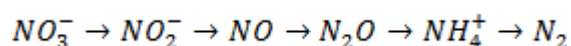


Slika 2.21. Periferni putevi degradacije alkana  
(Fritsche and Hofrichter, 2000; Ilić, 2011).

Posmatrano na nivou procesa zagađivanja podzemnih voda naftnim ugljovodonicima, preduslov za odvijanje biodegradacije u aerobnim uslovima predstavljaju koncentracije rastvorenog kiseonika iznad 0,5 mg/l (Wiedemeier et al., 1999). Kada je reč o plićim izdanima, ovaj uslov se u većini slučajeva može smatrati ispunjenim. Nakon dospeća zagađenja u izdan dolazi do promene ovih početnih uslova, što se ogleda u padu koncentracije rastvorenog kiseonika u podzemnim vodama. Borden and Bedient (1986) navode da je brzina biodegradacije u aerobnim uslovima više ograničena koncentracijama kiseonika nego nutrijenata. Iscrpljivanjem rastvorenog kiseonika u izdani, dominantnu ulogu u biodegradaciji naftnih ugljovodonika preuzimaju anaerobni mikroorganizmi.

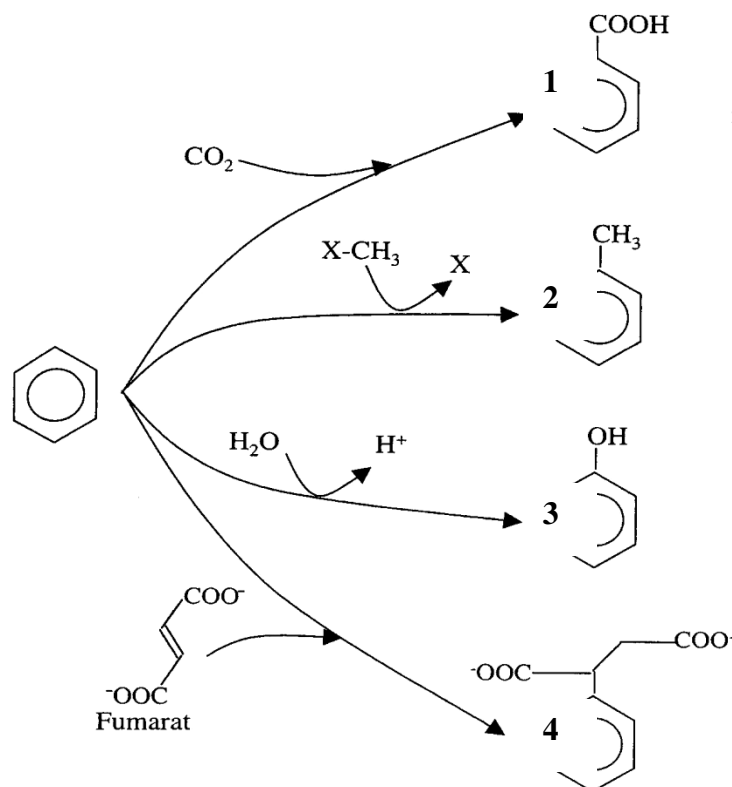
### 2.5.2. Anaerobni mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika

Anaerobni mehanizmi razgradnje su posebno važni za prečišćavanje podzemnih voda s obzirom na anoksične uslove koji u zasićenoj zoni obično vladaju (Wiedemeier et al., 1999). Ipak, tek novija istraživanja ukazuju na puni značaj biodegradacije u anaerobnim uslovima. Kao što je veće rečeno, u zavisnosti od prisustva elektron akceptora biodegradacija u anaerobnim uslovima će se odvijati sledećim redosledom: denitrifikacija - redukcija mangana (IV) - redukcija gvožđa (III) - redukcija sulfata - metanogeneza. Uslov za prelazak na sledeći elektron akceptor jeste redukcija prethodnog energetski višeg. Tok redukcije jednog od elektron akceptora prikazan je na primeru redukcije nitrata (von Gunten and Zorbist, 1993):



Chapelle (1993) ukazuje da svaki od prikazanih koraka pri redukciji nitrata katalizuju različiti mikroorganizmi. Složenost biodegradacije u anaerobnim uslovima može se videti samo na primeru početnog koraka - aktivacije benzenovog prstena (slika 2.22). Ovaj početni korak može da se odvija jednom od četiri enzimske reakcije (Foght, 2008; Ilić, 2011):

- direktnom karboksilacijom, koja može da predstavlja reakciju (2), praćenu reakcijom (1);
- metilacijom nesupstituisanih aromatičnih jedinjenja;
- hidroksilacijom alkil-supstituenta putem dehidrogenaze;
- adicijom fumarata, katalizovanom glicilradikal-enzimom, pri kojoj nastaju aromatično-supstituisani sukcinati;



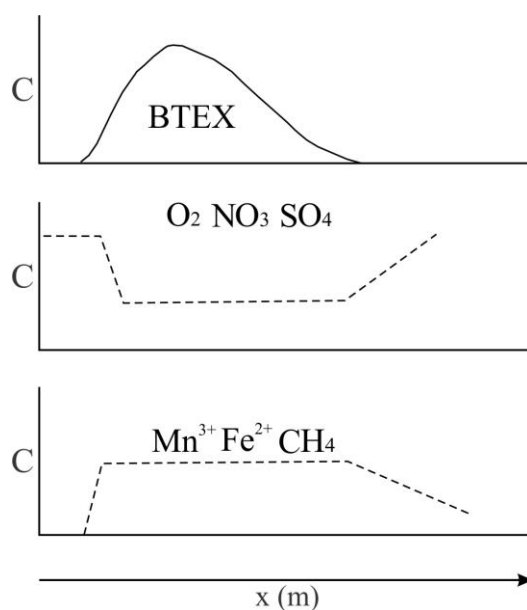
Slika 2.22. Četiri mehanizma aktivacije benzenovog jezgra: 1: karboksilacija; 2: metilacija; 3: hidroksilacija; 4: adicija fumarata (Foght, 2008; Ilić, 2011)

Posmatrano na nivou procesa zagađivanja podzemnih voda naftnim ugljovodonicima, postojanje redosleda u korišćenju elektron akceptora pruža mogućnost za osmatranje efekata različitih mehanizama anaerobne biodegradacije. Svaki od pomenutih mehanizama dovodi do promena u hemijskom sastavu podzemnih voda, čije osmatranje pruža uvid u tok kojim se odvija biodegradacija. S obzirom na hemijski sastav podzemnih voda, potencijal anaerobnih mehanizama biodegradacije u odnosu na aerobne je daleko veći.

### 2.5.3. Osmatranje efekata biodegradacije naftnih ugljovodonika u terenskim uslovima

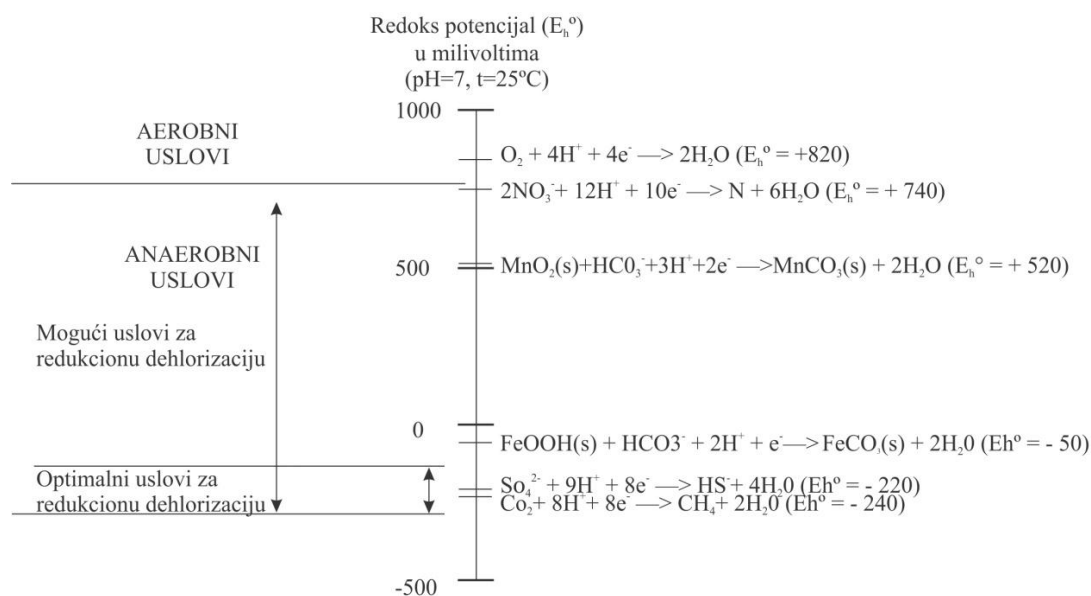
U skladu sa preporukama U.S. EPA (1999) osmatranje efekata biodegradacije naftnih ugljovodonika u terenskim uslovima može uključiti tri nivoa podataka. Prvi nivo čine promene koncentracija zagađujuće supstance u vremenu. Ovakvim pristupom stiče se osnova za ocenu da li dolazi do smanjenja zagađenja u konkretnim terenskim uslovima.

Drugi nivo podataka uključuje parametre koji ukazuju na konkretne mehanizme biodegradacije koji dovode do smanjenja zagađenja. Imajući u vidu preporuke koje su dali Wiedemeier et al. (2006), osmatranjima je prvenstveno neophodno obuhvatiti koncentracije elektron akceptora (rastvorenog kiseonika, nitrata, sulfata) i metaboličkih produkata biodegradacije (mangana (III), gvožđa (II), metana). Šematski prikaz trenda u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije u podzemnim vodama usled prisustva BTEX zagađujućeg "tela", dat je na slici 2.23.



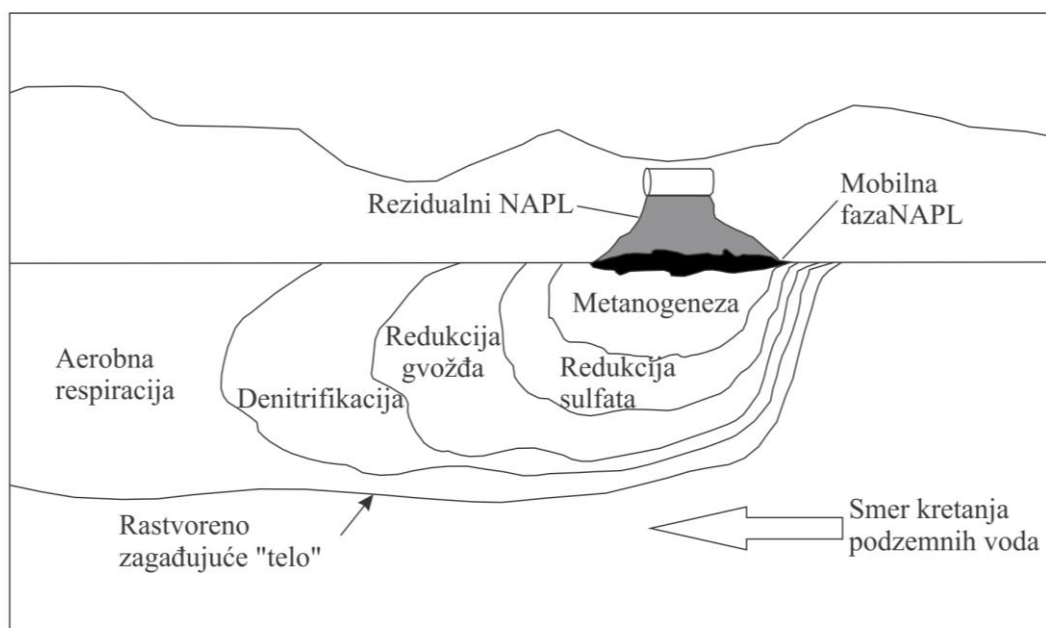
Slika 2.23. Trendovi u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije uslovljeni prisustvom BTEX zagađujućeg "tela" (Newell et al., 1996)

U skladu sa ovim prikazom, u zoni zagađenja mogu se očekivati snižene koncentracije elektron akceptora i povišene koncentracije metaboličkih produkata biodegradacije. Pored promena u hemijskom sastavu, usled dejstva biodegradacije moguće je detektovati promene u redoks potencijalu podzemnih voda. Dejstvo mikroorganizama dovodi do smanjenja vrednosti oksido-redukcionog potencijala u vremenu, čime postaju sve izraženiji anoksični uslovi sredine (slika 2.24).



Slika 2.24. Vrednosti oksido-redukcionog potencijala za različite reakcije biodegradacije (Bouwer, 1994)

U literaturi koja razmatra ovu problematiku prihvaćeno je da se pod terminalnim elektron akceptorskim procesima (TEAP) podrazumevaju reakcije koje oslikavaju glavne oksido-redukcione procese, čime se ne uzima u obzir celokupan lanac transfera elektrona. Vroblevsky and Chapelle (1994) su pokazali da su TEAP prostorno i vremenski promenljivi u okviru zagađujućeg "tela". Šematski prikaz prostornog rasporeda zona TEAP dat je na slici 2.25.



Slika 2.25. Šematski prikaz prostornog rasporeda zona TEAP na lokaciji zagađenoj naftnim ugljovodonicima (Alvarez and Illman, 2006)

Tako su anoksični uslovi najbliži izvoru zagađenja, udaljavanjem od izvora oksičnost raste, da bi se na određenom udaljenju odvijala aerobna respiracija. Reč je o šematskom prikazu kojim su zanemarene osobnosti režima podzemnih voda. Suština ovog pristupa je da ukaže na zone u kojima preovlađuju određeni oksido-redukциони procesi, koji dovode do smanjenja zagađenja naftnim ugljovodonicima.

Treći nivo podataka, koji predstavlja dodatnu potvrdu o uticaju biodegradacije na koncentracije naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama, mogu činiti mikrobiološke i izotopske analize, različite hemijske tzv. fingerprint tehnike (Alvarez and Illman, 2006). U.S. EPA (1999) preporučuje prikupljanje prvog i drugog nivoa podataka na zagađenim lokacijama. Treći nivo nije obavezujući ukoliko rezultati prethodna dva pružaju uvid o uticaju biodegradacije.

### ***3. MATERIJAL I METODE***

## 3.1. Uzorkovanje

### 3.1.1. Uzimanje uzoraka za proučavanje prirodnog prečišćavanja

Istraživanja prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama zagađenim naftnim ugljovodonicima realizovana su na lokaciji u Vitanovcu (GO Kraljevo) u periodu od 2011 do 2013. godine. U sklopu ovih istraživanja uzimani su uzorci podzemnih voda i sedimenata na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom. Uzimanju uzoraka sedimenata prethodilo je istražno bušenje (slika 3.1). Uzorci su zatim pakovani u sterilne tegle, nakon čega su transportovani do laboratorije u terenskom frižideru na 4 °C. Podzemne vode su uzorkovane iz osmatračkih objekata - pijezometara. Svakom uzorkovanju podzemnih voda prethodilo je ispiranje osmatračkih objekata. Uzorci podzemnih voda su pakovani u prethodno za tu namenu pripremljene sterilne flaše. Uzorkovanje je praćeno merenjima temperature podzemnih voda, koncentracija rastvorenog kiseonika i redoks potencijala izraženog preko elektromotorne sile (EMS). Mikrobiološke analize svih uzoraka su rađene odmah po donošenju u laboratoriju, a hemijske i fizičko-hemijske tokom narednih 12 - 24 časa. Uzorci sedimenata su takođe ispitivani granulometrijskim i mineraloškim analizama. Granulometrijske analize su vršene standardnim postupkom prosejavanja, dok su mineraloške izvedene mikroskopski, odnosno primenom tamnog polja i faznog kontrasta (Babić, 2011).

Merenja nivoa podzemnih voda vršena su uređajima za kontinualno osmatranje, kao i ručnim nivomerom sa svetlosnim i zvučnim signalom. Svi podaci o uzorkovanju i merenjima na terenu unošeni su u terenski dnevnik.





Slika 3.1. Terenska istraživanja prirodnog prečišćavanja na lokaciji u Vitanovcu

### 3.1.2. Uzimanje uzoraka kod primene stimulisanе *in situ* bioremedijacije podzemnih voda

Stimulisana *in situ* bioremedijacija podzemnih voda izvedena je na lokaciji fabrike "Nitex" u Nišu tokom 2011 i 2012. godine. U sklopu pomenutih istraživanja vršena su uzorkovanja sedimenata i podzemnih voda. Uzorkovanju je prethodilo istražno bušenje (slika 3.2), nakon čega su uzorci sedimenata pakovani u sterilne tegle i terenski frižider (čuvanje na 4 °C). Uzorci podzemnih voda su uzimani iz pijezometara i bunara, u prethodno za tu namenu pripremljene sterilne flaše. Mikrobiološke analize svih uzoraka su rađene odmah po donošenju u laboratoriju, a hemijske i fizičko-hemijske tokom narednih 12 - 24 časa. Biomasa korišćena u cilju stimulisanja bioremedijacije je pripremljena u laboratoriji i mobilnom bioreaktoru. Uzorci sedimenata su takođe ispitivani granulometrijskim i mineraloškim analizama. Za izvođenje granulometrijskih analiza korišćen je standardni postupak prosejavanja. Mineraloške analize su izvedene mikroskopski, odnosno primenom tamnog polja i faznog kontrasta (Babić, 2012).

Merenja nivoa podzemnih voda vršena su ručnim nivomerom sa svetlosnim i zvučnim signalom. Svi podaci o uzorkovanju i merenjima na terenu unošeni su u terenski dnevnik.



Slika 3.2. Istraživanja u cilju primene stimulisane *in situ* bioremedijacije podzemnih voda na lokaciji fabrike "Nitex" u Nišu

## 3.2. Analitičke metode

### *Temperatura (°C)*

Temperatura podzemnih voda merena je na terenu, digitalnim termometrom u okviru pH-metra, model 330i/SET tip 2A20-1012 proizvodnje Wissenschaftlich-Tehnische Werkstätten (Germany).

### *Procenat higroskopne vlage u sedimentima*

Procenat vlage u sedimentima određivan je u vlagomeru (model MOC-120H) firme Shimadzu Co., Japan, sa programom sušenja uzorka na 105 °C, 1,5h. Rezultati su dati kao srednja vrednost tri ponavljanja, prema standardu ISO 11465.

### *Sadržaj pepela u sedimentima*

Sadržaj pepela u sedimentu je određivan u porcelanskim tiglovima spaljivanjem organske supstance uzorka pomoću plamenika do prestanka izdvajanja belih para, a zatim žarenjem u peći na 800 °C tokom 2h.

### *Elektromotorna sila (EMS)*

EMS podzemnih voda merena je na terenu, digitalnim pH-metrom model 330i/SET tip 2A20-1012 proizvodnje Wissenschaftlich - Tehnische Werkstätten (Germany).

### *Rastvoreni kiseonik (O<sub>2</sub>)*

Koncentracija rastvorenog kiseonika (mg/l), u podzemnim vodama merena je na terenu, digitalnim oksimetrom model 330i/SET tip 2B20-0011 proizvodnje Wissenschaftlich-Tehnische Werkstätten (Germany).

***Kiselost (pH)***

Određivanje pH vrednosti podzemnih voda rađeno je prema standardu ISO, metoda 10523:200.

***Suvi ostatak***

Određivanje suvog ostatka uzoraka podzemnih voda rađeno je prema standardu SMEWW, m 2540 B.

***Određivanje elektroprovodljivosti (EC)***

Određivanje elektroprovodljivosti (EC) podzemnih voda rađeno je prema standardu SRPS EN ISO, metoda 27888:200.

***Određivanje koncentracije hidrokarbonata ( $\text{HCO}_3^-$ )***

Određivanje koncentracije hidrokarbonata ( $\text{HCO}_3^-$ ) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu SRPS EN ISO, metoda 9963-1:07.

***Određivanje koncentracije amonijaka***

Određivanje koncentracije amonijaka ( $\text{NH}_3$ ) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu PRI, metoda P-V-2/B.

***Određivanje koncentracije nitrata***

Određivanje koncentracije nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu EPA, metoda 300.1

***Određivanje koncentracije hlorida***

Određivanje koncentracije hlorida (Cl<sup>-</sup>) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu EPA, metoda 300.1

***Određivanje koncentracije sulfata***

Određivanje koncentracije sulfata (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu EPA, metoda 300.1

***Određivanje ukupnog organskog ugljenika (TOC)***

Određivanje koncentracije ukupnog organskog ugljenika u podzemnim vodama rađeno je prema standardu SRPS EN ISO, metoda 8245:2007

***Određivanje koncentracija ugljovodonika poreklom iz benzina (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)***

Određivanje koncentracija ugljovodonika poreklom iz benzina (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu VDM 0132 (gasna hromatografija sa plameno jonizacionim detektorom) GC/FID - metoda EPA 8015 D i EPA 3810A.

***Određivanje koncentracija ugljovodonika poreklom iz dizela (C<sub>10</sub>-C<sub>28</sub>)***

Određivanje koncentracija ugljovodonika poreklom iz dizela (C<sub>10</sub>-C<sub>28</sub>) u podzemnim vodama rađeno je prema standardu VDM 0133 (gasna hromatografija sa plameno jonizacionim detektorom) GC/FID - metoda EPA 8015 D i EPA 3510.

***Određivanje ukupnih ugljovodonika nafte u podzemnim vodama***

Ukupni ugljovodonici nafte u podzemnim vodama određeni su prema standardu SRPS EN ISO, metoda 9377-2:09.

***Određivanje ukupnih ugljovodonika nafte u sedimentima***

Ukupni ugljovodonici nafte u sedimentima (TPH) su ekstrahovani po ISO 16703 i gravimetrijski određeni po standardu DIN EN 14354.

***Određivanje supstanci rastvornih u heksanu***

Supstance rastvorne u heksanu (HES) određene po EPA metodi 9071B.

***Analiza frakcija zasićenih ugljovodonika i aromata***

Frakcije zasićenih ugljovodonika i aromata su analizirane gasnohromatografskom-masenospektrometrijskom (GC-MS) tehnikom. Analize su rađene na gasnom hromatografu Agilent 4890D GC sa HP-1 MS kolonom (30 x 0,25mm). Temperaturni opseg iznosio je: 40 °C za 10 minuta, zatim 9 °C po min do 285 °C nakon čega je ta temperatura održavana 12 minuta. Vodonik je korišćen kao noseći gas.

***Određivanje koncentracija katjona (Al, K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn)***

Određivanje koncentracija katjona (Al, K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn) u podzemnim vodama rađeno je tehnikom optičke emisije spektroskopije sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP/OES), prema standardu EPA, metoda 200.7 Rev 5.

***Određivanje koncentracije silicijum-dioksida (SiO<sub>2</sub>)***

Određivanje koncentracije SiO<sub>2</sub> u podzemnim vodama rađeno je tehnikom optičke emisije spektroskopije sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP/OES), prema standardu EPA, metoda 200.7 Rev 5.

### ***Određivanje koncentracije rastvorenog neorganskog ugljenika $\delta^{13}C_{DIC}$***

Određivanje koncentracije rastvorenog neorganskog ugljenika  $\delta^{13}C_{DIC}$  u podzemnim vodama je vršeno korišćenjem DeltaplusXL masenog spektrometra, prema mernom protokolu ISODAT (Spotl, 2005) Dobijeni rezultati izraženi su u odnosu na Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) standard.

## **3.3. Mikrobiološke metode**

Sve podloge su pripremane suspendovanjem i/ili rastvaranjem navedenih komponenti u demineralizovanoj vodi, uz sterilizaciju u autoklavu na 121 °C, 20 minuta.

***Podloga za određivanje ukupnog broja hemoorganotrofnih bakterija*** (Anonymus, 2010)

Upotrebljen je Hranljivi agar proizvođača "Torlak" sledećeg sastava:

Pepton-1 "Torlak"	15,0 g/l
Mesni ekstrakt "Torlak"	3,0 g/l
Natrijum-hlorid	5,0 g/l
Kalijum-fosfat	0,3 g/l
Agar	18,0 g/l
pH	7

***Podloga za određivanje ukupnog broja kvasaca i spora plesni*** (Anonymus, 2010)

Upotrebljen je Sladni agar proizvođača "Torlak" sledećeg sastava:

Sladni ekstrakt "Torlak"	30,0 g/l
Pepton "Torlak"	5,0 g/l
Agar	15,0 g/l
pH	5,7

**Podloga za određivanje ukupnog broja anaerobnih mikroorganizama** (Anonymus, 2010)

Upotrebljen je Hranljivi agar sa dodatkom 0,5 % glukoze.

**Podloga za određivanje ukupnog broja bakterija koje razgrađuju ugljovodonike** (Miličić-Terzić et al., 2000; Miličić-Terzić et al., 2001)

Upotrebljena je mineralna podloga sledećeg sastava:

Amonijum-nitrat	1,0 g/l
Kalijum-hidrogenfosfat	0,25 g/l
D2 dizel	2000 mg/kg
Agar	16,0 g/l
Ekstrakt zemlje	50,0 ml
pH	7

Ekstrakt zemlje se dobija mešanjem vode i zemlje u odnosu 1:1 (m/V). Smeša se sterilise u autoklavu; nakon sterilizacije se cedi kroz kvalitativni filter papir. U sterilnu, ohlađenu podlogu se dodaje dizel D2.

**Podloga za određivanje ukupnog broja bakterija koje vrše redukciju nitrata (denitrifikatori)** (Gojgić-Cvijović i Vrvić, 2003)

Upotrebljena je Hitlejeva podloga sledećeg sastava:

Natrijum-nitrat	5,0 g/l
Kalijum-nitrat	2,0 g/l
Kalijum-dihidrogenfosfat	1,0 g/l
Dikalijum-hidrogenfosfat	1,0 g/l
Magnezijum-sulfat-heptahidrat	2,0 g/l
Kalijum-hlorid-heksahidrat	2,0 g/l



Gvožđe(II)-sulfat heptahidrat	1 ml 1% rastvora
Agar	16,0 g/l
Ekstrakt zemlje	50 m/l
pH	7

***Podloga za određivanje ukupnog broja bakterija koje oksiduju redukovana jedinjenja sumpora*** (Rodina, 1965)

Upotrebljena je Bjerinkova podloga (P22) sa tiosulfatom sledećeg sastava:

Natrijum-tiosulfat-pentahidrat	5,0 g/l
Natrijum-bikarbonat	1,0 g/l
Dinatrijum-hidrogenfosfat-dihidrat	0,2 g/l
Amonijum-hlorid	0,1 g/l
Magnezijum-hlorid-heksahidrat	0,1 g/l
Gvoždje(II)-sulfat-heptahidrat	0,009 g/l
pH posle sterilizacije	7,5

***Podloga za određivanje ukupnog broja nitrifikatora*** (Rodina, 1965)

Upotrebljena je podloga Vinogradskog, sledećeg sastava:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2,0 g/l
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	1,0 g/l
$\text{NaCl}$	0,5 g/l
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g/l
$\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	tragovi
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times 9 \text{H}_2\text{O}$	tragovi
pH	8,5

**Podloga za određivanje ukupnog broja sulfatoredukjućih bakterija** (Anonymus, 2010)

Upotrebljen je Sulfitni agar proizvođača "Torlak" sledećeg sastava:

Kazein hidrolizat "Torlak"	10,0 g/l
Natrijum-sulfit	0,5 g/l
Gvožđe(III)-citrat	0,5 g/l
Agar	15,0 g/l

**Podloga za određivanje ukupnog broja koliformnih bakterija** (Anonymus, 2010)

Upotrebljen je Endo agar proizvođača "Torlak" sledećeg sastava:

Pepton "Torlak"	10,0 g/l
Laktoza	10,0 g/l
Kalijum-hidrogenfosfat	3,5 g/l
Natrijum-sulfit	2,5 g/l
Agar	15,0 g/l
Fuksin	0,4 g/l

**Određivanje ukupnog broja mikroorganizama u podzemnim vodama metodom serijskog razblaženja** (Gojgić-Cvijović i Vrvić, 2003; Collins et al., 2004)

U fiziološkom rastvoru su pripremana decimalna serijska razblaženja ( $10^{-1}$  -  $10^{-6}$ ) u dva ponavljanja i zasejavana na agarne ploče sa po 1 ml. Petri šolje sa zasejanim Hranljivim agarom i Hranljivim agarom sa 0,5 % glukoze su inkubirane 24h, sa Sladnim agarom 48h, a sa mineralnom podlogom u trajanju od 5 do 7 dana. Temperatura inkubacije je iznosila 28 °C.

**Podloge za umnožavanje biomase konzorcijuma zimogenih mikroorganizama**  
(Beškoski, 2011)

*Startna podloga 1 (SP1)*

Upotrebljena je SP1 sledećeg sastava:

Hranljivi bujon	1,2 g/l
Zagađeni sediment	5,0 g/l
Demineralizovana voda	100 ml
pH	7

*Startna podloga 2 (SP2)*

Upotrebljena je SP2 sledećeg sastava:

Hranljivi bujon	23,3 g/l
Ekstrakt zemljišta	100 ml/l
Dizel gorivo	20 ml/l
Demineralizovana voda	2000 ml/l
pH	7

*Radna podloga (RP)*

Upotrebljena je radna podloga (RP) sledećeg sastava:

Mesni pepton	12,0 g/l
Ekstrakt zemljišta	50 ml/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,2 g/l
Dizel gorivo	10 ml/l
Česmenska voda	900 l
pH	7

U ovim podlogama korišćen je komercijalni, netoksični i biodegradabilni biosurfaktant Biosolve CLEAR kompanije The Westford Chemical Corporation (Westford, MA, SAD) kao biodisperzant za rastvaranje dodatih ugljovodnika u prvom redu dizela. Originalni rastvor je upotrebljavan u koncentraciji 1 ml/l.

***Izolovanje i umnožavanje zimogenog konzorcijuma mikroorganizama*** (Beškoski et al., 2011; Miletić, 2013)

Konzorcijum mikroorganizama je izolovan iz zagađenih sedimenata obogaćivanjem u erlenmajeru od jednog litra sa 200 ml startne podloge 1 (SP1). Dobijena suspenzija mikroorganizama je zasejana u četiri erlenmajera od po 5 L, u okviru kojih je sadržano po 2000 ml startne podloge 2 (SP2). Uslovi za rast mikroorganizama su bili sledeći: temperatura 28°C, aeracija na mućkalici (120 rpm), pH 7,0 (podešeno sa 1M HCl ili NaOH), trajanje rasta 96 sati.

Mikrobiološka populacija iz pomenutih erlenmajera korišćena je za inokulaciju mobilnog bioreaktora (približno 1% zapremine) zapremine 1000 L (slika 3.3), korišćenjem radne podloge (RP). Uslovi za rast mikroorganizama su bili sledeći: nesterilni uslovi, temperatura 25°C, aeracija i mešanje vazdušnom pumpom, pH = 7, trajanje rasta 48 sati. Selektivnost rasta mikroorganizama postignuta je visokom koncentracijom naftnih ugljovodonika.



Slika 3.3. Uvećanje biomase u mobilnom bioreaktoru

### **3.4. Obrada podataka prikupljenih eksperimentalnim putem**

Rezultati dobijeni eksperimentalnim putem obrađivani su u sledećim softverima: Microsoft Office 2003; Golden Software Surfer 11; RockWare RockWorks 14; Aquachem 6; Workbook for identifying redox process.

## ***4. REZULTATI I DISKUSIJA***

## 4.1. Prirodno prečišćavanje u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom

U oktobru mesecu 1993. godine na području sela Vitanovac kod Kraljeva došlo je do nekontrolisanog izlivanja oko 540 tona kerozina iz vojnog skladišta u okolnu sredinu (Vujasinović i Matić, 1995). Do izlivanja je došlo kroz sistem za pražnjenje rezervoara, kada je nakon njihovog čišćenja ostao otvoren sistem ventila. Na ovaj način nije došlo do površinskog razlivanja kerozina već se curenje odvijalo neprimetno ispod površine terena, što je ovom akcidentu dalo i medijsku pažnju (slika 4.1).



Slika 4.1. Natpisi u štampi o prosipanju kerozina na lokaciji Vitanovca kod Kraljeva

S obzirom da su se vojni rezervoari nalazili na uzvišenju, ubrzo je došlo do zagađenja sedimenata i podzemnih voda u hipsometrijski nižim delovima terena. Neposredno nakon akcidenta započeti su istražni, a zatim i sanacioni radovi, detaljniji prikaz izvedenih radova dao je Matić (1994). Rezultati pomenutih istraživanja korišćeni su za definisanje geoloških i hidrogeoloških karakteristika područja istraživanja, usmeravanje i izvođenje istraživanja obuhvaćenih ovom disertacijom. Istraživanja prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom realizovana su u periodu od 2011 do 2013. godine.

## 4.1.1. Rezultati prethodnih istraživanja na lokaciji u Vitanovcu

### 4.1.1.1. Geološke karakteristike područja istraživanja

Šire posmatrano područje istraživanja pripada Šumadijsko-Kopaoničko-Vardarskoj zoni, tektonskoj jedinici Kraljevačke depresije sa Kotleničkim vulkanogenim kompleksom (Kačanski, 1995). Veći deo terena obuhvaćen istraživanjima pripada aluvijalnim naslagama Zapadne Morave (slika 4.2). Opis kartiranih jedinica obuhvaćenih geološkom kartom dat je na osnovu Tumača za Osnovnu geološku kartu (OGK) 1:100 000, list Kraljevo, kao i podataka prikupljenih istražnim bušenjem iz 1993. godine.

#### *Neogen*

##### *Daciti i andeziti*

Brdski deo terena prema selu Vitanovac izgrađuju vulkaniti neogene starosti (andeziti i daciti) koji u ovom delu terena obrazuju petrološku celinu sa postepenim prelazom (Kačanski, 1995). Reč je o stenskim masama čije je izlivanje počelo tokom donjeg miocena ili krajem oligocena (Marković et al., 1967). Karakteriše ih intenzivna zahvaćenost procesima transformacije, što se posebno odnosi na površinski raspadnuti deo. Na osnovu bušotine PJ-8 koja je izvedena u ovim stenskim masama, debljina raspadnute zone iznosi oko 5 m (Matić, 1994). Značaj ove zone je u tome što su u njoj locirani rezervoari iz kojih je došlo do izlivanja kerozina, kao i zbog toga što se nalazi u zaleđu podzemnim vodama u aluvijalnim naslagama.

##### *Piroklastiti labradorskih andezita*

Piroklastični materijal ove faze izgrađen je od delimično zaobljenih komada dacito-andezita. Naizmenično smenjivanje sa neogenim sedimentima pokazuje da je izvestan deo piroklastita taložen i u vodenoj sredini. Ove stenske mase su u površinskom delu pretežno raspadnute, karakteriše ih pojava jaružanja i spiranja po padinskim stranama.



U zavisnosti od stepena raspadnutosti, u okviru ovih stena moguća je pojava pukotinskog tipa izdani.

### *M, Pl sedimenti*

Naslage miocensko-pliocenske starosti su jezerskog porekla i javljaju se na širem području Kraljevačkog basena. Značaj ovih sedimenata u zoni obuhvaćenoj istražnim radovima je u tome što predstavljaju podinu aluvijalnim naslagama. Preciznije, reč je o laporovitim glinama koje imaju kontinualno rasprostranjenje u okviru područja obuhvaćenog istraživanjima.

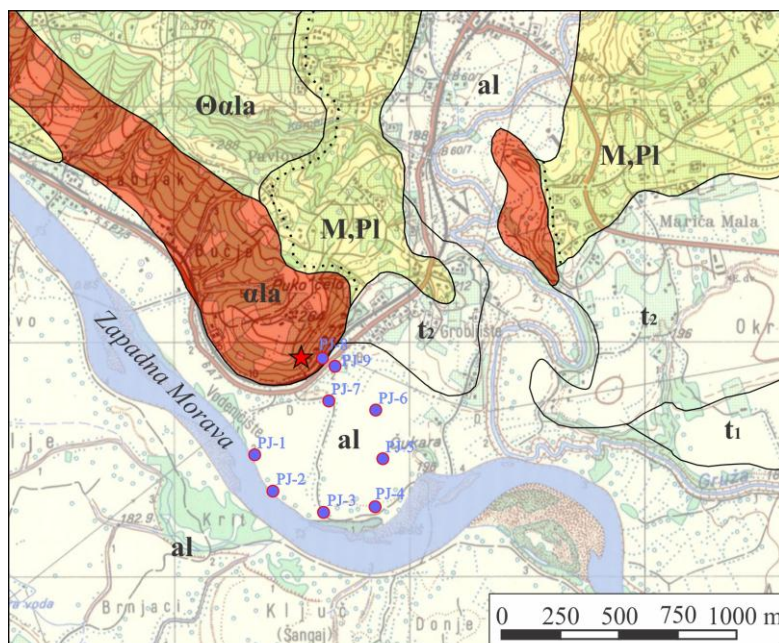
### ***Kvartar***

#### *Terasne naslage*

Padinski deo terena duž kojih se prostiru magistralni put Kragujevac - Kraljevo i železnička pruga izgrađuju terasne naslage. Reč je o glinovito-peskovitim sedimentima čija debljina varira od 2 do 6 m (Matić, 1994). Glinovita komponenta u okviru ovih naslaga je prvenstveno montmorijonitskog tipa.

#### *Aluvijalne naslage*

Aluvijalne naslage Zapadne Morave zauzimaju centralni deo područja obuhvaćenog istraživanjima. Reč je o peskovito-šljunkovitim naslagama, u okviru kojih sa povećanjem dubine raste udeo šljunkovite frakcije. Litološki profil ukazuje na promenljive uslove sedimentacije, u vidu mestimičnog pojavljivanja glinovitih proslojaka. Debljina ovih sedimenata varira u intervalu od 6,7 do 7,5 m. U mineraloškom sastavu dominiraju minerali grupe serpentina i minerali poreklom iz dacito-andezita.

**KARTIRANE JEDINICE**

<b>al</b>	aluvijum
<b>t<sub>1,2</sub></b>	rečne terase
<b>M,PI</b>	klastiti, krečnjaci, gline (panon i pont)
<b>Θala</b>	piroklastiti labradorskih andezita
<b>ala</b>	daciti i andziti

**STANDARDNE OZNAKE**

—	utvrđena normalna granica otkrivena i praćena celom dužinom
⋯	eroziona ili tektonsko-eroziona granica

**OSTALE OZNAKE**

PJ-4	osmatrački objekat (izveden 1993. godine)
★	mesto izliva kerozina

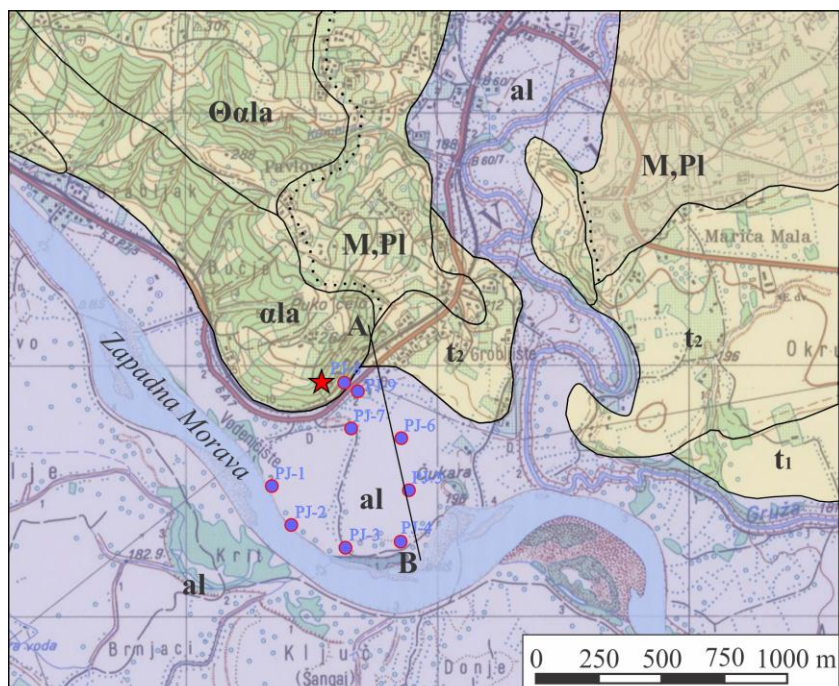
**TOPOGRAFSKE OZNAKE**

⊠	naseljeno mesto
76	kote terena
—	kolski put
—	automobilski put
—	magistralni put
—	površinski tok: stalan i povremen

Slika 4.2. Geološka karta šireg područja istraživanja  
(prema OGK 1:100 000, list Kraljevo)

#### 4.1.1.2. Hidrogeološke karakteristike područja istraživanja

Aluvijalne naslage Zapadne Morave karakteriše prisustvo zbijenog tipa izdani sa slobodnim nivoom (slika 4.3 i 4.4). Matić (1994) ukazuje da generalni smer kretanja podzemnih voda u pravcu jugoistoka nastaje kao rezultanta doticaja iz zaleđa i toka Zapadne Morave.

**KARTIRANE JEDINICE**

<b>al</b>	aluvijum
<b>t<sub>1,2</sub></b>	rečne terase
<b>M,PI</b>	klastiti, krečnjaci, gline (panon i pont)
<b>Oala</b>	piroklastiti labradorskih andezita
<b>ala</b>	daciti i andziti

**STANDARDNE OZNAKE**

—	utvrđena normalna granica otkrivena i praćena celom dužinom
.....	eroziona ili tektonsko-eroziona granica

**HIDROGEOLOŠKE OZNAKE**

	zbijeni tip izdani formiran u okviru aluvijalnih naslaga uslovno "bezvodni" delovi terena
	PJ-4 osmatrački objekat (izveden 1993. godine)
	linija profila

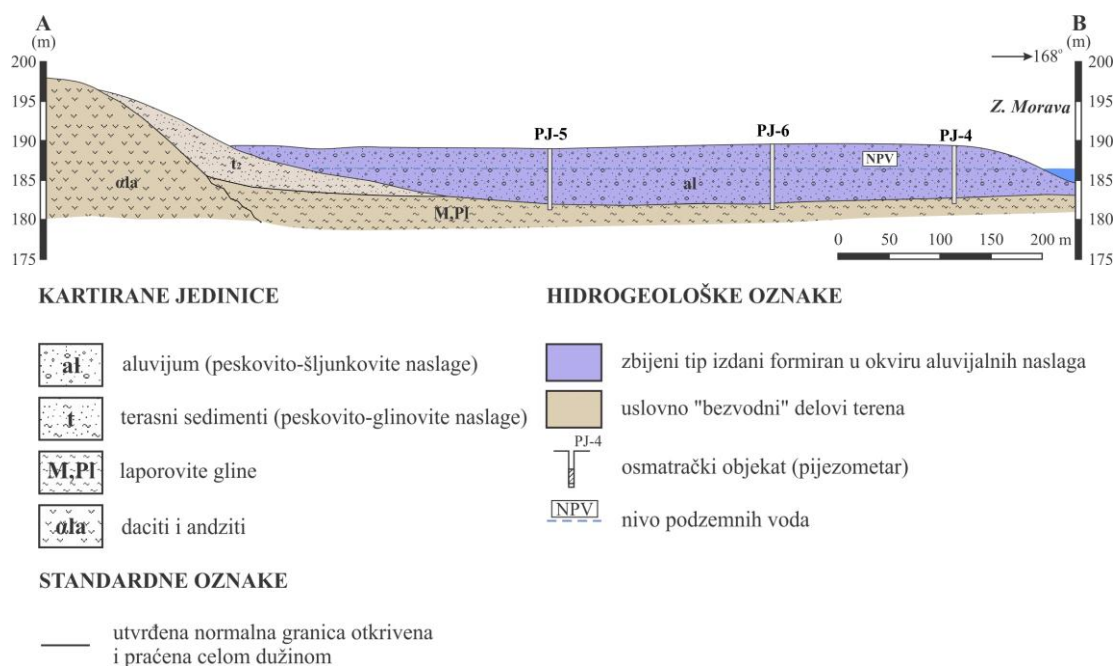
**OSTALE OZNAKE**

	mesto izliva kerozina
--	-----------------------

**TOPOGRAFSKE OZNAKE**

	naseljeno mesto
	kote terena
	kolski put
	automobilski put
	magistralni put
	površinski tok: stalan i povremen

Slika 4.3. Hidrogeološka karta šireg područja istraživanja  
(prema OGK 1:100 000, list Kraljevo)



Slika 4.4. Hidrogeološki profil područja istraživanja

Iako su svrstani u uslovno bezvodne delove terena, dacito-andeziti su u površinskom delu izrazito raspadnuti. Slično je i sa glinovito-peskovitim naslagama, koje su jednim delom vodopropusne. U potpunosti vodonepropusnim mogu se smatrati isključivo laporovite gline u podini aluvijalnih naslaga. Srednje vrednosti koeficijenata filtracije aluvijalnih sedimenata, kreću se u intervalu od  $8,4 \times 10^{-5}$  do  $4,6 \times 10^{-3}$  m/s (tabela 4.1). Niže vrednosti registrovane su u glinovitim proslojcima u okviru peskovito-šljunkovitih naslaga. Laporovite gline koje predstavljaju podinu aluvijalnim naslagama karakterišu vrednosti koeficijenata filtracije oko  $4,0 \times 10^{-8}$  m/s.

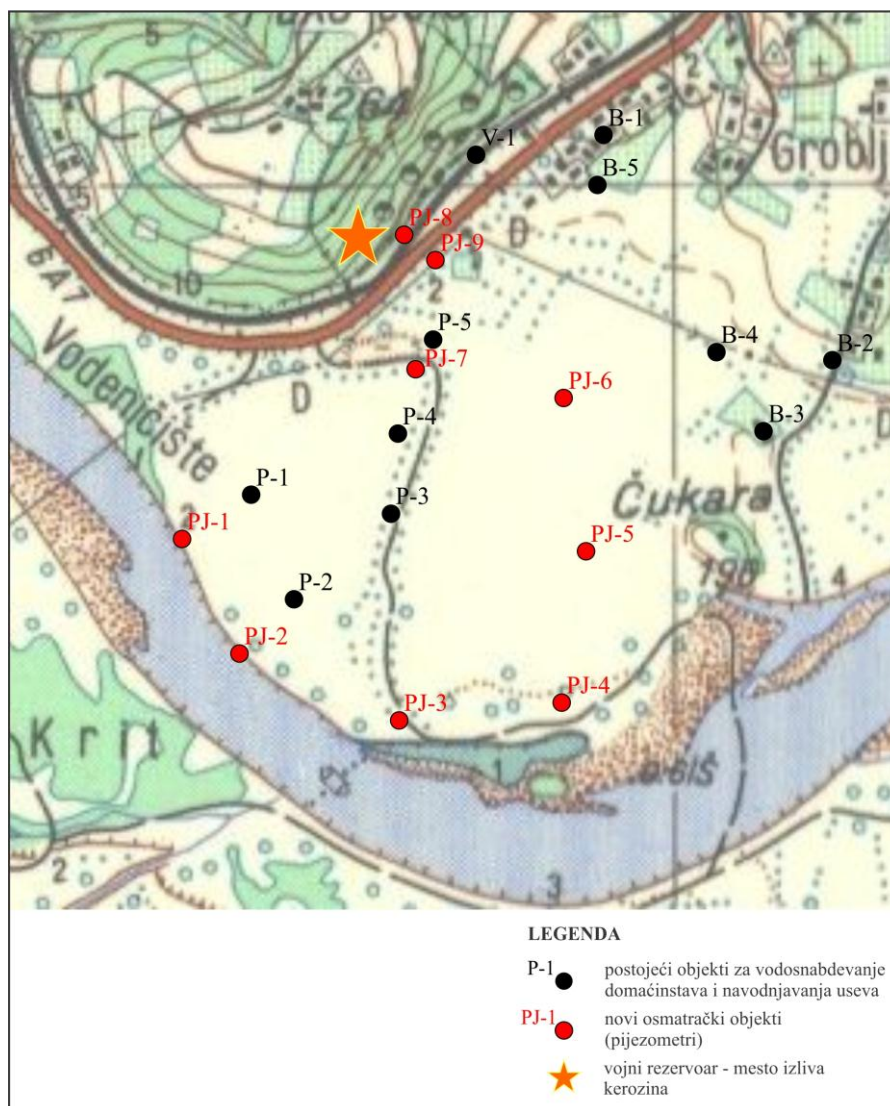
Složene hidrogeološke uslove u okviru područja istraživanja potvrđuju i rezultati ispitivanja hemijskog sastava podzemnih voda. Podzemne vode u okviru aluvijalnih naslaga su Ca-HCO<sub>3</sub> tipa. Njihov hemijski sastav odražava kako doticaj iz zaleđa, tako i uticaj Zapadne Morave.

Tabela 4.1. Filtracione karakteristike aluvijalnih naslaga

Objekat	Dubina (m)	$d_{10}$ (mm)	K (m/s)	$K_{sr}$ (m/s)
PJ-1	1,4	0,18	$1,8 \times 10^{-3}$	$4,6 \times 10^{-3}$
	5,6	1,0	$1,0 \times 10^{-2}$	
	7,1	0,2	$2,0 \times 10^{-3}$	
PJ-2	3,8	0,23	$5,3 \times 10^{-4}$	$5,9 \times 10^{-4}$
	5,2	0,33	$1,1 \times 10^{-3}$	
	7,3	0,12	$1,4 \times 10^{-4}$	
PJ-3	4,0-4,3	0,002	$4,0 \times 10^{-8}$	$2,5 \times 10^{-4}$
	5,7-5,8	0,23	$5,3 \times 10^{-4}$	
	7,0-7,1	0,15	$2,3 \times 10^{-4}$	
PJ-4	3,5-3,6	0,01	$1,0 \times 10^{-6}$	$1,6 \times 10^{-3}$
	4,4-4,5	0,7	$4,9 \times 10^{-3}$	
	5,8-5,9	0,04	$1,6 \times 10^{-5}$	
PJ-5	3,1-3,2	0,5	$2,5 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-3}$
	4,4-4,5	0,03	$9,0 \times 10^{-6}$	
PJ-6	3,0	0,36	$1,3 \times 10^{-3}$	$8,7 \times 10^{-4}$
	4,5	0,2	$4,0 \times 10^{-4}$	
	6,1	0,3	$9,0 \times 10^{-4}$	
PJ-7	6,0	0,115	$1,3 \times 10^{-4}$	$8,4 \times 10^{-5}$
	6,7	0,06	$3,6 \times 10^{-5}$	

#### 4.1.1.3. Rezultati istražnih i sanacionih radova

Neposredno nakon što je utvrđeno da je došlo do izlivanja kerozina u hipsometrijski niže delove terena započeti su istražni, a zatim i sanacioni radovi. Istražni radovi obuhvatili su izradu devet osmatračkih objekata (pijezometara), uz uzimanje uzoraka sedimenata i podzemnih voda. Uzorkovanje je obavljeno kako na postojećim vodozahvatnim objektima, tako i na novim osmatračkim objektima (pijezometrma) (slika 4.5).



Slika 4.5. Položaj osmatračkih objekata u okviru područja istraživanja

Prva serija uzorkovanja (30 dana nakon akcidenta) obuhvatila je određivanje sadržaja mineralnih ulja u podzemnim vodama iz postojećih objekata u područja istraživanja. Rezultati su ukazali da je već došlo do migracije zagađenja ka hipsometrijski nižim delovima terena. Najveće koncentracije zagađujuće supstance zabeležene su u objektu P-5 koji je i najbliži zoni izlivanja.

Druga serija uzorkovanja (75 dana nakon akcidenta) obuhvatila je određivanje sadržaja kerozina u podzemnim vodama i sedimentima. Uzorkovanja su vršena na postojećim i novim osmatračkim objektima. Rezultati su ukazali na prisustvo zagađujuće supstance u

podzemnim vodama u čitavom polju, registrovano je širenje zagađenja ka bunarima (B-1, B-2, B-5). Merenjema koncentracija kerozina u Zapadnoj Moravi na ulaznom (M-1) i izlaznom profilu (M-2) utvrđene su veće koncentracije na izlaznom profilu, što ukazuje da je došlo do ispiranja jednog dela zagađujuće supstance u reku (tabela 4.2).

Tabela 4.2. Koncentracije kerozina u Zapadnoj Moravi na ulaznom i izlaznom profilu

Merno mesto	Koncentracija kerozina (mg/l)	
	21.12.1993.	05.01.1994.
M-1	0,08	0,04
M-2	2,39	0,08

Kada je reč o sedimentima, kerozin je nađen u svim bušotinama sa izuzetkom PJ-8 koja se nalazi iznad puta. Najveće koncentracije zagađenja su registrovane u bušotini PJ-9 neposredno ispod puta. Zagađenjem su skoro u potpunosti zahvaćene aluvijalne naslage, ali i laporovite gline u njihovoj podini (PJ-7, PJ-9).

Može se zaključiti da su glinovito-peskovite naslage ispod puta predstavljale sredinu koja je zadržala front zagađenja od naglog spuštanja ka aluvijalnim naslagama i reci. S obzirom na hiposmetrijski niži položaj sedimenata ispod puta, migracija kerozina se nastavila prvenstveno kroz nadizdansku zonu. Posledica ovoga bila je crpenje skoro čistog kerozina iznad zone zasićenja podzemnim vodama, što je i bio fokus sanacionih radova. U zapadnom delu područja istraživanja, gde dolazi do isklinjavanja glinovito-peskovitih naslaga, došlo je do znatno brže migracije kerozina ka hiposmetrijski nižim delovima terena. Ovo je dovelo do znatno bržeg zagađenja podzemnih voda u okviru aluvijalnih naslaga. Ipak, najveći deo zagađenja je ostao zadržan u zoni glinovito-peskovitih naslaga uz samu trasu puta, što je omogućilo i izvlačenje značajnog dela zagađenja tokom sanacionih radova (slika 4.6 - 4.9).

Sanacioni radovi obuhvatili su izradu dva kopana bunara, u zoni bušotine P-9 u kojoj je registrovano prisustvo čistog kerozina. U periodu od 10. do 16.02.1994. iz pomenutih bunara u toku 60 časova iscrpljeno je 30 tona kerozina (Matić, 1994). Periodičnim

crpenjem u periodu od 10.02.1994. do 18.10.1995. izvučeno je oko 300 tona skoro čistog kerozina (Kaćanski, 1995).



Slika 4.6. Sanacioni radovi u polju na lokaciji sela Vitanovac (foto: Matić, 1994)



Slika 4.7. Kopani bunari koji su korišćeni za crpenje kerozina (foto: Matić, 1994)





Slika 4.8. Crpenje kerozina iz kopanog bunara (foto: Matić, 1994)



Slika 4.9. Rezervoari sa iscrpljenim kerozinom (foto: Matić, 1994)

Sanacioni radovi obuhvatili su samo periodično crpenje kerozina iz kopanih bunara. Okončanjem sanacionih radova, značajan deo prosutog kerozina ostao je u podzemlju kao potencijalno dugoročan izvor zagađenja sedimenata i podzemnih voda. Upravo činjenica da je ovako značajna količina kerozina ostavljena u sredini, prepuštena isključivo procesima prirodnog prečišćavanja, predstavljala je motiv za početak istraživanja 2011. godine.

## 4.1.2. Karakterizacija lokacije istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu

### 4.1.2.1. Fizičko-hemijske karakteristike zagađujuće supstance

Kerozin predstavlja frakciju sirove nafte sa tačkom ključanja od 150 do 290 °C, koja se sastoji od naftnih ugljovodonika C<sub>9</sub>-C<sub>16</sub> (API, 2010). S obzirom na njegovu široku upotrebu, u svetu se pod kerozinom podrazumevaju derivati različitih karakteristika. Karakteristike avionskog goriva GM-1 koje je skladišteno na lokaciji u Vitanovcu, prikazane su u tabeli 4.3.

Tabela 4.3. Karakteristike avionskog goriva GM-1 (IATA, 2012)

Karakteristike		Propisane vrednosti
Gustina na 15°C (g/m <sup>3</sup> )		0,775 - 0,840
Ukupan kiselinski broj (mg KOH/g)		max 0,015
Sadržaj sumpora % (m/m)		max 0,3
Sadržaj merkaptana % (m/m)		max 0,0030
Određivanje karakteristika destilacije	Na 10 °C/%	max 205
	Kraj °C/%	max 300
	Ostatak % (v/v)	max 1,5
	Gubitak % (v/v)	max 1,5
Kinetička viskoznost na -20 °C (mm <sup>2</sup> /s)		max 8,000
Tačka paljenja u zatvorenom sudu (°C)		min 38
Neto specifična energija (MJ/kg)		min 42,8
Tačka dimljenja (mm)		min 20
Korozija bakarne trake - 2h na 100°C		max 1
Tačka mržnjenja (°C)		max - 47
Električna provodljivost (pS/m na °C)		od 50 do 450
Sadržaj postojeće smole (mg/100 ml)		max 7
Određivanje reakcije sa vodom	Promena zapremine (ml)	2
	Izgled granične površine	1 b
Spoljni izgled		bistar

Imajući u vidu gustinu kerozina, ovaj derivat nafte se može svrstati u grupu zagađujućih supstanci lakših od vode (LNAPL). Bez obzira na poreklo ili tehnološki postupak obrade sirove nafte, glavne komponente hemijskog sastava kerozina su dosta slične (API, 2010). Glavne komponente hemijskog sastava kerozina tipa JET A kome odgovara avionsko gorivo GM-1, prikazane su u tabeli 4.4.

Tabela 4.4. Glavne komponente hemijskog sastava kerozina tipa JET A (API, 2010)

Komponenta hemijskog sastava	Zasićeni ugljovodonići	Aromatični ugljovodonići	Olefini
Procentualno učešće (%)	71,9 - 88,4	11,6 - 24,0	0,0 - 4,1

Prema podacima API (2010) kao generalni odnos glavnih komponenti u hemijskom sastavu kerozina može se usvojiti da zasićeni ugljovodonići (alkani i cikloalkani) čine više od 70 %, udeo aromatičnih ugljovodonića (alkilbenzeni sa jednim prstenom i alkilnaftaleni sa dva prstena) ne prelazi 25 %, dok je maksimalno učešće olefina do 5 %.

Komponentne koje ulaze u sastav kerozina su podložne biodegradaciji, nije utvrđeno njihovo inhibirajuće dejstvo na mikrobiološku aktivnost (Song and Bartha 1990; Aelion and Bradley 1991).

#### 4.1.2.1. Karakterizacija sedimenata na lokaciji istorijskog zagađenja

Karakterizacija sedimenata na lokaciji istorijskog zagađenja u Vitanovcu izvedena je na osnovu uzoraka iz osmatračkog objekta P-1 (slika 4.10). Reč je o istraživanjima preliminarnog karaktera izvedenim u julu 2011. godine, koja su obuhvatila izradu osmatračkog objekta P-1. Rezultati hemijskih i mikrobioloških analiza prikazani su u tabelama 4.5 i 4.6, dok su rezultati granulometrijskih i mineraloških ispitivanja sedimenata prikazani u tabeli 4.7.

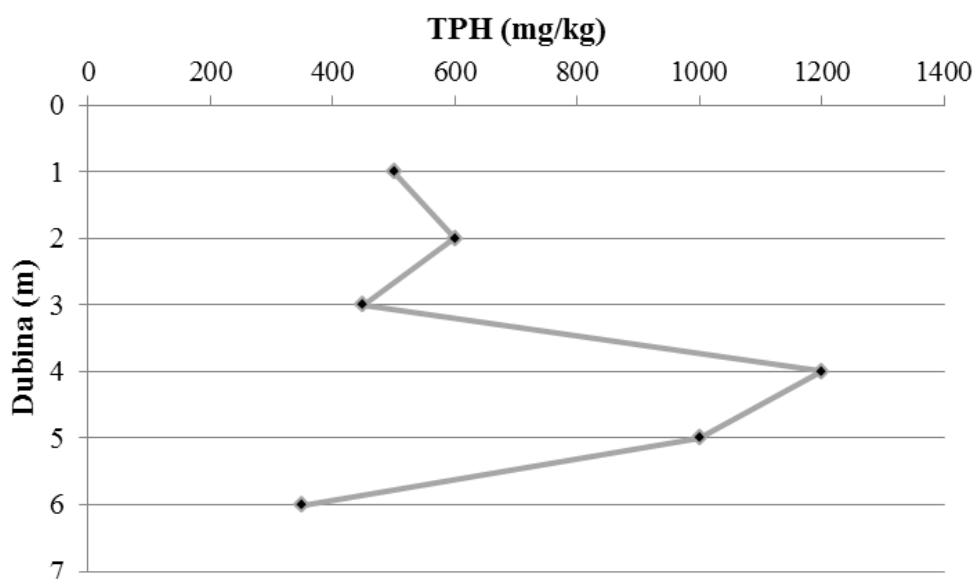


Slika 4.10. Položaj osmatračkog objekta P-1 na lokaciji u Vitanovcu

Tabela 4.5. Hemijska i fizičko-hemijska ispitivanja sedimenata iz piježometra P-1

Uzorak	Dubina (m)	Sadržaj vlage (%)	Pepeo suve mase (%)	pH	CO <sub>2</sub> (%)	HES (mg/kg)	TPH (mg/kg)
1	1	7,4	6,0	6,82	0,10	1142	500
2	2	4,6	4,5	7,57	0,19	1149	600
3	3	4,8	4,7	7,58	0,13	1110	450
4	4	15,0	4,1	8,55	0,12	172	1200
5	5	11,1	3,3	7,89	0,11	1103	1000
6	6	12,5	5,5	8,22	1,38	495	350
7	6	8,2	4,4	7,54	3,83	813	1000

Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodonika (TPH) u sedimentima variraju od 350 do 1200 mg/kg, njihov raspored po dubini piježometra P-1 dat je na slici 4.11.



Slika 4.11. Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodonika (TPH) po dubini pijezometra P-1

Imajući u vidu da je nivo podzemnih voda registrovan na dubini od 3,7 m, nagli skok koncentracija TPH u ovom intervalu može se tumačiti ulaskom u zonu zasićenja podzemnim vodama. Neophodno je naglasiti da su uzorci 6 i 7 uzeti sa iste dubine, nakon čega je izvršeno razdvajanje na šljunkoviti (6) i glinoviti deo (7). Poređenje litološki različitih uzoraka sa iste dubine, pokazalo je da su u glinovitom uzorku registrovane skoro tri puta veće koncentracije TPH u odnosu na šljunkoviti. Pri ovoj analizi korišćene su vrednosti koje se odnose na šljunkoviti uzorak, kao litološki reprezentativniji.

Vrednosti ostalih analiziranih parametara ne pokazuju značajnije zakonomernosti i u granicama su koje obezbeđuju povoljan razvoj mikroorganizama. Mikrobiološke analize obuhvatile su određivanje brojnosti ukupnih hemoorganotrofnih bakterija, anaerobnih bakterija, kvasaca i spora plesni, kao i bakterija koje razgrađuju ugljovodonike (tabela 4.6). Broj mikroorganizama je izražen kao broj CFU - Colony Forming Units po 1 gramu tj. 1 mililitru uzorka.

Tabela 4.6. Rezultati mikrobioloških ispitivanja sedimenata iz pijezometra P-1

Uzorak	Dubina (m)	Ukupan broj mezofilnih aerobnih i fakultativno anaerobnih hemoorganotrofnih bakterija (CFU/g)	Ukupan broj anaerobnih bakterija (CFU/g)	Ukupan broj kvasaca i spora plesni (CFU/g)	Ukupan broj bakterija koje razgrađuju ugljovodonike (CFU/g)
1	1	$4,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^6$	$6,0 \times 10^4$	$2,2 \times 10^6$
2	2	$1,4 \times 10^7$	$5,9 \times 10^5$	$7,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^5$
3	3	$3,2 \times 10^7$	$6,6 \times 10^5$	$5,0 \times 10^3$	$5,6 \times 10^6$
4	4	$1,7 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^3$	$4,4 \times 10^6$
5	5	$4,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^2$	$1,5 \times 10^7$
6	6	$2,7 \times 10^6$	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^5$
7	6	$1,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^5$

Mikrobiološke analize potvrđuju da je reč o sredini pogodnoj za rast različitih grupa mikroorganizama. Ukupan broj mezofilnih aerobnih i fakultativno anaerobnih hemoorganotrofnih bakterija bio je reda veličine  $10^5$  do  $10^7$  CFU/g. Udeo bakterija koji razgrađuju naftne ugljovodonike u okviru ukupnog broja hemoorganoheterotrofnih bakterija bio je veoma visok što ukazuje na intenzivne metaboličke procese razgradnje organske supstance. Maksimalne vrednosti dostignute su u zoni zasićenja podzemnim vodama. Treba naglasiti značajan udeo anaerobnih mikroorganizama, što ukazuje da su u pitanju fakultativni anaerobi, dok je učešće kvasaca i spora plesni znatno manje što je i očekivano u sredini koja je zasićena vodom.

Rezultati osmatranja hemijskih, fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara u sedimentima, ukazuju na tragove zagađenja naftnim ugljovodonicima 18 godina nakon akcidenta na ovoj lokaciji.

Karakterizacija sedimenata obuhvatila je takođe granulometrijska i mineraloška ispitivanja, čiji je detaljniji prikaz dao Babić (2011). Dobijeni rezultati su u potpunosti u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja na ovoj lokaciji. U sastavu šljunkovite i peskovite klase najzastupljeniji su minerali grupe serpentina i magmatskih stena (dacita

i andezita), dok je alevritska klasa dominantno montmorijonitska. Procentualna zastupljenost minerala u analiziranim uzorcima sedimenata prikazana je u tabeli 4.7.

Tabela 4.7. Mineraloški sastav uzoraka sedimenata iz pijezometra P-1

Mineraloški sastav (%)	Dubina (m)			
	2,0	3,0	4,2	5,5
Valutci serpentinita	35,6	39,3	56,6	42,4
Valutci dacita-andezita	21,0	18,9	11,7	25,8
Kvarc	17,4	14,5	11,5	13,9
Krečnjak	10,1	14,5	8,5	10,0
Kaolinit i hidroliskuni	3,5	2,5	0,6	0,4
Montmorijonit i smektiti	12,4	7,4	9,5	5,5
Hidroksidi gvožđa	0	2,2	1,5	1,9

Posmatrano na ceo uzorak, rezultati mineraloških analiza ukazuju na dominantno učešće valutaka serpentinita, čiji udeo iznosi od 36 do 57 %. Sledeći po zastupljenosti su valutci magmatskih stena (dacita i andezita) sa učešćem od 12 do 26 %. Treba pomenuti kvarc, krečnjak i montmorijonit, dok su ostali minerali znatno manje zastupljeni.

#### 4.1.2.3. Hemijska i mikrobiološka karakterizacija podzemnih voda na lokaciji istorijskog zagađenja

Karakterizacija podzemnih voda na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu izvedena je u dve faze. Istraživanja preliminarnog karaktera izvedena u julu 2011. godine, obuhvatila su ispitivanje zagađujuće supstance u podzemnim vodama iz osmatračkog objekta P-1 (tabela 4.8). Rezultati ovih istraživanja inicirali su detaljna ispitivanja podzemnih voda, izvedena tokom 2013. godine.



Tabela 4.8. Rezultati karakterizacije zagađenja podzemnih voda iz pijezometra P-1

Parametar	Dubina (m)	
	3,70	4,15
Benzen (mg/l)	<0,005	<0,005
Toluen (mg/l)	<0,005	<0,005
Etilbenzen (mg/l)	<0,007	<0,007
Ksilen (mg/l)	<0,002	<0,002
Stiren (mg/l)	<0,005	<0,005
C <sub>10</sub> -C <sub>40</sub> (mg/l)	0,61	0,45
C <sub>6</sub> -C <sub>10</sub> (mg/l)	<0,01	<0,01
C <sub>10</sub> -C <sub>28</sub> (mg/l)	0,56	0,43

Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodonika (C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub>) u podzemnim vodama su u intervalu od 0,45 do 0,61 mg/l. Remedijaciona koncentracija za naftne ugljovodonike u podzemnim vodama iznosi 0,6 mg/l (Sl.glasnik RS br. 88/2010, 2010). Samim tim, koncentracije naftnih ugljovodonika u plićem uzorku su blago iznad remedijacionih. Sa dubinom dolazi do pada koncentracija naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama, što potvrđuje da je reč o zagađenju koje potiče od LNAPL faze. Zagađujuću supstancu skoro u potpunosti čine ugljovodonici poreklom iz dizela (C<sub>10</sub>-C<sub>28</sub>). Prisustvo aromatičnih ugljovodonika (benzena, toluena, etilbenzena, ksilena i stirena) nije registrovano. Iako su aromati otporniji biodegradaciji od zasićenih ugljovodonika, rezultati ovih istraživanja ukazuju na mogućnost suprotnog scenarija u terenskim uslovima. Tako su aromatični ugljovodonici u potpunosti degradirani, dok registrovano zagađenje potiče od zasićenih ugljovodonika.

Kao što je već rečeno, detaljna ispitivanja podzemnih voda na lokaciji u Vitanovcu izvedena su tokom 2013. godine. Kote i koordinate objekata na kojima su vršena osmatranja date su u tabeli 4.9, dok je njihov položaj prikazan na slici 4.12.

Tabela 4.9. Kote i koordinate osmatračkih objekata na lokaciji u Vitanovcu

Oznaka objekta	Y	X	Z
P-1	7483641	4840786	188,44
P-2	7483609	4840727	188,41
P-3	7483587	4840667	188,42
P-4	7483476	4840709	188,37
P-5	7483622	4840609	188,43
B-1	7484060	4840765	188,38
B-2	7483890	4841000	192,79



Slika 4.12. Položaj osmatračkih objekata na lokaciji u Vitanovcu

Osmatranja su realizovana na sedam osmatračkih objekata u tri vremenska preseka tokom 2013. godine (jun, septembar i decembar). Svaka serija uzorkovanja sadržala je ukupno osam uzoraka, jer je iz osmatračkog objekta P-1 uzorkovanje vršeno sa površine izdani (P-1) i sa dubine od jednog metra (P-1D). Metodologija istraživanja koncipirana je na osnovu preporuka za osmatranje prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama koje su dali Wiedemeier et al. (1999; 2006). Osnovni skup hemijskih parametara preporučeni od strane pomenutih autora, proširen je u cilju što boljeg sagledavanja efekata dugotrajne izloženosti procesima biodegradacije. Rezultati hemijskih,

izotopskih i mikrobioloških analiza uzoraka podzemnih voda prikupljenih tokom 2013. prikazani su u tabelama 4.10 - 4.14.

Tabela 4.10. Hemijski i fizičko-hemijski parametri osmatrani u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu - jun 2013. godine

Parametar	Oznaka uzorka/osmatračkog objekta							
	P-1D	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	B-1	B-2
pH	6,7	6,7	7,0	7,3	7,2	7,3	6,6	7,0
Suvi ostatak (mg/l)	595	587	621	645	707	633	400	509
EC( $\mu$ S/cm)	990	990	940	940	1030	890	530	680
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	709,4	693,6	619,1	653,3	693,6	580,7	237,9	273,9
NH <sub>3</sub> (mg/l)	0,27	0,16	0,96	<0,05	0,29	<0,05	<0,05	0,59
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	0,9	1,0	0,9	2,6	0,8	9,2	33,9	57,4
Cl <sup>-</sup> (mg/l)	62,5	59,9	53,6	33,1	36,7	36	22,3	38,4
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	2,6	3,0	36,1	55,0	55,3	50,3	58,6	51,8
TOC (mg/l)	8,72	15,08	6,48	2,7	3,34	2,92	2,85	6,09
C <sub>6</sub> -C <sub>10</sub> (mg/l)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C <sub>10</sub> -C <sub>28</sub> (mg/l)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
C <sub>10</sub> -C <sub>40</sub> (mg/l)	<0,050	<0,050	<0,050	<0,050	<0,050	<0,050	<0,050	<0,050
Al (mg/l)	4,87	4,93	0,012	0,057	0,121	<0,003	<0,003	<0,003
Fe (mg/l)	54,3	51,2	12,7	0,287	17,8	0,318	0,069	0,005
Ca <sup>2+</sup> (mg/l)	136	128	108	111	112	108,3	59	75
K <sup>+</sup> (mg/l)	2,9	2,7	1,9	2,4	2,3	1,9	13,2	45,9
Mg <sup>2+</sup> (mg/l)	69,8	69,4	56,4	71,8	67,9	65,9	33,4	24,1
Mn (mg/l)	6,82	6,2	1,73	0,039	1,38	0,0047	0,106	0,0005
Na <sup>+</sup> (mg/l)	44,1	42,6	30,5	27,5	30,7	25,8	21,2	23,0
SiO <sub>2</sub> (mg/l)	46,1	46,3	20,8	21,7	25,6	22,8	20,9	19,8
O <sub>2</sub> (mg/l)	1,02	0,95	1,25	1,92	1,29	2,89	3,30	6,05

Tabela 4.11. Hemijski i fizičko-hemijski parametri osmatrani u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu - septembar 2013. godine

Parametar	Oznaka uzorka/osmatračkog objekta							
	P-1D	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	B-1	B-2
pH	6,9	6,9	7,1	7,5	7,5	7,6	6,9	7,4
Suvi ostatak (mg/l)	606	584	694	792	746	635	366	577
EC( $\mu$ S/cm)	950	920	1130	1180	1050	950	560	720
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	630,7	640,5	827,8	719,8	724,7	607,6	214,1	300,7
NH <sub>3</sub> (mg/l)	0,49	0,21	0,83	<0,05	0,66	<0,05	<0,05	<0,05
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	1,1	1,6	0,8	<0,5	<0,5	5,6	36	66,2
Cl <sup>-</sup> (mg/l)	67,2	67,2	68,6	75,6	42,7	42	21,7	45,5
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	1,6	3,4	6,1	60,2	54,2	53,3	62,9	58,6
TOC (mg/l)	6,08	5,79	5,95	3,40	2,88	2,40	2,50	2,51
C <sub>6</sub> -C <sub>10</sub> (mg/l)	0,02	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C <sub>10</sub> -C <sub>28</sub> (mg/l)	0,12	0,25	0,06	0,09	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
C <sub>10</sub> -C <sub>40</sub> (mg/l)	0,13	0,27	0,07	0,10	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Al (mg/l)	4,07	3,87	0,118	0,021	0,101	0,073	0,1	0,082
Fe (mg/l)	20,2	18,4	13,1	0,103	1,33	0,426	0,025	0,061
Ca <sup>2+</sup> (mg/l)	91,5	93,6	114	122	108	96,7	43,1	76,6
K <sup>+</sup> (mg/l)	3,01	3,05	2,36	2,45	1,92	1,99	10,6	34,1
Mg <sup>2+</sup> (mg/l)	57,5	56,6	70,4	78,9	66,7	59,1	20,1	21,5
Mn (mg/l)	1,38	1,32	1,88	0,135	1,25	0,006	0,11	0,003
Na <sup>+</sup> (mg/l)	45,3	43,1	40,1	35,8	28,9	25,2	20,8	22,8
SiO <sub>2</sub> (mg/l)	63,6	58,9	31,7	23,9	25	24,1	24,1	26,2
O <sub>2</sub> (mg/l)	0,67	0,48	0,43	0,9	1,17	2,82	1,87	1,92
Eh (mv)	-103	-90	-129	9	-48	113	74	76

Tabela 4.12. Hemijski i fizičko-hemijski parametri osmatrani u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu - decembar 2013. godine

Parametar	Oznaka uzorka/osmatračkog objekta							
	P-1D	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	B-1	B-2
pH	6,8	6,8	7,1	7,4	7,4	7,4	6,9	7,9
Suvi ostatak (mg/l)	643	657	839	720	713	629	335	279
EC(μS/cm)	920	940	1200	1030	1020	900	480	400
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	670,4	669,2	852,2	717,4	680,8	631,4	217,2	169
NH <sub>3</sub> (mg/l)	0,37	0,38	0,84	<0,05	0,26	<0,05	<0,05	0,98
NO <sub>2</sub> (mg/l)	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	0,113
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	<0,5	<0,5	<0,5	1,5	<0,5	4,2	35,5	25,0
Cl <sup>-</sup> (mg/l)	59,6	64,6	82,4	37,6	41,2	35,5	14,2	22,7
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	<0,5	<0,5	31,6	52,7	52,2	48,7	55	34,2
TOC (mg/l)	6,22	5,17	5,47	2,18	2,63	2,48	2,06	3,92
C <sub>6</sub> -C <sub>10</sub> (mg/l)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C <sub>10</sub> -C <sub>28</sub> (mg/l)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
C <sub>10</sub> -C <sub>40</sub> (mg/l)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Al (mg/l)	8,34	2,00	0,493	<0,003	0,453	0,1	0,059	0,215
Fe (mg/l)	28,1	20,2	16,4	0,067	3,85	0,288	0,111	0,214
Ca <sup>2+</sup> (mg/l)	108	104	143	119	128	109	43,9	43
K <sup>+</sup> (mg/l)	4,8	3,2	3,6	2,7	2,7	2,4	11,0	13,9
Mg <sup>2+</sup> (mg/l)	64,6	57,6	83,9	71,3	74,0	61,9	19,9	12,6
Mn (mg/l)	2,04	1,64	2,49	0,022	1,58	0,007	0,0008	0,0094
Na <sup>+</sup> (mg/l)	47,7	47,0	48,0	31,2	32,6	24,6	20,7	11,0
SiO <sub>2</sub> (mg/l)	41,7	23,5	17,0	12,1	14,3	12,7	11,4	6,4
O <sub>2</sub> (mg/l)	1,61	1,98	3,52	3,32	2,96	5,93	5,06	7,49
Eh (mv)	-122	-115	-100	44	-51	72	70	67
CO <sub>2</sub> (mg/l)	105,6	74,4	67,1	17,6	18,5	14,1	13,2	/

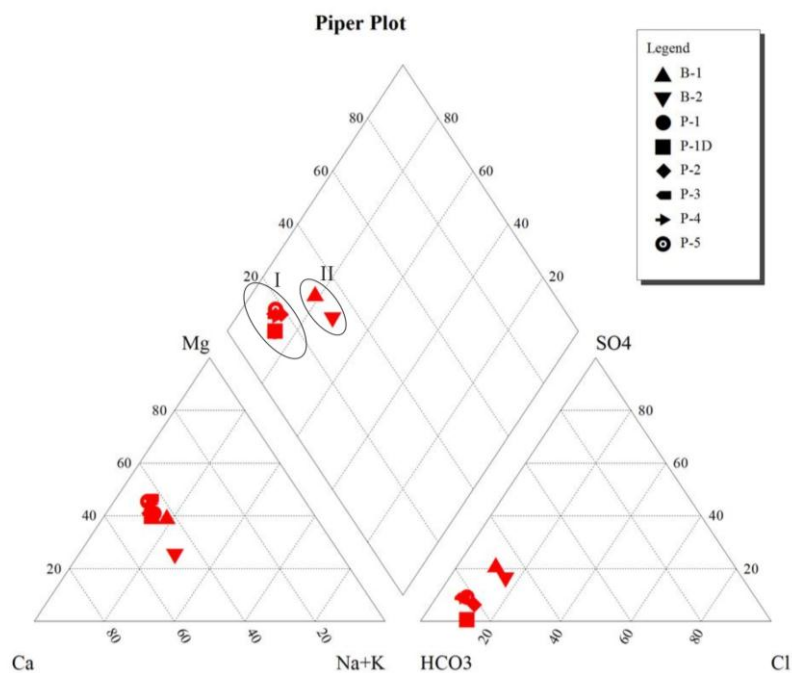
Tabela 4.13. Izotopska ispitivanja podzemnih voda ( $\delta^{13}\text{C-DIC}$ ) na lokaciji istorijskog zagađenja u Vitanovcu – decembar 2013. godine

Oznaka uzorka/osmatračkog objekta	$\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ (‰ VPDB)
P-1D	-2,48
P-1	-2,75
P-2	-10,17
P-3	-14,78
P-4	-15,36
P-5	-14,54
B-1	-15,83
B-2	-14,48

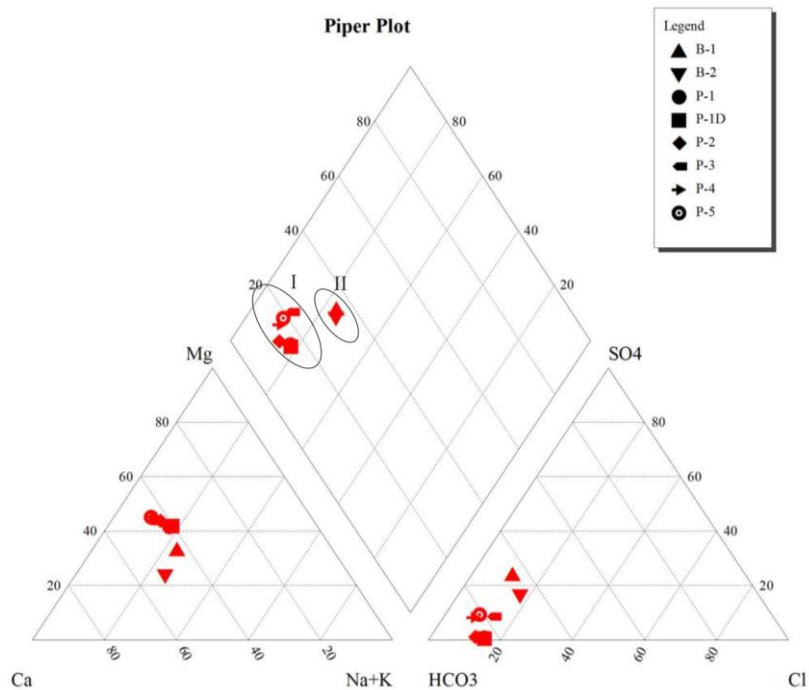
Tabela 4.14. Mikrobiološka ispitivanja podzemnih voda na lokaciji istorijskog  
zagađenja kerozinom u Vitanovcu – decembar 2013. godine

Parametar	Oznaka uzorka/osmatračkog objekta							
	P-1D	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	B-1	B-2
Ukupan broj mezofilnih aerobnih i fakultativno anaerobnih hemoorganotrofnih bakterija (CFU/ml)	150	360	350	610	475	20	275	600
Anaerobne bakterije (CFU/ml)	250	60	280	265	200	110	130	160
Kvasci i spore plesni (CFU/ml)	9	18	2	3	8	6	3	9
Koliformne bakterije u 0,01 ml (CFU/ml)	0	0	0	0	0	0	10	5
Bakterije koji razlažu ugljovodnike (CFU/ml)	210	116	105	190	190	210	30	180
Denitrifikatori (CFU/ml)	65	450	150	1400	1400	1400	40	150
Nitrifikatori (CFU/ml)	95	95	25	4	45	3	3	3
Bakterije koje redukuju sulfate (CFU/ml)	11	18	9	23	83	0	0	0
Bakterije koje oksiduju redukovana jedinjenja sumpora (CFU/ml)	825	198	700	160	350	775	40	40

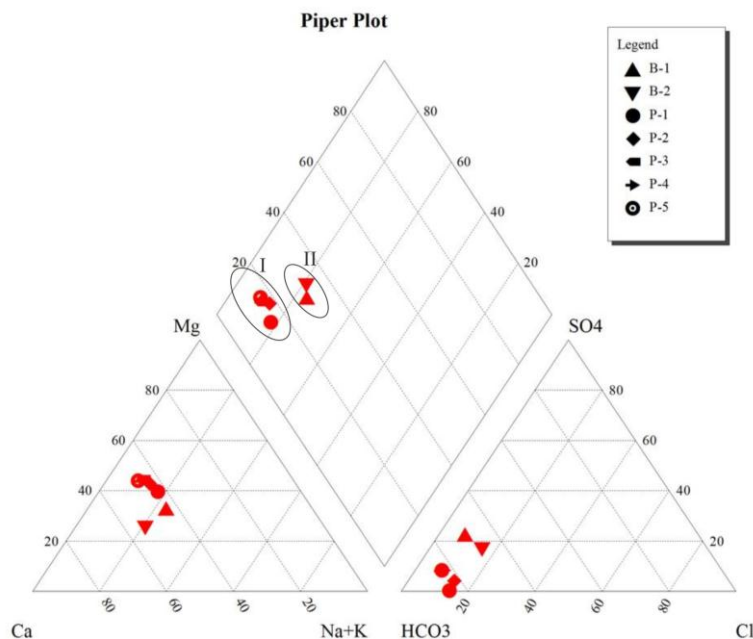
Na osnovu dijagrama hemijskog sastava (slika 4.13 - 4.15), u okviru područja istraživanja mogu se razlikovati podzemne vode u zoni uticaja biodegradacije naftnih ugljovodonika (osmatrački objekti P-1 do P-5) i van ove zone (osmatrački objekti B-1 i B-2).



Slika 4.13. Pajperov dijagram hemijskog sastava podzemnih voda - jun 2013:  
(I) zona uticaja biodegradacije n.u.; (II) zona van uticaja biodegradacije n.u.



Slika 4.14. Pajperov dijagram hemijskog sastava podzemnih voda - septembar 2013:  
(I) zona uticaja biodegradacije n.u.; (II) zona van uticaja biodegradacije n.u.



Slika 4.15. Pajperov dijagram hemijskog sastava podzemnih voda - decembar 2013:

(I) zona uticaja biodegradacije n.u.; (II) zona van uticaja biodegradacije n.u.

Podzemne vode u zoni uticaja biodegradacije naftnih ugljovodonika karakterišu vrednosti suvog ostatka u intervalu od 584 do 839 mg/l. Udeo hidrokarbonata je dominantan u okviru anjonskog sastava (580,7 – 852,2 mg/l), slede hloridi (33,1 – 82,4 mg/l), odnosno sulfati (0,4 do 60,2 mg/l). Najzastupljeniji u katjonskom sastavu su joni kalcijuma (91,5 do 143,0 mg/l), slede joni magnezijuma (56,4 do 83,9 mg/l), odnosno natrijuma (24,6 do 48,0 mg/l). Prema hemijskom sastavu, vode u okviru ove zone variraju između Ca-Mg-HCO<sub>3</sub> i Mg-Ca-HCO<sub>3</sub> tipa. Treba napomenuti širok opseg koncentracija gvožđa (0,067 do 54,3 mg/l), mangana (0,0047 do 6,8 mg/l), nitrata (0,4 do 9,2 mg/l), aluminijuma (0,012 do 8,34 mg/l) i silicijum-dioksida (12,1-63,6 mg/l) što se može tumačiti kao posledica različitog stepena izloženosti procesima biodegradacije.

Koncentracije naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama iznad granice detekcije od 0,05 mg/l registrovane su u septembru 2013. godine, u osmatračkim objektima najbližim rezervoarima kerozina (P-1, P-2 i P-3). Izmerene koncentracije C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub> bile su u intervalu od 0,07 do 0,27 mg/l (tabela 4.11). Na postojanje izvora ugljenika organskog porekla u ovoj zoni ukazuju merenja ukupnog organskog ugljenika (TOC), sa



vrednostima u intervalu od 2,18 do 15,8 mg/l. U tom smislu više se može govoriti o postojanju zone izmenjenih geohemijskih uslova u blizini izvora zagađenja, nego o klasičnom "zagađujućem" telu u podzemnim vodama. Na intenzitet geohemijskih promena ukazuju i razlike u izotopskom sastavu podzemnim voda. Vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  u okviru ove zone su u intervalu od -2,48 do -15,36 ‰. Potvrdu o izloženosti podzemnih voda u okviru ove zone procesima biodegradacije pružaju i rezultati mikrobiološke karakterizacije. Naime, mikroorganizmi koji razgrađuju ugljovodonike imaju značajno učešće u ukupnoj mikrobnoj populaciji. Ipak ukupan broj mikroorganizama nije veliki što može ukazivati na činjenicu da procesi biodegradacije nisu toliko intenzivni, ali se svakako odvijaju. Udeo i fakultativnih i striktnih anaeroba ukazuje na redukcione uslove što potvrđuju i merenja redoks potencijala.

Podzemne vode van zone uticaja biodegradacije naftnih ugljovodonika (osmatrački objekti B-1 i B-2) karakterišu vrednosti suvog ostatka u intervalu od 279 do 577 mg/l. U anjonskom sastavu dominiraju joni hidrokarbonata (169,0 do 300,7 mg/l), slede sulfati (34,2 do 62,9 mg/l) i hloridi (14,2 do 45,5 mg/l). Dominantan udeo u katjonskom sastavu imaju joni kalcijuma (43,0 do 76,6 mg/l), zatim magnezijuma (12,6 do 33,4 mg/l) i natrijuma (11,0 do 23,0 mg/l). Prema hemijskom sastavu reč je o Ca-Mg-HCO<sub>3</sub> i Ca-Mg-HCO<sub>3</sub>-SO<sub>4</sub> tipu voda. Treba napomenuti visoke koncentracije nitrata (25,0 do 66,2 mg/l), kalijuma (10,6 do 45,9 mg/l). Koncentracije TOC su u intervalu od 2,06 do 6,09 mg/l, dok su koncentracije C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub> ispod granice detekcije. Koncentracije  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  su u intervalu od -14,48 do -15,83 ‰.

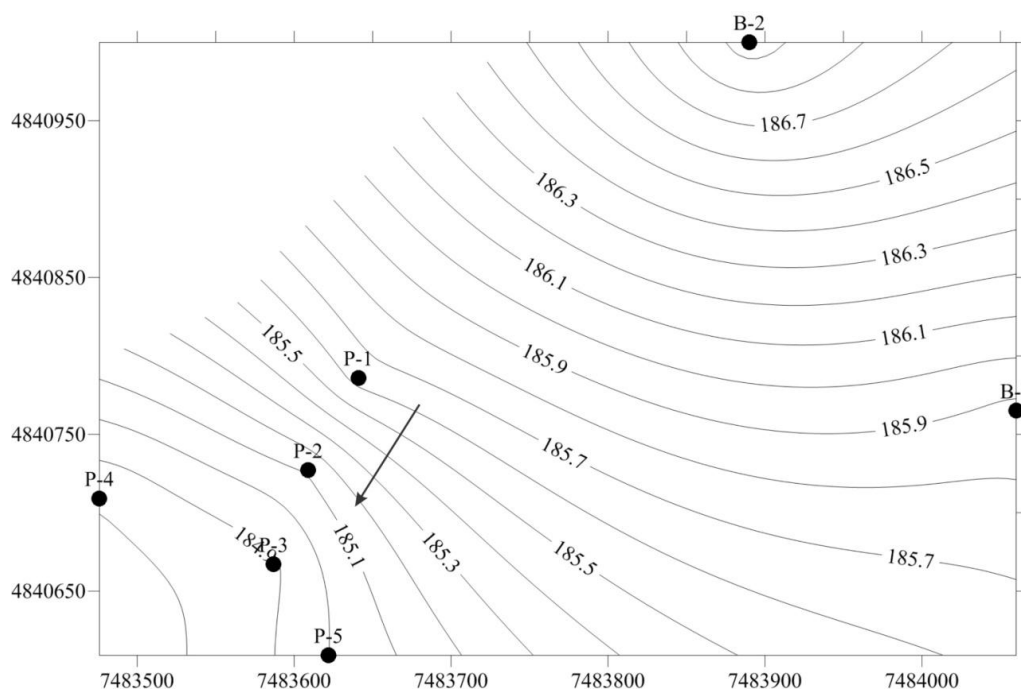
Iako podzemne vode u ovoj zoni nisu izložene uticaju biodegradacije naftnih ugljovodonika, prisutan je uticaj antropogenog zagađenja, usled nepostojanja kanalizacije i intenzivne poljoprivredne proizvodnje. Ovo potvrđuju visoke koncentracije nitrata i kalijuma, kao i rezultati mikrobioloških analiza koji ukazuju na prisustvo koliformnih bakterija.

#### 4.1.2.4. Uslovi strujanja podzemnih voda na lokaciji istorijskog zagađenja

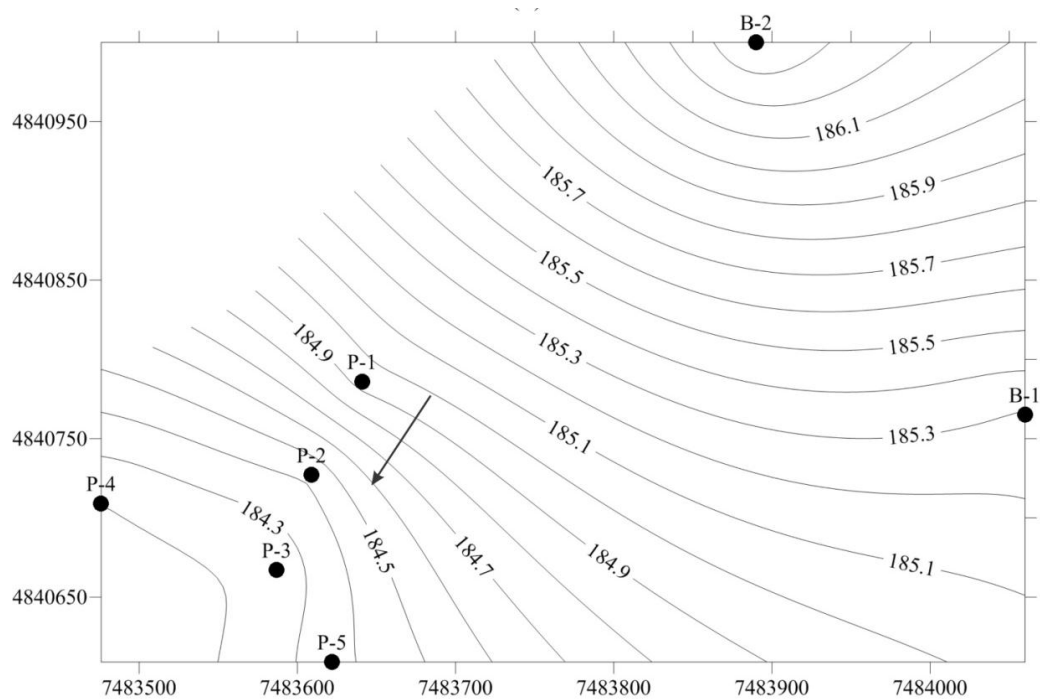
Merenja nivoa podzemnih voda realizovana su u tri vremenska preseka tokom 2013. godine (tabela 4.15). Najviši nivoi podzemnih voda registrovani su u junu, dok u septembru i decembru nisu registrovane značajnije promene. Kada je reč o osmatračkom objektu P-1, nivoi podzemnih voda u septembru i decembru su za oko 0,7 m niži u odnosu na junska merenja. Ipak, može se reći da nisu registrovane značajnije promene u uslovima strujanja podzemnih voda (slika 4.16 - 4.18).

Tabela 4.15. Nivoi podzemnih voda na lokaciji u Vitancu tokom 2013. godine

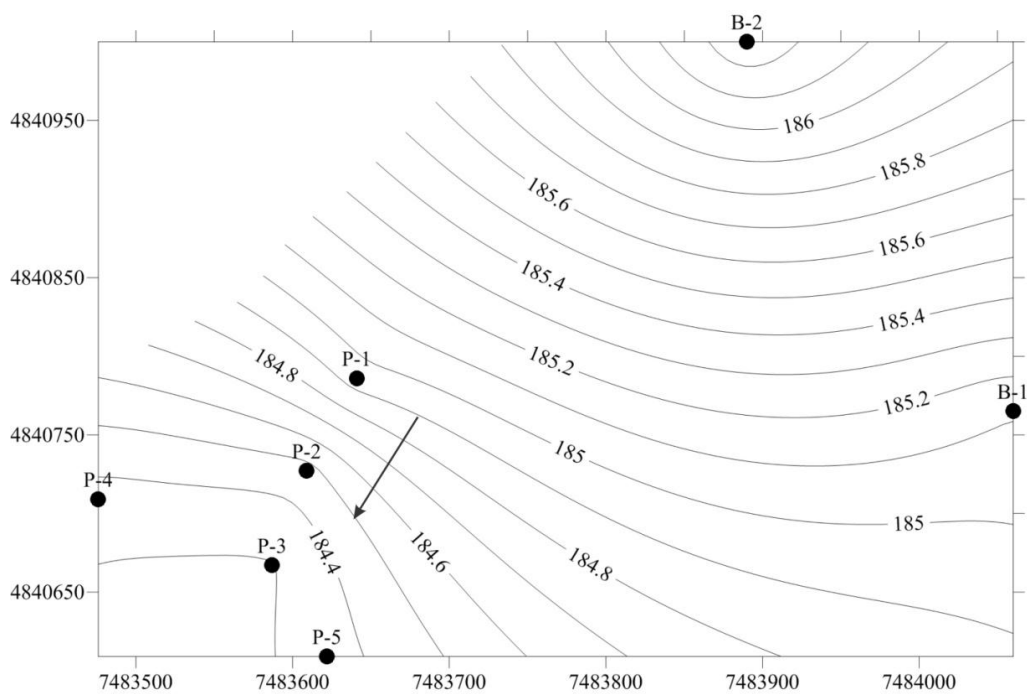
Objekat	Nivo podzemnih voda (mm)		
	27.6.2013.	17.9.2013.	2.12.2013.
P-1	185,64	184,94	184,95
P-2	185,11	184,42	184,46
P-3	184,89	184,24	184,30
P-4	184,81	184,20	184,36
P-5	185,00	184,37	184,36
B-1	185,87	185,29	185,11
B-2	186,95	186,40	186,28



Slika 4.16. Karta nivoa podzemnih voda na lokaciji u Vitancu - jun 2013. godine



Slika 4.17. Karta nivoa podzemnih voda na lokaciji u Vitancu - septembar 2013. godine



Slika 4.18. Karta nivoa podzemnih voda na lokaciji u Vitancu - decembar 2013. godine

Ono što se može smatrati značajnim sa aspekta osmatranja procesa prirodnog prečišćavanja jeste direktan uticaj podzemnih voda iz objekta P-1 na nizovodne osmatračke objekte, posebno P-2 i P-3. Ovakav uticaj je registrovan u sva tri vremenska preseka tokom 2013. godine, čime se pruža osnova za direktno osmatranje promena u podzemnim vodama nastalim usled dejstva procesa prirodnog prečišćavanja.

### 4.1.3. Osmatranje efekata prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama

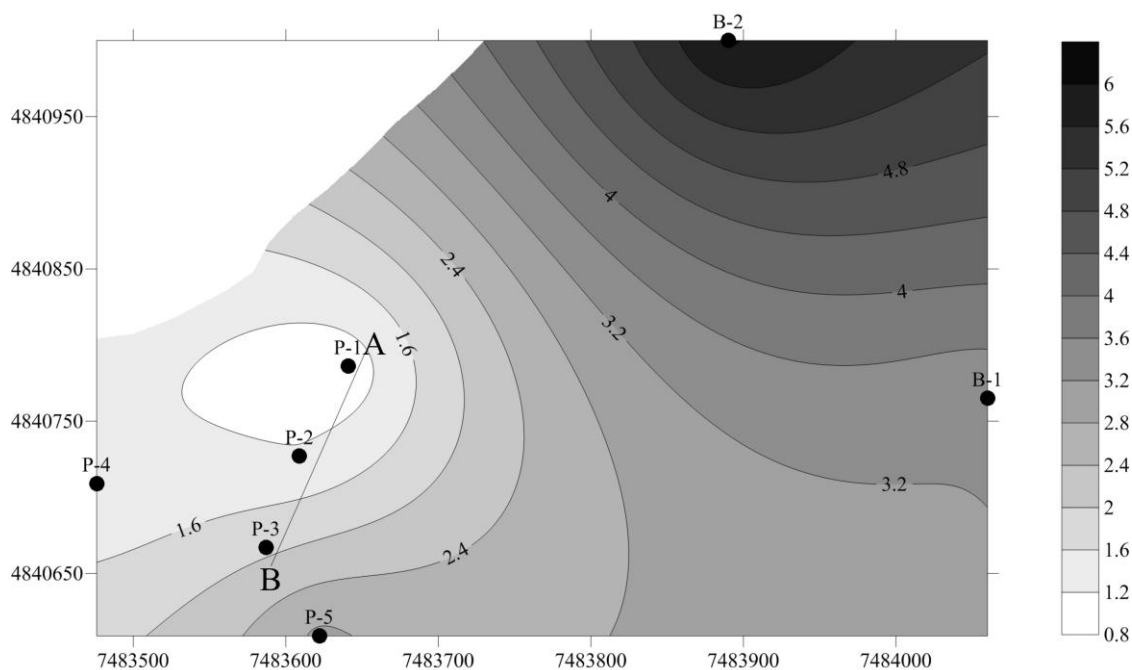
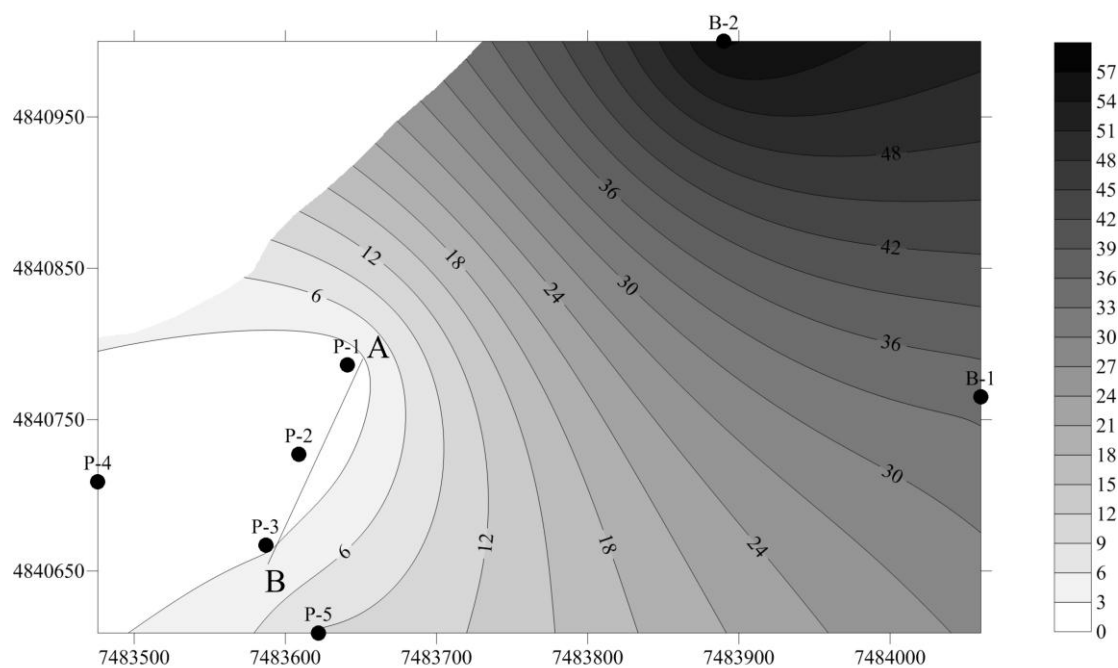
#### 4.1.3.1. Analiza koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije u podzemnim vodama

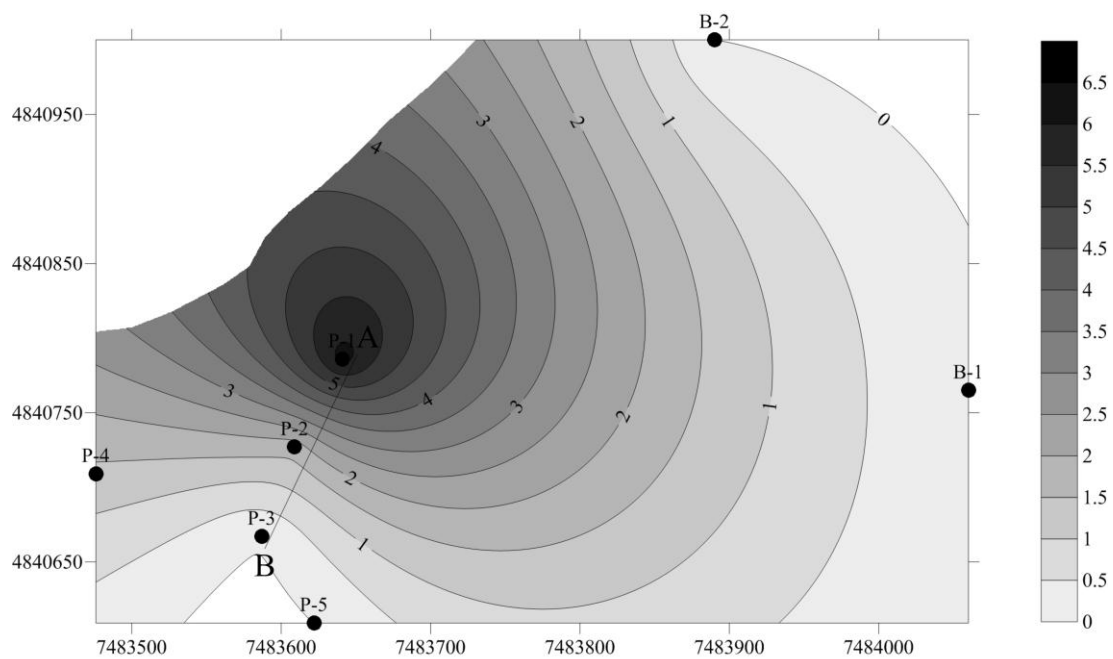
Osmatranje efekata prirodnog prečišćavanja u podzemnim vodama zagađenim naftnim ugljovodicima najčešće podrazumeva analizu koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije. Očekivani uticaj glavnih mehanizama biodegradacije na hemijski sastav podzemnih voda prikazan je u tabeli 4.16. (tipske reakcije biodegradacije benzena dali su van Ras et al. (2007).

Tabela 4.16. Glavni mehanizmi biodegradacije naftnih ugljovodonika i očekivani uticaj na koncentracije komponenti hemijskog sastava podzemnih voda

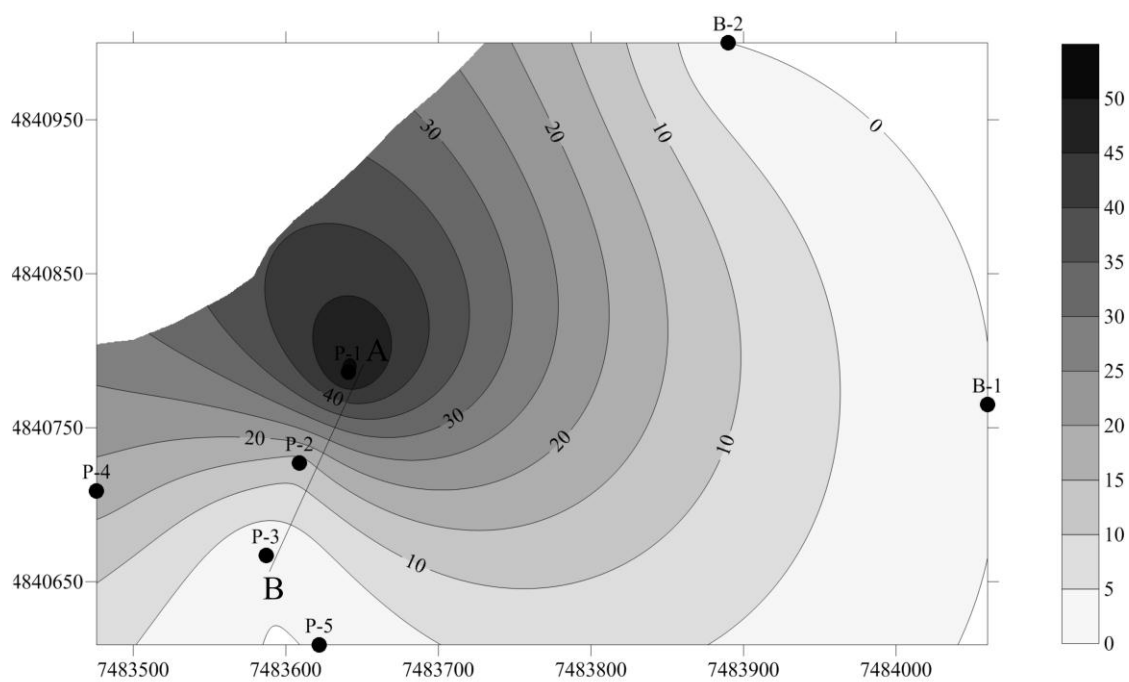
Mehanizam biodegradacije	Tipska reakcija	Efekat
aerobna respiracija	$C_6H_6 + 7,5O_2 \rightarrow 6CO_2 + 3H_2O$	↓ O <sub>2</sub>
redukcija nitrata	$C_6H_6 + 6NO_3^- + 6H^+ \rightarrow 6CO_2 + 3N_2 + 3H_2O$	↓ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
redukcija mangana (IV)	$C_6H_6 + 15MnO_2 + 30H^+ \rightarrow 6CO_2 + 15Mn^{2+} + 18H_2O$	↑ Mn
redukcija gvožđa (III)	$C_6H_6 + 30Fe(OH)_3 + 60H^+ \rightarrow 6CO_2 + 30Fe^{2+} + 78H_2O$	↑ Fe
redukcija sulfata	$C_6H_6 + 3,75SO_4^{2-} + 7H^+ \rightarrow 6CO_2 + 3,75H_2S + 3H_2O$	↓ SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
metanogeneza	$C_6H_6 + 4,5H_2O \rightarrow 2,25CO_2 + 3,75CH_4$	↑ CH <sub>4</sub>

Cilj analize koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata jeste da ukaže na eventualne izmene u hemijskom sastavu podzemnih voda, nastale usled mikrobiološke aktivnosti. U tu svrhu korišćena su merenja koncentracija O<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Mn, Fe, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> tokom 2013. godine (tabela 4.10 - 4.12). Kao parametri zagađenja organskog porekla, analizirane su koncentracije TOC i C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub> u podzemnim vodama. Karte koncentracija analiziranih parametara izrađene su u programu Golden Software SURFER 11 (slika 4.19 - 4.40).

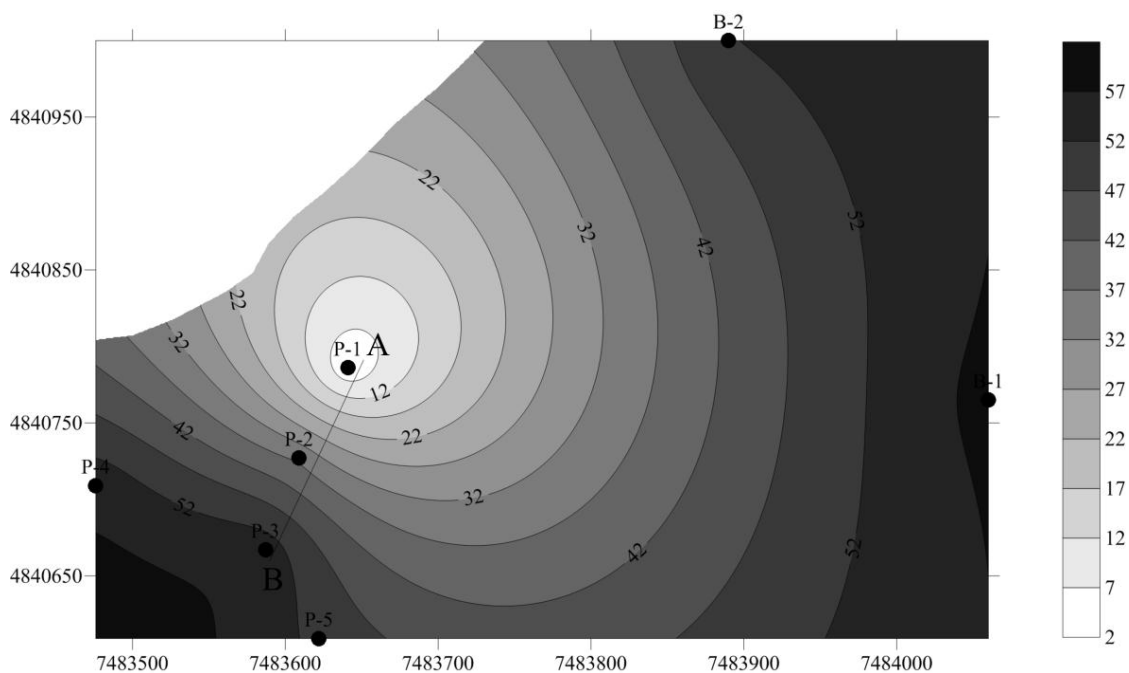
Slika 4.19. Raspored koncentracija  $O_2$  (mg/l) u podzemnim vodama - jun 2013.Slika 4.20. Raspored koncentracija  $NO_3^-$  (mg/l) u podzemnim vodama - jun 2013.



Slika 4.21. Raspored koncentracija Mn (mg/l) u podzemnim vodama - jun 2013.



Slika 4.22. Raspored koncentracija Fe (mg/l) u podzemnim vodama - jun 2013.

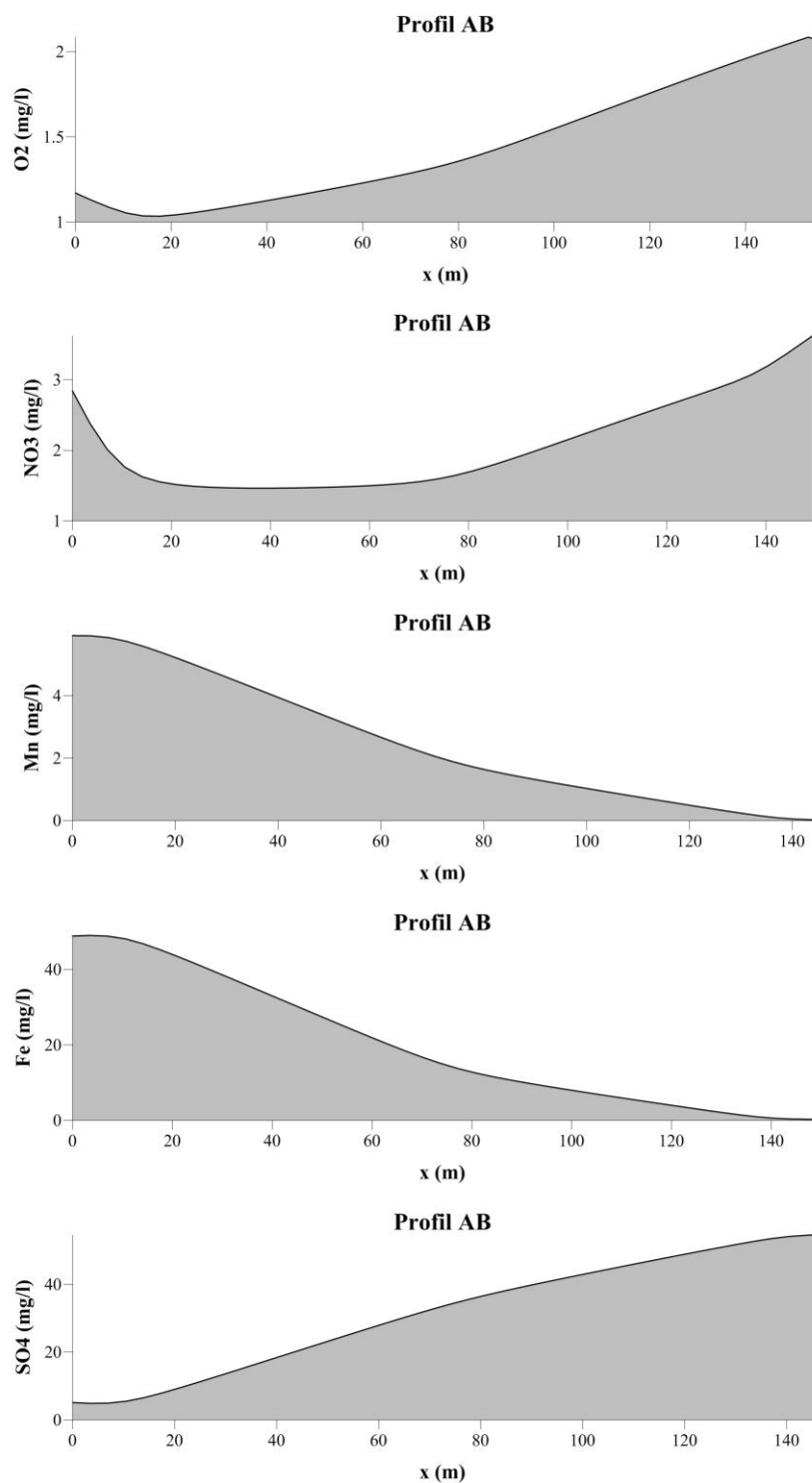


Slika 4.23. Raspored koncentracija  $\text{SO}_4^{2-}$  (mg/l) u podzemnim vodama - jun 2013.

Analiza koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije ukazuje na postojanje značajnih razlika u njihovoj prostornoj raspodeli. Naglašena je zonalnost u rasporedu koncentracija, sa centrom u zoni oko osmatračkog objekta P-1 (najbliži izvoru zagađenja). U zoni ovog objekta registrovane su sledeće koncentracije elektron akceptora:  $\text{O}_2 = 0,95$  mg/l;  $\text{NO}_3^- = 1$  mg/l;  $\text{SO}_4^{2-} = 3,0$  mg/l, dok su koncentracije metaboličkih produkata biodegradacije iznosile:  $\text{Mn} = 6,2$  mg/l;  $\text{Fe} = 51,2$  mg/l.

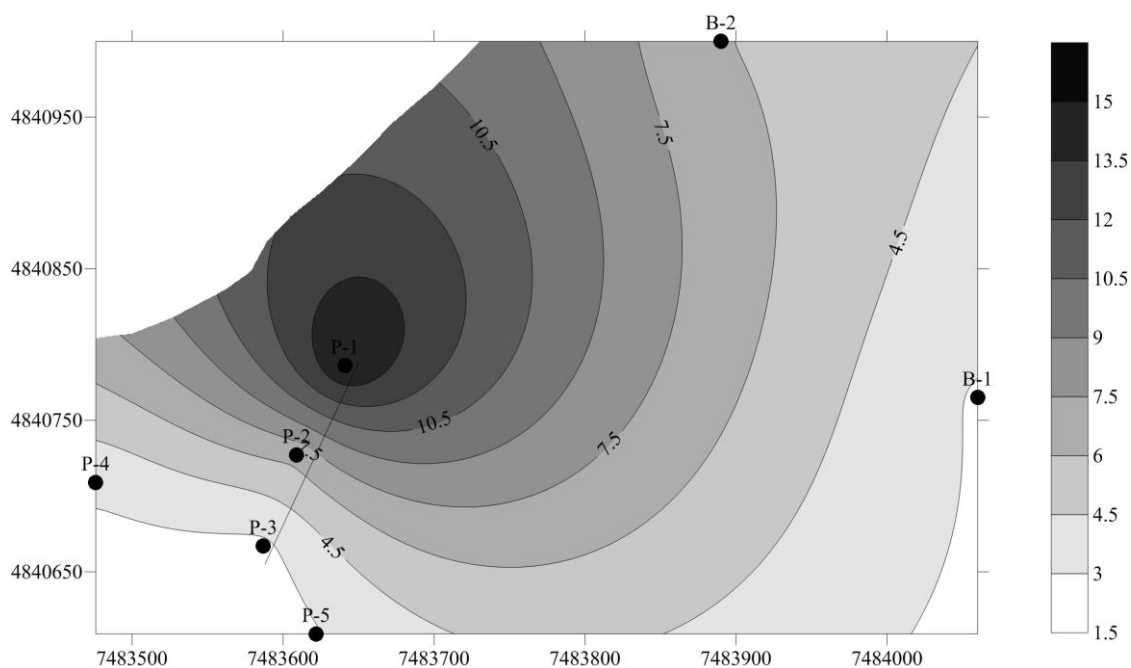
Udaljavanjem od osmatračkog objekta P-1 dolazi do značajnih promena u koncentracijama analiziranih parametara (slika 4.24). U nizvodnom objektu P-3 koncentracije elektron akceptora su iznosile:  $\text{O}_2 = 1,92$  mg/l;  $\text{NO}_3^- = 2,6$  mg/l;  $\text{SO}_4^{2-} = 55,0$  mg/l, odnosno metaboličkih produkata biodegradacije:  $\text{Mn} = 0,039$  mg/l;  $\text{Fe} = 0,287$  mg/l.





Slika 4.24. Promene u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata u podzemnim vodama nizvodno od osmatračkog objekta P-1 - jun 2013.

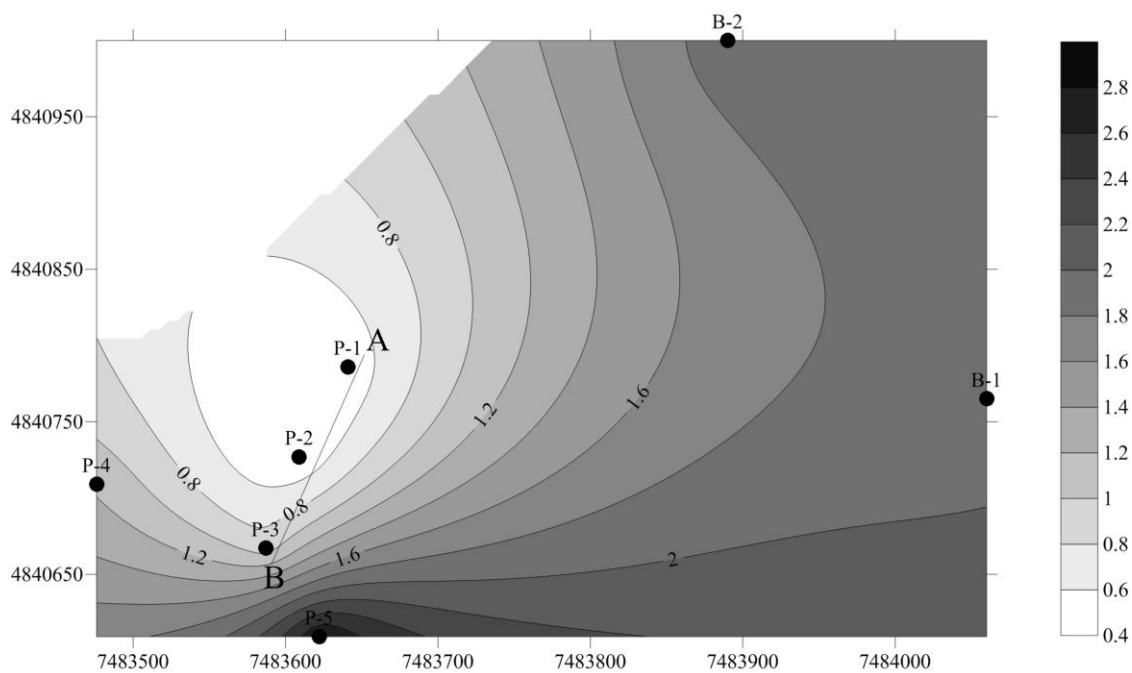
I pored ovako izraženih trendova u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata, ukupni naftni ugljovodonici u junu 2013. godine su ispod granice detekcije. Potvrdu o postojanju značajnog izvora organskog ugljenika pruža prostorni raspored TOC (slika 4.25).



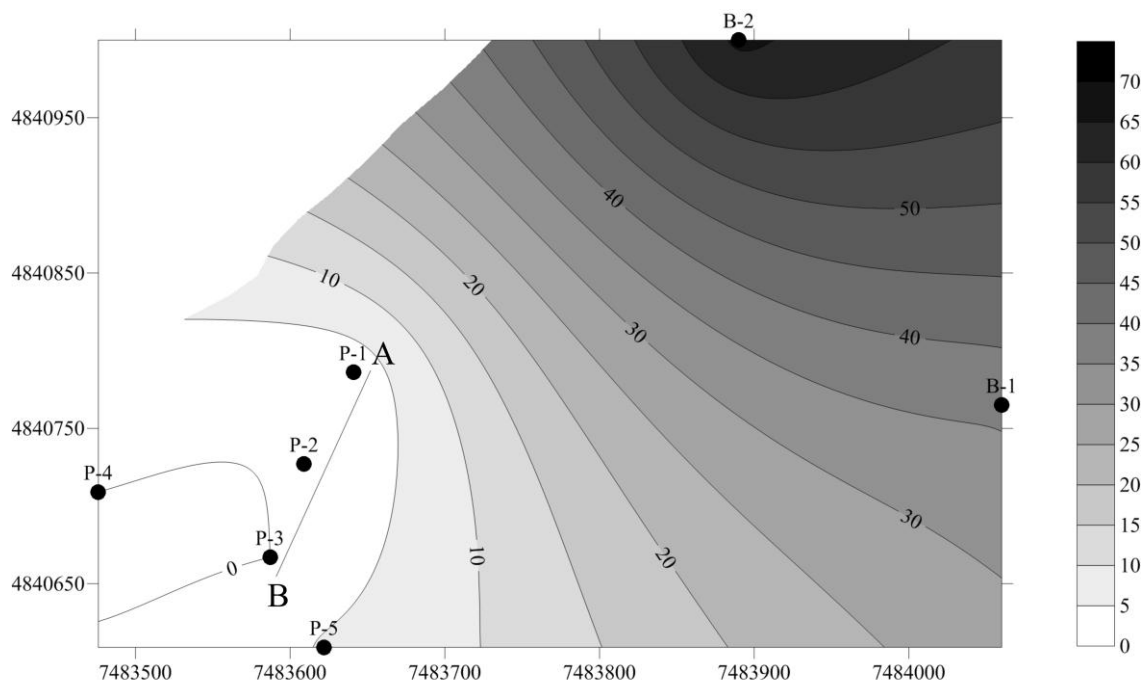
Slika 4.25 Raspored koncentracija TOC (mg/l) u podzemnim vodama - jun 2013.

Koncentracije TOC u osmatračkom objektu P-1 iznosile su 15,08 mg/l, odnosno 2,7 mg/l u objektu P-3. Očigledno je poklapanje najviših vrednosti TOC sa zonom najvećih promena u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije.

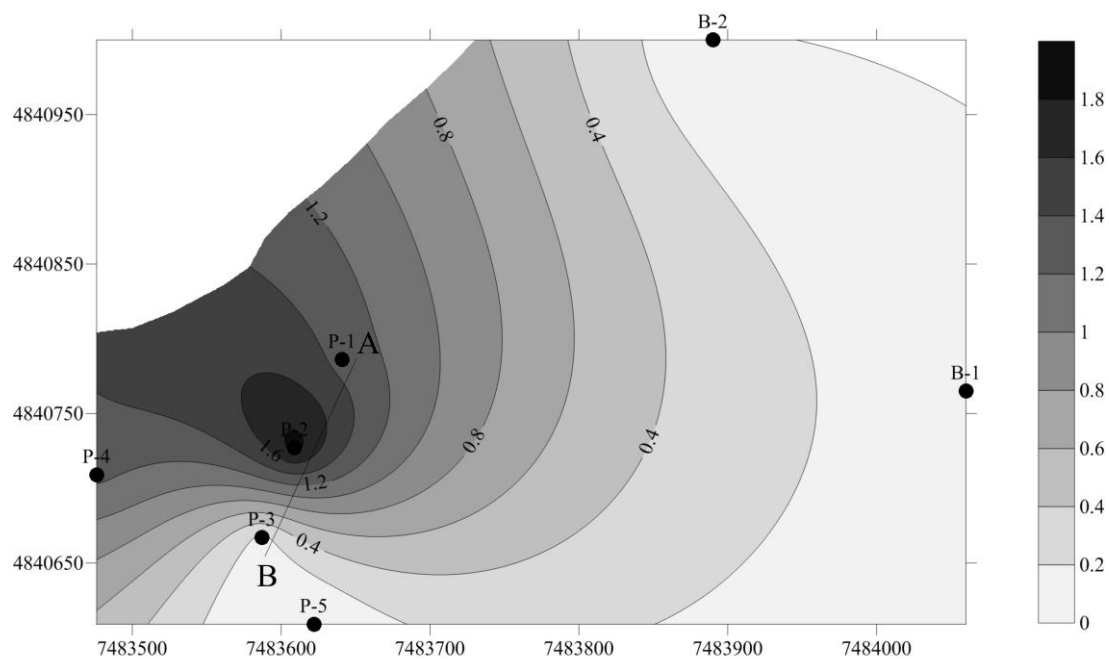
Prostorni raspored koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije na osnovu osmatranja iz septembra 2013. godine, prikazan je na slikama 4.26 - 4.30.



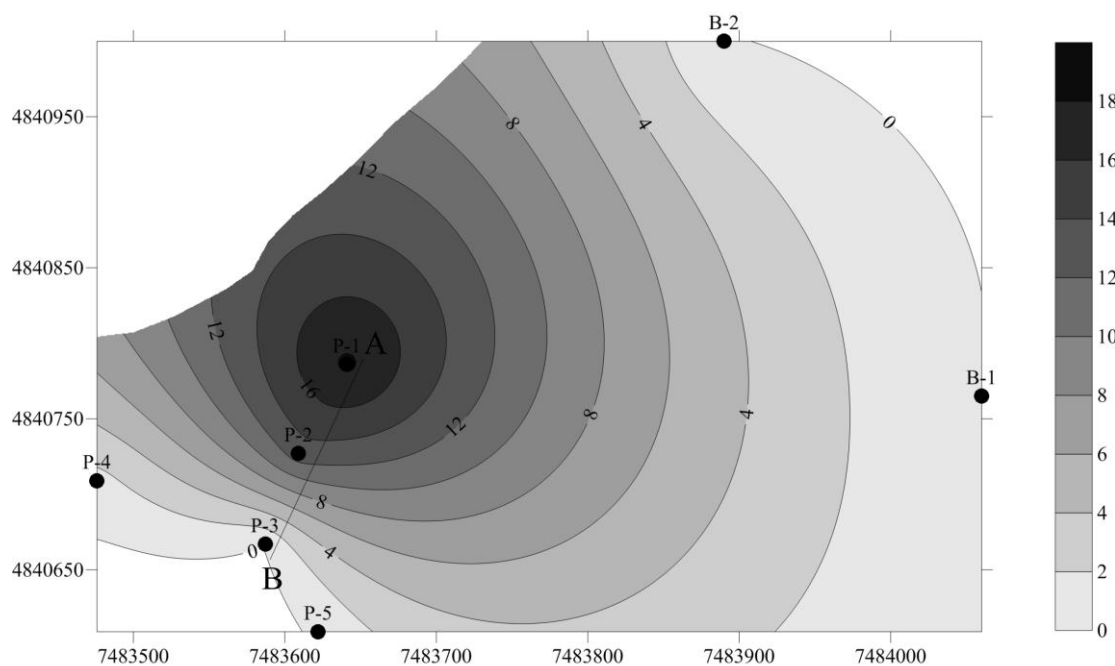
Slika 4.26. Raspored koncentracija  $O_2$  (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.



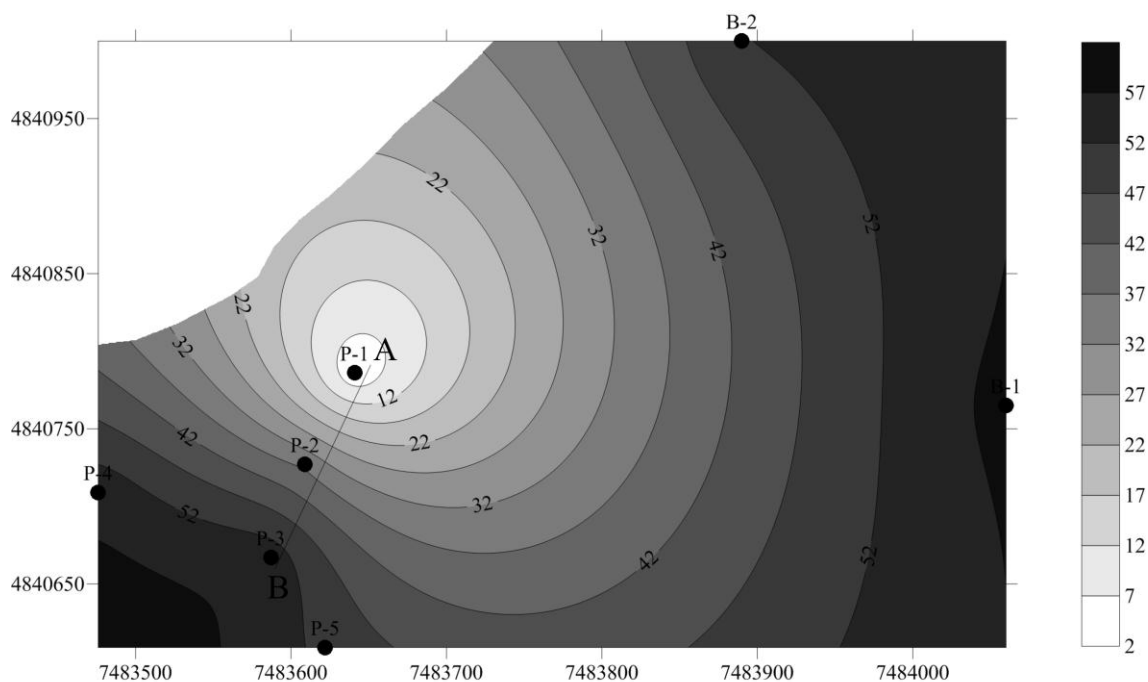
Slika 4.27. Raspored koncentracija  $NO_3^-$  (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.



Slika 4.28. Raspored koncentracija Mn (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.



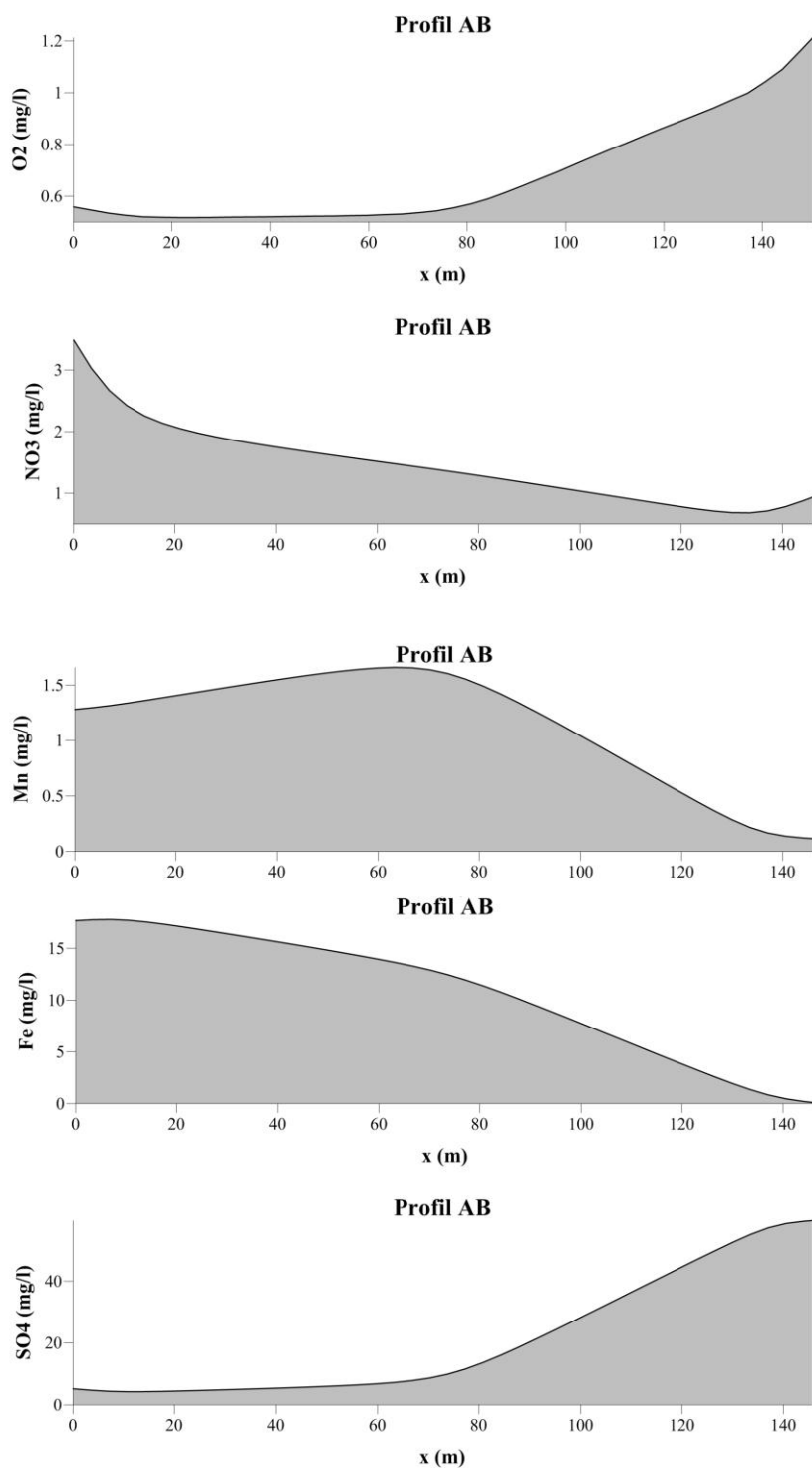
Slika 4.29. Raspored koncentracija Fe (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.



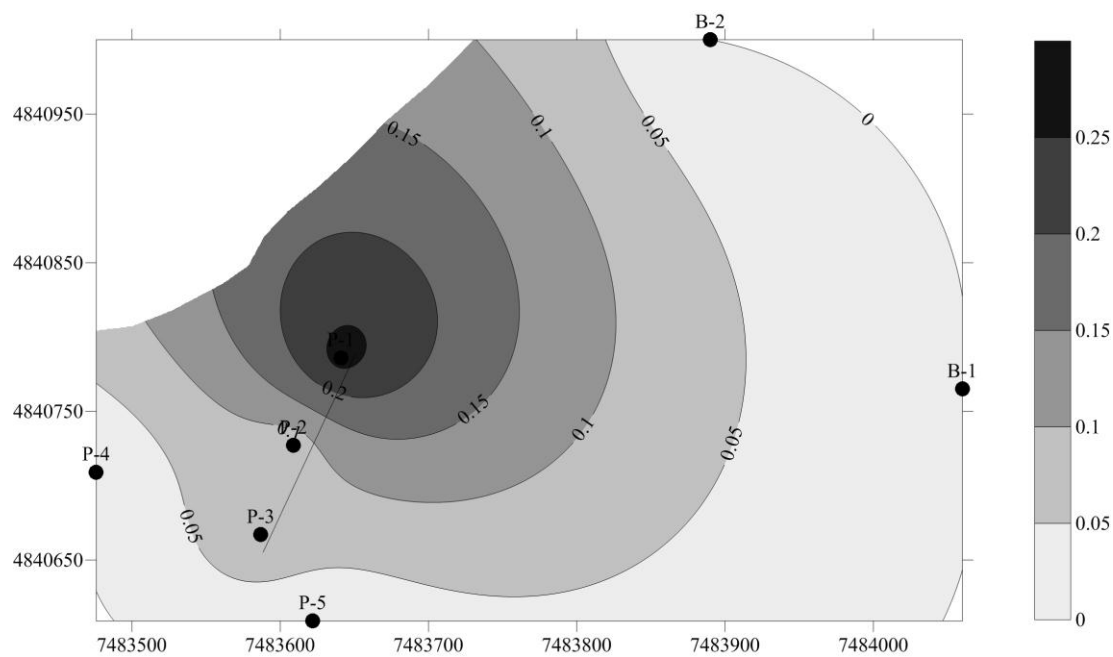
Slika 4.30. Raspored koncentracija  $\text{SO}_4^{2-}$  (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.

Kao i u prethodnoj fazi osmatranja, koncentracije elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije karakteriše zonalnost u prostornom rasporedu. U zoni osmatračkog objekta P-1 koncentracije elektron akceptora su iznosile:  $\text{O}_2 = 0,48$  mg/l;  $\text{NO}_3^- = 1,6$  mg/l;  $\text{SO}_4^{2-} = 3,4$  mg/l, odnosno metaboličkih produkata biodegradacije:  $\text{Mn} = 1,3$  mg/l;  $\text{Fe} = 18,4$  mg/l. U nizvodnom osmatračkom objektu P-3 registrovane su sledeće vrednosti pomenutih elektron akceptora ( $\text{O}_2 = 0,9$  mg/l;  $\text{NO}_3^- < 0,5$  mg/l;  $\text{SO}_4^{2-} = 60,2$  mg/l) i metaboličkih produkata biodegradacije ( $\text{Mn} = 0,135$  mg/l;  $\text{Fe} = 0,103$  mg/l). Razlika u odnosu na prethodni slučaj ogleda se u širenju zone uticaja biodegradacije ka osmatračkom objektu P-2, tako da se za najveći broj parametara nagle promene u koncentracijama odvijaju između osmatračkih objekata P-2 i P-3 (slika 4.31).

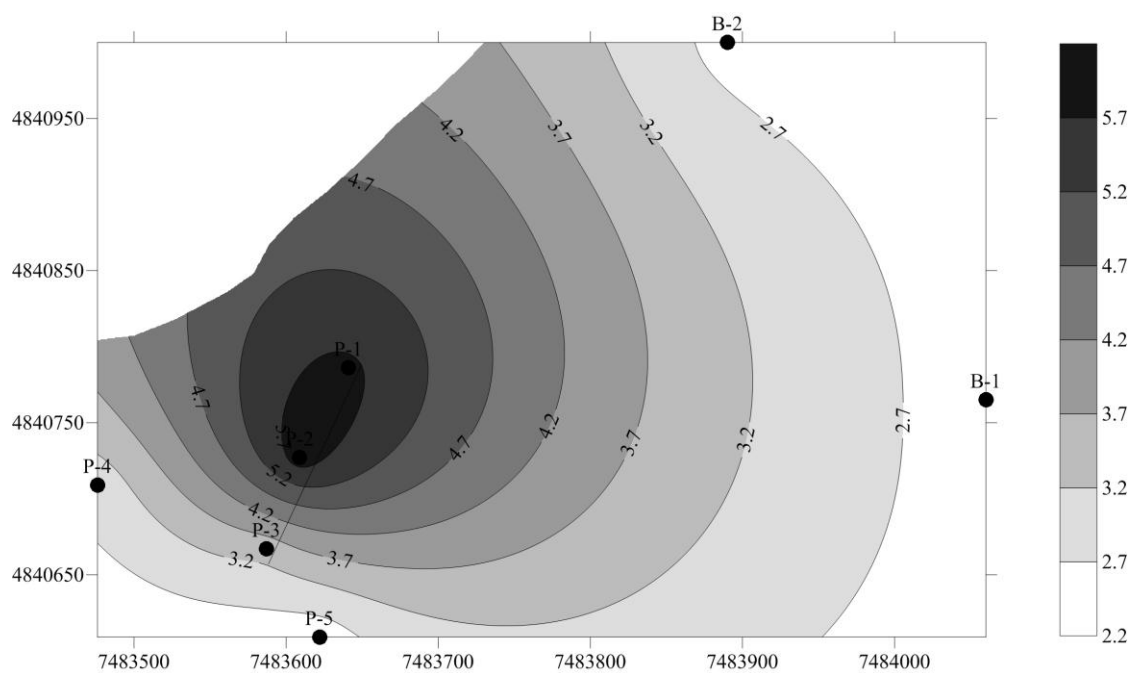
Prostorni raspored koncentracija ukupnih naftnih ugljovodonika ( $\text{C}_{10}\text{-C}_{40}$ ) i ukupnog organskog ugljenika (TOC) u podzemnim vodama dat je na slikama 4.32 i 4.33.



Slika 4.31. Promene u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata u podzemnim vodama nizvodno od osmatračkog objekta P-1 - septembar 2013.



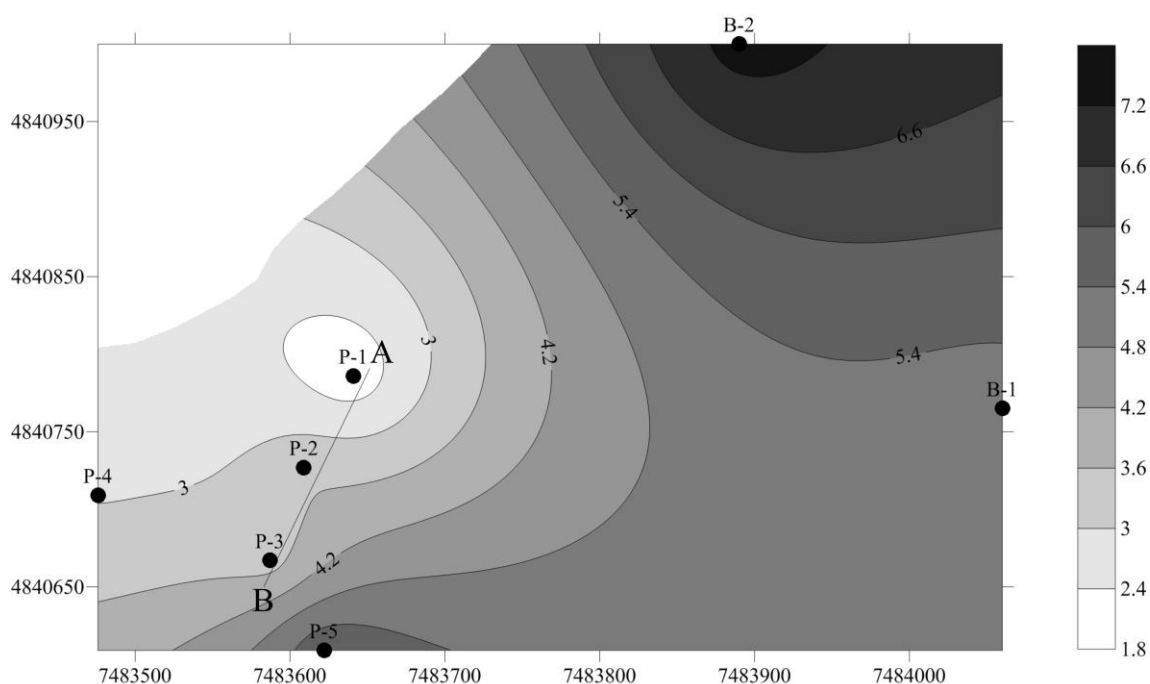
Slika 4.32. Raspored koncentracija C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub> (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.



Slika 4.33. Raspored koncentracija TOC (mg/l) u podzemnim vodama - septembar 2013.

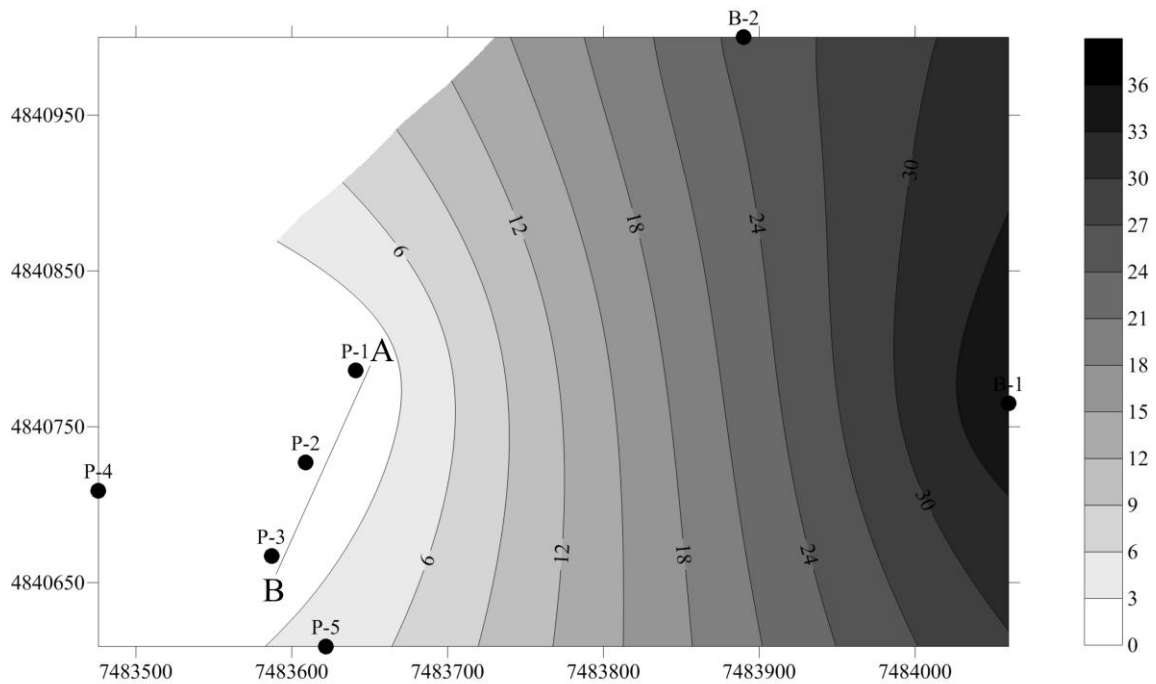
Najviše koncentracije parametara organskog zagađenja registrovane u objektu P-1 ( $C_{10}-C_{40} = 0,27$  mg/l; TOC = 5,79 mg/l), nizvodno dolazi do njihovog pada - objekat P-3 ( $C_{10}-C_{40} = 0,10$  mg/l; TOC = 3,40 mg/l). Poklapanje zone povišenih vrednosti parametara organskog zagađenja sa zonom najvećih izmena u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata, predstavlja dodatni dokaz da su promene u hemijskom sastavu posledica biodegradacije.

Prostorni raspored koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije na osnovu osmatranja iz decembra 2013. godine, dat je na slikama 4.34 - 4.38.

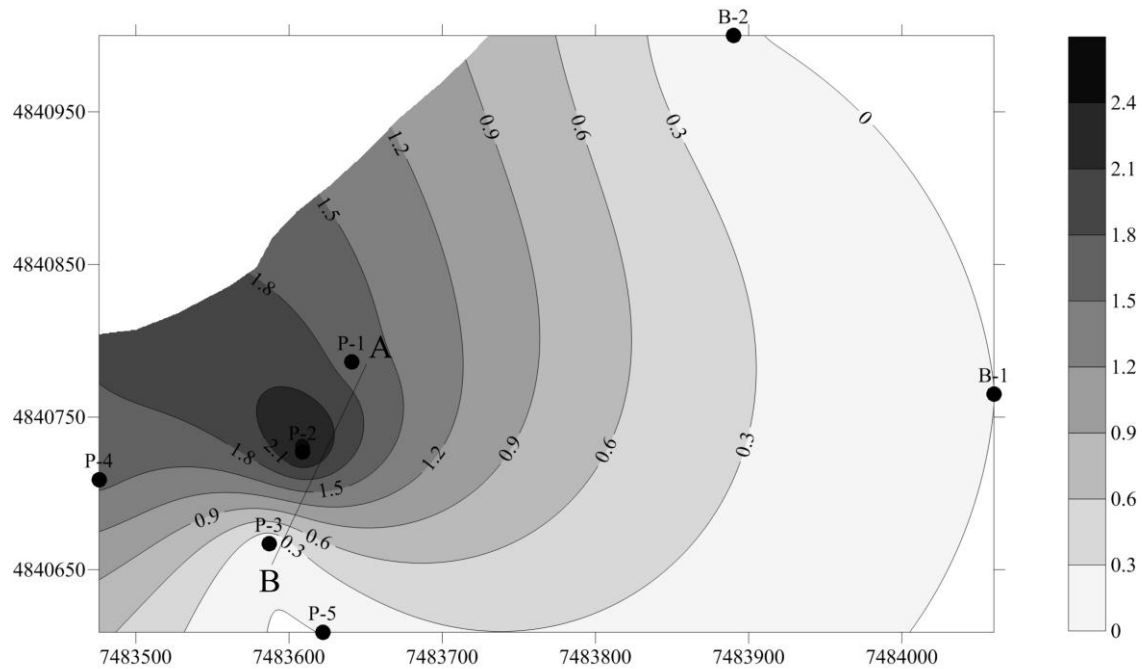


Slika 4.34. Raspored koncentracija  $O_2$  (mg/l) u podzemnim vodama - decembar 2013.

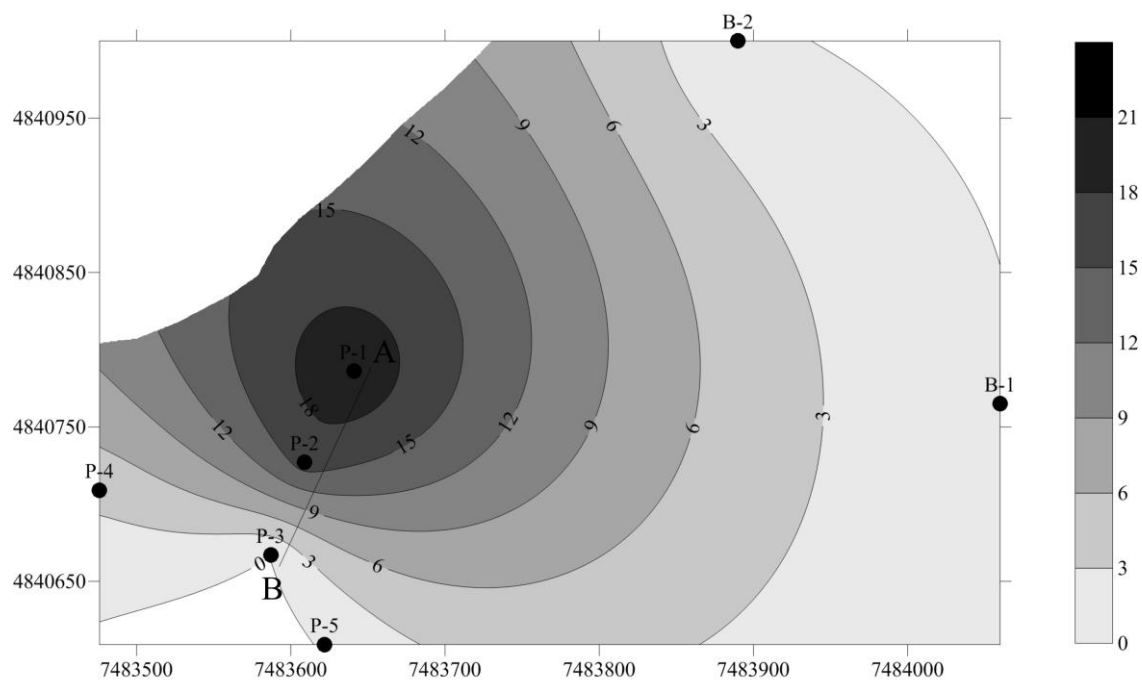




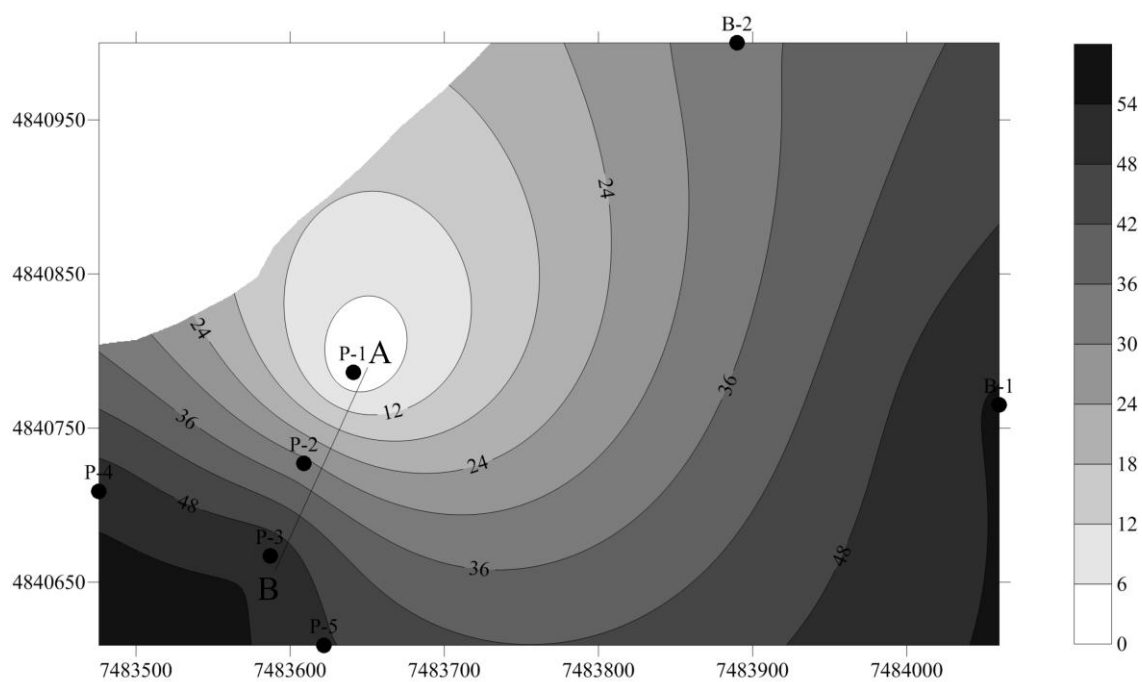
Slika 4.35. Raspored koncentracija  $\text{NO}_3^-$  (mg/l) u podzemnim vodama - decembar 2013.



Slika 4.36. Raspored koncentracija Mn (mg/l) u podzemnim vodama - decembar 2013.

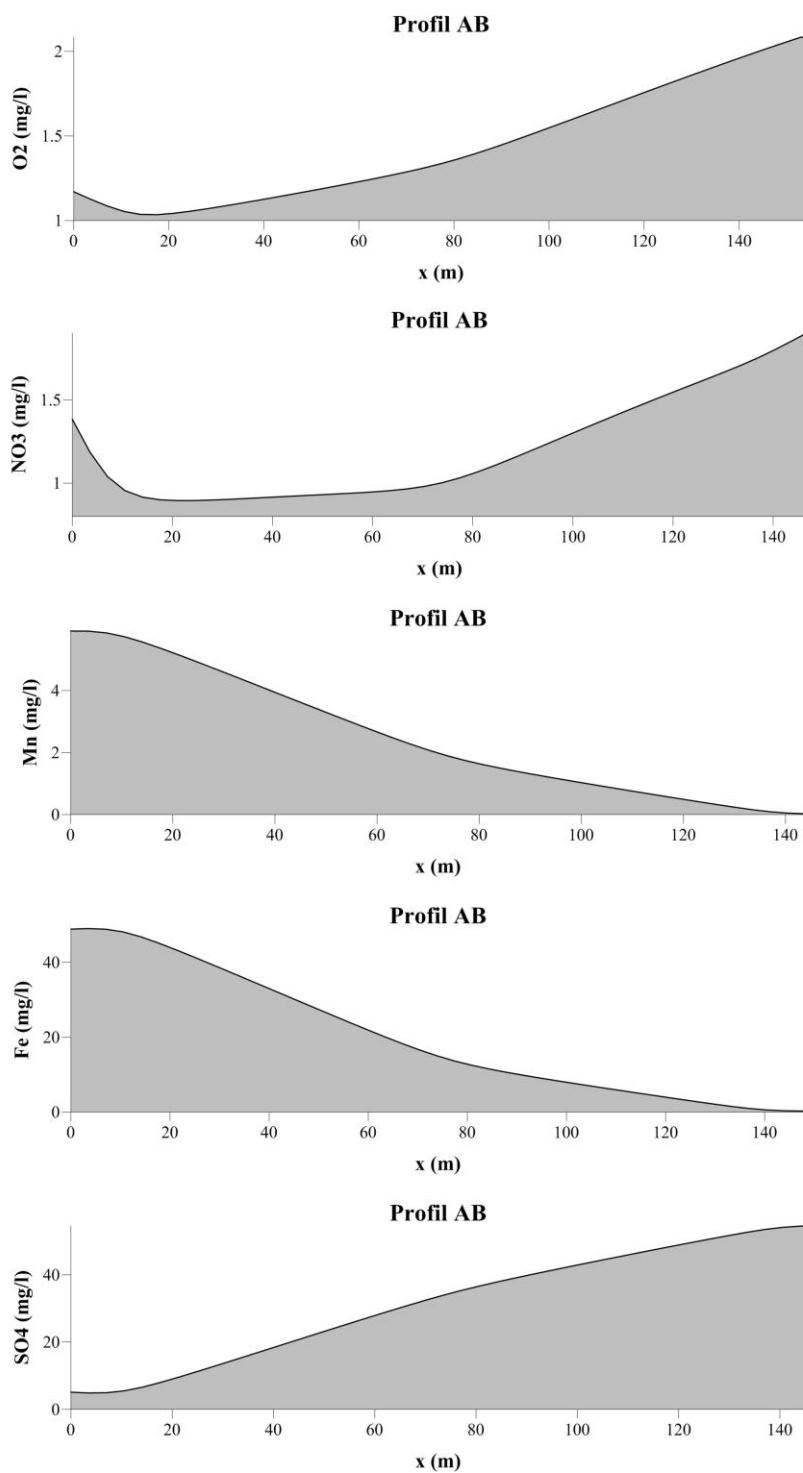


Slika 4.37. Raspored koncentracija Fe (mg/l) u podzemnim vodama - decembar 2013.



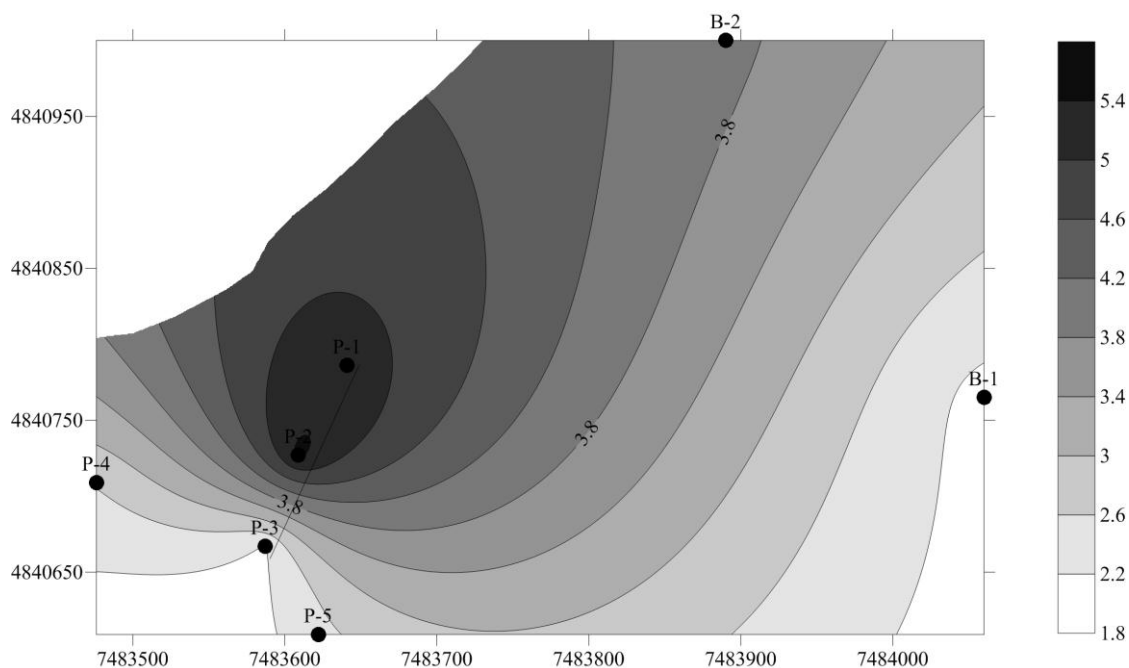
Slika 4.38. Raspored koncentracija  $\text{SO}_4^{2-}$  (mg/l) u podzemnim vodama - decembar 2013.

Zonalnost u rasporedu koncentracija sa centrom oko osmatračkog objekta P-1 potvrđena je i u ovom slučaju. Uočene su značajne razlike u koncentracijama analiziranih parametara u osmatračkom objektu P-1 ( $O_2 = 1,98 \text{ mg/l}$ ;  $NO_3^- < 0,5 \text{ mg/l}$ ;  $Mn = 1,64 \text{ mg/l}$ ;  $Fe = 20,2 \text{ mg/l}$ ;  $SO_4^{2-} < 0,5 \text{ mg/l}$ ) u odnosu na P-3 ( $O_2 = 3,32 \text{ mg/l}$ ;  $NO_3^- = 1,5 \text{ mg/l}$ ;  $Mn = 0,022 \text{ mg/l}$ ;  $Fe = 0,067 \text{ mg/l}$ ;  $SO_4^{2-} = 52,7 \text{ mg/l}$ ). Zona uticaja biodegradacije je nešto uža, pa se najveće promene u koncentracijama odvijaju između osmatračkih objekta P-1 i P-2 (slika 4.39).



Slika 4.39. Promene u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata u podzemnim vodama nizvodno od osmatračkog objekta P-1 - decembar 2013.

Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodonika su ispod granice detekcije. Najviše koncentracije TOC registrovane su u osmatračkom objektu P-1 (5,17 mg/l), nizvodno dolazi do njihovog pada P-3 (2,18 mg/l) - slika 4.40.



Slika 4.40. Raspored koncentracija TOC (mg/l) u podzemnim vodama - decembar 2013.

Dobijeni rezultati predstavljaju čvrst dokaz o promenama u hemijskom sastavu podzemnih voda nastalim usled mikrobiološke aktivnosti. Postojanje trendova u koncentracijama elektron akceptora i metaboličkih produkata koji ukazuju na različite mehanizme biodegradacije naftnih ugljovodonika potvrđeno je kroz tri serije osmatranja tokom 2013. godine. Na osnovu analiziranih parametara utvrđen je uticaj aerobne respiracije, redukcije nitrata, redukcije mangana (IV), redukcije gvožđa (III) i redukcije sulfata na hemijski sastav podzemnih voda. Treba imati u vidu da su ovako očigledni trendovi u koncentracijama osmatranih parametara registrovani 20 godina nakon izlivanja kerozina, što ukazuje na veličinu akcidenta i intenzitet mikrobiološke aktivnosti na ovoj lokaciji.

#### 4.1.3.2. Uticaj biodegradacije na promene u izotopskom sastavu podzemnih voda

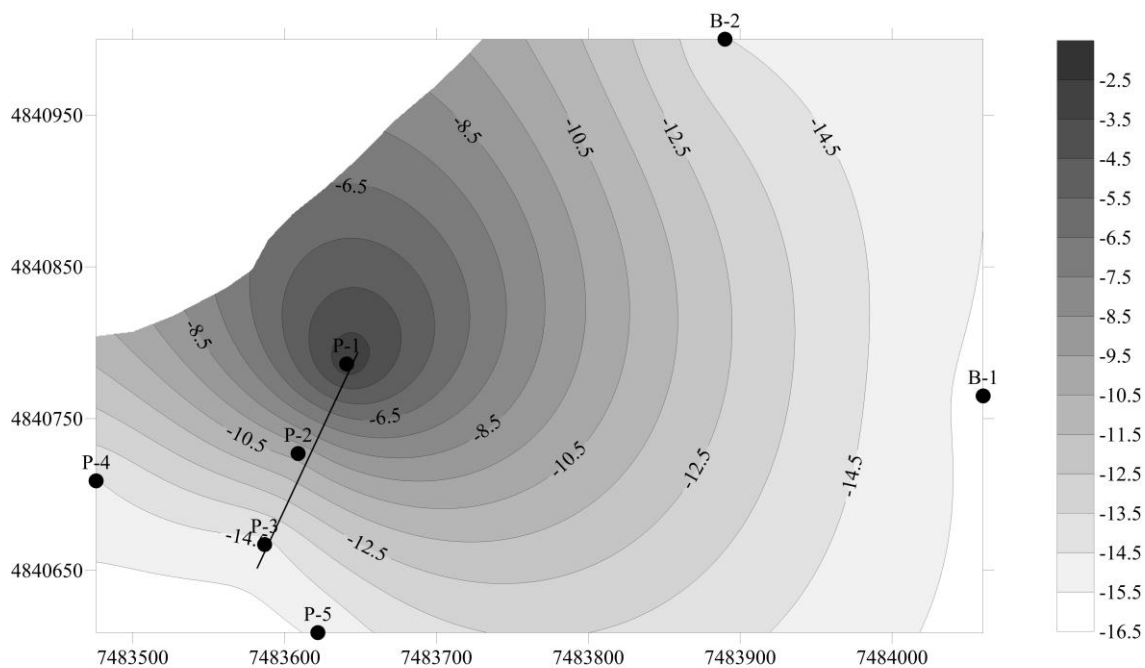
Pod izotopima se podrazumevaju atomi istog elementa koji imaju različite mase (Aelion, 2009). Izotopske analize mogu predstavljati dodatni izvor podataka o biodegradaciji naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama (Alvarez and Ilman, 2006). Tako je uočeno da dugotrajna izloženost procesima biodegradacije dovodi do merljivih promena u odnosu ugljenikovih izotopa  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . Pomenuti odnosi  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  u uzorku ( $R_{\text{uzorka}}$ ), upoređuju sa odnosom ovih izotopa u usvojenom međunarodnom standardu ( $R_{\text{standard}}$ ), a izmerena razlika se označava simbolom delta ( $\delta^{13}\text{C}$ ) Coplen (1996):

$$\delta\text{‰} = \frac{R_{\text{uzorka}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} * 1000$$

Znak plus ili minus ispred vrednosti  $\delta^{13}\text{C}$  ukazuje da li uzorak ima veću ili manju vrednost u odnosu na usvojeni standard. Schoel (1984) navodi da naftne ugljovodonike generalno karakterišu niže vrednosti  $\delta^{13}\text{C}$  u odnosu na većinu drugih izvora ugljenika. Samim tim, kao rezultat biodegradacije naftnih ugljovodonika nastaje  $\text{CO}_2$  sa nižim vrednostima  $\delta^{13}\text{C}$ . Aggarwal and Hinchee (1991) ukazuju da su vrednosti  $\delta^{13}\text{C}$  metaboličkih produkata biodegradacije naftnih ugljovodonika (npr. rastvorenog neorganskog ugljenika - DIC) niže u zagađenim u odnosu na nezagađene zone.

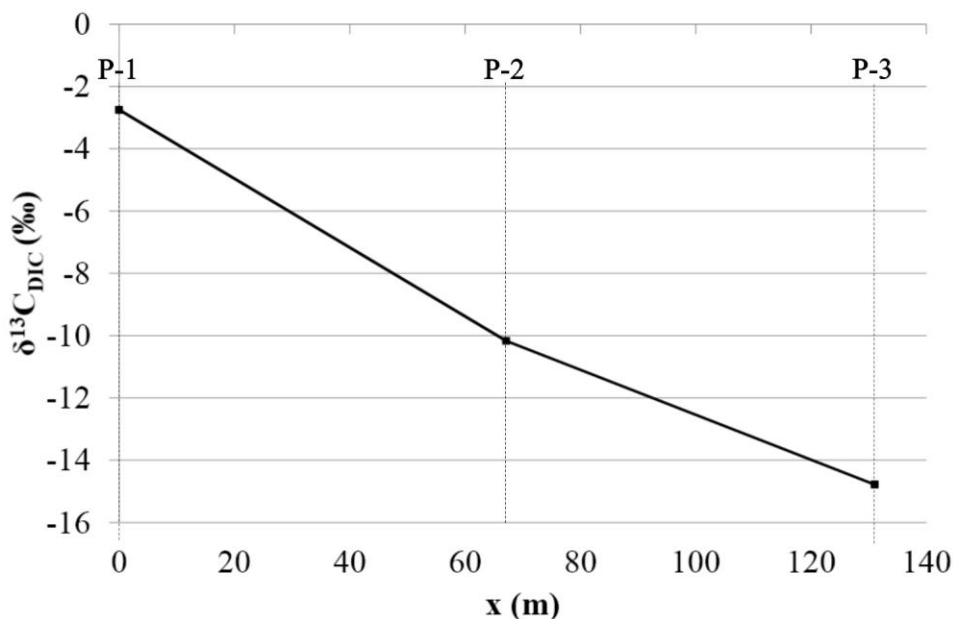
Ova zakonitost prestaje da važi pri krajnje anoksičnim uslovima u izdani, preciznije usled dejstva metanogeneze kao mehanizma biodegradacije naftnih ugljovodonika. Tako Baedecker et al. (1993), Revesz et al. (1995), Landmeyer et al. (1996) ukazuju da povišene vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  predstavljaju posledicu biodegradacije naftnih ugljovodonika u metanogenetskim uslovima. Pojavu povišenih vrednosti  $\delta^{13}\text{C}$  u podzemnim vodama zagađenim naftnim ugljovodonicima Lollar et al. (2001) objašnjavaju time što pri biodegradaciji u metanogenetskim uslovima nastaje  $\text{CH}_4$  sa nižim i  $\text{CO}_2$  sa višim  $\delta^{13}\text{C}$  vrednostima. Tako se vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  kao metaboličkog produkta biodegradacije mogu koristiti za razdvajanje uticaja metanogeneze i ostalih mehanizama biodegradacije.

U cilju ispitivanja eventualnog uticaja biodegradacije komponenti kerozina na promene u izotopskom sastavu podzemnih voda na lokaciji u Vitanovcu realizovana su merenja  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  (tabela 4.13). Kao i u slučaju elektron akceptora i metaboličkih produkata biodegradacije, raspored koncentracija  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  karakteriše postojanje zonalnosti sa centrom u osmatračkom objektu P-1 (slika 4.41). Izmerene koncentracije  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  u okviru područja istraživanja su u intervalu od -15,83 ‰ do -2,48 ‰. Najpozitivnije vrednosti registrovane su u osmatračkom objektu P-1: uzorak sa površine izdani P-1 (-2,75 ‰), uzorak sa dubine od jednog metra ispod površine izdani P-1D (-2,48 ‰). Sa izuzetkom osmatračkog objekta P-2 (-10,17 ‰), u ostalim objektima vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  su dosta ujednačene (-15,83 do -14,48 ‰), što se može tumačiti nedovoljnom izloženošću procesima biodegradacije.



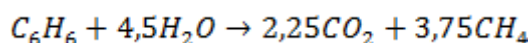
Slika 4.41. Prostorni raspored koncentracija  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  u podzemnim vodama

Promene u izotopskom sastavu podzemnih voda najočiglednije su duž profila kroz objekte P-1, P-2 i P-3. Tako su koncentracije  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  u podzemnim vodama osmatračkog objekta P-1 čak za oko 12 ‰ više u odnosu na P-3 (slika 4.42).



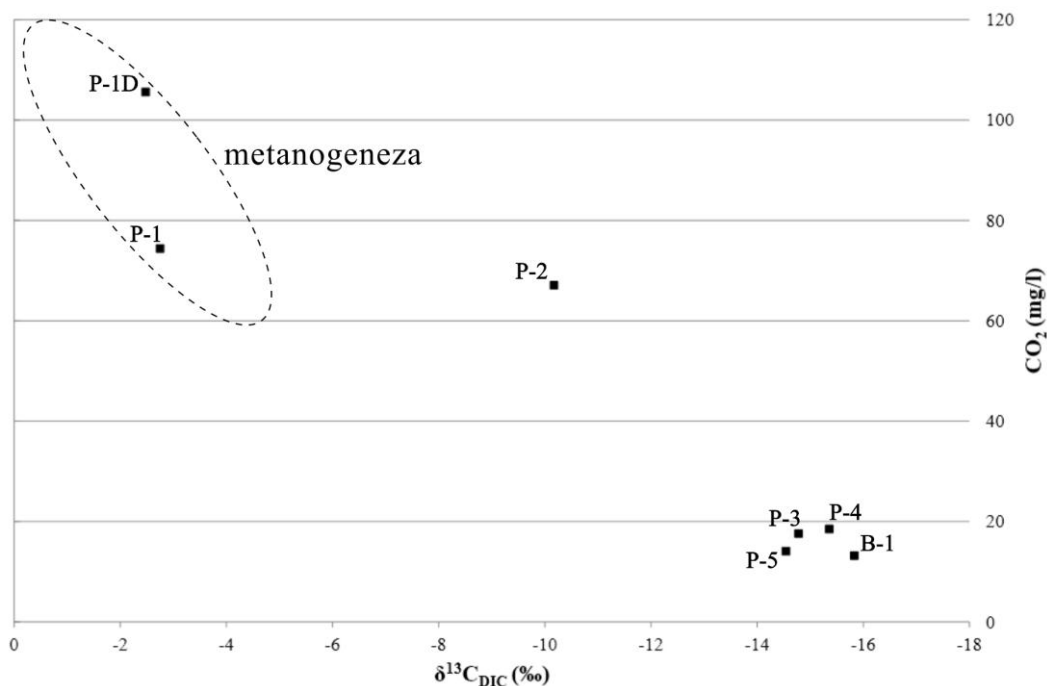
Slika 4.42. Koncentracije  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  u osmatračkim objektima P-1, P-2 i P-3

Ovako značajne razlike registrovane su u okviru jedinstvene aluvijalne izdani, tako da se može isključiti uticaj drugih izvora ugljenika. Imajući u vidu rezultate do kojih su došli Lollar et al. (2001), povišene vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  mogu se smatrati posledicom nastanka  $\text{CO}_2$  sa višim  $\delta^{13}\text{C}$  vrednostima u metanogenetskim uslovima. Biodegradacija u metanogenetskim uslovima može se predstaviti sledećom jednačinom:



Koncentracije ugljen-dioksida za analizirani vremenski period kreću se u intervalu od 13,2 do 105,6 mg/l (tabela 4.12). Ovako značajne razlike u koncentracijama  $\text{CO}_2$  u skladu su sa razlikama registrovanim u vrednostima  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ , njihov uporedni dijagram prikazan je na slici 4.43.





Slika 4.43. Zavisnost između sadržaja  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  (‰) i  $\text{CO}_2$  (mg/l) u podzemnim vodama

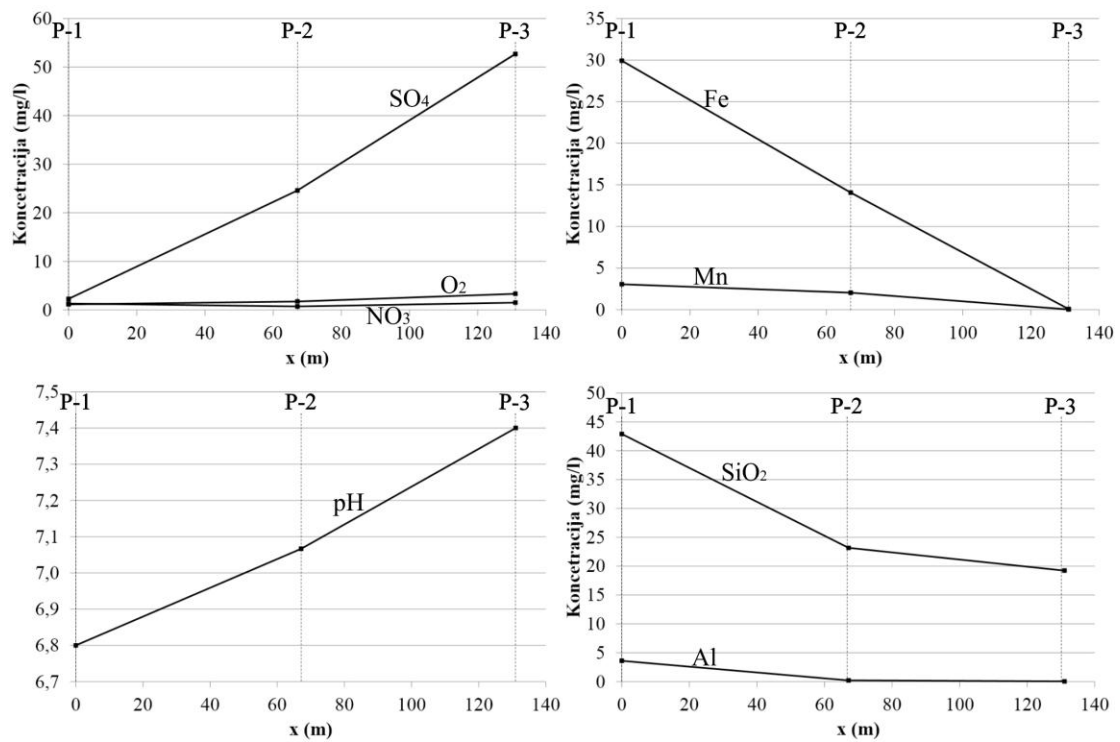
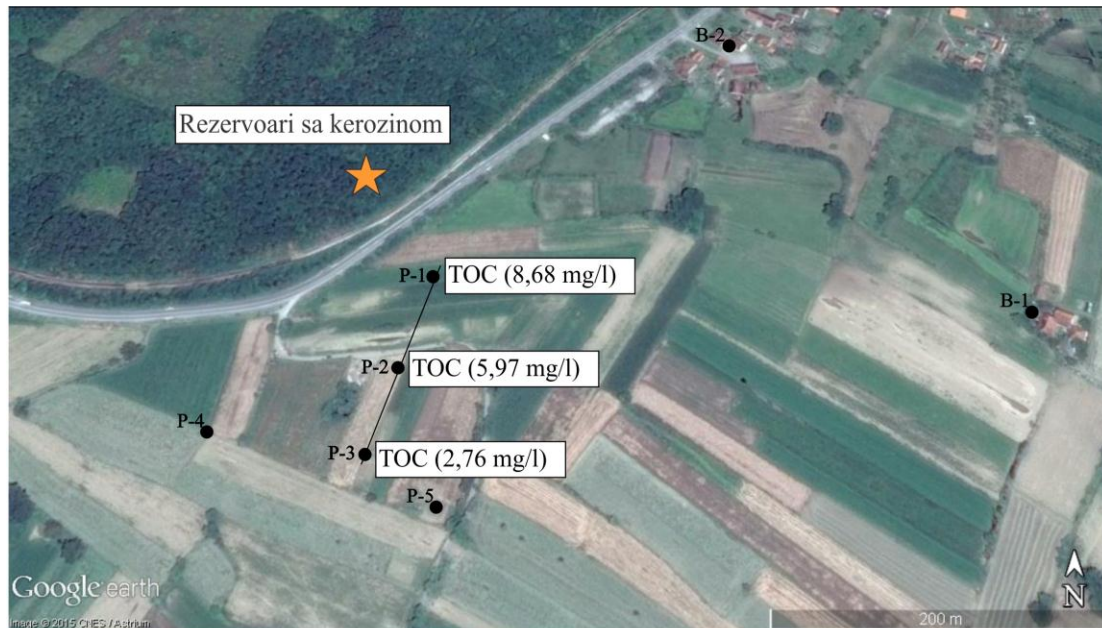
Najvišim koncentracijama ugljen-dioksida u podzemnim vodama odgovaraju najpozitivnije vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ , što potvrđuje da je reč o ugljen-dioksidu nastalom pri biodegradaciji u metanogenetskim uslovima. Uticaj metanogeneze nesumnjivo je utvrđen u osmatračkom objektu P-1. U ostalim osmatračkim objektima vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  i  $\text{CO}_2$  su dosta ujednačene, sa izuzetkom objekta P-2 koji predstavlja zonu mešanja. Posmatrano po vertikali osmatračkog objekta P-1 vrednosti  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  rastu, što ukazuje da sa dubinom dolazi do povećanja anoksičnosti sredine - metanogenetski uslovi u izdani postaju dominantniji.

#### 4.1.3.3. Ocena uticaja biodegradacije na rastvorljivost silikata

Uticaj biodegradacije naftnih ugljovodonika na povećanje rastvorljivosti minerala vodonosne sredine do sada je registrovan na nekoliko lokacija u svetu. Prema dostupnim podacima, u terenskim uslovima ubrzana razgradnja minerala kao posledica biodegradacije do sada je potvrđena na lokaciji Bemidji - Minesota (Hiebert and Bennet, 1992), Hanahan - Južna Karolina (McMahon et al., 1995), Carson City - Mičigen (Atekwana et al., 2005). Reč je o lokacijama koje karakteriše dugotrajna izloženost procesima biodegradacije naftnih ugljovodonika.

Na osnovu mikroskopskih analiza sedimenata sa lokacije Bemidji, Hiebert and Bennet (1992) ukazuju na intenzivnu mehaničku istrošenost minerala u zoni sa povišenim sadržajem organskih kiselina. Kao dodatni dokaz o uticaju organskih kiselina na rastvaranje minerala isti autori navode pozitivnu korelisanost između koncentracija rastvorenog organskog ugljenika i rastvorenih silikata u podzemnim vodama. Detaljna istraživanja na istoj lokaciji izvode Cozzarelli et al. (1994) koji ukazuju na postojanje čitavog niza organskih kiselina koje nastaju kao međuproizvodi biodegradacije naftnih ugljovodonika. Na kapacitet organskih kiselina da ubrzaju rastvaranje minerala ukazuju Welch and Ullman (1993), koji navode da su brzine rastvaranja plagioklasa u rastvoru sa organskim kiselinama čak do deset puta veće u odnosu na neorganske kiseline istog aciditeta. Kao primarni mehanizam uticaja kiselina na rastvorljivost minerala na lokaciji Bemidji, Rogers et al. (2001) navode organske lignade. U skladu sa rezultatima do kojih su došli Hiebert and Bennet (1992), ova pojava se objašnjava formiranjem lokalne zone na površini minerala od strane bakterija, u kojoj je rastvorljivost intenzivirana metaboličkim produktima biodegradacije.

Na osnovu prikupljenih podataka na lokaciji u Vitanovcu analiza je izvedena duž profila kroz tri osmatračka objekta (P-1, P-2 i P-3) u zoni gde su registrovane najveće promene u hemijskom sastavu podzemnih voda. Duž ovog profila analiziran je uticaj sadržaja organskog ugljenika na pojedine parametre hemijskog sastava podzemnih voda (slika 4.44). Reč je o srednjim vrednostima analiziranih parametara izmerenim tokom 2013. godine.



Slika 4.44. Promene pojedinih parametara hemijskog sastava podzemnih voda u zavisnosti od sadržaja TOC u podzemnim vodama

Udaljavanjem od objekta P-1 u kom su registrovane najveće koncentracije ukupnog organskog ugljenika uočene su sledeće zakonitosti:

- porast koncentracija elektron akceptora ( $O_2$ ,  $NO_3$ ,  $SO_4$ )
- pad koncentracija metaboličkih produkata biodegradacije (Mn, Fe)
- porast pH vrednosti
- pad koncentracija  $SiO_2$  i Al

Poklapanje najviših vrednosti TOC sa najnižim vrednostima elektron akceptora i najvišim vrednostima metaboličkih produkata ukazuje na intenzivne procese biodegradacije u zoni oko objekta P-1. Istovremeno, uočene su i značajne promene u koncentracijama  $SiO_2$  i Al, čije povišene vrednosti odgovaraju zoni najveće zahvaćenosti procesima biodegradacije. Tako se koncentracije  $SiO_2$  kreću od 42,90 mg/l (P-1) do 19,23 mg/l (P-3), dok prosečne koncentracije Al iznose od 3,60 mg/l (P-1) do 0,04 mg/l (P-3). Zoni najviših vrednosti  $SiO_2$  i Al odgovaraju najniže vrednosti pH što može tumačiti kao posledica rastvaranja  $CO_2$  kao kranjeg produkta i/ili organskih kiselina kao međuproizvoda biodegradacije. S obzirom da sadržaj organskih kiselina nije određivan na lokaciji u Vitanovcu, pojedinačan uticaj ovih proizvoda biodegradacije nije moguće razdvojiti. Poklapanje najviših vrednosti TOC sa značajno povišenim vrednostima  $SiO_2$  i Al, u zoni povišene kiselosti uslovljene intenzivnim procesima biodegradacije, pruža osnovu za pretpostavku da je dugotrajna izloženost procesima biodegradacije na lokaciji u Vitanovcu dovela do intenziviranja rastvaranja silikatnih minerala. Ova pretpostavka se čini potpuno logičnom imajući u vidu da su silikati iz serpentinita i dacito-andezita ubedljivo najzastupljeniji u mineraloškom sastavu.

Detaljnije istraživanje mehanizama uticaja biodegradacije na rastvorljivost minerala zahtevalo bi istraživanja koja uveliko prevazilaze okvir ove disertacije.

#### 4.1.4. Analiza glavnih oksido-redukcionih procesa u podzemnim vodama

Iako je koncept promene redoks uslova u podzemnim vodama usled zagađenja naftnim ugljovodonicima poznat tokom poslednje 3 - 4 decenije, tek nakon 1990. godine primenjen je u konkretnim istraživanjima (Christensen et al., 2000). Za identifikaciju glavnih redoks procesa u podzemnim vodama (TEAP) na lokaciji u Vitanovcu korišćeni su kriterijumi koje su dali Jurgens et al. (2009), objedinjeni u okviru softvera Workbook for identifying redox process. Ovakvim pristupom glavni redoks procesi se definišu na osnovu koncentracija redoks osetljivih komponenti u podzemnim vodama: rastvorenog kiseonika ( $O_2$ ), nitrata ( $NO_3$ ), mangana ( $Mn^{2+}$ ), gvožđa ( $Fe^{2+}$ ), sulfata ( $SO_4^{2-}$ ) i sulfida (suma  $H_2S$ ,  $HS^-$  i  $S^{2-}$ ). Jurgens et. al (2009) navode da ukoliko se u proračunu koriste koncentracije ukupnog Fe i Mn (kao znatno češće merene u podzemnim vodama) to nema značajnijeg uticaja na rezultat analize.

Prema ovoj metodologiji, redoks procesi u podzemnim vodama podeljeni su na: redukciju kiseonika, redukciju nitrata, redukciju mangana, redukciju gvožđa i/ili sulfata (u zavisnosti od odnosa gvožđa i sulfida) redukciju sulfata i metanogenezu. Dva posebno osetljiva pitanja kod određivanja redoks kategorija i procesa u podzemnim vodama predstavlja definisanje granice između oksičnih i anoksičnih uslova, kao i definisanje početka redukcije sulfata. Različiti autori predlažu različite vrednosti kao granične za definisanje razlike između oksičnih i anoksičnih voda. Tako Chapelle (2003) smatra da je to koncentracija rastvorenog kiseonika od 0,5 mg/l, dok Mendizibal et al. (2011) navode da granična vrednost iznosi 0,9 mg/l. Prema kriterijumima Jurgens et al. (2009) granična vrednost koncentracije rastvorenog kiseonika iznosi 0,5 mg/l.

Kada je u pitanju definisanje početka redukcije sulfata i odnos ovog procesa prema redukciji gvožđa, Chapelle et al. (2009) navode da maseni odnos  $Fe^{2+}/H_2S$  može da ukaže na dominantni proces u podzemnim vodama. Prema ovom kriterijumu, redukcija gvožđa se odvija ako je odnos  $Fe^{2+}/H_2S > 10$ . Oba procesa se odvijaju istovremeno ako je njihov maseni odnos između 0,3 i 10. Ukoliko je odnos  $Fe^{2+}/H_2S < 0,3$  smatra se da se odvija redukcija sulfata. S obzirom na činjenicu da se merenja  $H_2S$  u podzemnim

vodama retko izvode, u softveru je ostavljena je mogućnost analize redoks procesa samo sa 5 osnovnih parametara ( $O_2$ ;  $NO_3^-$ ;  $Mn^{2+}$ ;  $Fe^{2+}$ ;  $SO_4^{2-}$ ). U tom slučaju, usled nemogućnosti razdvajanja proces je definisan kao redukcija gvožđa ili sulfata.

Ova metodologija se trenutno nalazi u upotrebi od strane Geološkog zavoda SAD (USGS). U našim uslovima korišćena je pri istraživanjima starenja bunara, u okviru doktorske disertacije Majkić (2013). Kriterijumi koje su dali Jurgens et al. (2009) u okviru softvera Workbook for identifying redox process prikazani su u tabeli 4.17 i 4.18.

Tabela 4.17. Kriterijumi za identifikaciju redoks procesa u podzemnim vodama prema Jurgens et al. (2009); Majkić (2013).

Redoks kategorija	Redoks proces	Polu-reakcije elektron akceptora	Kriterijumi za određivanje procesa na osnovu podataka o kvalitetu podzemnih voda					
			Rastvoreni kiseonik (mg/l)	Konc. nitrata kao N (mg/l)	Konc. mangana Mn (mg/l)	Konc. gvožđa Fe (mg/l)	Konc. sulfata SO <sub>4</sub> (mg/l)	Maseni odnos gvožđa i sulfida
Oksična	O <sub>2</sub> -aerobna respiracija	$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	≥0,5	-	<0,5	<0,1	-	-
Suboksična	-	niska konc. O <sub>2</sub> ; neophodni dodatni podaci da bi se proces definisao	<0,5	<0,5	<0,5	<0,1	-	-
Anoksična	NO <sub>3</sub> -redukcija nitrata	$2NO_3 + 12H^+ + 10e^- \rightarrow N_2(g) + 6H_2O$ $NO_3 + 10H^+ + 8e^- \rightarrow NH_4 + 3H_2O$	<0,5	<0,5	<0,5	<0,1	-	-
Anoksična	Mn(IV)-redukcija mangana	$MnO_{2(s)} + 4H^+ + 2e^- \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O$	<0,5	<0,5	≥0,5	<0,1	-	-
Anoksična	Fe(III)-SO <sub>4</sub> -redukcija gvožđa i/ili sulfata	Fe(III) i/ili SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> reakcije redukcije koje su opisane za pojedinačne polu-reakcije	<0,5	<0,5	-	≥0,1	≥0,5	nema podataka
Anoksična	Fe(III)-redukcija gvožđa	$Fe(OH)_3 + H^+ + e^- \rightarrow Fe^{2+} + H_2O$ $FeOOH_{(s)} + 3H^+ + e^- \rightarrow Fe^{2+} + 2H_2O$	<0,5	<0,5	-	≥0,1	≥0,5	>10
Mešana (anoksična)	Fe(III)-SO <sub>4</sub> -paralelna redukcija gvožđa i sulfata	Fe(III) i SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> dešavaju se oba procesa prema podacima za pojedinačne vrste	<0,5	<0,5	-	≥0,1	≥0,5	≥0,3, ≤10
Anoksična	SO <sub>4</sub> -redukcija sulfata	$SO_4^{2-} + 9H^+ + 8e^- \rightarrow HS^- + 4H_2O$	<0,5	<0,5	-	≥0,1	≥0,5	<0,3
Anoksična	CH <sub>4-gas</sub> -metanogeneza	$CO_{2(g)} + 8H^+ + 8e^- \rightarrow CH_{4(g)} + 2H_2O$	<0,5	<0,5	-	≥0,1	<0,5	-

\*Oksična, anoksična i mešana redoks kategorija su termini usvojeni od strane USGS;

"- " kriterijum se ne primenjuje pošto koncentracija nema uticaja na proces;

Tabela 4.18. Klasifikacija redoks kategorija i procesa na osnovu kvaliteta podzemnih voda (Jurgens et al. 2009)

Redoks Kategorija	Redoks Proces	O <sub>2</sub> (mg/l) >0,5	NO <sub>3</sub> (mg/l) >0,5	Mn (mg/l) >0,05	Fe (mg/l) >0,01	SO <sub>4</sub> (mg/l) >0,5	Fe/H <sub>2</sub> S >0,3	Fe/H <sub>2</sub> S >10
Oksična	O <sub>2</sub>	DA	—	NE	NE	—	x	x
Suboksična	O <sub>2</sub> -NO <sub>3</sub>	NE	NE	NE	NE	—	x	x
Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -Mn(IV)	DA	—	DA	NE	—	x	x
Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -Fe(III)	DA	NE	—	DA	DA	DA	DA
Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -Fe(III)/SO <sub>4</sub>	DA	NE	—	DA	DA	nema podataka	nema podataka
Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -Fe(III)-SO <sub>4</sub>	DA	NE	—	DA	DA	DA	NE
Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -SO <sub>4</sub>	DA	NE	—	DA	DA	NE	NE
Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -CH <sub>4</sub> gen	DA	NE	—	DA	NE	x	x
Anoksična	NO <sub>3</sub>	NE	DA	NE	NE	—	x	x
Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> -Mn(IV)	NE	DA	DA	NE	—	x	x
Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> -Fe(III)	NE	DA	—	DA	DA	DA	DA
Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> -Fe(III)/SO <sub>4</sub>	NE	DA	—	DA	DA	nema podataka	nema podataka
Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> -Fe(III)-SO <sub>4</sub>	NE	DA	—	DA	DA	DA	N
Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> -SO <sub>4</sub>	NE	DA	—	DA	DA	NE	NE
Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> -CH <sub>4</sub> gen	NE	DA	—	DA	NE	x	x
Anoksična	Mn(IV)	NE	NE	DA	NE	—	x	x
Anoksična	Fe(III)	NE	NE	—	DA	DA	DA	DA
Anoksična	Fe(III)/SO <sub>4</sub>	NE	NE	—	DA	DA	nema podataka	nema podataka
Mešana(anoksična)	Fe(III)-SO <sub>4</sub>	NE	NE	—	DA	DA	DA	NE
Anoksična	SO <sub>4</sub>	NE	NE	—	DA	DA	NE	NE
Anoksična	CH <sub>4</sub> gen	NE	NE	—	DA	NE	x	x

znak "—" znači da se procesi paralelno odvijaju; znak "/" označava i/ili kako nema dovoljno podataka da bi se proces preciznije definisao;

U cilju lakše preglednosti, koncentracije redoks osetljivih parametara izdvojene su iz tabela 4.10 - 4.12 i prikazane zajedno sa redoks kategorijama i procesima dobijenim nakon obrade u softveru Workbook for identifying redox process u tabelama 4.19 - 4.21.



Tabela 4.19. Koncentracije redoks osjetljivih parametara i preovlađujući redoks procesi u podzemnim vodama – jun 2013. godine

Uzorak/ Objekat	Rastvoreni O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	Mn (mg/l)	Fe (mg/l)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	Redoks kategorija	Redoks proces
P-1D	1,02	0,9	6,82	54,3	2,6	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-1	0,95	1	6,2	51,2	3	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-2	1,25	0,9	1,73	12,7	36,1	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-3	1,92	2,6	0,039	0,287	55	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-4	1,29	0,8	1,38	17,8	55,3	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-5	2,89	9,2	0,0047	0,318	50,3	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
B-1	3,3	33,9	0,106	0,069	58,6	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -Mn(IV)
B-2	6,05	57,4	0,0005	0,005	51,8	Oksična	O <sub>2</sub>

Tabela 4.20. Koncentracije redoks osjetljivih parametara i preovlađujući redoks procesi u podzemnim vodama – septembar 2013. godine

Uzorak/ Objekat	Rastvoreni O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	Mn (mg/l)	Fe (mg/l)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	Redoks kategorija	Redoks proces
P-1D	0,67	1,1	1,38	20,2	1,6	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-1	0,48	1,6	1,32	18,4	3,4	Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-2	0,43	0,8	1,88	13,1	6,1	Mešana(anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-3	0,9	<0,5	0,135	0,103	60,2	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-4	1,17	<0,5	1,25	1,33	54,2	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-5	2,82	5,6	0,006	0,426	53,3	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
B-1	1,87	36	0,11	0,025	62,9	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -Mn(IV)
B-2	1,92	66,2	0,003	0,061	58,6	Oksična	O <sub>2</sub>

Tabela 4.21. Koncentracije redoks osetljivih parametara i preovlađujući redoks procesi u podzemnim vodama – decembar 2013. godine

Uzorak/ Objekat	Rastvoreni O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	Mn (mg/l)	Fe (mg/l)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	Redoks kategorija	Redoks proces
P-1D	1,61	<0,5	2,04	28,1	<0,5	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -CH <sub>4</sub> gen
P-1	1,98	<0,5	1,64	20,2	<0,5	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> -CH <sub>4</sub> gen
P-2	3,52	<0,5	2,49	16,4	31,6	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-3	3,32	1,5	0,022	0,067	52,7	Oksična	O <sub>2</sub>
P-4	2,96	<0,5	1,58	3,85	52,2	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
P-5	5,93	4,2	0,007	0,288	48,7	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
B-1	5,06	35,5	0,0008	0,111	55	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>
B-2	7,49	25	0,0094	0,214	34,2	Mešana(oksična-anoksična)	O <sub>2</sub> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>

Rezultati dobijeni samo unošenjem koncentracija redoks osetljivih parametara u softver se ne mogu smatrati prihvatljivim. Ovo ukazuje da nekritički pristup u analizi redoks uslova u podzemnim vodama može dovesti do rezultata koji ne odgovaraju realnim uslovima na terenu.

Podzemne vode iz objekata B-1 i B-2 su van zone obuhvaćene biodegradacijom, karakteriše ih nepostojanje bilo kakvog trenda u koncentracijama elektron akceptora i metaboloških produkata, a svrstani su u kategoriju anoksičnih procesa slično podzemnim vodama iz osmatračkog objekta P-1. Ovo je posledica toga što su lokalno povišene koncentracije pojedinih parametara iznad graničnih vrednosti tumačene od strane softvera kao redoks procesi. Christensen et al. (2000) navode da je određivanje graničnih vrednosti za redoks osetljive parametre neophodno definisati od lokacije do lokacije, uzimajući u obzir konkretne terenske uslove. Kako se primenjena metodologija zasniva samo na poređenju izmerenih koncentracija sa graničnim vrednostima, svaka koncentracija iznad granične se može tumačiti kao rezultat mikrobiološke aktivnosti. Ovo se posebno odnosi na koncentracije gvožđa i mangana, koje su često povišene u aluvijalnim izdanima. U cilju smanjenja osetljivosti softvera na povišene koncentracije

pomenutih parametara, granična vrednost za mangana je usvojena na 0,12 mg/l odnosno za gvožđe na 1,5 mg/l.

Dalji problemi u definisanju TEAP uslova nastali su kao posledica teškoća u merenju koncentracija rastvorenog kiseonika u terenskim uslovima. Kao logičan kriterijum uzeto je da u slučajevima kada je došlo do redukcije minimum tri sledeća elektron akceptora, koncentracija kiseonika bude usvojena kao niža od granične vrednosti od 0,5 mg/l. Na ovaj način izbegavaju se očigledne nelogičnosti kao što su istovremeno odvijanje aerobne respiracije i metanogeneze u osmatračkom objektu P-1 (tabela 4.21). Poslednja korekcija izmerenih podataka se odnosi na neophodnost razdvajanja procesa redukcije gvožđa i sulfata tamo gde je očigledno da proces nije zahvatio redukciju sulfata. Korekcija je izvedena samo u slučaju osmatračkog objekta P-4 (jun i decembar 2013). Iako ne postoje merenja sulfida, poređenjem koncentracija sulfata utvrđeno je da nije došlo do njihove redukcije, pa je u slučaju objekta P-4 usvojeno da je odnos  $Fe^{2+}/H_2S > 10$ , što redukciju gvožđa čini dominantnom. Do svih izmena došlo se iterativnim putem, kako bi se što manjom modifikacijom graničnih uslova, izmerenih koncentracija postigla zadovoljavajuća preciznost softvera. Rezultati ponovne analize redoks uslova u koju su uključene pomenute izmene dati su u tabeli 4.22.

Tabela 4.22. Preovlađujući tip redoks reakcije na osnovu kriterijuma prilagođenih terenskim uslovima u Vitancu

Uz./ Obj.	jun		septembar			decembar		
	Redoks Kateg.	Redoks Proces	Redoks Kateg.	Redoks Proces	Eh (mV)	Redoks Kateg.	Redoks Proces	Eh (mV)
P-1D	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>	-103	Anoksična	CH <sub>4</sub> gen	-122
P-1	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>	-90	Anoksična	CH <sub>4</sub> gen	-115
P-2	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)/SO <sub>4</sub>	-129	Anoksična	Fe(III)/SO <sub>4</sub>	-100
P-3	Oksična	O <sub>2</sub>	Mešana (oksična- anoksična)	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - Mn(IV)	9,0	Oksična	O <sub>2</sub>	44
P-4	Mešana (anoksična)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - Fe(III)	Anoksična	Mn(IV)	-48	Mešana (oksična- anoksična)	O <sub>2</sub> -Fe(III)	-51
P-5	Oksična	O <sub>2</sub>	Oksična	O <sub>2</sub>	113	Oksična	O <sub>2</sub>	72
B-1	Oksična	O <sub>2</sub>	Oksična	O <sub>2</sub>	74	Oksična	O <sub>2</sub>	70
B-2	Oksična	O <sub>2</sub>	Oksična	O <sub>2</sub>	76	Oksična	O <sub>2</sub>	67

Pored preovlađujućeg tipa redoks kategorije i procesa u tabeli su prikazani i rezultati terenskih merenja redoks-potencijala u podzemnim vodama (septembar i decembar 2013. godine). Christensen et al. (2000) navode da se elektrohemijaska merenja ne mogu smatrati dovoljnim za definisanje redoks uslova u podzemnim vodama, već da ih pre svega treba smatrati njihovom kvalitativnom merom. U ovom slučaju, terenska merenja redoks potencijala korišćena su u cilju verifikacije rezultata dobijenih primenom redoks osetljivih parametara. Njihovim poređenjem može se zaključiti da najviše izmerene vrednosti Eh odgovaraju oksičnim uslovima sredine. Sa padom vrednosti Eh, anoksični uslovi sredine postaju intenzivniji, pri čemu izmerene vrednosti redoks potencijala niže od -50 mV odgovaraju redukciji gvožđa i/ili sulfata. Neslaganja se ogledaju pri poređenju najnižih vrednosti elektrohemijaskih merenja sa procesima definisanim na osnovu redoks osetljivih parametara. Tako procesu definisanom kao NO<sub>3</sub>-Fe(III)/SO<sub>4</sub>

odgovara  $E_h = -129$  mV, dok za metanogenezu (proces većeg stepena anoksičnosti) terenski merena vrednost redoks potencijala iznosi  $E_h = -115$  mV. Imajući u vidu osetljivost merenja redoks potencijala u terenskim uslovima, prednost će biti data rezultatima analize na osnovu redoks osetljivih parametara koji ukazuju na uticaj metanogeneze. U prilog ovome idu i prethodni rezultati izotopskih analiza ( $\delta^{13}C_{DIC}$ ).

Prikaz glavnih redoks procesa u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu tokom 2013. godine, dat je na slici 4.45.



Slika 4.45. Preovlađujući redoks procesi u podzemnim vodama na lokaciji u Vitanovcu tokom 2013. godine: (a) jun, (b) septembar, (c) decembar

Dobijeni rezultati ukazuju na prostornu i vremensku promenljivost preovlađujućih redoks procesa u podzemnim vodama. U osmatračkim objektima u zoni uticaja biodegradacije utvrđeno je odvijanje više redoks procesa istovremeno, što ukazuje na složenost procesa mikrobiološke razgradnje naftnih ugljovodonika. Najizrazitiji anoksični uslovi registrovani su u osmatračkim objektima najbližim rezervoarima kerozina, udaljavanjem od njih stepen oksičnosti sredine raste.

#### 4.1.5. Proračun kapaciteta za biodegradaciju BTEX u podzemnim vodama

Aromatični ugljovodonici čine do 25 % hemijskog sastava kerozina (API , 2010). Rezultati karakterizacije zagađujuće supstance iz 2011. godine ukazuju da BTEX komponente nisu registrovane u podzemnim vodama na lokaciji istorijskog zagađenja kerozinom u Vitanovcu. Imajući u vidu da istraživanjima nije obuhvaćen uticaj abiotičkih procesa, ovde će biti razmatran potencijalni doprinos različitih mehanizama biodegradacije smanjenju koncentracija BTEX. Biodegradacioni kapacitet (EBC) treba posmatrati kao potencijal, tj količinu zagađujuće supstance koju određeni mehanizam može da razgradi na osnovu redoks kapaciteta podzemnih voda (Wiedemeier et al., 1999). Isti autori daju i formulu za proračun biodegradacionog kapaciteta:

$$EBC = (C_p - C_b)/F$$

Pri čemu je:

EBC (mg/l) - biodegradacioni kapacitet

$C_p$  (mg/l) - koncentracija eletron akceptora unutar zone izmenjenih geohemijskih uslova

$C_b$  (mg/l) - koncentracija eletron akceptora van zone izmenjenih geohemijskih uslova

F – faktor iskorišćenja

U konkretnom slučaju, za potrebe proračuna korišćeni su podaci o hemijskom sastavu podzemnih voda u zoni pod najvećim uticajem biodegradacije (osmatrački objekti P-1 i P-2). Za proračun faktora iskorišćenja (F) pri biodegradaciji BTEX komponenti korišćene su tipske reakcije benzena, toluena i etilbenzena/ksilena, koje su dali van Ras et al. (2007). Ovaj faktor predstavlja pokazatelj koliko miligrama određenog elektron akceptora se utroši pri biodegradaciji 1 mg zagađujuće supstance, pa se kao takav može izračunati stehiometrijskim putem. Treba imati u vidu da stehiometrijski proračun faktora iskorišćenja ne uzima u obzir povećanje populacije mikroorganizama tokom biodegradacije (nastanak biomase). Wiedemeier et al. (1999) navode se ovakav proračun može smatrati zadovoljavajućim kod starijih zagađujućih "tela" koja se ne šire,



kod kojih je brzina odumiranja populacije mikroorganizama približno jednaka brzini nastanka biomase. Imajući u vidu rezultate istraživanja na lokaciji u Vitanovcu, ovaj uslov se može smatrati ispunjenim.

Reakcije biodegradacije BTEX komponenti u aerobnim uslovima date su jednačinama, čija je stehiometrijska analiza data u tabeli 4.23.

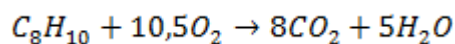
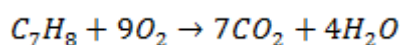
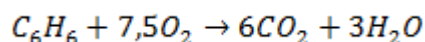


Tabela 4.23. Stehiometrijska analiza i proračun faktora iskorišćenja (F) pri biodegradaciji BTEX u aerobnim uslovima

Komponenta	Molarni odnos	Maseni odnos	F
Benzen	7,5 mol O <sub>2</sub> : 1 mol C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	7,5(32) : 1(78) = 3,08	3,08
Toluen	9,0 mol O <sub>2</sub> : 1 mol C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	9,0(32) : 1(92) = 3,13	3,13
Etilbenzen	10,5 mol O <sub>2</sub> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	10,5(32) : 1(106) = 3,17	3,17
Ksilen	10,5 mol O <sub>2</sub> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	10,5(32) : 1(106) = 3,17	3,17
<b>BTEX</b>			3,14

Reakcije biodegradacije BTEX komponenti redukcijom nitrata date su jednačinama, čija je stehiometrijska analiza data u tabeli 4.24.

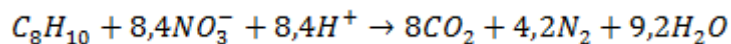
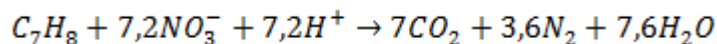
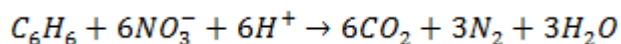


Tabela 4.24. Stehiometrijska analiza i proračun faktora iskorišćenja (F) pri biodegradaciji BTEX redukcijom nitrata

Komponenta	Molarni odnos	Maseni odnos	F
Benzen	6,0 mol NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 1 mol C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	6,0(62) : 1(78) = 4,77	4,77
Toluen	7,2 mol NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 1 mol C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	7,2(62) : 1(92) = 4,85	4,85
Etilbenzen	8,4 mol NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	8,4(62) : 1(106) = 4,91	4,91
Ksilen	8,4 mol NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	8,4(62) : 1(106) = 4,91	4,91
<b>BTEX</b>			4,86

Reakcije biodegradacije BTEX komponenti redukcijom mangana (IV) date su jednačinama, čija je stehiometrijska analiza data u tabeli 4.25.

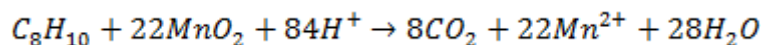
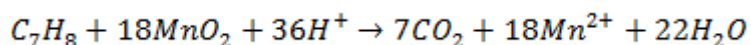
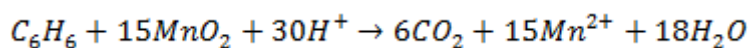


Tabela 4.25. Stehiometrijska analiza i proračun faktora iskorišćenja (F) pri biodegradaciji BTEX redukcijom mangana (IV)

Komponenta	Molarni odnos	Maseni odnos	F
Benzen	15,0 mol Mn <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	15,0(54,94) : 1(78) = 10,57	10,57
Toluen	18,0 mol Mn <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	18,0(54,94) : 1(92) = 10,75	10,75
Etilbenzen	22,0 mol Mn <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	22,0(54,94) : 1(106) = 11,40	11,40
Ksilen	22,0 mol Mn <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	22,0(54,94) : 1(106) = 11,40	11,40
<b>BTEX</b>			11,03

Reakcije biodegradacije BTEX komponenti redukcijom gvožđa (III) date su jednačinama, čija je stehiometrijska analiza data u tabeli 4.26.

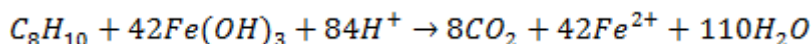
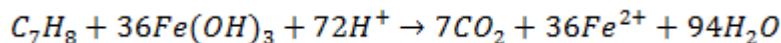
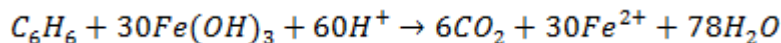


Tabela 4.26. Stehiometrijska analiza i proračun faktora iskorišćenja (F) pri biodegradaciji BTEX redukcijom gvožđa (III)

Komponenta	Molarni odnos	Maseni odnos	F
Benzen	30,0 mol Fe <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	30,0(55,85) : 1(78)= 21,48	21,48
Toluen	36,0 mol Fe <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	36,0(55,85) : 1(92)= 21,85	21,85
Etilbenzen	42,0 mol Fe <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	42,0(55,85) : 1(106)= 22,13	22,13
Ksilen	42,0 mol Fe <sup>2+</sup> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	42,0(55,85) : 1(106)= 22,13	22,13
<b>BTEX</b>			21,90

Reakcije biodegradacije BTEX komponenti redukcijom sulfata date su jednačinama, čija je stehiometrijska analiza data u tabeli 4.27.

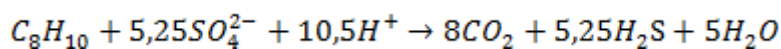
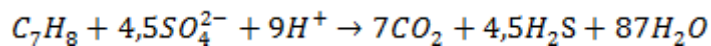
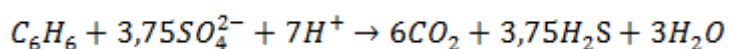


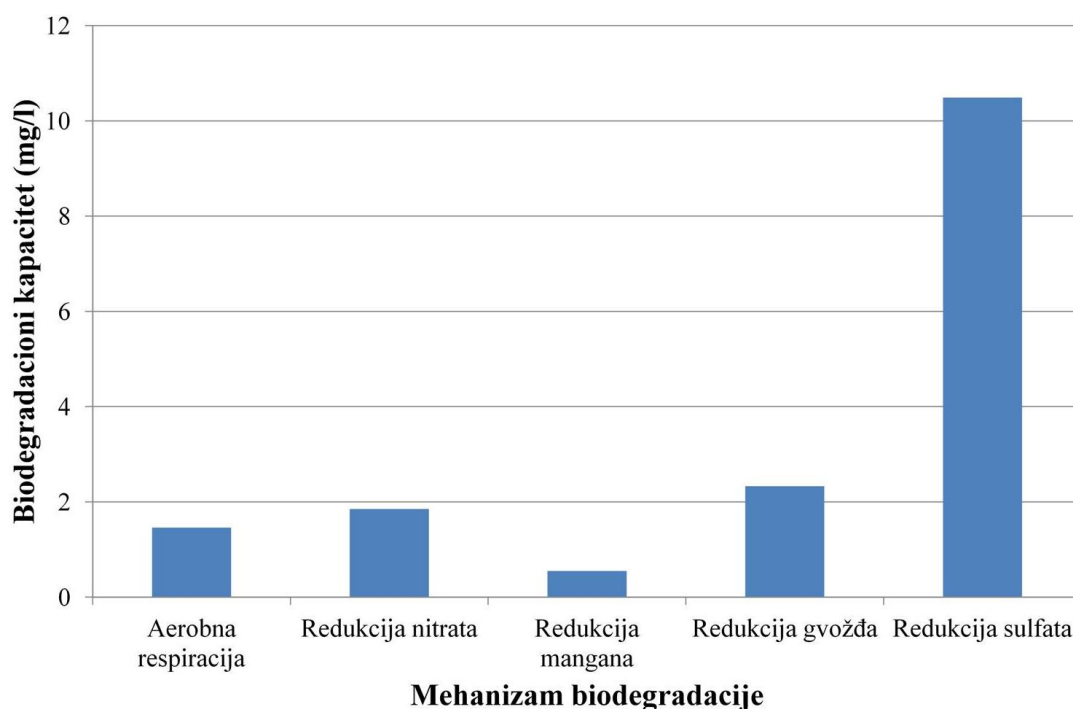
Tabela 4.27. Stehiometrijska analiza i proračun faktora iskorišćenja (F) pri biodegradaciji BTEX redukcijom sulfata

Komponenta	Molarni odnos	Maseni odnos	F
Benzen	3,75 mol SO <sub>4</sub> : 1 mol C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	3,75(96) : 1(78) = 4,62	4,62
Toluen	4,5 mol SO <sub>4</sub> : 1 mol C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	4,5(96) : 1(92) = 4,70	4,70
Etilbenzen	5,25 mol SO <sub>4</sub> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	5,25(96) : 1(106) = 4,75	4,75
Ksilen	5,25 mol SO <sub>4</sub> : 1 mol C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	5,25(96) : 1(106) = 4,75	4,75
<b>BTEX</b>			4,71

Tokom izvođenja istraživanja nije bilo moguće realizovati merenja sadržaja metana u podzemnim vodama. Samim tim, ukupne vrednosti EBC dobijene ovim proračunom treba smatrati minimalnim, jer ne uzimaju u obzir doprinos metanogeneze. Proračuni kapaciteta za biodegradaciju za tri vremenska preseka tokom 2013. godine prikazani su u tabelama 4.28 - 4.30, odnosno slikama 4.46 - 4.48.

Tabela 4.28. Proračun kapaciteta za biodegradaciju BTEX u podzemnim vodama na lokaciji u Vitanovcu - jun 2013. godine

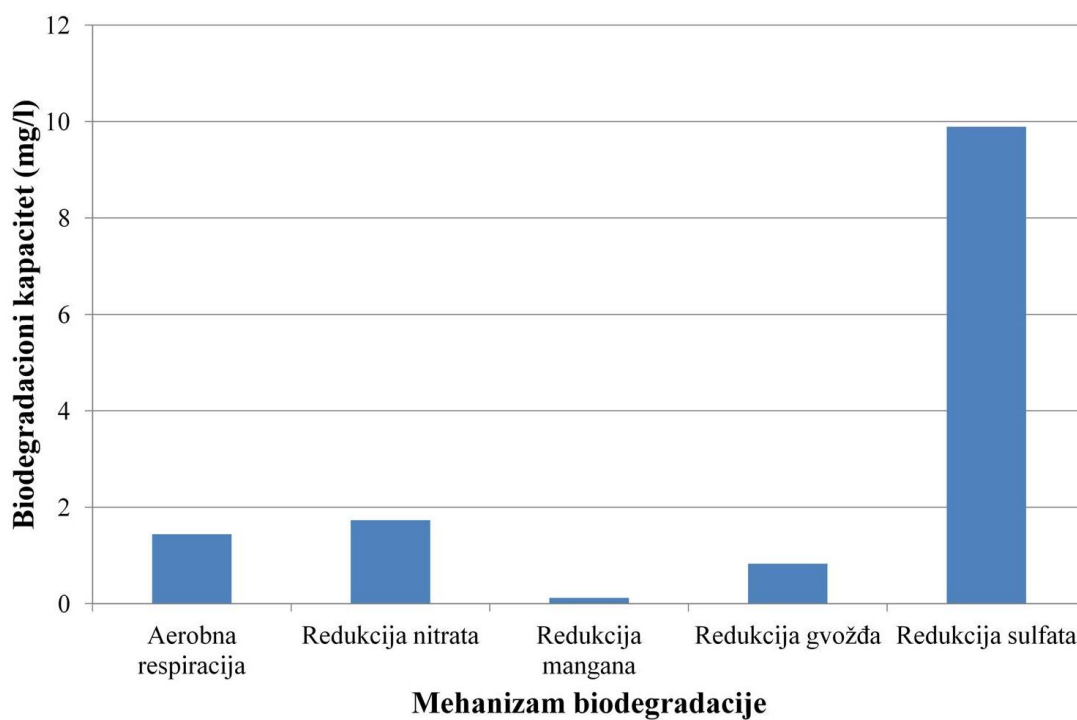
Naziv procesa	Parametar	Cb (mg/l)	Cp (mg/l)	F	EBC (mg/l)
Aerobna respiracija	rastvoreni O <sub>2</sub>	5	0,4	3,14	1,46
Redukcija nitrata	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	1	4,86	1,85
Redukcija mangana	Mn	0,1	6,2	11,03	0,55
Redukcija gvožđa	Fe	0,2	51,2	21,9	2,33
Redukcija sulfata	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	50	0,6	4,71	10,49
<b>UKUPNO</b>					16,69



Slika 4.46. Kapaciteti različitih mehanizama za biodegradaciju BTEX na lokaciji u Vitanovcu - jun 2013. godine

Tabela 4.29. Proračun kapaciteta za biodegradaciju za biodegradaciju BTEX u podzemnim vodama na lokaciji u Vitanovcu - septembar 2013. godine

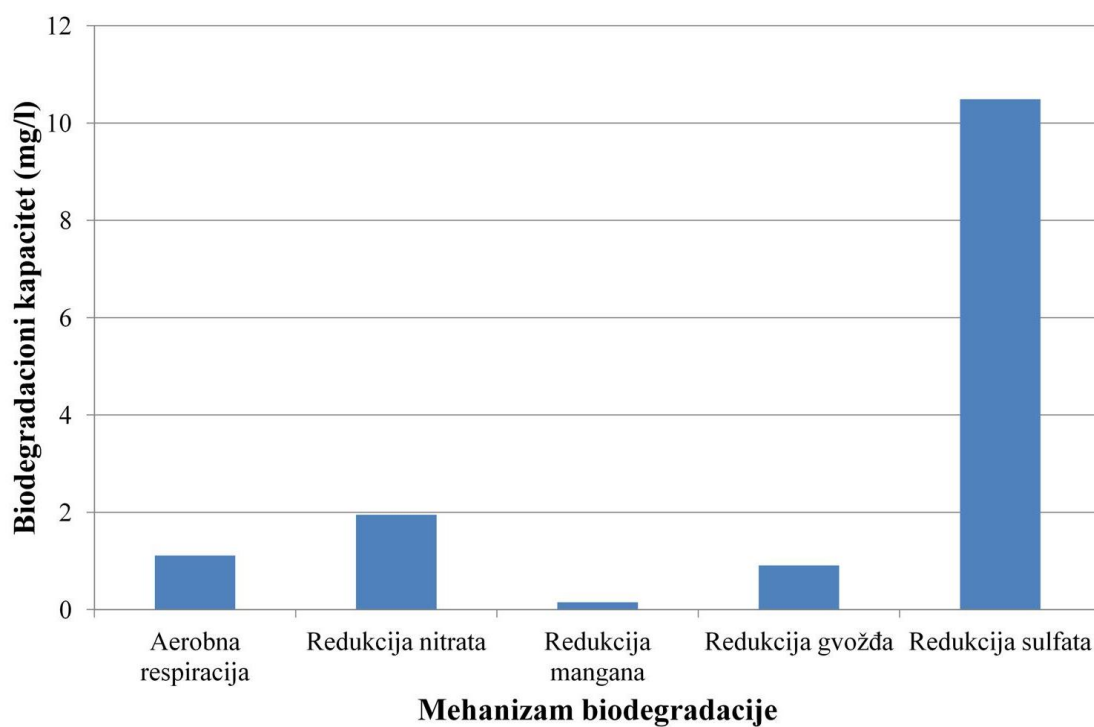
Naziv procesa	Parametar	Cb (mg/l)	Cp (mg/l)	F	EBC (mg/l)
Aerobna respiracija	rastvoreni O <sub>2</sub>	5	0,48	3,14	1,44
Redukcija nitrata	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	1,6	4,86	1,73
Redukcija mangana	Mn	0,01	1,38	11,03	0,12
Redukcija gvožđa	Fe	0,2	18,4	21,9	0,83
Redukcija sulfata	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	50	3,4	4,71	9,89
<b>UKUPNO</b>					14,02



Slika 4.47. Kapaciteti različitih mehanizama za biodegradaciju BTEX na lokaciji u Vitanovcu - septembar 2013. godine

Tabela 4.30. Proračun kapaciteta za biodegradaciju za biodegradaciju BTEX u podzemnim vodama na lokaciji u Vitanovcu - decembar 2013. godine

Naziv procesa	Parametar	Cb (mg/l)	Cp (mg/l)	F	EBC (mg/l)
Aerobna respiracija	rastvoreni O <sub>2</sub>	4	0,5	3,14	1,11
Redukcija nitrata	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	0,5	4,86	1,95
Redukcija mangana	Mn	0,01	1,64	11,03	0,15
Redukcija gvožđa	Fe	0,2	20,2	21,9	0,91
Redukcija sulfata	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	50	0,4	4,71	10,53
<b>UKUPNO</b>					14,65



Slika 4.48. Kapaciteti različitih mehanizama za biodegradaciju BTEX na lokaciji u Vitanovcu - decembar 2013. godine

Ne uzimajući u obzir potencijalni doprinos metanogeneze, ukupni kapacitet svih ostalih mehanizama iznosio je od 14,1 do 16,7 mg/l. U svakom slučaju, redukcija sulfata kao pojedinačni mehanizam poseduje ubedljivo najveći potencijal za biodegradaciju BTEX na lokaciji u Vitanovcu tokom 2013. godine. Ovako očigledan odnos u biodegradacionim kapacitetima pruža osnovu za pretpostavku da je neposredno nakon izlivanja kerozina na ovoj lokaciji, upravo redukcija sulfata odigrala značajnu ulogu u smanjenju količine BTEX u podzemnim vodama.



## 4.2. Stimulisana *in situ* bioremedijacija podzemnih voda zagađenih naftnim ugljovodonicima

Istraživanja na lokaciji fabrike "Nitex" u Nišu realizovana su tokom 2011 i 2012. godine, u okviru restrukturiranja ovog preduzeća i prelaska u vlasništvo kompanije Benetton. Proizvodnja u ovoj fabrici pokrenuta je 1897. godine, da bi vremenom "Nitex" postao jedan od najvećih proizvođača tekstila u našoj zemlji. Proces proizvodnje je obustavljen 2010. godine, kada je započet postupak privatizacije preduzeća. Istražni radovi su realizovani u cilju utvrđivanja stepena zagađenosti lokacije i eventualnog izvođenja mera remedijacije pre prelaska u vlasništvo italijanske kompanije (slika 4.49).

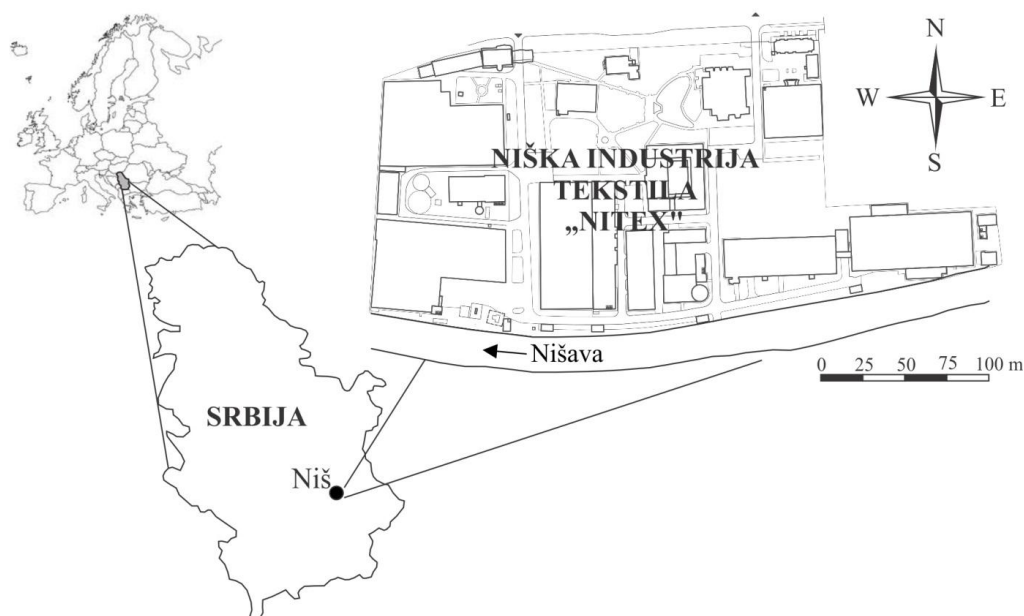


Slika 4.49. Istražni radovi na lokaciji fabrike "Nitex" u Nišu

U okviru ove disertacije prikazana su istraživanja koji se odnose na zagađenje podzemnih voda naftnim ugljovodonicima, preciznije na primenu stimulisane *in situ* bioremedijacije. Prema dostupnim podacima, reč je o prvoj primeni ovog remedijacionog postupka u našoj zemlji. Rezultati primene stimulisane bioremedijacije podzemnih voda na ovoj lokaciji publikovani su u časopisu *Environmental Earth Sciences* (Marić et al., 2015).

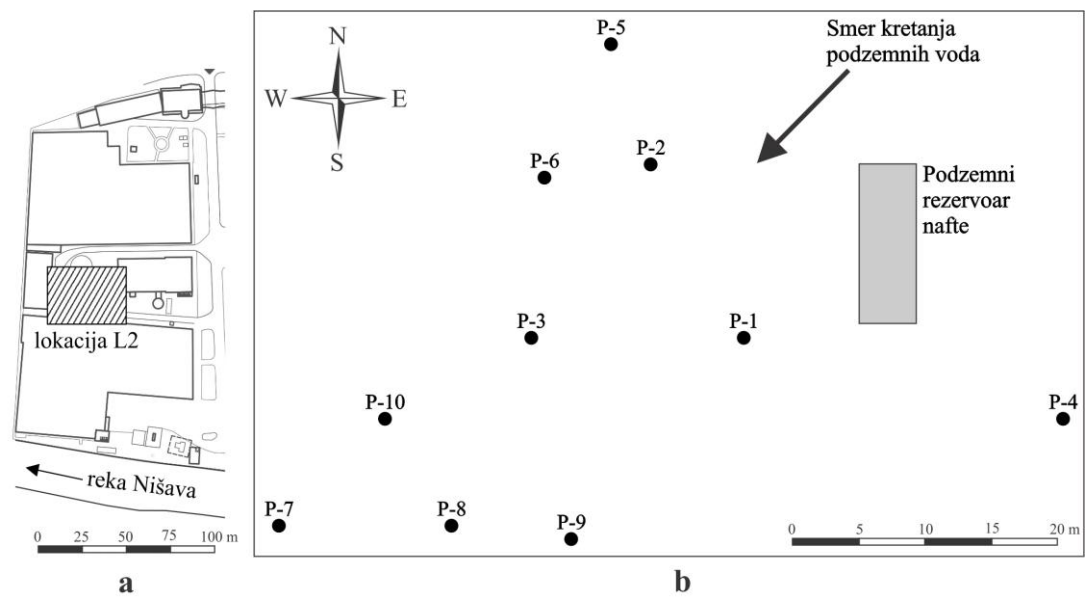
#### 4.2.1. Opšte karakteristike područja istraživanja

Fabrika tekstila "Nitex" nalazi se na rečnoj terasi, uz čiji obod protiče reka Nišava sa koritom nižim za oko 7 - 8 m u odnosu na ispitivanu zonu (GZJZ, 2011). Reka Nišava teče u smeru istok-zapad i čini južnu granicu područja istraživanja (slika 4.50).

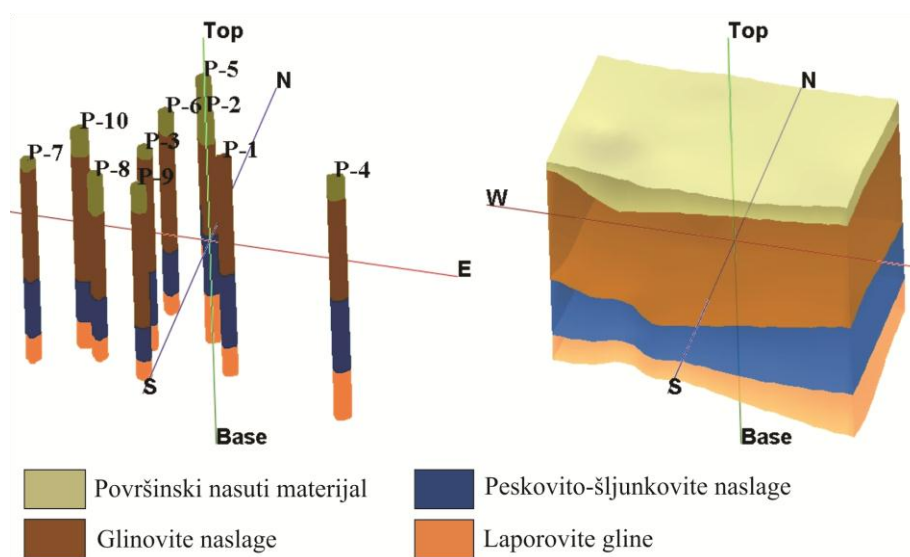


Slika 4.50. Geografski položaj fabrike tekstila "Nitex" u Nišu

Uže područje istraživanja predstavlja zona oko podzemnog rezervoara nafte (lokacija L2) u okviru koje je izvedeno deset osmatračkih objekata (pijezometara). Položaj lokacije L2 i izvedenih osmatračkih objekata, prikaz litološke građe dati su na slikama 4.51 i 4.52.



Slika 4.51. Prikaz zone obuhvaćene istražnim radovima: (a) lokacija L2  
(b) položaj osmatračkih objekata u okviru L2



Slika 4.52. Prikaz istražnih objekata i litološke građe lokacije L2

Površina terena na lokaciji L2 izgrađena je od nasutog materijala različitog porekla, debljine od 0,2 do 1,7 m (slika 4.52). Ispod ovog veštački nasutog sloja utvrđeno je kontinualno rasprostranjenje glinovitih naslaga kvartarne starosti, debljine od 2,6 do 5,6 m. Sledeći litološki član čine peskovito-šljunkovite naslage debljine od 1,5 do 3,0 m. Podinu ovim peskovito-šljunkovitim naslagama čine laporovite gline. Reč je o naslagama pliocenske starosti koje karakteriše kontinualno rasprostranjenje u okviru zone obuhvaćene istražnim radovima. U mineraloškom sastavu peskovito-šljunkovitih naslaga dominiraju kvarc i materijal poreklom iz krečnjaka, dok su glinovite naslage dominantno kaolinskog sastava (Babič, 2012).

U pogledu hidrogeoloških karakteristika, ovu zonu karakteriše zbijeni tip izdani formiran u okviru peskovito-šljunkovitih naslaga (Matić, 2012). Reč je o izdani sa subarteskim nivoom, čije zone prihranjivanja i dreniranja značajno prevazilaze područje obuhvaćeno ovim istraživanjima. Smer kretanja podzemnih voda u pravcu severoistok – jugozapad (slika 4.51). Nivo podzemnih voda je na dubini od 5,5 do 5,7 m. Filtracione karakteristike sedimenta u okviru lokacije L2, prikazane su u tabeli 4.31.

Tabela 4.31. Filtracione karakteristike sedimenata u okviru lokacije L2

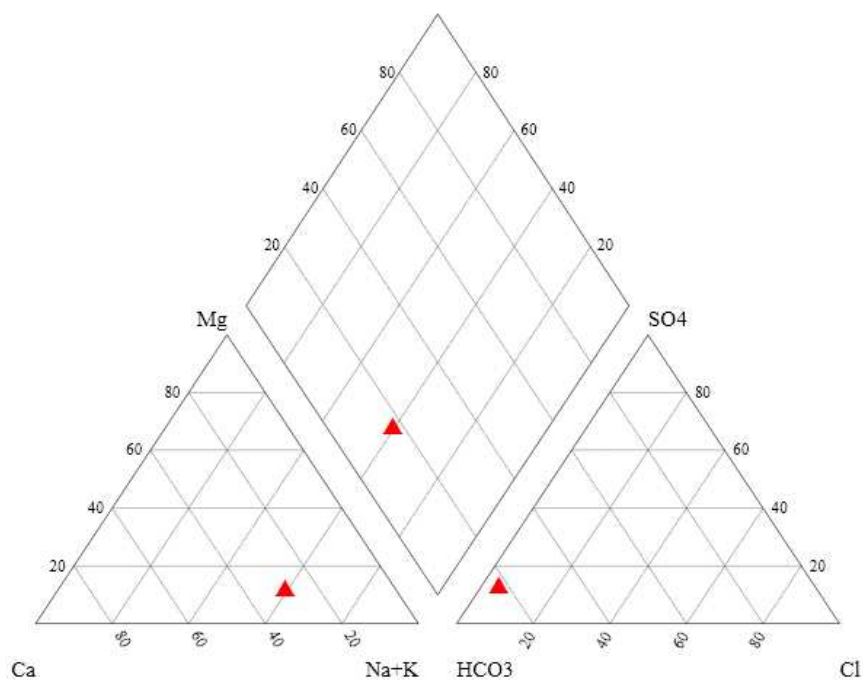
Osmatrački objekt	Dubina (m)	$d_{10}$ (mm)	Koeficijent filtracije (cm/s)
P-1	5,2	0,060	$3,6 \times 10^{-3}$
	5,8	0,118	$1,4 \times 10^{-2}$
P-2	5,3	0,004	$1,6 \times 10^{-5}$
	5,8	0,060	$3,6 \times 10^{-3}$
P-3	4,6	0,001	$2,0 \times 10^{-6}$
	5,3	0,007	$4,9 \times 10^{-5}$
P-4	4,9	0,003	$9,0 \times 10^{-6}$
P-5	4,5	0,004	$1,6 \times 10^{-5}$
P-6	5,2	0,001	$2,0 \times 10^{-6}$
	5,9	0,020	$4,0 \times 10^{-4}$
P-7	5,2	0,002	$2,3 \times 10^{-6}$
P-8	6,4	0,020	$4,0 \times 10^{-4}$
P-9	5,6	0,010	$1,0 \times 10^{-4}$
	6,2	0,040	$1,6 \times 10^{-3}$
P-10	4,9	0,002	$2,9 \times 10^{-6}$

Vrednosti koeficijenta filtracije za sedimente u nadizdanskoj zoni su u intervalu od  $2,0 \times 10^{-6}$  do  $4,9 \times 10^{-5}$ , odnosno od  $4,0 \times 10^{-4}$  do  $3,6 \times 10^{-3}$  cm/s u zoni izdani.

Rezultati ispitivanja hemijskog sastava podzemnih voda u okviru lokacije L2 prikazani su u tabeli 4.32. Prema odnosu glavnih komponenti u hemijskom sastavu, analizirane podzemne vode pripadaju Na-Ca-HCO<sub>3</sub> tipu (slika 4.53).

Tabela 4.32. Rezultati ispitivanja hemijskog sastava podzemnih voda sa lokacije L2

Parametar	Uzorak L2/P-1
pH	8,1
Suvi ostatak (mg/l)	424
EC( $\mu$ S/cm)	590
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	380
NH <sub>3</sub> (mg/l)	<0,05
NO <sub>2</sub> (mg/l)	<0,025
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	<0,5
Cl <sup>-</sup> (mg/l)	12,1
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	47,8
Fe (mg/l)	8,6
Ca <sup>2+</sup> (mg/l)	39
K <sup>+</sup> (mg/l)	10,6
Mg <sup>2+</sup> (mg/l)	10,6
Mn (mg/l)	0,319
Na <sup>+</sup> (mg/l)	103



Slika 4.53. Pajperov dijagram hemijskog sastava podzemnih voda sa lokacije L2

#### 4.2.2. Hemijska i mikrobiološka karakterizacija lokacije zagađene naftnim ugljovodonicima

U cilju utvrđivanja stepena zagađenosti lokacije L2, analiziran je sadržaj ukupnih naftnih ugljovodonika u uzorcima podzemnih voda i sedimenata (tabela 4.33 i 4.34).

Tabela 4.33. Sadržaj ukupnih naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama

Osmatrački objekat	C <sub>10</sub> -C <sub>40</sub> (mg/l)
P-1	2,48
P-2	6,54
P-3	6,80
P-4	1,10
P-5	1,68
P-6	1,52
P-7	1,50
P-8	3,50
P-9	1,12
P-10	0,84

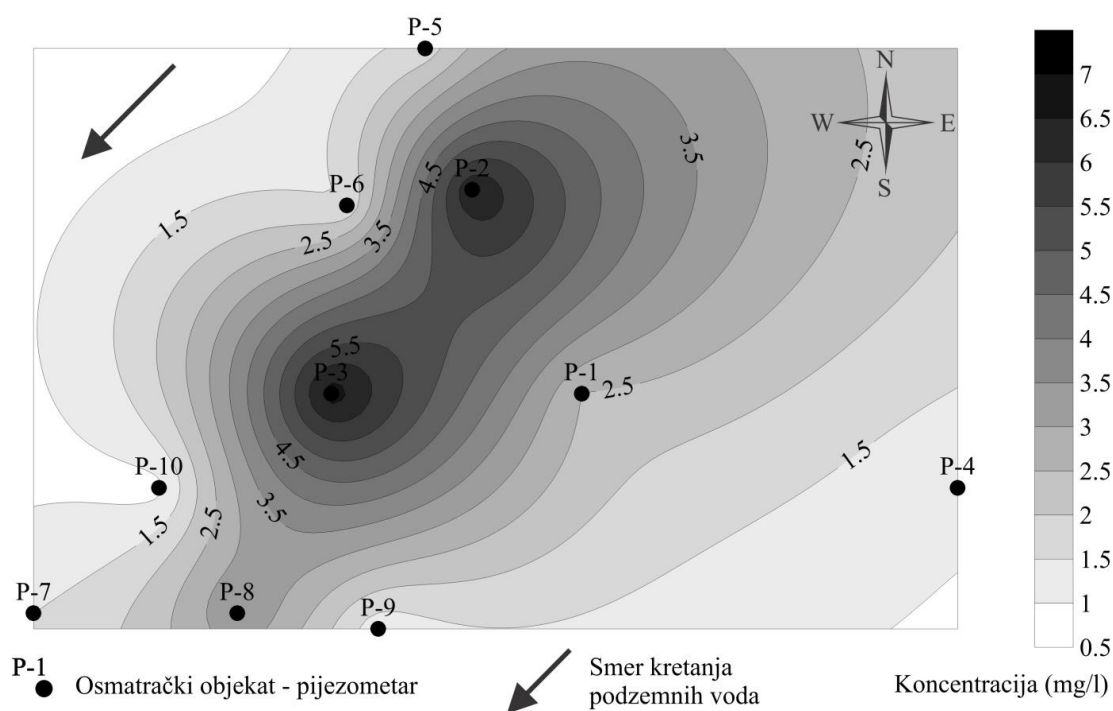
Tabela 4.34. Sadržaj ukupnih naftnih ugljovodonika u sedimetnima

Osmatrački objekat	TPH (mg/kg)
P-1	5060
P-2	3505
P-3	4204
P-4	49
P-5	46
P-6	4640
P-7	6
P-8	482
P-9	1826
P-10	1746

Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama su u intervalu od 0,84 do 6,4 mg/l. Remedijaciona koncentracija za naftne ugljovodonike u podzemnim vodama iznosi 0,6 mg/l (Sl.glasnik RS br. 88/2010, 2010), čime su izmerene vrednosti višestruko iznad dozvoljenih. Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodonika u

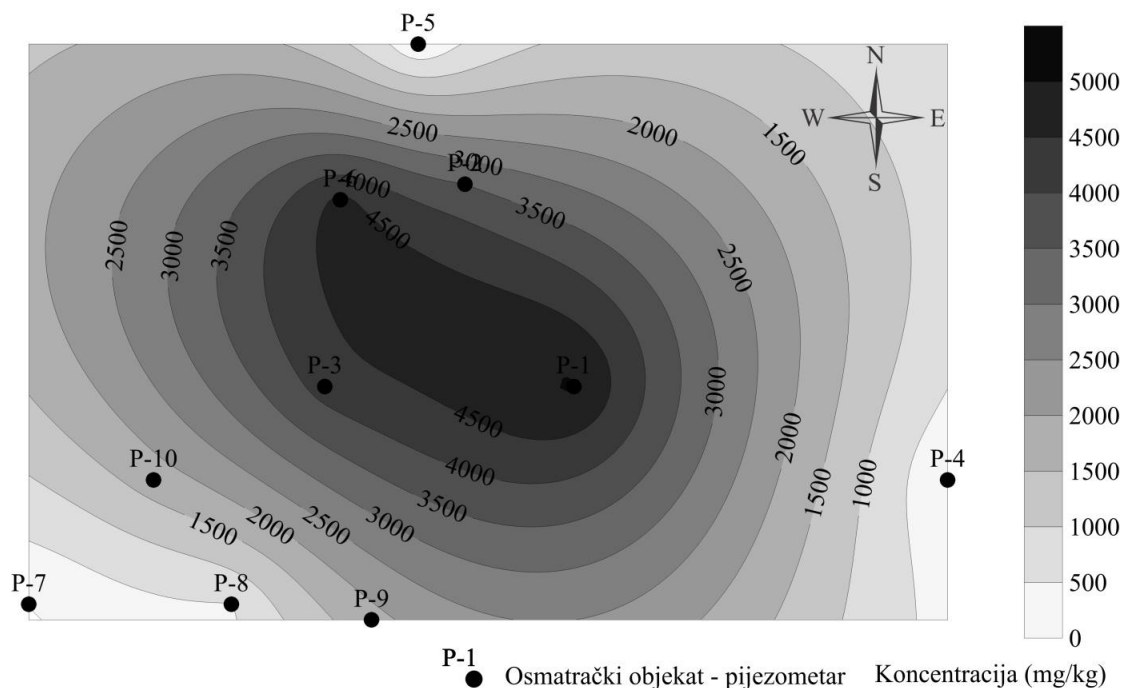
sedimentima (6 do 5060 mg/kg), takođe su ukazivale na neophodnost izvođenja remedijacije. Prostorni raspored sadržaja ukupnih naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama i sedimentima prikazan je na slikama 4.54 i 4.55.

Najviše koncentracije naftnih ugljovodonika u sedimentima registrovane su u centralnom delu lokacije L2, van ove zone dolazi do postepenog pada koncentracija (slika 4.55). Kada je reč o podzemnim vodama, očigledan je uticaj njihovog kretanja na prostorni raspored koncentracija naftnih ugljovodonika, tako su najviše vrednosti registrovane u pravcu toka podzemnih voda. Okonturenjem zagađujućeg "tela" uz prethodno definisane hidrogeološke karakteristike mikrolokacije, stvorena je konceptualna osnova za nastavak istraživanja.



Slika 4.54. Prostorni raspored koncentracija ukupnih naftnih ugljovodonika u podzemnim vodama





Slika 4.55. Prostorni raspored koncentracija ukupnih naftnih ugljovodonika u sedimentima

Mikrobiološka karakterizacija obuhvatila je određivanje ukupnog broja hemoorganotrofa i mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike, u uzorcima sedimenata. Prosečna vrednost za hemoorganotrofe je iznosila oko  $3,6 \times 10^4$  CFU/g, odnosno  $1,4 \times 10^3$  CFU/g za mikroorganizme koji razgrađuju ugljovodonike.

#### 4.2.3. Procena potencijala lokacije za primenu stimulisane *in situ* bioremedijacije

Rezultati istraživanja na lokaciji L2 ukazali su na značajno zagađenje sedimenata i podzemnih voda naftnim ugljovodonicima, što je imalo za posledicu neophodnost primene mera remedijacije. Primena *in situ* bioremedijacije je specifična u tom pogledu, jer podrazumeva analizu potencijalnih ograničavajućih uslova sredine i definisanje mera za njihovo poboljšanje.

Koeficijent filtracije predstavlja parametar koji kontroliše distribuciju elektron akceptora i kao takav u značajnoj meri određuje efikasnost primene bioremedijacije (U.S. EPA, 1995). Granična vrednost koeficijenta filtracije za uspešnu primenu *in situ* bioremedijacije iznosi  $1 \times 10^{-4}$  cm/s (Bedient et al. 1999). Vrednosti koeficijenata u okviru područja istraživanja su u intervalu od  $4,0 \times 10^{-4}$  do  $3,6 \times 10^{-3}$  cm/s, pa je zaključeno da se filtracione karakteristike sredine ne mogu smatrati ograničavajućim faktorom za primenu bioremedijacije.

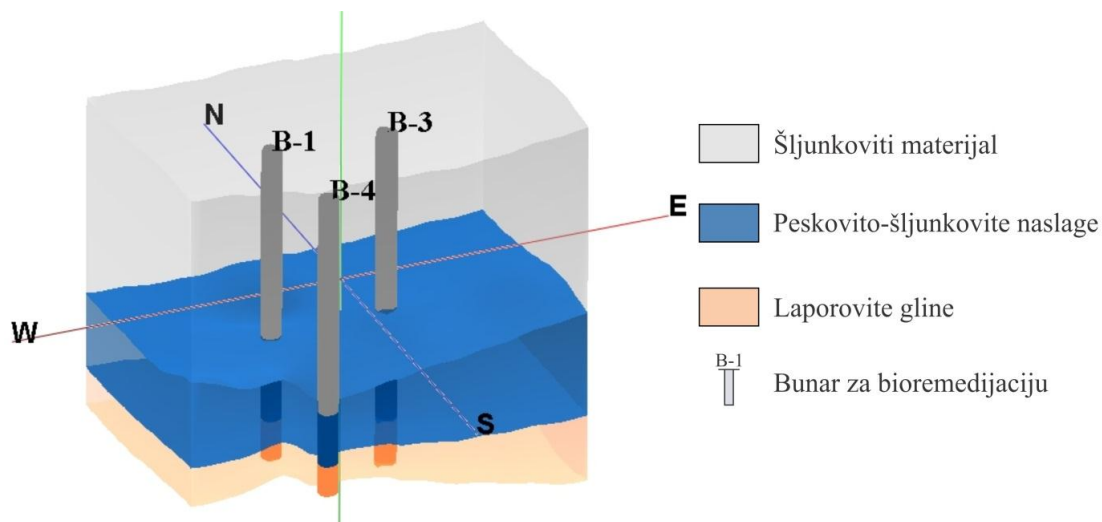
Povišen sadržaj gvožđa u podzemnim vodama može predstavljati inhibirajući faktor bioremedijacije, tako U.S. EPA (1995) ukazuje da pri koncentracijama  $\text{Fe} > 20$  mg/l nije preporučljiva izrada bunara za bioremedijaciju. Utvrđeno je da koncentracije gvožđa u podzemnim vodama od 8,6 mg/l, ne mogu predstavljati ograničavajući faktor za primenu stimulisane *in situ* bioremedijacije na ovoj lokaciji.

Granična vrednost broja mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike za uspešnu primenu bioremedijacije iznosi  $1 \times 10^3$  CFU/g (U.S. EPA, 1995). Izmerene vrednosti od oko  $1,4 \times 10^3$  CFU/g su neznatno iznad propisanih, što ukazuje na neophodnost uvećanja pomenute mikrobiološke populacije. U cilju postizanja što boljih rezultata, remedijacioni tretman obuhvatio je kako uvećanje populacije mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike (bioaugmentacija), tako i poboljšanje uslova sredine (biostimulacija).

#### **4.2.4. Primena stimulisane *in situ* bioremedijacije podzemnih voda**

Prva faza remedijacionih radova obuhvatila je fizičko uklanjanje podzemnog rezervoara i sedimenata iz nadizdanske zone. Iskopavanje sedimenata je praćeno ugradnjom talpi, zasipanjem šljunkovitim materijalom i nabijanjem do 45 MPa, prema građevinskim zahtevima za ovu lokaciju (Dinić i Punišić, 2011). Sedimenti su zatim transportovani na drugu lokaciju i tretirani *ex situ* bioremedijacijom. Primena bioremedijacionog tretmana podzemnih voda započeta je izradom dva injecciona i jednog eksploatacionog bunara. Injeccioni bunari (B-1 i B-3) locirani su uzvodno, dok je eksploatacioni bunar (B-4) izveden u nizvodnom delu izdani (slika 4.56). Bunari su raspoređeni u pravcu kretanja

podzemnih voda, tako da njima bude obuhvaćena zona najvećih koncentracija naftnih ugljovodonika (Matić, 2012).

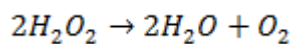


Slika 4.56. 3D prikaz sistema za stimulisanu *in situ* bioremedijaciju podzemnih voda na lokaciji L2

Stimulisana bioremedijacija podzemnih voda izvedena je sledećim postupcima:

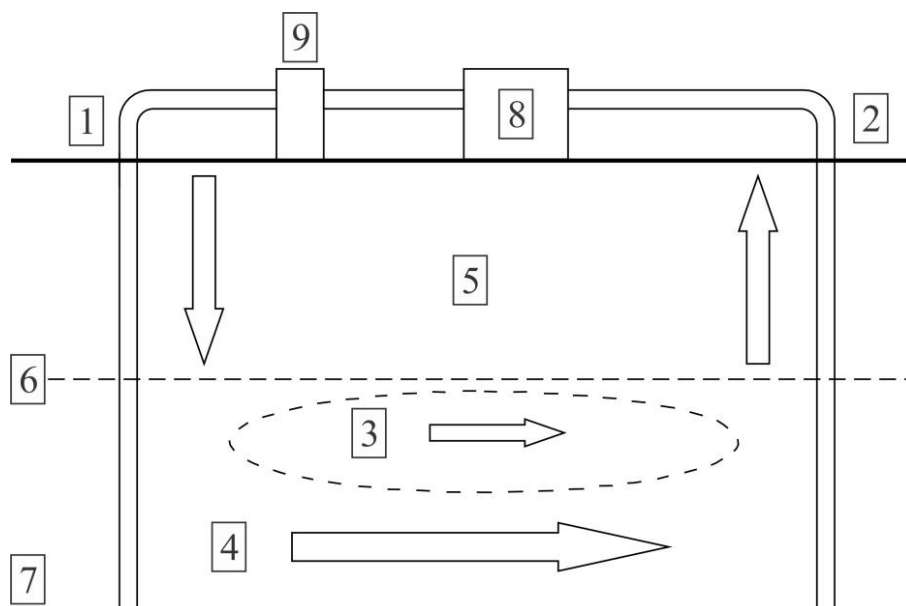
- biostimulacijom
- bioaugmentacijom
- recirkulacijom podzemnih voda

Biostimulacija, kao postupak poboljšanja uslova za odvijanje mikrobiološke aktivnosti, izvedena je dodavanjem hemijskog oksidanta i nutrijenata. Cilj ovakvog pristupa je ubrzanje biodegradacije naftnih ugljovodonika dodavanjem izvora kiseonika (terminalni elektron akceptor), uz obezbeđenje hranljivih supstanci neophodnih mikroorganizmima. U konkretnom slučaju, kao izvor kiseonika korišćen je vodonik-peroksid:



S obzirom na velike brzine razlaganja u podzemlju, Chapelle (1999) navodi da primena vodonik-peroksida kao izvora kiseonika može biti nedovoljno efikasna u dubljim slojevima. Imajući u vidu da je reč o plićoj izdani čija debljina ne prelazi 3 metra, zaključeno je da dodavanje vodonik-peroksida može predstavljati dovoljan izvor kiseonika u podzemlju. Kao izvori hranljivih materija neophodnih za mikrobiološku aktivnost korišćeni su rastvori azota i fosfora. Postupak bioaugmentacije izveden je dodavanjem konzorcijuma zimogenih mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike, prethodno izolovanih iz zagađenih podzemnih voda. Ovakvim pristupom data je prednost prirodno prisutnim mikroorganizmima u odnosu na komercijalne laboratorijske sojeve. Nakon izdvajanja iz podzemnih voda, mikroorganizmi su umnoženi u laboratorijskim uslovima. Detaljniji prikaz postupka pripreme konzorcijuma zimogenih mikroorganizama dali su Beškoski et al. (2011).

Postupci biostimulacije i bioaugmentacije izvedeni su na isti način, nalivanjem u izdan putem injekcionih bunara, nakon čega je uspostavljena recirkulacija podzemnih voda. Princip rada sistema za stimulisanu *in situ* bioremedijaciju podzemnih voda koji je primenjen na lokaciji L2 prikazan je na slici 4.57.

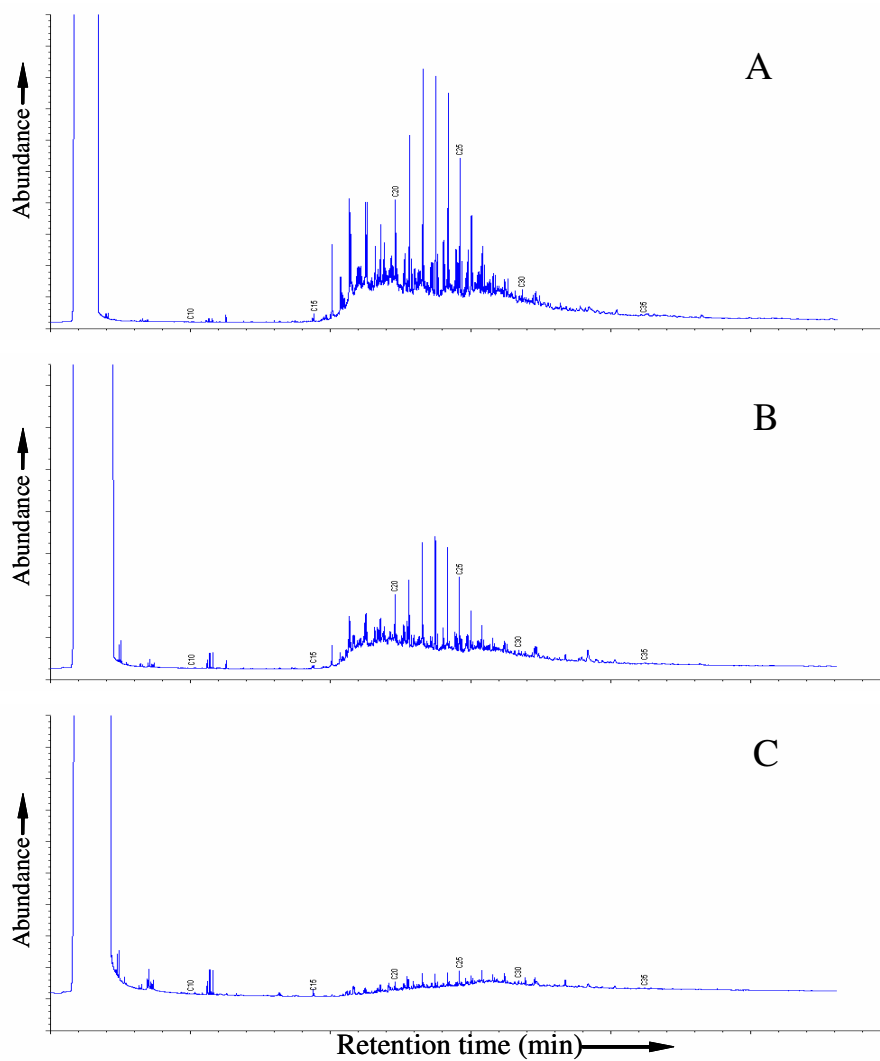


Slika 4.57. Princip rada sistema za stimulisanu *in situ* bioremedijaciju podzemnih voda

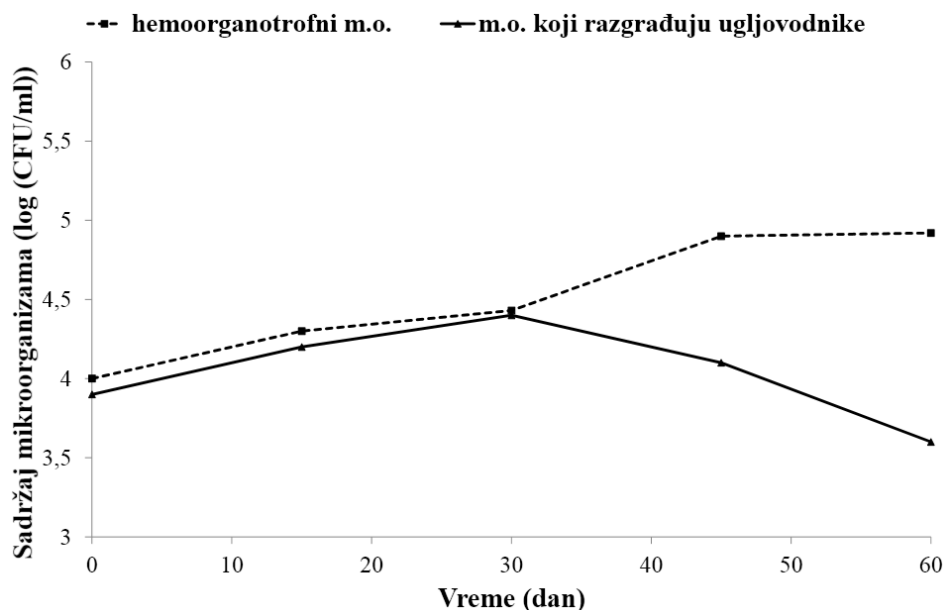
Preduslov za primenu ovakvog sistema je detaljno poznavanje geometrije izdani (3-7). Postupak biostimulacije izveden je nalivanjem rastvora vodonik-peroksida, azota i fosfora iz rezervoara (9) kroz injekcioni bunar (1) u "zagađujuće telo" (3). Isti postupak je primenjen pri dodavanju biomase (konzorcijuma zimogenih mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike). Nakon biostimulacije i bioaugmentacije uspostavljena je recirkulacija podzemnih voda u zoni između eksploatacionog i injekcionih bunara. Pre vraćanja u izdan podzemne vode su filtrirane kroz adsorpcionu kolonu (8) sa aktivnim ugljem. Tokom filtracije došlo je do formiranja biofilma mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodonike na česticama materijala, tako da se proces biodegradacije odvijao i u unutrašnjosti kolone. Na ovaj način, bioremedijacija je izvedena kombinacijom hemijske i biološke stimulacije u zatvorenom sistemu, sa adsorpcijom u spoljnoj jedinici (slika 4.58). Prosečan eksploatacioni kapacitet iznosio je 0,5 l/s, dok je nalivanje vršeno kapacitetom od 0,25 l/s po bunaru. Remedijacioni postupak je trajao 60 dana, tokom kojih je 1158 m<sup>3</sup> podzemne vode tretirano. Koncentracije ukupnih naftnih ugljovodnika u podzemnim vodama i sadržaja mikroorganizama, tokom remedijacionog tretmana prikazane su na slikama 4.59 i 4.60.



Slika 4.58 Stimulisana *in situ* bioremedijacija podzemnih voda na lokaciji L2



Slika 4.59. Gasni hromatogrami ukupnih naftnih ugljovodnika u podzemnim vodama na početku *in situ* bioremedijacije (a), posle 30 dana (b) i nakon 60 dana (c)



Slika 4.60. Promene u sadržaju mikroorganizama tokom primene stimulisane *in situ* bioremedijacije

Rezultati osmatranja ukupnih naftnih ugljovodnika u podzemnim vodama (slika 4.59) ukazuju na potpunu degradaciju svih komponenti na kraju tretmana. Ovakav trend u padu koncentracija ukupnih naftnih ugljovodnika u skladu je registrovanim promenama u sadržaju mikroorganizama (slika 4.60). Nakon biostimulacije i bioaugmentacije, ukupan broj hemoorganotrofnih i mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodnike počinje da raste, da bi svoj maksimalni razvoj dostigli 30 dana nakon početka tretmana. Daljim tokom tretmana broj mikroorganizama koji razgrađuju ugljovodnike pada, da bi 60 dana nakon početka remedijacije dosegao svoj minimum. Ovaj pad u sadržaju mikroorganizama odgovara koncentracijama ukupnih naftnih ugljovodnika nižim od 0,5 mg/l registrovanim na kraju remedijacionog tretmana. Rezultati posebno dobijaju na značaju ukoliko se ima u vidu da su ostvareni u terenskim uslovima.



## **5. ZAKLJUČAK**

Istraživanjima u Vitanovcu kod Kraljeva registrovani su tragovi zagađenja naftnim ugljovodonicima u podzemnim vodama 20 godina nakon prosipanja kerozina na ovoj lokaciji. Na osnovu osmatranja efekata dugotrajne izloženosti podzemnih voda procesima prirodnog prečišćavanja na ovoj lokaciji, može se zaključiti sledeće:

- komponente kerozina podložne su kako aerobnim, tako i anaerobnim mehanizmima biodegradacije.
- zagađenje u podzemnim vodama ne potiče od aromatičnih jedinjenja (benzena, etilbenzena, ksilena, toluena - BTEX i stirena), već od zasićenih ugljovodonika. S obzirom da se *n*-alkani smatraju podložnijim biodegradaciji od aromatičnih ugljovodonika, ovakvi rezultati se mogu tumačiti posledicom dugotrajne izloženosti anoksičnim uslovima sredine, ali i dejstvom abiotičkih procesa.
- najniže koncentracije elektron akceptora ( $O_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ) i najviše koncentracije metaboličkih produkata biodegradacije (Mn, Fe) poklapaju se sa zonom najvećih koncentracija parametara organskog zagađenja (TOC, TPH), u skladu sa teorijskim postavkama Wiedereimer et al (2006).
- na osnovu koncentracija elektron akceptora i metaboličkih produkata utvrđen je uticaj sledećih mehanizama biodegradacije na hemijski sastav podzemnih voda: aerobne respiracije, redukcije nitrata, redukcije mangana (IV), redukcije gvožđa (III) i redukcije sulfata. Uticaj metanogeneze utvrđen je na osnovu promena u izotopskom sastavu podzemnih voda ( $\delta^{13}C_{DIC}$ ).
- najvišim vrednostima TOC odgovaraju višestruko povećane vrednosti Al i  $SiO_2$ , u uslovima povišene kiselosti sredine uslovljene intenzivnim procesima biodegradacije. Može se pretpostaviti da je dugotrajna izloženost procesima biodegradacije naftnih ugljovodonika dovela do intenziviranja rastvaranja silikatnih minerala.

- preovlađujući redoks procesi u podzemnim vodama (TEAP) su prostorno i vremenski promenljivi. U osmatračkim objektima u zoni uticaja biodegradacije utvrđeno je odvijanje više redoks procesa istovremeno, procesi najvećeg stepena anoksičnosti utvrđeni su u blizini izvora zagađenja.
- na osnovu promena u hemijskom sastavu podzemnih voda, redukcija sulfata kao pojedinačni mehanizam poseduje najveći kapacitet za biodegradaciju BTEX-a.

Stimulisana *in situ* bioremedijacija podzemnih voda zagađenih naftnim ugljovodonicima izvedena je na lokaciji "Nitex" u Nišu. Prema dostupnim podacima, reč je o prvoj primeni ovog remedijacionog tretmana u našoj zemlji. Kombinovanom primenom biostimulacije i bioaugmentacije u terenskim uslovima, nakon 60 dana postignuta je potpuna razgradnja svih komponenti zagađenja. Uspeh remedijacionog tretmana ukazuje da:

- u plićim izdanima vodonik-peroksid predstavlja pouzdano sredstvo za povećanje oksičnosti sredine i ubrzanje biodegradacije naftnih ugljovodonika
- pri bioaugmentaciji prednost treba dati prirodno prisutnim mikroorganizama sa zagađene lokacije u odnosu na komercijalne laboratorijske sojeve

Šire posmatrano, rezultati istraživanja na obe lokacije ukazuju na prirodni kapacitet izdani da umanje efekte zagađenja naftnim ugljovodonicima. Primenu aktivnih mera remedijacije treba upravo bazirati na korišćenju i stimulaciji ovog prirodnog potencijala sredine.

## **6. L I T E R A T U R A**

1. Aelion CM, Bradley PM (1991) Aerobic biodegradation potential of subsurface microorganisms from a jet fuel-contaminated aquifer. *Appl.&Envir. Micro.* 57(1), 57-63.
2. Aelion CM, Höhener P, Hunkeler D, Aravena R (2009) *Environmental Isotopes in Biodegradation and Bioremediation*. CRC Press, 464 pp.
3. Aggarwal PK, Hinchey RE (1991) Monitoring in situ biodegradation of hydrocarbons by using stable carbon isotopes. *Environ Sci Technol* 25, 1178–1180.
4. Aleksander M (1999) *Biodegradation and Bioremediation*. 2nd ed, Academic Press, San Diego, CA.
5. Alvarez JP, Illman AW (2006) *Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models*. John Wiley & Sons, New York, NY.
6. Anonymus (2010) *Suve podloge "Torlak"-Katalog*. Torlak-Institut za imunologiju i virusologiju, Beograd.
7. API (American Petroleum Institute) (2010) *Kerosene/jet fuel category assesment document*. Washington DC.
8. Atekwana EA, Atekwana EA, Legall FD, Krihnamurthy RV (2005) Biodegradation and mineral weathering controls on bulk electrical conductivity in a shallow hydrocarbon contaminated aquifer. *J. Contam. Hydrol.* 80, 149-167.
9. Babič D (2011) *Izveštaj o granulometrijskim i mineraloškim analizama aluvijalnih sedimenata na lokaciji Vitanovac kod Kraljeva*. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
10. Babič D (2012) *Izveštaj o granulometrijskim i mineraloškim analizama aluvijalnih sedimenata na lokaciji Nitex u Nišu*. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
11. Baedecker MJ, Cozzarelli IM, Eganhouse RP, Siegel DI, Bennett PC (1993) Crude oil in a shallow sand and gravel aquifer-III. Biogeochemical reactions and mass balance modeling in anoxic groundwater. *Appl Geochem* 8, 569–586.

12. Balba MT, Al-Awadhi N, Al-Daher R (1998) Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *J. Microbiol.*
13. Bedient P, Rifai H, Newell C (1999) Ground water contamination transport and remediation, 2nd edn. Prentice Hall, Upper Saddle.
14. Bento FM., Camargo FAO, Okeke BC, Frankenberger WT (2005) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technol.* 96, 1049–1055.
15. Beškoski PV (2011) Proučavanje aktivnosti konzorcijuma zimogenih mikroorganizama zemljišta zagađenog naftom i njenim derivatima i njihova primena za bioremedijaciju. Doktorska disertacija, Hemijski fakultet, Beograd.
16. Beškoski V, Gojgić - Cvijović G, Milić J, Ilić M, Miletić S, Šolević T, Vrvic MM (2011) Ex situ bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil) - a field experiment. *Chemosphere* 83, 34–40.
17. Beškoski V, Gojgić-Cvijović G, Milić J, Ilić V, Miletić S, Jovančićević S, Vrvic M (2012) Bioremedijacija zemljišta kontaminiranog naftom i naftnim derivatima: mikroorganizmi, putevi razgradnje, tehnologije. *Hem. Ind.* 66 (2), 275-289.
18. Bollinger C, Höhener P, Hunkeler D, Häberli K, Zeyer J (1999) Intrinsic bioremediation of a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer and assessment of mineralization based on stable carbon isotopes. *Biodegradation* 10, 201–217
19. Borden RC, Bedient PB (1986) Transport of dissolved hydrocarbons influenced by oxygen limited biodegradation: theoretical development. *Water Resour. Res.*, vol. 22, no.13, 1973-1982.
20. Bouwer EJ (1994) Bioremediation of chlorinated solvents using alternate electron acceptors, in *Handbook of bioremediation*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 149-175.
21. Buscheck TE, Wickland DC, Kuehne DL (1996) Multiple lines evidence to demonstrate natural attenuation of petroleum hydrocarbons. In *Proceedings*

- of the 1996 Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Groundwater Conference, Houston, TX, API/NGWA, 445-460.
22. Cerniglia C, Sutherland JB (2001) in: *Fungi in Bioremediation*. G.M. Gadd, Ed., British Mycological Society, Cambridge University Press, Cambridge, 136–187.
  23. Chaillan F, Chaineau CH, Point V, Saliot A, Oudot J (2006) Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings. *Environ. Pollut.* 144, 255-265.
  24. Chapelle FH (1993) *Groundwater Microbiology and geochemistry*. Willey, New York, 424.
  25. Chapelle F (1999) Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated groundwater: the perspectives of history and hydrology. *Ground Water*, vol.37, no.1, 122-132.
  26. Chapelle FH (2001) *Ground-Water Microbiology and Geochemistry*. 2nd Ed. John Wiley and Sons, Hoboken, NJ.
  27. Chapelle FH (2003) *Geochemistry of Groundwater*. In: *Treatise on Geochemistry*, Ed. J.I. Drever, Ex. Ed. Heinrich D. Holland and Karl K. Turekian. Elsevier, Vol. 5, 10.1016/B0-08-043751-6/05167-7
  28. Chapelle, HF, Bradley PM, Thomas MA, McMahon PB (2009): Distinguish iron-reducing from sulfate - reducing conditions in groundwater systems; *Ground Water* Vol. 47, No.2, p. 300-305
  29. Chiang CY, Salanitro JP, Chai EY, Colthart JD, Klein CL (1989) Aerobic biodegradation of benzene, toluene and xylene in a sandy aquifer: data analysis and computer modeling. *Ground water*, vol. 27, no. 6, 267-312.
  30. Christensen T, Bjerg P, Banwart S, Jakobsen R, Heron G, Albrechtsen HJ (2000) Characterization of redox conditions in groundwater contaminant plumes. *Journal of Contaminant Hydrology* 45, 165–241.
  31. Collins CH, Lyne PM, Grange JM, Falkinham JO (2004) *Microbiological Methods*. Arnold, London.
  32. Cookson JT, (1995) *Bioremediation Engineering. Design and Application*. McGraw Hill, New York.

33. Coplen, TB (1996) New guideline for reporting stable hydrogen, carbon, and oxygen isotoperatio data. *Geochimica Cosmochimica Acta* 60, 3359–60.
34. Cozzarelli IM, Baedecker MJ, Eganhouse RP, Goerlitz DF (1994) The geochemical evolution of low-molecular-weight organic acids derived from the degradation of petroleum contaminants in groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta* 58, 863-877.
35. Dalmacija B, Petrović O, Rončević S, Ivančev-Tumbas I, Bečelić M, Simeunović J, Agbaba J, Radnović D, lazić N, Đukić M (2004) Naftno zagađenje područja Ratno ostrvo: mogućnost prirodne bioremedijacije. Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
36. Das N, Chandran P (2011) Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnol. Res. Int.*, doi:10.4061/2011/941810.
37. Davis RK, Pederson DT, Blum DA, Carr JD (1993) Atrazine in a stream aquifer system: estimation of aquifer properties from atrazine concentration profiles. *Ground Water Monit. Rev.*, Springer, 134-141.
38. Declercq I, Cappuyns V, Duclos Y (2012) Monitored natural attenuation (MNA) of contaminated soils: State of the art in Europe - A critical evaluation. *Science of the Total Environment* 10.1016/j.scitotenv.2012.03.040.
39. Delin GN, Essaid HI, Cozzarelli IM, Lahvis MH, Bekins BA (1998) Ground Water Contamination by Crude Oil near Bemidji, Minnesota. USGS, Mounds View, Minnesota
40. Dickey PA (1986) *Petroleum Development Geology*. PennWell Publishing Company, Tulsa, OK.
41. DIN EN 14345 (2004) International Standard: Characterization of Waste. Determination of Hydrocarbon Content by Gravimetry. DIN, Berlin.
42. Dinić S, Punišić Z (2011) Elaborat o izvršenim geotehničkim radovima za potrebe remedijacije zemljišta na lokaciji Nitex/Benneton u Nišu. Geoinženjering, Niš.
43. EPA Method 9071B (1998) n-Hexane extractable material (HEM) for sludge, sediment, and soil samples.



44. EPA 200.7 Rev. 5 (1998) Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. US EPA, Ohio, Cincinnati.
45. EPA 300.1 (1997) Determination of inorganic anions in drinking water by ion chromatography. US EPA, Ohio, Cincinnati.
46. Ercegovac DM (2002) Geologija nafte. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
47. Ernst W (1970) Geochemical facies analysis. Elsevier, Amsterdam, 152 p.
48. European Commission (2008) Groundwater Protection in Europe: The new groundwater directive - consolidating the EU regulatory framework, <http://bookshop.europa.eu>.
49. Fetter CW (1999) Contaminant Hydrogeology. 2nd ed, Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J., 500 pp.
50. Foght J (2008) Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 15, 93-120.
51. Fritsche W, Hofrichter M (2000) in *Biotechnology*, H.-J. Rehm, G. Reed, A. Püchler, P. Stadler, J. Klein, Eds., WILEY-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim, 146.
52. Ghiorse WC, Wilson JT (1988) Microbial ecology of the terrestrial subsurface. *Adv. Appl. Microbiol.*, vol 33, pp 107-172.
53. Gojgić-Cvijović G, Vrvić MM (2003) Praktikum za mikrobiološku hemiju, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Beograd.
54. Gorelick SM, Freeze RA, Donohue D, Keely JF (1993) Groundwater Contamination Optimal Capture and Containment, Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
55. GZJZ (2011) Program sanacije lokacije fabrike "Nitex" u Nišu, na bazi inicijalnih istražnih radova sa aspekta zaštite životne sredine i zdravlja ljudi. Gradski zavod za javno zdravlje, Beograd
56. Hiebert FK, Bennett PC (1992) Microbial control of silicate weathering in organic rich ground water. *Science* 258 (5080), 278-281.
57. Horakova DMV, Nemeč M (2000) in: *Remediation Engineering of Contaminated Soils*. D.L. Wise, D.J. Trantolo, E.J. Eichon, H.I. Inyang, U. Stottmeister, Eds., Marcel Dekker, New York, 357-372.

58. <http://www.eia.gov>.
59. Hughes JB, Duston KL, Ward CH (2002) Engineered Bioremediation. Technology Evaluation Report TE-02-03. Groundwater Remediation Technologies Analysis Center, Pittsburgh, PA.
60. Hunt JM (1979) Petroleum Geochemistry and Geology. WH Freeman and Company, New York, 617 pp.
61. Hutchinns SR, Wilson JT, Kampbell DH (1995) In situ bioremediation of pipeline spill using nitrate as the electron acceptor. In: Applied Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons, Eds. RE Hinchee, Kitel JA, Reisinger HJ, Columbus, Ohio, Battelle Press, 143-154.
62. IATA (2012) Guidance material for aviation turbine fuels specifications, JET A-1, <https://www.iata.org/publications/Pages/fuel-guidelines.aspx>.
63. Ilić M (2011) Transformacije zagađivača naftnog tipa u procesu simulacije biodegradacije u laboratorijskim aerobnim uslovima. Doktorska disertacija, Hemijski fakultet, Beograd.
64. ISO 10523:200 Water quality - Determination of pH. ISO, Geneve.
65. ISO 11465 (1993) Soil Quality - Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method, Geneve.
66. ISO 16703 (2004) Soil Quality - Determination of Content of Hydrocarbon in the Range C10 to C40 by Gas Chromatography. ISO, Geneve.
67. Jovančićević B (1998) Praktikum organske geohemije sa hemijom goriva – za studente Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.
68. Jovančićević B, Vitorović D (2005) Osnovi organske geohemije. Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.
69. Jovančićević B, Vrvic MM, Schwarzbauer J, Wehner H, Scheeder G, Vitorović D (2007) Organic-geochemical Differentiation of Petroleum-type Pollutants and Study of Their Fate in Danube Alluvial Sediments and Corresponding Water (Pančevo Oil Refinery, Serbia), Water Air Soil Pollut. 183, 225–238.

70. Jurgens BC, McMahon PB, Chapelle FH, Eberts SM (2009) An Excel Workbook for Identifying Redox Processes in Ground Water, U.S. Geological Survey Open-File Report 2009–1004.
71. Kaćanski A (1995) Hidrogeološka problematika zagađivanja podzemnih voda u aluvionu Zapadne Morave kod Vitanovca (Kraljevo). Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
72. Kaluđerović D (2007) Prirodno prečišćavanje izdani. Doktorska disertacija, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
73. Khan FI, Husain T, Hejazi R (2004) An overview and analysis of site remediation technologies. *J. Environ. Manage.* 71, 95–122.
74. Kostić A (2007) Inženjering zaštite životne sredine, osnovi inženjeringa uklanjanja postojećeg zagađenja. Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.
75. Krešić N, Vujasinović S, Matić I (2006) Remedijacija podzemnih voda i geosredine. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
76. Kuhad RC, Gupta R (2009) in: *Advances in Applied Bioremediation*. A. Singh, R.C. Kuhad, O.P. Ward, Eds., Springer-Verlag, Berlin, 173–188.
77. Kuklinski AY, Puškina RA, Gevorkova VL (1983) Ароматические углеводороды высококипящих фракций нефтей, *Нефтехимия* 23, 28-33.
78. La Grega MD, Buckingham PL, Evans JC (1994) *Hazardous Waste Management*. McGraw Hill, New York.
79. Landmeyer JE, Vroblesky DA, Chapelle FH (1996) Stable carbon isotope evidence of biodegradation zonation in a shallow jet-fuel contaminated aquifer. *Environ Sci Technol* 30, 1120–1128.
80. Lollar BS, Slater GF, Sleep B (2001) Stable carbon isotope evidence for intrinsic bioremediation of tetrachloroethene and trichloroethene at area 6, Dover Air Force Base. *Environ Sci Technol* 35, 261–269.
81. Mace RE, Fisher RS, Welch Dm, Parra SP (1997) Extent, Mass and Duration of Hydrocarbon Plumes from Leaking Petroleum Storage Tank Sites in Texas. Geological Circular 97-1, Bureau of Economic Geology, University of Texas at Austin.

82. Majkić B (2013) Starenje bunara u aluvijalnim sredinama različitog stepena oksičnosti. Doktorska disertacija, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd
83. Margat J, van der Gun J (2013) Groundwater around the World. CRC Press/Balkema.
84. Marić N, Ilić M, Miletić S, Gojgić-Cvijović G, Beškoski V, Vrvic MM, Papić P (2015) Enhanced in situ bioremediation of groundwater contaminated by petroleum hydrocarbons at the location of the Nitex textiles, Serbia. *Environ Earth Sci* (2015) 74, 5211–5219.
85. Marković B, Urošević M, Pavlović Z, Terzin V, Jovanovič Ž, Karović J, Vujisić T, Antonijević R, Malešević M, Rakić M (1963) Tumač i OGK 1:100 000, list Kraljevo. Zavod za geološka i geofizička istraživanja, Beograd.
86. Matić I (1994) Studijsko-istražni radovi na praćenju incidentnog zagađenja kerozinom u podzemnim vodama na području Vitanovca kod Kraljeva. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
87. Matić I (2012) Određivanje uslova za monitoring remedijacije kompleksa "Nitex-Benetton" u Nišu. ECO-ING, Biro za usluge u oblasti zaštite čovekove okoline, Beograd
88. McCarthy KA, Johnson RL (1992) Transport of volatile organic compounds across the capillary fringe. *Water Resour. Res.*, vol 28, 1675-1683.
89. McMahon P, Vroblesky D, Bradley P, Chapelle F, Gullett C (1995) Evidence of enhanced mineral dissolution in organic acid-rich shallow groundwater. *Ground water* vol. 33, no. 2, 207-216.
90. McNabb JF, Dunlap WJ (1975) Subsurface biological activity in relation to groundwater pollution. *Ground Water*, vol. 13, pp 33-44.
91. Mendizibal I., Stuyfzand P, Wiersma A (2011) Hydrochemical system analysis of public supply well fields, to reveal water – quality patterns and define groundwater bodies. The Netherlands, *Hydrogeology Journal* 19,83-100
92. Mersmann P (2003) Transport und Sorptionsverhalten der Arzneimittelwirkstoffe Carbamazepin, Clobrinsäure, Diclofenac, Ibuprofen

- und Propyhenazon in der wassergesattigen und ungesattigen Zone. Thesis, Technical University Berlin.
93. Miletić S (2013) Ispitivanje zagađenih staništa kao izvora mikroorganizama za bioremedijaciju. Doktorska disertacija, Hemijski fakultet, Beograd.
  94. Miličić-Terzić J, Lopez –Vidal Y, Vrvic MM, Saval S (2000) Biodegradation potential assessment of microbial consortia isolated from a diesel-contaminated soil. *Water Sci. Technol.* 42, 403–406.
  95. Miličić-Terzić J, Lopez-Vidal Y, Vrvic MM, Saval S (2001) Detection of catabolic genes in indigenous microbial consortia isolated from a Diesel-contaminated soil. *Bioresource Technol.* 78, 47–54.
  96. Müller HE (1999) Die Funktion der Mikroorganismen bei der Neubildung von Grundwasser, *zbl. geol. paläont., Teil I*, 27–39.
  97. Newell CJ, McLeod RK, Gonzales JR (1996) BIOSCREEN Natural Attenuation Decision Support System User's Manual, Version 1.3. EPA/600/R-96/087, Robert S. Kerr. Environmental Research Center, Ada, OK.
  98. Newell C, Connor J (1998) Characteristics of dissolved petroleum hydrocarbon plumes, Groundwater Services, American Petroleum Institute, Washington, DC.
  99. OSWER (2010) The office of solid waste and emergency response-fiscal year 2010 end of the year report. United States Environmental Protection Agency, Washington DC.
  100. Paul E, Clark F (1989) *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, San Diego, CA.
  101. Peters EE, Walters CC, Moldowan JM (2005) *The Biomarker Guide*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
  102. Philp JC, Atlas RM (2005) in: *Bioremediation: Applied Microbial Solutions for Real-World Environmental Cleanup*. R.M. Atlas, J.C. Philp, Eds., ASM Press, Washington DC, 139–236.
  103. PRI metoda P-V-2/B (1990) *Određivanje koncentracija amonijaka spektrofotometrijski*. SZZZ, Beograd.

104. Rahman KSM, Rahman TJ, Kourkoutas Y, Petsas I, Marchant R, Banat IM (2003) Enhanced bioremediation of nalkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *Bioresour. Technol.* 90, 159–168.
105. Raymond RL (1974) Reclamation of hydrocarbon contaminated groundwater. U.S. Patent. 3,846,290.
106. Revesz K, Coplen TB, Baedeker MJ, Glynn PD, Hult M (1995) Methane production and consumption monitored by stable H and C isotope ratios at a crude oil spill site, Bemidji, Minnesota. *Appl Geochem* 10, 505–516.
107. Rice DW, Grose RD, Michaelsen JC, Dooher BP, MacQueen, Cullen SJ, Kastenberg WE, Everett LG, Marion MA (1995) California leaking underground tank (LUFT) historical case analysis. Environmental Protection Department, No.16.
108. Rifai HS, Borden RC, Wilson JT, Ward CH (1995) Intrinsic bioattenuation for subsurface restoration. In: Hinchey RE, Wilson JT, Downey DC, Eds., *Intrinsic bioremediation*, Battelle Press, Columbus. vol 1, pp 1–31.
109. Rodina AG (1965) *Metody vodnoi mikrobiologii*, Nauka, Moskva.
110. Rogers, JR, Bennett PC, Choi WJ (2001) Enhanced weathering of silicates by subsurface microorganisms: a strategy to release limiting inorganic nutrients?. *Proceedings of the tenth international symposium on water-rock interaction WRI-10*, 1461-1464.
111. Schoel M (1984) Stable isotopes in petroleum research. *AdvPetroleum Geochem* 1, 215-245.
112. Shiklomanov IA, Rodda JC (2003) *World Water Resources at the Beginning of the 21st Century*. UNESCO/IHP Int. Hydrology Series, Cambridge University Press.
113. Sl.glasnik RS br. 88/2010 (2010) Uredba o programu sistematskog praćenja kvaliteta zemljišta, indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa. Sl.glasnik RS, Beograd.
114. SMEWW m 2540 B (1997) Total dissolved solids in water analysis. Standard Methods Committee.

115. Šolević T, Novaković M, Ilić M, Antić M, Vrvić MM, Jovančićević B (2011) Investigation of the bioremediation potential of aerobic zymogenous microorganisms in soil for crude oil biodegradation. *J. Serb. Chem. Soc.* 76, 425–438.
116. Song HG, Bartha R (1990) Effects of jet fuel spills on the microbial community of soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(3), 646-651.
117. Speidel DH and Agnew AF (1988) The World budget. In *Perspectives in Water Uses and Abuses*, DH Speidel, LC Ruedisili and AF Agnew Eds., Oxford University Press, New York.
118. Spötl C (2005) A robust and fast method of sampling and analysis of  $\delta^{13}C$  of dissolved inorganic carbon in ground waters. *Isotopes in Environmental and Health Studies* Vol. 41, No. 3, 217–221.
119. SRPS EN ISO 27888:200 (2009) Određivanje električne provodnosti. Institut za standardizaciju Srbije, Beograd.
120. SRPS EN ISO 8245:2007 (2007) Smernice za određivanje ukupnog organskog ugljenika (TOC) i rastvorenog organskog ugljenika (DOC). Institut za standardizaciju Srbije, Beograd.
121. SRPS EN ISO 9377-:2:09 (2009) Određivanje ugljovodoničnog indeksa, metoda gasne hromatografije nakon ekstrakcije rastvaračem. Institut za standardizaciju Srbije, Beograd.
122. SRPS EN ISO 9963-1:07 (2007) Određivanje ukupnog i kompozitnog alkaliteta. Institut za standardizaciju Srbije, Beograd.
123. Stumm W and Morgan J (1981) *Aquatic Chemistry*. Willey, New York.
124. Tissot BP, Welte DH (1984) *Petroleum Formation and Occurrence*. Springer-Verlag, Heidelberg, 89-107.
125. U.S. EPA (1995) *How To Evaluate Alternative Cleanup Technologies For Underground Storage Tank Sites: A Guide For Corrective Action Plan Reviewers*. EPA 510-B-94-003; EPA 510-B-95-007; and EPA 510-R-04-002, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.
126. U.S. EPA (1999) *Use of Monitored Natural Attenuation at Superfund, RCRA Corrective Action, and Underground Storage Tank Sites*. OSWER

- Directive 9200.4-17P, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.
127. U.S. EPA (2010) Superfund remedy report. thirteenth ed, Washington DC.
  128. U.S. EPA (2012) Glossary of technical terms: U.S. Environmental Protection Agency. Environmental Protection Agency, Washington DC.
  129. Ueno A, Ito Y, Yumoto I, Okuyama H (2007) Isolation and characterization of bacteria from soil contaminated with diesel oil and the possible use of these in autochthonous bioaugmentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, 1739–1745.
  130. U.S. NRC (1993) *In Situ Bioremediation, When Does It Work?*. National Academy Press, Washington DC.
  131. U.S. NRC (1994) *Alternatives for Ground Water Cleanup*. National Academy Press, Washington DC.
  132. U.S. NRC (1997) *Innovations in Ground water and Soil Cleanup: From Concept to Commercialization*. National Academy Press, Washington DC.
  133. van Ras NJP, Winters RO, Lieten SH, Dijkhuis JE, Henssen MJC, van Hattem WA, Lethbridge G (2007) Sustainability of natural attenuation of aromatics (BTEX). final report. NICOLE, Groningen, Netherlands.
  134. VDM 0132 - Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods: Method 3810 A, Static Head Space; Method 8015 D nonhalogenated organic using GC/FID. EPA publication SW-846.
  135. VDM 0133 - Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods: Method 3510, Separatory funnel liquid-liquid extraction; Method 8015 D nonhalogenated organic using GC/FID. EPA publication SW-846. *Methods* 32, 155–164.
  136. Venosa D, Zhu X (2003) Biodegradation of Crude Oil Contaminating Marine Shorelines and Freshwater Wetlands. *Spill Sci. Technol. B.* 8, 163–178.
  137. von Gunten U, Zorbist J (1993) Biochemical changes in groundwater – infiltration systems: Column studies. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 3895 – 3906.



138. Vrba, J, van der Gun J (2004) The World's Groundwater Resources, [http://www.un-igrac.org/dynamics/modules/SFIL0100/view.php?fi\\_Id=126](http://www.un-igrac.org/dynamics/modules/SFIL0100/view.php?fi_Id=126).
139. Vroblesky D, Chapelle F (1994) Temporal and spatial changes of terminal electron-accepting processes in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer and the significance for contaminant biodegradation. *Water Resources Research*, Vol. 30, no. 5, 1561-1570.
140. Vroblesky DA, Robertson JF, Petkewich MD, Chapelle FH, Bradley PM, Landmeyer JE (1997) Remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated ground water in the vicinity of a jet-fuel tank farm, Hanahan, South California. USGS Water Resources Investigation Report 96-4251.
141. Vujasinović S, Matić I (1995) Ekscesna zagađenja podzemnih voda derivatima nafte u Srbiji. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
142. Waples DW (1985) *Geochemistry in Petroleum Exploration*. Reidel Publish. Cy., Dordrecht, 223.
143. Ward OP, Singh A, VanHamme JD, Voordouw G (2009) in *Encyclopedia of Microbiology*. M. Schaechter (Ed.) 3rded., Elsevier, Oxford, 443–457.
144. Waterloo Centre for Ground Water Research, University of Waterloo Short Course (1989) *Dense Immiscible Phase Liquid Contaminants in Porous and Fractured Media*. Kitchener, Ontario, Canada.
145. Welch SA, Ullman WJ (1993) The effect of soluble organic acids on feldspar dissolution rates and stoichiometry. *Geochim Cosmochim Acta* 57, 2725-2736.
146. Wiedemeier TH, Wilson JT, Kampbell DH, Miller RN, Hansen JE (1995) *Technical Protocol for Implementing Intristic Remediation with Long-Term Monitoring for Natural Attenuation of Fuel Contamination Dissolved in Groundwater*. U.S. Air Force Center for Environmental Excellence, San Antonio, TX.
147. Wiedemeier TH, Rifai HS, Newell CJ, Wilson JT (1999) *Natural Attenuation of Fuels and Chlorinated Solvents in the Subsurface*. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 617 pp.

148. Wiedemeier TH, Barden MJ, Hass PE, Dickson WZ (2006) in: Practical Handbook of Environmental Site Characterization and Ground-Water Monitoring. 2nd Ed, Nielsen D, Eds, CRC Press, Taylor & Francis Group.
149. Wilson JT, Armstrong JM, Rifai HS (1994) A full scale field demonstration on the use of hydrogen peroxide for in situ bioremediation of an aviation gasoline-contaminated aquifer. In Bioremediation: Field Experience, Ed. PE Flathman, Jerger DE and Exner JH, Ann Arbor, Michigan: Lewis Publishers, 333-360.
150. Wood WW, Kramer TP, Hem PP (1990) Intergarnular diffusion: An important mechanism influencing solute transport in clastic aquifers. *Science* 247,1569-72.

## **BIOGRAFIJA AUTORA**



Nenad M. Marić rođen je 26.01.1986. godine u Mostaru. Osnovne studije na Departmanu za hidrogeologiju Rudarsko-geološkog fakulteta završio je 2010. godine sa prosečnom ocenom 8,89, nakon čega upisuje doktorske studije.

Od 2011. godine zaposlen je kao istraživač-pripravnik, a zatim istraživač-saradnik na Departmanu za hidrogeologiju, na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj – Projekat III (43004).

Učestvovao je u izradi većeg broja projekata, elaborata i studija kojima je rešavana hidrogeološka problematika. Kao saradnik u nastavi bio je angažovan na predmetima "Zaštita podzemnih voda" i "Kontaminacija i remedijacija geološke sredine i podzemnih voda" od 2012 do 2014. godine. Učestvuje u održavanju vežbi iz predmeta "Hidraulika podzemnih voda" i "Hidraulika bunara".

Autor i koautor je 15 saopštenja, stručnih i naučnih radova, od kojih su 4 sa *SCI* liste.

Član je Saveza inženjera i tehničara Srbije (SITS), Srpskog geološkog društva (SGD) i Geološkog društva Amerike (GSA).

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а \_\_\_\_\_ Ненад М. Марић \_\_\_\_\_

број индекса \_\_\_\_\_ Г810/10 \_\_\_\_\_

### Изјављујем


да је докторска дисертација под насловом

Природно пречишћавање и стимулисана биоремедијација подземних вода  
загађених нафтним угљоводоницима

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 02.10.2015



\_\_\_\_\_

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Ненад М. Марић

Број индекса Г810/10

Студијски програм хидрогеологија

Наслов рада Природно пречишћавање и стимулисана биоремедијација  
подземних вода загађених нафтним угљоводоницима

Ментор Др Петар Папић, ред. проф., Др Владимир Бешкоски, доцент

Потписани/а Ненад М. Марић


Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 02.10.2015.

  
\_\_\_\_\_

Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Природно пречишћавање и стимулисана биоремедијација подземних вода  
загађених нафтним угљоводоницима

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, 02.10.2015.

Потпис докторанда



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.