

Биоремедијација водоносног слоја контаминираног угљоводоника

Сања Мразовац Курилић

Сажетак: Загађење лежишта подземних вода нафтним угљоводоника доводи до мерљивих промена у хидрохемији подземне воде, претежно због микробиолошке активности. Циљ овог поглавља је пружити увид у истраживања и активности *in situ* ремедијације ради уклањања загађујућих нафтних угљоводоника из загађеног седимента аквифера, на примерима историјски загађене локације керозина у Витановцу (централна Србија), као и на примеру два радијална сакупљачка бунара система за водоснабдевање на Новом Београду.

У Витановцу, због дугорочног загађења угљоводоника и изложености аеробним и анаеробним механизмима биодегградације, региструју се ниске концентрације O_2 , NO_3^- , и SO_4^{2-} (акцептори електрона) и високе концентрације Mn и Fe (производи микробних метаболичких активности). Терминални редокс-акцептујући процеси у подземној води варирали су од редукције кисеоника до редукције сулфата. Највише анаеробних процеса регистровано је у пиезометрима најближим извору загађења, што је потврђено и мерењима редокс потенцијала (Eh). Високе вредности електричне проводљивости и високе концентрације TOC , SiO_2 и Al такође се јављају у зони загађења близу извора загађења. Анализа скенирајућом електронском микроскопијом кварцних зрна из зоне под утицајем биодегградације потврдила је појаву

Цитирање: Мразовац Курилић С (2025) Индустриска биоремедијација седимента водоносног слоја контаминираног угљоводоника. У: Илић П, Пржуљ Н (уредници) Заштита животне средине и ремедијација. Академија наука и умјетности Републике Српске, Бања Лука, Монографија LXIII: 37–63

Cite as: Mrazovac Kurilić S (2025) Industrial bioremediation of aquifer sediment contaminated with hydrocarbons. In: Ilić P, Pržulj N (eds) Environmental Protection and Remediation. Academy of Sciences and Arts of the Republic of Srpska, Banja Luka, Monograph LXIII: 37–63

микроскопских процеса разлагања на површинама минерала. Узимајући у обзир све ове факторе, може се претпоставити да је микробиолошка активност узроковала појачано разлагање силикатних минерала.

На локацији Нови Београд најприкладнија метода за ремедијацију *in situ* је биоремедијација, као чиста, ефикасна и одржива технологија. Пре почетка процеса биоремедијације, било је неопходно изоловати и узгојити микроорганизме присутне на локацији загађења, како би касније могли бити примењени у процесу биоремедијације. Узорци пре и после биоремедијације проучавани су применом гасне хроматографије и масене спектрометрије (GC и GC×GC–MS) како би се утврдило како су се концентрације загађења мењале током времена. Приказана је просторно-временска промена садржаја угљоводоника по дубини унутар зоне највећег загађења током времена. Након 12 месеци биоремедијације, садржај угљоводоника у узорцима смањено се за 82,0%, а на основу анализе GC×GC–MS, редослед разградње различитих група угљоводоника био је следећи: стерани (99,6%), изопреноиди (98,4%), деривати бензена (98,4%), алкани (97,2%), и терпени (49,3%). Модел експоненцијалног опадања показао је највећу брзину разградње угљоводоника на дубинама 8–10 m, са просечном константом распада од 0,227, независно од почетне концентрације угљоводоника.

Кључне речи: загађење земљишта, биоремедијација, Република Србија, животна средина

2.1. Увод

Загађење животне средине представља глобални проблем, а посебно су угрожене подземне воде и седиментни слојеви. Преко загађеног земљишта, полутанти доспевају и до лежишта подземних вода, и, такође, долази до њиховог загађења. Подземне воде представљају кључни ресурс за људску употребу и еколошку одрживост. Међутим, изложеност разним загађивачима, као што су индустријски отпад, хемикалије из пољопривреде и цурење нафтних деривата, може озбиљно угрозити квалитет подземних вода.

Према доступним подацима, око 75% популације Европске уније користи подземне воде (ЕС 2009). То указује да су заштита и очување подземних вода кључни за очување, како екосистема тако и људског здравља. С друге стране, интензивна урбанизација и индустријски раст загађују изворе слатке воде, подземне воде, седименте и земљиште. Широм света, нафтни угљоводоници загађују животну средину и сада представљају значајан глобални проблем. Нафтни угљоводоници се ненамерно и намерно испуштају у животну средину

многим антропогеним активностима, што доводи до исцрпљених, деградираних средина (Marić et al. 2019; Das and Chandran 2011; Stojanović Bjelić et al. 2023; Lukić et al. 2024). По њиховом испуштању у животну средину, угљоводоници продиру наниже кроз земљиште под утицајем гравитације и на крају досежу подземне воде, где се латерално шире. У зависности од њихових физичко-хемијских параметара, нафтни угљоводоници могу да се растворе у води, сорбују на чврстим органским честицама, испаравају и формирају неводену течну фазу (NAPL) (Logeshwaran et al. 2018). Мале капљице угљоводоника, са релативно ниском покретљивошћу и високом молекуларном масом, задржавају се унутар пора седиментних честица и адсорбују се преко глине; ово се назива резидуалном фазом. Такви загађени седименти постају континуирани извор загађења подземних вода нафтним угљоводоникима (Logeshwaran et al. 2018). Када ово загађење уђе у земљиште и воде, представља озбиљну претњу и може имати различите токсиколошке ефекте на људе и животиње, укључујући хематотоксичне, канцерогене, тератогене, мутагене, итд. (Kehew and Lynch 2011). Седимент је интегрална компонента водених окружења и може бити секундарни извор загађења. Данас постаје све важније развити и применити одрживе технологије за уклањање токсичних органских једињења из животне средине (Milić et al. 2016). Употреба биоремедијације за смањење различитих органских полутаната из различитих матрица животне средине широко је промовисана последњих деценија и сада добија више пажње због своје ефикасности, економске исплативости и еколошки прихватљивих нуспроизвода (Liu et al. 2020; Sayara and Sánchez 2020; Berić et al. 2024; Lukić et al. 2024).

Чињеница да већ користимо око 50% лако доступних слатководних ресурса на Земљи чини проучавање подземних вода и заштиту од пресудног значаја (Alvarez and Illman 2006). На глобалном нивоу, овај ресурс обезбеђује 25 до 40% питке воде (Vrba and van der Gun 2004) и пружа основу за наводњавање 38% пољопривредног земљишта (Margat and van der Gun 2013). Слично другим природним ресурсима, индустријски развој и раст светске популације довели су до интензивне експлоатације подземних вода (Pan et al. 2017; Lv et al. 2018). Раних 80-их година XX века постало је очигледно да је цурење нафтних угљоводоника из подземних резервоара значајан извор загађења подземних вода у САД (Савет за квалитет животне средине 1981). У исто време, најчешће примењене стратегије за санацију биле су засноване на физичком уклањању загађења („пумпај и третирај систем“), које нису узимале у обзир могућност микробиолошке разградње угљоводоника (Yazicigil and Sendlein 1981; Chapelle 1999). Раније студије микробиологије земљишта (Waksman 1916) такође су указивали на значајан пад броја микроорганизама са повећањем дубине. Према Chapelle-у (1999), почетком 80-их година XX

века увелико се претпостављало да су плитки аквифери углавном стерилни. Бројни случајеви загађења нафтним угљоводоникима довели су до динамичнијег проучавања микробиологије плитких аквифера (White et al. 1983; Hirsch and Rades-Rohkohl 1983). Током 90-их година XX века остварен је значајан напредак, са бројним студијама (Rice et al. 1995; Wiedemeier et al. 1995; Buscheck et al. 1996) које указују да се 85–90% присуства угљоводоника у подземним водама стабилизује или смањује због природних процеса смањења (Wiedemeier et al. 1999). Природно смањење нафтних угљоводоника у седиментима и подземним водама обухвата бројне процесе (биодеградацију, сорпцију, дисперзију, адвекцију, разблаживање и испаравање), који без људске интервенције доводе до смањења концентрације загађења (Rifai et al. 1995). Према Националном истраживачком савету САД (1993), биодеградација је често најважнији механизам који смањује покретљивост органског загађења раствореног у подземним водама и доводи до његове разградње. Ово се може објаснити чињеницом да су органска загађења подлога за раст микроорганизама (Aleksander 1999), који користе угљоводонике као извор енергије, угљеник, азот и сумпор (Bežkoski et al. 2012). Такође, бројне студије указују да цурење нафтних угљоводоника у аквифере доводи до појачане микробиолошке активности и мерљивих промена у хидрохемији подземних вода. Промене хемијског састава подземних вода су врло комплексне, и настају под утицајем како природних (Mrazovac and Vojinović Miloradov 2011; Stojković 2013; Mrazovac Kurilić et al. 2013; Marić et al. 2014; Kurilić et al. 2015; Lopičić et al. 2024; Milić et al. 2024), тако и антропогенних фактора (Atanacković et al. 2013; Liu et al. 2016; Su et al. 2018). Овај рад анализира ефекте дугорочне изложености биодеградацији угљоводоника на хидрохемију подземне воде.

Ремедијација животне средине представља кључну стратегију у борби против еколошких проблема који произлазе из људске активности. У свету у којем су загађење вода, ваздуха и земљишта свеprisутни, ремедијација постаје неопходна како би се обновили екосистеми и сачувао биодиверзитет.

Ремедијација земљишта обухвата широк спектар техника и метода које се користе за уклањање контаминаната из земљишта или њихово превођење у мање штетне форме. Један од најчешћих метода јесте физичко уклањање контаминаната путем ископавања загађеног земљишта и његовог депоновања на сигурном месту. Ова техника се обично примењује у случајевима где је загађење концентрисано на одређеним локацијама, попут индустријских постројења или депонија отпада.

Друга ефикасна метода је хемијска ремедијација, која укључује употребу хемикалија или микроорганизама који могу разградити или неутралисати контаминанте у земљишту. Ово може укључивати примену ензима, бактерија

или гљивица које могу метаболизовати штетне супстанце и претворити их у безопасне продукте. Ова метода се често користи за ремедијацију земљишта загађеног нафтом, тешким металима или хемијским отпадом.

Биолошка ремедијација је такође значајна техника, која се све више користи у борби против загађења земљишта. Ова метода се ослања на природне процесе разградње загађивача путем активности микроорганизама, биљака или животиња. На пример, фиторемедијација користи биљке које могу апсорбовати контаминанте из земљишта и акумулирати их у својим ткивима, чиме се смањује ниво загађења.

Биоремедијација је процес који користи природне биолошке активности микроорганизама за разградњу и уклањање загађења из животне средине. Овај метод је еколошки прихватљив и економичан. Микроорганизми користе загађење као извор енергије и нутријената, чиме их разграђују до мање токсичних или нетоксичних супстанци.

In situ биоремедијација, која се спроводи директно на месту загађења, смањује потребу за ископавањем и транспортом контаминираних материјала, чиме се смањују трошкови и ризик од секундарног загађења.

Уз наведене методе, постоји и низ иновативних технологија које се развијају како би се ефикасније и економичније решавали проблеми загађења земљишта. Кључни фактор у успеху ремедијације земљишта јесте интеграција различитих метода у комплексне стратегије прилагођене конкретним еколошким и географским условима. Кроз даља истраживања и примену савремених технологија, можемо унапредити ефикасност ремедијације земљишта и допринети очувању животне средине за будуће генерације.

Први корак у процесу ремедијације подземних вода је откривање загађења. То се обично постиже коришћењем геохемијских анализа, мониторинга подземних вода и геофизичких техника. Идентификација извора загађења и карактеризација расподеле загађења у подземном окружењу кључни су кораци у планирању ремедијационих стратегија.

Постоји широк спектар техника које се користе за ремедијацију подземних вода, а избор технике зависи од врсте загађења, геолошких карактеристика подручја и економских фактора. Неке од најчешћих техника укључују:

1. Пумпај и третирај: ова техника укључује пумпање загађене воде на површину, где се затим третира како би се уклонили загађивачи пре поновног враћања у подземне воде.
2. Биоремедијација: користи микроорганизме или биљке да разграде загађиваче у подземним водама на мање штетне или нетоксичне материје.

3. Инјекција хемикалија: хемикалије се убризгавају директно у загађене зоне како би се неутралисали загађивачи или промовисала њихова разградња.
4. Хидрогеолошка изолација: ова техника укључује постављање баријера или заптивача, како би се спречило даље ширење загађења у подземним водама.
5. Фиторазградња: користи биљке које могу апсорбовати загађиваче из подземних вода, а затим их концентрисати у својим ткивима или разградити.

Након одабира одговарајуће технике, следи фаза имплементације ремедијационих мера. Ово укључује планирање и припрему терена, инсталацију опреме и надзор процеса ремедијације. Редовно праћење и евалуација ефикасности ремедијационих мера су такође кључни како би се осигурало да се циљеви постигну и да се минимизира даље загађење.

Ремедијација подземних вода је комплексан процес који захтева мулти-дисциплинарни приступ и пажљиво планирање. Кроз ефикасно откривање, одабир одговарајућих техника и пажљиву имплементацију, могуће је обновити квалитет подземних вода и очувати их за будуће генерације.

Инжењерска биоремедијација (инжењеринг чисте технологије) пожељан је приступ, јер укључује модификацију загађених места у жељеним временским интервалима ради убрзавања разградње загађивача. Ова модификација се постиже биостимулацијом (пружањем хранљивих материја, акцепторских електрона, биосурфактаната, биополимера и спороотпуштајућих ђубрива за повећање микробиолошке активности) (Ossai et al. 2020; Sayara and Sánchez 2020) и биоаугментацијом (додавањем микробног биомаса, по могућству конзорцијума, ради повећања капацитета разградње, синергијског деловања и кометаболичких догађаја) (Marić et al. 2015; Ossai et al. 2020). Биоаугментација се широко користи за третирање земљишта или воде загађених нафтним угљоводоником (Lyon and Vogel 2013; Marić et al. 2015; Nur Zaida and Piakong 2018; Poi et al. 2018). Иако је утврђено да микробне конзорцијуме ефикасније разграђују нафтни угљоводоници него појединачни микробни сојеви (Avdalović et al. 2021), недостају довољно подаци о прецизном механизму, односно генетичкој основи за разлагање појединачних једињења (Chen et al. 2020). Нови приступ биоаугментацији, у којој се катаболички гени преносе у аутохтону популацију коришћењем плаزمида као вектора, још је у настајању (Garbisu et al. 2017). Побољшање биоремедијације путем синтетичке биологије, која се заснива на проналажењу гена из база података и модификацији природних ћелијских процеса, односно метаболичких путева за смањење одређених хемијских једињења, сада се разматра. Међутим,

потребна је прелиминарна пажљива евалуација приликом усвајања овакве врсте технологије, јер би непознати и потенцијално токсични нуспроизводи могли произаћи из метаболизма спорних једињења (Jaiswal and Shukla 2020).

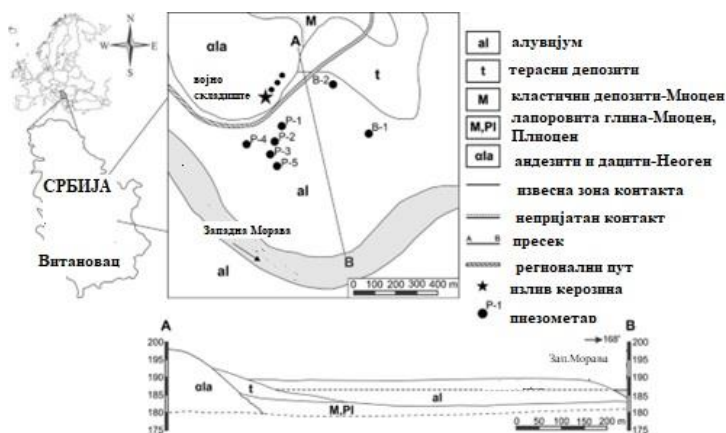
Вишеструка биоаугментација са микробним конзорцијумима добијеним са загађене локације има предност, јер ови аутохтони микроорганизми производе велику, активну биомасу при враћању на место загађења, што скраћује процес биоремедијације (Łebkowska et al. 2011). У ствари, најбржа стопа биодеградације постиже се комбинацијом биостимулације и биоаугментације (Shahsavari et al. 2017). За успешну биоаугментацију, добро планирање и одржавање стабилности система су приоритети који омогућавају очување додате микробне биомасе (Amiri et al. 2007).

2.2. Контаминирана локација Витановац

Проучавано место историјске контаминације керозина у Витановцу налази се у централној Србији (Сл. 2.1 и 2.2). Године 1993. пријављено је цурење око 540 тона керозина из војних резервоара за гориво у подземље (Marić et al. 2018). Цурење керозина догодило се кроз дренажни систем резервоара, испод површине терена. Након несреће, спроведена су детаљна хидрогеолошка истраживања. Растворена једињења керозина пронађена су у целом истраживаном подручју, док је фокус био на црпљењу слободне фазе керозина. Највећи део истраживаног подручја обухвата алувијалне наслага Западне Мораве. Литолошки, ови седименти састоје се од песковито-шљунковитих наслага, у којима се удео шљунка повећава са дубином. Дебљина алувијалних седимената креће се од 6,7 m до 7,5 m. Унутар ових седимената формирао се невезани аквифер са међузракостом порозношћу, директно повезан хидраулично са Западном Моравом. Хидрауличка проводљивост алувијалних седимената креће се од 8,4 до $4,6 \times 10^{-3}$ m/s. Испод ових алувијалних наслага налазе се миоценско-плиоценски глинене слојеви, са хидрауличком проводљивошћу од око $4,0 \times 10^{-8}$ m/s, који чине континуирану непропусну границу. Након хидрогеолошких истраживачких активности, спроведени су радови на санацији. Периодичним црпљењем од 10. фебруара 1994. до 29. септембра 1995. године из подземља је извађено око 300 тона слободне фазе керозина. Остатак керозина у подземљу остао је као потенцијални дугорочни извор контаминације. Истраживачке активности тренутног истраживања усмерене су на алувијалне наслага – бившу зону засићења керозином.

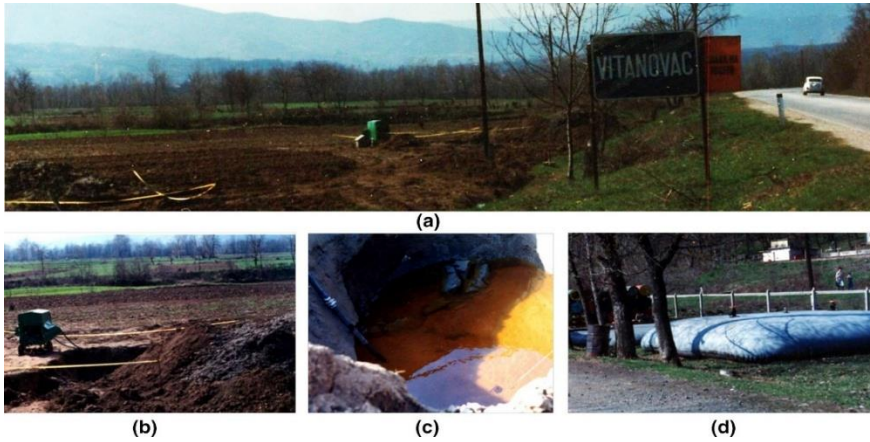
Истраживања су спроведена од јуна до септембра 2013. године и укључивала су мерења на терену, узорковање подземних вода и седимената. Групе

хидрохемијских параметара, мерене да би се испитао утицај биодеградације на хемијски састав подземних вода, резимирани су на слици 2.3.



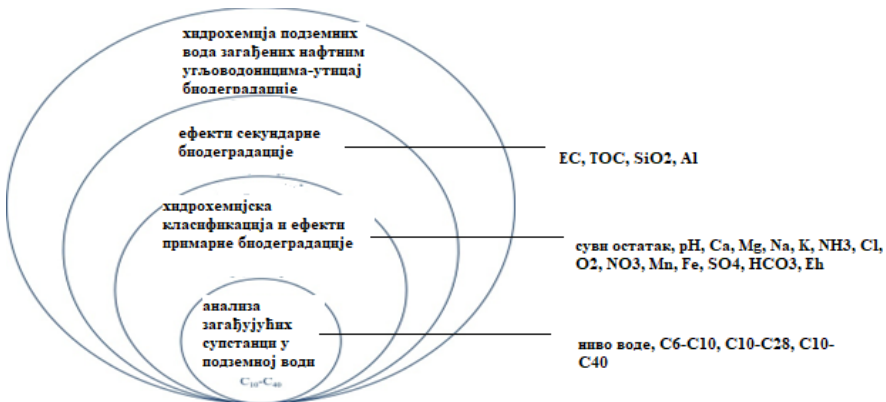
Сл. 2.1. Микролокација проучаваног подручја: план и пресек (Marić et al. 2017)
 Fig. 2.1. Microlocation of the study area: plan and cross-sectional view (Marić et al. 2017)

Узорковање подземних вода вршено је из зоне воденог слоја, из претходно испраних пиезометара (перфориране PVC цеви пречника 10,1 cm). Узорци су паковани у стерилне полиетиленске боце, које су претходно испране са 1 : 1 HCl и дестилованом водом, и транспортовани у лабораторију истог дана, чувајући их на температури од 4 °C. Следећи параметри су мерени *in situ*: ниво воде (уређај Eijkelkamp 10.08.07), електрична проводљивост (EC), растворени кисеоник (O₂) и редокс потенцијал (Eh) (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten 330i/SET). Узорци седимената узимани су помоћу ручне бушилице (Eijkelkamp 01.16). Анализа узорка седимената укључивала је анализу гранулометријског састава стандардном процедуром. Минералошке анализе су рађене микроскопски (тамно поље и фазни контраст), као и скенирајућом електронском микроскопијом (JEOL скенирајући електронски микроскоп JSM-6610LV).



Сл. 2.2. Санациони радови током 1994–1995 у Витановцу (а), црпљење слободне фазе керозина (б, ц) и складиштење испумпаног керозина (Matic 1994)

Fig. 2.2. Remediation works during 1994–1995 in Vitinovac (a), free phase kerosene pumping (b, c), and storage of pumped kerosene (d) (Matic 1994)



Сл. 2.3. Преглед хидрохемијских параметара мерених на локалитету у Витановцу

Fig. 2.3. Overview of hydrochemical parameters measured at the site in Vitinovac

Лабораторијска анализа узорака подземних вода укључивала је мерење хемијских параметара (pH, суви остатак на 105 °C), концентрација макро и ми-

кро компоненти и органских једињења. HCO_3^- аниони су одређени волуметријски у складу са EN ISO 9963-1:07 (ISO 2009a), док су остали аниони (NO_3^- , NO_2^- , Cl^- и SO_4^{2-}) одређивани јонском хроматографијом према U.S. EPA 300.1 протоколу (1997). Концентрације катјона (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , и Mg^{2+}), као и садржај Fe, Mn, Al и SiO_2 одређивани су ICP-OES методом у складу са U.S. EPA 200.7 Rev. 5 (1998). Садржај органских једињења (C6–C10, C10–C28, C10–C40) и укупног органског угљеника (енгл. Total Organic Carbon, TOC) одређиван је гасном хроматографијом према EN ISO 9377-2:09 (ISO 2009b). Микробиолошке анализе укључивале су мерења укупних хемоорганохетеротрофа и деградатора угљоводоника у узорцима подземне воде, методом серијских разблажења на различите агарне плоче: хранљивом агару за хемоорганохетеротрофе и минералној бази медијума која садржи 2 g/l стандардног D2 дизела за деградаторе угљоводоника, према препоруци Bossert et al. (2002).

Одговарајући број контролних узорака (дупликати, репликати, референтни материјал и празни узорци) укључен је са сваком серијом узорака подземних вода, према SMEWW, 23. издање (Rice et al. 2017), ради праћења грешке, прецизности и тачности (De Vivo et al. 2018). Израчунате електронеутралне разлике за анализе подземних вода биле су увек унутар $\pm 5\%$, према препоруци Appelo and Postma (1996).

За обраду података коришћени су следећи софтверски пакети: Surfer 11 (Golden Software), AquaChem 5.1 (Schlumberger Water Services), PHREEQC верзија 3 (U. S. Geological Survey) (Parkhurst and Appelo 2013), и Excel Workbook за идентификацију редокс процеса (U. S. Geological Survey) (Jurgens et al. 2009).

Методологија за карактеризацију подземне воде на локацији у Витановцу спроведена је према Wiedemeier et al. (2005). Средње вредности параметара мерене су у подземној води у периоду од јуна до септембра 2013. године.

Карактеризација подземне воде на месту историјске контаминације керозин-ом укључивала је *in situ* мерења и узорковање у пиезометрима узводно (В-1 и В-2) и низводно (Р-1, Р-2, Р-3, Р-4, Р-5) од извора контаминације (Сл. 2.3). Правац кретања подземне воде био је североисток–југозапад, што одговара површинској топографији истраживаног подручја. Концентрације укупних угљоводоника (C10–C40) у већини пиезометара биле су испод границе детекције, изузимајући Р-1 (0,27 mg/l), Р-2 (0,17 mg/l) и Р-3 (0,10 mg/l), најближе извору контаминације. Иако мерене концентрације укупних угљоводоника нису биле високе (максимално дозвољена концентрација је 0,6 mg/l), одређени нивои могу се сматрати доказом дуготрајне присутности контаминације на овом месту (20 година након инцидента). Мере угљоводоника C10–C28 потврђују да контаминација потиче од керозина. Пошто је керозин фракција

сирове нафте која се састоји од угљоводоника C9–C16 (API 2010; Arsenović i Janjuš 2012), преовладавање C10–C28 угљоводоника у P-1 (0,25 mg/l), P-2 (0,16 mg/l) и P-3 (0,09 mg/l) потврђује да контаминација потиче од керозина. Концентрације C6–C10 угљоводоника у свим пиезометрима биле су испод границе детекције, изузимајући P-1 (0,02 mg/l). Као што се може видети, највише концентрације C6–C10, C10–C28 и C10–C40 забележене су у пиезометрима најближе извору контаминације (Сл. 2.4).

Укупан број хемоорганохетеротрофа у подземној води био је $1,5\text{--}6,1 \times 10^{-2}$ CFU/ml, а просечан број деградатора угљоводоника $0,3\text{--}2,1 \times 10^{-2}$ CFU/ml. Највећи удео деградатора угљоводоника у укупној микробиолошкој популацији забележен је у пиезометрима P-1, P-2 и P-3. Свеукупно, ови резултати пружају доказ дуготрајне изложености подземне воде контаминацији угљоводоникама, као и присуство аутохтоне микробиолошке популације способне за разградњу угљоводоника.

За анализиране подземне воде била је карактеристична ниска минерализација: од 383 до 727 mg/l (мерено као остатак након сушења на 105 °C). pH вредности подземне воде кретале су се од 6,75 (благо кисело) до 7,45 (благо алкално). Хидрокарбонатни јони преовлађивали су међу анионским саставом (226–723 mg/l), док су концентрације хлорида (22,0–63,5 mg/l) и сулфата (3,2–60,8 mg/l) биле значајно ниже. Међу катјонима, калцијум (51–117 mg/l) и магнезијум (23–75 mg/l) су преовлађивали. Концентрације натријума су се кретале од 21 до 43 mg/l, док је садржај калијума генерално био низак, изузев пиезометра B-2 (40 mg/l). Анализирана подземна вода била је типа $\text{HCO}_3\text{--Ca--Mg}$ или $\text{HCO}_3\text{--Mg--Ca}$, изузев $\text{HCO}_3\text{--CO}_4\text{--Ca--Mg}$ регистрованог у B-1. Највише концентрације нитрата забележене су у подземној води из B-1 (34,9 mg/l) и B-2 (61,8 mg/l).

2.3. Контаминирана локација топлана у Новом Београду

Топлана на Новом Београду налази се на левој обали реке Саве, око 1 km низводно од њеног ушћа у Дунав, и припада општини Нови Београд. Река Сава је директно хидраулично повезана са подземним водама кроз своје корито, које је направљено од шљунковито-песковитих седимената.

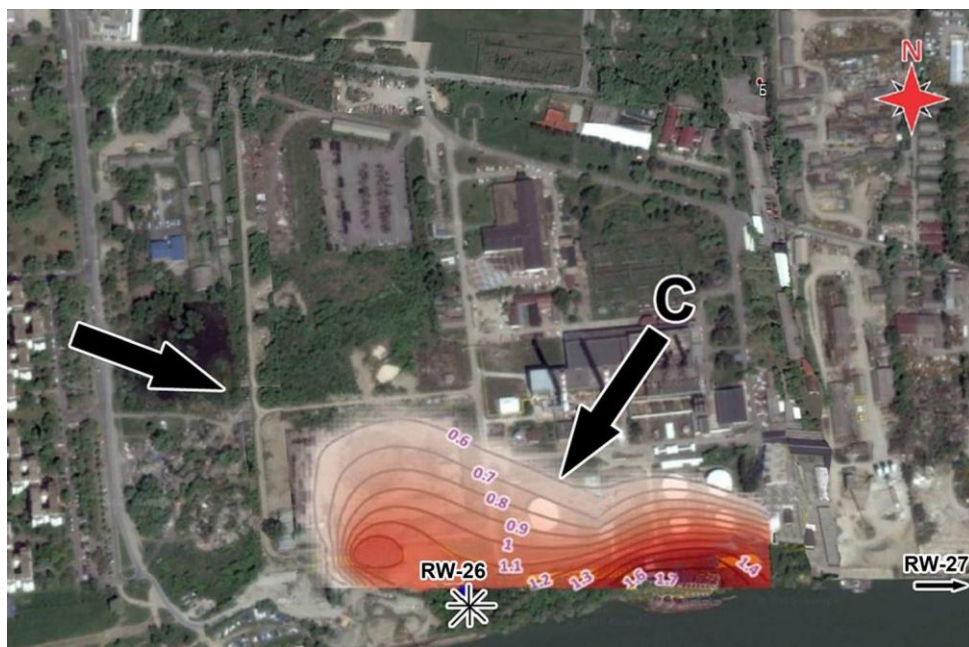
Техногено земљиште, у слоју дебљине 0,2–2 m, чини природно површинско земљиште на контаминираним подручју. Квартарни седименти чине следећи слој, дебљине 2–27 m. Овај слој се састоји од шљунка, песка, песковитог шљунка и шљунковитог песка са спорадичним глиненим слојевима. Ови

квартарни седименти леже на масним сивозеленим терцијарним глинама које досежу дубину од 101 m (Bulatović et al. 2020).

Сврха проучавања подземних вода на одређеној локацији је утврђивање присуства токсичних супстанци. То је веома важно на нашој истраживачкој локацији због близине два радијална прикупљача за снабдевање Београда водом. Током редовне анализе квалитета подземних вода на локацији Топлане Нови Београд (Србија), утврђено је да су концентрације нафтних угљоводоника веће од вредности за санацију (0,6 mg/l, према националним прописима; Службени гласник Републике Србије 2010). На основу обимног прегледа локације, утврђено је да подручје од интереса садржи око 105.000 m³ загађених подземних вода. Загађење подземних вода је одраз загађења чврсте фазе, односно настаје и преноси се из седимента чврсте фазе загађеног аквифера (у терминологији форензичке хемије животне средине, вода пружа отисак онога што се дешава у загађеној чврстој фази, јер се загађење преноси на воду као растварач). Стога су у овом подручју извршене анализе седимента до дубине од 15 m. Анализе седимента су показале присуство угљоводоника на свим дубинама. На већим дубинама, измерене концентрације угљоводоника биле су изнад максимално дозвољених концентрација (за узорке који садрже мање од 2% органске материје, вредност санације је 1.000 mg/kg; Службени гласник Републике Србије 2010), што је последица цурења из цевовода за транспорт горива. Будући да је загађена локација смештена близу два радијална прикупљача (RW) за снабдевање Београда водом (RW-26 и RW-27), оцењено је да је неопходно уклонити загађиваче. На основу наше сопствене процене и објављених података (Bedient et al. 1999; Hatzinger et al. 2002; Marić et al. 2015), закључено је да би *in situ* биоремедијација била најприкладнија техника за побољшање квалитета подземних вода и седимената на локацији Топлане Нови Београд.

Ово поглавље пружа увид у истраживања и активности *in situ* биоремедијације ради уклањања загађивача нафтних угљоводоника из загађеног седимента на локацији Топлане Нови Београд. Примењени поступак захтевао је разумевање и инжењеринг низа процеса у подземљу. Пре почетка процеса биоремедијације било је неопходно одредити тачке највећег загађења на локацији и затим изоловати и гајити микроорганизме присутне на месту загађења, како би касније могли да се примене у процесу биоремедијације. Седиментни узорци узимани су пре и после биоремедијације. Коришћењем гасно хроматографске и масено спектрометријске (GC и GC×GC–MS) анализе утврђено је како су се концентрације загађења мењале током времена. Додатно, приказана је просторно-временска репрезентација промене садржаја угљоводоника.

Према прелиминарним истраживањима о контаминацији угљоводоника, израђен је модел дистрибуције загађења у подземним водама (Сл. 2.4). Моделирање је извршено коришћењем софтвера Groundwater Visitas V6-ADV. Прелиминарне студије су показале да је подручје С јако контаминирано нафтним угљоводоникима. Анализе седимената извршене су на овом подручју до дубине од 15 m и показале су нивое контаминације неколико пута изнад вредности санације прописаних националним законодавством (Службени гласник Републике Србије 2010).



Сл. 2.4. Модел расподеле подручја загађења воде новобеоградске Топлане. Изолиније указују на концентрацију загађивача; стрелица лево показује правац кретања подземних вода, стрелица десно зону контаминације (област Ц); RW представља радијалне колекторске бунаре који се напајају у јавни водовод

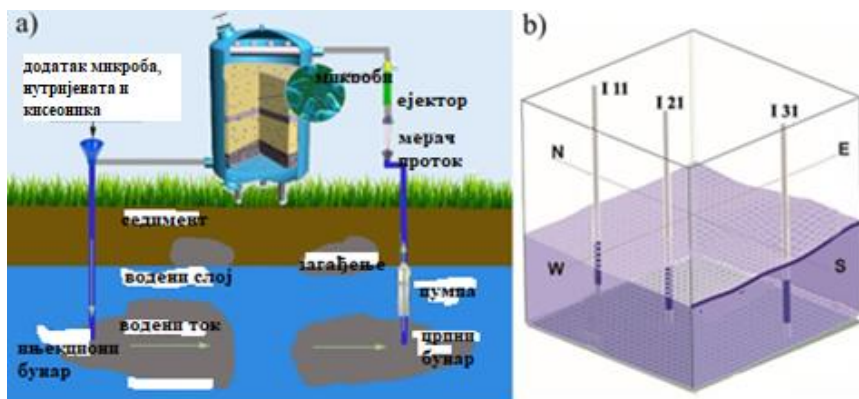
Fig. 2.4. Model of the distribution of water pollution area of the New Belgrade heating plant. Isolines indicate pollutant concentration; the left arrow shows the direction of groundwater movement; the right arrow points out the zone of contamination (area C); RW represents radial collector wells feeding into the public potable water supply



Сл. 2.5. Положај инјекционо-екстракционих бунара (I), пијезометара (P), локација (B), колона за филтрирање/адсорпцију/биореактор (A) и бунара радијалног колектора (RW) који се напајају у јавно снабдевање питком водом у области C

Fig. 2.5. Position of injection-extraction wells (I), piezometers (P), locations (B), filtration/adsorption/bioreactor columns (A), and radial collector (RC) wells feeding into the public potable water supply within area

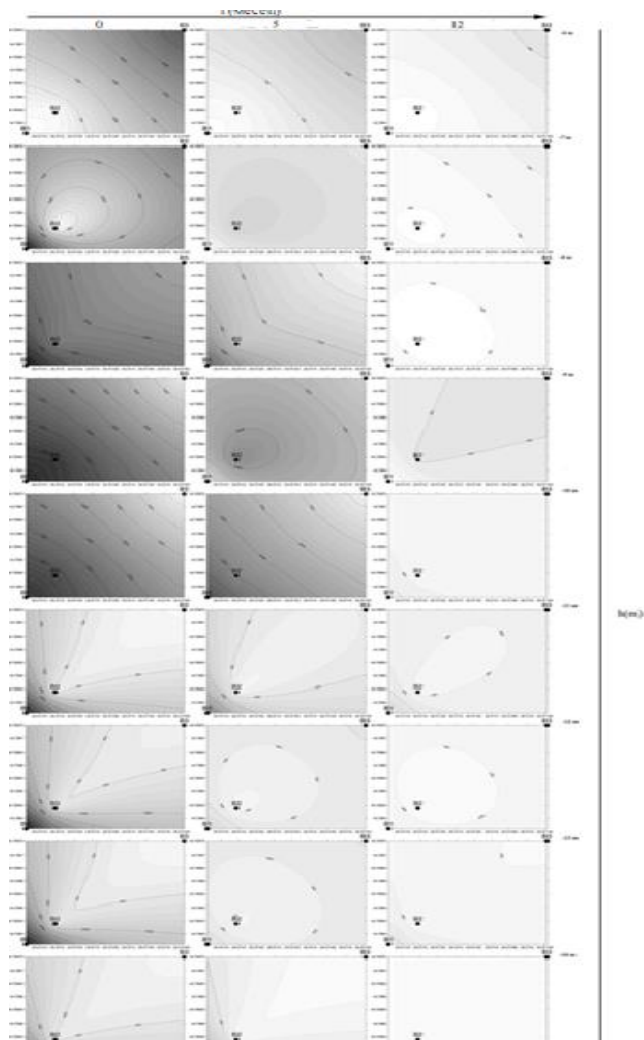
Топлана у Новом Београду налази се на левој обали реке Саве, у близини њеног ушћа у Дунав (Сл. 2.5). Ово подручје је индустријски активно, што га чини подложним загађењу. Подземне воде на локацији су у хидрауличкој вези са Савом преко шљунковитих и песковитих седимената, што омогућава брзо ширење загађивача.



Сл. 2.6. Шема затвореног рецикулацијског система (a) и 3Д профила инјекционо-екстракционих бунара (b)

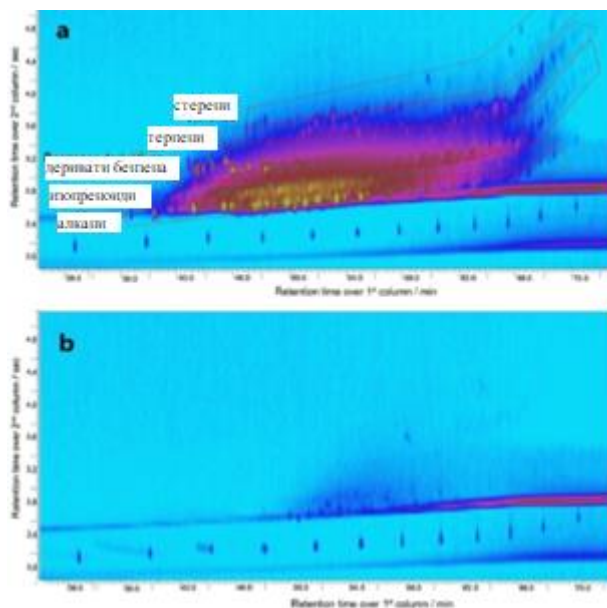
Fig. 2.6. Schematic of the closed recirculation system (a) and 3D profile of the injection-extraction wells (b)

Геолошка и хидролошка карактеризација локације укључује анализе седиментних слојева и динамике подземних вода. Идентификовани су кључни слојеви који утичу на дистрибуцију загађења.



Сл. 2.7. Просторно-временски приказ промене садржаја угљоводоника према дубини седимента. Бројеви на линијама изоконцентрације представљају просечну концентрацију укупних нафтних угљоводоника (mg/kg)

Fig. 2.7. Spatiotemporal representation of the change in hydrocarbon content according to sediment depth. The numbers at the isoconcentration lines represent the average Total Petroleum Hydrocarbon concentration (mg/kg)



Сл. 2.8. GCxGC–MS хроматограми екстракта седимента водоносног слоја пре (а) и после (б) *in situ* биоремедијације

Fig. 2.8. GCxGC–MS chromatograms of the aquifer's sediment extracts before (a) and after (b) in situ bioremediation

Процес биоремедијације започет је детаљном анализом загађеног подручја. Идентификовани су доминантни микроорганизми присутни на локацији, који су изоловани и култивисани у лабораторији. Ови микроорганизми су показали способност разградње специфичних угљоводоника присутних у седиментима и подземним водама.

In situ биоремедијација је обухватила неколико кључних корака:

1. Припрема локације: узорковање седимента и подземних вода за базне анализе концентрација угљоводоника.
2. Додавање микроорганизма: инокулација загађеног подручја са култивисаним микроорганизмима који су способни за разградњу угљоводоника.
3. Додавање нутријената: апликација нутријената како би се поспешео раст и активност микроорганизма.
4. Мониторинг: редовно праћење концентрација угљоводоника и микробиолошких параметара током трајања биоремедијације.

Узорковање седимента и подземних вода спроведено је пре, током и након процеса биоремедијације. Узорци су узимани на различитим дубинама и

локацијама како би се добила свеобухватна слика о дистрибуцији загађења и ефикасности биоремедијације (Сл. 2.6).

За квантитативну и квалитативну анализу угљоводоника примењене су гасна хроматографија (енгл. Gas chromatography, GC) и дводимензионална гасна хроматографија са масеном спектрометријом (енгл. Gas chromatography–mass spectrometry, GC–MS). Ове технике омогућавају прецизно одређивање присуства и концентрација различитих група угљоводоника.

Микробиолошке анализе укључивале су изолацију и идентификацију микро-организама из узорак седимента и подземних вода. Методе молекуларне биологије, као што су реакција ланчаног умножавања (енгл. polymerase chain reaction, PCR) и секвенцирање дезоксирибонуклеинске киселине (ДНК), коришћене су за карактеризацију микробних заједница.

Током периода биоремедијације, забележено је значајно смањење концентрација укупних угљоводоника у седиментима. Највећа деградација је примењена на дубинама од 8 до 10 m, где је дошло до смањења концентрације за 82%. Ови резултати указују на висок степен активности микроорганизама на овим дубинама, вероватно због повољних услова као што су доступност нутријената и оптимална температура (Сл. 2.7 и 2.8).

Анализа специфичних фракција угљоводоника показала је следеће:

- Алифати: ова група угљоводоника показала је смањење концентрације за 75% након 12 месеци биоремедијације.
- Ароматични угљоводоници: концентрације су смањене за 68%, што указује на ефикасну разградњу бензенских деривата.
- Стерани: забележено је смањење од 80%, што указује на високу способност микроорганизама за разградњу ових комплексних молекула.
- Терпени: ова група показала је најмање смањење, од 40%, што може бити последица њихове хемијске структуре која је отпорнија на биолошку разградњу.

Анализа различитих група угљоводоника показала је да су стерани, изопреноиди, и бензолски деривати имали највишу стопу разградње. Насупрот томе, терпене су показале најмању разградњу, што може бити последица њихове хемијске структуре која је отпорнија на биолошку разградњу. Ове промене су потврђене GC×GC–MS анализом, која је омогућила детаљан увид у промене у саставу угљоводоника током биоремедијације.

Микробиолошке анализе су показале присуство разноврсних бактеријских конзорцијума који су играли кључну улогу у процесу биоремедијације.

Доминантне врсте су биле способне за разградњу специфичних угљоводоничних компоненти, што је довело до ефикасне санације. Изоловани микроорганизми укључују родове као што су *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus* и *Achromobacter*, познате по својој способности разградње нафтних деривата.

Током биоремедијације забележена је повећана активност микроорганизама. *Pseudomonas* и *Rhodococcus* су показали високу способност разградње алифатских и ароматичних угљоводоника, док су *Bacillus* и *Achromobacter* били ефикасни у разградњи стерана и изопреноида. Ови резултати указују на синергистичку активност микроорганизама у разградњи комплексних смеша угљоводоника.

Резултати овог истраживања показали су да је *in situ* биоремедијација ефикасан метод за смањење концентрација нафтних угљоводоника у седиментима и подземним водама. Комбинација физичко-хемијских и микробиолошких анализа омогућила је детаљан увид у ефикасност биоремедијације и идентификацију кључних микроорганизама одговорних за разградњу загађења.

Истраживање је, такође, указало на значај оптимизације услова за биоремедијацију, као што су додаток нутријената и контрола рН вредности и температуре. Ови фактори могу значајно утицати на брзину и ефикасност биоремедијације.

Увидјело се да је *in situ* биоремедијација ефикасан метод за санацију локација загађених нафтним угљоводоникима. Овај приступ не само да смањује загађење, већ је и одржив и еколошки прихватљив.

2.4. Закључак

Продирање нафтних угљоводоника у проучавани аквифер резултирало је појачаном микробиолошком активношћу због природних процеса смањења загађења. Биодеградација често представља главни механизам који доприноси смањењу количине и покретљивости загађења нафтним угљиководоникима у подземној води. Дугорочно загађење нафтним угљиководоникима доводи до развоја аеробних, анаеробних и метаногених механизма биодеградације, који производе мерљиве промене у хидрохемији подземне воде. Тако, 20 година након случајног излива керозина на локацији у Витановцу, измерена хемијска композиција подземне воде последица је аеробних и анаеробних механизма биодеградације, што указују и низ фактора. У пиезометрима најближим извору загађења, забележене су најниже концентрације O_2 , NO_3^- , и SO_4^{2-} (акцептори електрона) и највише концентрације Mn и Fe

(производи микробних метаболичких активности) које се преклапају. Терминални процеси прихватања редокс потенцијала у подземној води варирали су од редукције кисеоника до редукције сулфата. Највише аноксични процеси регистровани су у пиезометрима најближим извору загађења, што је потврђено мерењима редокс потенцијала. Високе вредности електричне проводљивости и највеће концентрације TOC , SiO_2 и Al такође се преклапају у загађеној зони близу извора загађења. Фотографије кородираних кварцних зрна из зоне под утицајем биодеградације потврђују појаву микроскопских процеса разлагања на овим минералним површинама. Узимајући у обзир све ове факторе, чини се разумним претпоставити да је микробиолошка активност узроковала појачано разлагање силикатних минерала.

Ово истраживање показује да примењена индустријска *in situ* биоремедијација на великој скали врло ефикасно уклања нафтне загађиваче из аквифера. Биоремедијација технологијом коју смо користили укључивала је искоришћавање природних микроорганизама изолованих са саме загађене локације. Биоремедијација која се састоји од биостимулације и поновне инокулације у правилно пројектованом, затвореном систему може уклонити адсорбована загађења нафтних угљиководика заробљене у седиментним честицама, како показује ово истраживање. Ефикасност ове технике биоремедијације проценили смо проучавањем смањења садржаја нафтних угљиководика, мерених помоћу GC и GC×GC–MS. Током биоремедијације, садржај угљоводоника у подземној води драматично је смањен (за око 98%). Истовремено, садржај угљоводоника у седименту смањен је за 82% у односу на почетни ниво. Експоненцијални модел опадања са константном стопом разградње β описује биодеградацију угљоводоника. Просечна константа распада износила је 0,227, а највећа је била на дубинама 8–10 m испод површине. Брзина биодеградације угљоводоника не зависи од почетне концентрације угљоводоника, што је ново сазнање овог истраживања. Будући правац истраживања је оптимизација радних параметара како бисмо постигли максимални потенцијал за биодеградацију нафтних угљиководика. Колико је познато, до сада описани приступ није примењен на аквиферу (истовремено третирање подземне воде и припадајућих седиментних слојева).

Литература

- Aleksander M (1999) Biodegradation and Bioremediation (2nd ed.). San Diego: CA, Academic Press.
- Alvarez JP, Illman AW (2006) Bioremediation and Natural attenuation: Process fundamentals and mathematical models. New York: Wiley.

- Amiri F, Yaghmaei S, Samiei S (2007) Application of bioaugmentation technology to improve the activated sludge treatment process in removal of aromatic compounds. *Iran J. Chem. Eng.* 4:43–53. doi:10.1001.1.17355397.2007.4.1.5.5.
- APHA (2018) 9020 Quality assurance/Quality control In: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 23rd. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E (eds.) Washington DC: APHA Press. doi:10.2105/SMWW.2882.180.
- Appelo CAJ, Postma D (1996) *Geochemistry, groundwater and pollution*. Rotterdam: A. A. Balkema.
- Arsenović B, Janjuš Z (2012) Osobine mlaznog goriva GM-1. *Svarog* 4:252–259. doi:10.7215/SVR1204253A.
- Atanacković N, Dragišić V, Stojković J, Papić P, Živanović V (2013) Hydrochemical characteristics of mine waters from abandoned mining sites in Serbia and their impact on surface water quality. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 7615–7626. doi:10.1007/s11356-013-1959-4.
- Avdalović J, Miletić S, Božović O, Šolević-Knudsen T, Stanković D, Lugonja N, Spasić S, Joksimović K, Dragičević I, Vrvić MM (2021) Study on the assessment of humification processes during biodegradation of heavy residual fuel oil. *Sci. Total Environ.* 797:149099. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.149099.
- Bedient PB, Rifai HS, Newell CJ (1999) *Ground water contamination: transport and remediation*, 2nd ed. Prentice Hall, Upper Saddle River.
- Berić TJ, Vrvić MM, Lješević M, Avdalović J, Ilić M, Crnković D, Jovančičević B, Miletić S (2024) Testing of the bioremediation on model substrates for complex refinery contaminants arising from accidental or deliberate facility damage. *Environmen. Chem.* 21(5):EN23111. doi:10.1071/EN23111.
- Beškoski V, Gojgić Cvijović G, Milić J, Ilić V, Miletić S, Jovančičević S, Vrvić M (2012) Bioremediation of soil polluted with crude oil and its derivatives: Microorganisms, degradation pathways, technologies. *Chem. Ind.* 66(2):275–289. doi:10.2298/HEMIND110824084B.
- Bossert ID, Shor LM, Kosson DS (2002) Methods for measuring hydrocarbon biodegradation in soils. In: Hurst CJ, Crawford RL, Knudsen GR, McInerney MJ, Stetzenbach LD (Eds.). *Manual of Environmental Microbiology* (pp. 934–943). Washington: ASM Press.
- Bulatović S, Marić N, Šolević-Knudsen T, Avdalović J, Ilić M, Jovančičević B, Vrvić MM (2020) Bioremediation of groundwater contaminated with petroleum hydrocarbons applied at a site in Belgrade (Serbia). *J. Serbian Chem. Soc.* 85:1067–1081. doi:10.2298/JSC191023003B.
- Bus check 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* (pp. 445–460). Houston, TX: API/NGWA.
- Chapelle F (1999) Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated ground water: The perspectives of history and hydrology. *Ground Water*, 37:122–132. doi:10.1111/j.1745–6584.1999.tb00965.x.

- Chen W, Kong Y, Li J, Sun Y, Min J, Hu X (2020) Enhanced biodegradation of crude oil by constructed bacterial consortium comprising salt-tolerant petroleum degraders and biosurfactant producers. In: *Biodeterior. Biodegrad.* 154:105047. doi:10.1016/j.ibiod.2020.105047.
- Council on Environmental Quality (1981) Contamination of ground water by toxic organic chemicals. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office.
- Das N, Chandran P (2011) Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnol. Res. Int.* 2011:1–13. doi:10.4061/2011/941810.
- De Vivo B, Belkin H E & Lima A (2018) *Environmental Geochemistry: Site characterization, data analysis and case histories*. Netherlands: Elsevier.
- European Commission, Directorate-General for Environment (2009) Groundwater protection in Europe: the new Groundwater Directive: consolidating the EU regulatory framework, Publications Office. Доступно на: <https://data.europa.eu/doi/doi:10.2779/84304>, приступљено: 18. маја 2024.
- Garbisu C, Garaiurrebaso O, Epelde L, Grohmann E, Alkorta I (2017) Plasmid-mediated bioaugmentation for the bioremediation of contaminated soils. *Front. Microbiol.* 8:1966. doi:10.3389/fmicb.2017.01966.
- Hatzinger PB, Whittier MC, Arkins MD, Bryan CW, Guarini WJ (2002) In-Situ and ex-situ bioremediation options for treating Perchlorate in groundwater. *Remediat. J.* 12:69–86. doi:10.1002/rem.10026.
- Hirsch P, Rades-Rohkohl E (1983) Microbial diversity in groundwater aquifer in northern Germany. *Dev. Ind. Microbiol.* 24:163–179.
- ISO 16703 (2004) Soil quality – Determination of content of hydrocarbon in the range C10 to C40 by gas chromatography.
- Jaiswal S, Shukla P (2020) Alternative strategies for microbial remediation of pollutants via synthetic biology. *Front. Microbiol.* 11:808. doi:10.3389/fmicb.2020.00808.
- 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.
- Kehew AE, Lynch PM (2011) Concentration trends and water-level fluctuations at underground storage tank sites. *Environ. Earth Sci.* 62:985–998. doi:10.1007/s12665-010-0583-6.
- Kurilić S M, Ulnikovic V P, Maric N & Vasiljević MM (2015) Assessment of typical natural processes and human activities' impact on the quality of drinking water. *Environ. Monit. Assess.* 187(11), 659.
- Łebkowska M, Zborowska E, Karwowska E, Miałkiewicz-Pęska E, Muszyński A, Tabernacka A, Naumczyk J, Jęczalik M (2011) Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms: field-scale processes. *Poland. Ecol. Eng.* 37:1895–1900. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.06.047.

- Liu G, Niu J, Zhang C, Guo G (2016) Characterization and assessment of contaminated soil and groundwater at an organic chemical plant site in Chongqing. S. Southwest China. *Environ. Geochem. Health* 338:607–618.
- Liu H, Tan X, Guo J, Liang X, Xie Q, Chen S (2020) Bioremediation of oil-contaminated soil by combination of soil conditioner and microorganism. *J. Soil Sediment* 20:2121–2129. doi:10.1007/s11368-020-02591-6.
- Logeshwaran P, Megharaj M, Chadalavada S, Bowman M, Naidu R (2018) Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: an overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. *Environ. Technol. Innov.* 10:175–193. doi:10.1016/j.eti.2018.02.001.
- Lopičić ZR, Šošćarić TD, Milojković JV, Antanasković AV, Milić JS, Spasić SD, Avdalović JS (2024) Efficient Removal of Water Soluble Fraction of Diesel Oil by Biochar Sorption Supported by Microbiological Degradation. *Processes* 12(5):964. doi:10.3390/pr12050964.
- Lukić M, Avdalović J, Gojgić-Cvijović G, Žerađanin A, Mrazovac Kurilić S, Ilić M, Miletić S, Vrvic M, Beškoski V (2024) Industrial-scale bioremediation of a hydrocarbon-contaminated aquifer's sediment at the location of a heating plant, Belgrade, Serbia. *Clean Techn. Environ. Policy* 26, 1785–1798. doi:10.1007/s10098-023-02724-8.
- Lukić M, Daković A, Joksimović K, Milić J, Obradović M, Beškoski V, Avdalović J (2024) Removal of Diesel from Aqueous Solutions by a Combined Adsorption and Microbial Degradation Process. *Minerals* 14(12):1287. doi:10.3390/min14121287.
- Lv C, Ling M, Wu Z, Gu P, Guo X, Di D (2018) Analysis of groundwater variation in the Jinci Spring area Shanxi Province (China), under the influence of human activity. *Environ. Geochem. Health* doi:10.1007/s10653-018-0189-6.
- Lyon DY, Vogel TM (2013) Bioaugmentation for groundwater remediation: an overview. In: Stroo H, Leeson A, Ward C (eds) *Bioaugmentation for Groundwater Remediation*. Springer, New York, pp. 1–37.
- Margat J, van der Gun J (2013) *Groundwater around the world: A geographic synopsis (1st ed.)*. The Netherlands: CRC Press/Balkema.
- 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.* 74:5211–5219. doi:10.1007/s12665-015-4531-3.
- Marić N, Matic I, Papić P, Beskoski V P, Ilic M, Gojgic Cvijovic G, Miletić S, Nikić Z, Vrvic MM (2018) Natural attenuation of petroleum hydrocarbons – A study of biodegradation effects in groundwater (Vitanovac, Serbia). *Environ. Monit. Assess.* 190(2):89. doi:10.1007/s10661-018-6462-4.
- Maric N, Mrazovac Kurilic S, Matić I, Sorajic S, Zaric J (2014) Groundwater quality on the territory of Kikinda municipality (Vojvodina, Serbia). *Environ. Earth Sci.* 72:525–534. doi:10.1007/s12665-013-2973-z.
- Marić N, Štrbački J, Mrazovac Kurilić S, Beškoski V, Nikić Z, Ignjatović S, Malbašić J (2019) Hydrochemistry of groundwater contaminated by petroleum

- hydrocarbons: the impact of biodegradation (Vitanovac, Serbia), *Environ. Geochem. Health* doi:10.1007/s10653-019-00462-90123456789.
- Matic I (1994) Research activities on the monitoring of accidental groundwater contamination by kerosene in Vitanovac (Kraljevo). Faculty of Mining and Geology: Belgrade.
- Milić J, Avdalović J, Knudsen TŠ (2024) Microbial bioremediation of the oil polluted environment and the sustainable development goals of pillar Planet of the Agenda 2030. *Environ. Dev. Sustain.* 26:30355–30377. doi:10.1007/s10668-024-04848-3.
- Milić J, Avdalović J, Šolević-Knudsen T, Gojgić-Cvijović G, Jednak T, Vrić MM (2016) Initial microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q* 22:293–299. doi:10.2298/CICEQ150606043M.
- Mrazovac S, Vojnović-Miloradov M (2011) Correlation of main physicochemical parameters of some groundwater in northern Serbia. *J. Geochem. Explor.* 108:176-182. doi:10.1016/j.gexplo.2011.01.005.
- Mrazovac S, Vojnović-Miloradov M, Matic I, Marić N (2013) Multivariate statistical analyzing of chemical parameters of groundwater in Vojvodina. *Chem. Erde Geochem.* 73:217-225. doi:10.1016/j.chemer.2012.11.002.
- Nur Zaida Z, Piakong MT (2018) Bioaugmentation of petroleum hydrocarbon in contaminated soil: a review. In: Kumar V, Kumar M, Prasad R (eds) *Microbial Action on Hydrocarbons*. Springer, Singapore, pp. 415–439.
- Ossai IC, Ahmed A, Hassan A, Hamid FS (2020) Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: a review. *Environ. Technol. Innov.* 17:100526. doi:10.1016/j.eti.2019.100526.
- Pan HW, Lei HJ, He XS, Xi BD, Han YP, Xu QG (2017) Levels and distributions of organochlorine pesticides in the soil-groundwater system of vegetable planting area in Tianjin City, Northern China. *Environ. Geochem. Health* 39:417–429. doi:10.1007/s10653-016-9899-9.
- Park Hurst D & Appelo CAJ (2013) Description of inputand examples for PHREEQC version 3—A computer program for speciation, batch-reaction, one dimensional transport, and inverse geochemical calculations. In: *Techniques and methods 6—A43*. Denver, Colorado, U.S. Geological Survey.
- Poi G, Shahsavari E, Aburto-Medina A, Mok PC, Ball AS (2018) Large scale treatment of total petroleum-hydrocarbon contaminated groundwater using bioaugmentation. *J. Environ. Manage.* 214:157–163. doi:10.1016/j.jenvman.2018.02.079.
- Rice DW, Grose RD, Michaelsen JC, Dooher BP, MacQueen DH, Cullen SJ, Kastenbergh WE, Everett LG, Marino MA (1995) California leaking underground tank (LUFT) historical case analysis. University of California, Lawrence Livermore National Laboratory.
- Rice EW, Baird RB, Eaton AD (2017) Standard methods for the examination of water and wastewater (223rd ed.). Washington: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation.

- Rifai HS, Borden RC, Wilson JT, Ward CH (1995) Intrinsic bioattenuation for subsurface restoration. In: Hincsee RE, Wilson JT, Downey DC (Eds.), *Intrinsic bioremediation* (pp. 1–31). Columbus: Battelle Press.
- Sayara T, Sánchez A (2020) Bioremediation of PAH-contaminated soils: process enhancement through composting/compost. *Appl. Sci.* 10:3684. doi:10.3390/app10113684.
- Shahsavari E, Poi G, Aburto-Medina A, Haleyur N, Bal AS (2017) Bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon-contaminated environments. In: Anjum NA, Gill SS, Tuteja N (eds) *Enhancing Clean-up of Environmental Pollutants*, vol 1. Springer International Publishing, Cham, pp. 21–41.
- Stojanović Bjelić LJ, Ilić P, Nešković Markić D, Ilić S, Popović Z, Mrazovac Kurilić S, Mihajlović D, Farooqi ZUR, Jat Baloch MY, Mohamed MH, Ahmed M (2023) Contamination in Water and Ecological Risk of Heavy Metals near a Coal Mine and a Thermal Power Plant (Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina). *Appl. Ecol. Environ. Res.* 21(5):3807–3822. doi:10.15666/aer/2105_38073822.
- Stojković JS (2013) Hidrogeohemijska valorizacija esencijalnih mikroelemenata mineralnih voda Srbije. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet. Доступно на: <https://nardus.mpn.gov.rs/handle/123456789/4207>, Приступљено: 18. маја 2024.
- Su X, Cui G, Wang H, Dai Z, Woo NC, Yuan W (2018) Biogeochemical zonation of sulfur during the discharge of groundwater to lake in desert plateau (Dakebo Lake, NW China). *Environ. Geochem. Health* 40:1051–1066. doi:10.1007/s10653-017-9975-9.
- Уредба о програму системског праћења квалитета земљишта, индикаторима за оцену ризика од деградације земљишта и методологији за израду ремедијационих програма (2010) Службени гласник Републике Србије 88/10, 30/18.
- U.S. National Research Council (1993) *In situ bioremediation, when does it work?* Washington, DC: National Academy Press.
- Vrba J, van der Gun J (2004) The world's groundwater resources. Contribution to Chapter 4 of WWDR-2 (Draft). Utrecht.
- Waksman SA (1916) Bacterial numbers in soil, at different depths, and in different seasons of the year. *Soil Sci.* 1:363–380. Доступно на: https://journals.lww.com/soilsci/citation/1916/04000/bacterial_numbers_in_soils_at_different_depths.4.aspx, приступљено: 18. маја 2024.
- White DC, Fredericksen JF, Gehron MH, Smith GA, Martz RF (1983) The groundwater aquifer microbiota: Biomass, community structure, and nutritional status. *Dev. Ind. Microbiol.* 24:180–199.
- Wiedemeier TH, Barden MJ, Hass PE, Dickson WZ (2005) Designing monitoring programs to effectively evaluate the performance of natural attenuation. In: D. Nielsen (Ed.), *Practical handbook of environmental site characterization and ground-water monitoring* (2nd ed.) (pp. 573–638). Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.

- Wiedemeier TH, Rifai HS, Newell CJ, Wilson JT (1999) Natural attenuation of fuels and chlorinated solvents in the subsurface. New York, NY: Wiley.
- Wiedemeier TH, Wilson JT, Kampbell DH, Miller RN, Hansen JE (1995) Technical protocol for implementing intrinsic 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.
- Yazicigil H, Sendlein LVA (1981) Management of groundwater contaminated by aromatic hydrocarbons in the aquifer supplying Ames, Iowa. Ground Water, 19, 648–665.

Industrial Bioremediation of Aquifer Sediment Contaminated with Hydrocarbons

Sanja Mrazovac Kurilić

Summary

Pollution of groundwater reservoirs with petroleum hydrocarbons leads to measurable changes in the hydrochemistry of groundwater, mainly due to microbiological activity. The aim of this chapter is to provide insight into research and in situ remediation activities for the removal of polluting petroleum hydrocarbons from polluted aquifer sediments, using the examples of the historically polluted kerosene location in Vitinovac (central Serbia), as well as the example of two radial collection wells of the water supply system in New Belgrade.

In Vitinovac, due to long-term hydrocarbon pollution and exposure to aerobic and anaerobic biodegradation mechanisms, the lowest concentrations of O_2 , NO_3^- , and SO_4^{2-} (electron acceptors) and the highest concentrations of Mn and Fe (products of microbial metabolic activities) overlap. Terminal redox-accepting processes in groundwater varied from oxygen reduction to sulfate reduction. Most anaerobic processes were registered in the piezometers closest to the pollution source, which was also confirmed by redox potential (Eh) measurements. High values of electrical conductivity and highest concentrations of TOC, SiO_2 and Al also overlap in the pollution zone close to the pollution source. Analysis by scanning electron microscopy of quartz grains from the zone under the influence of biodegradation confirmed the occurrence of microscopic decomposition processes on mineral surfaces. Taking into account all these factors, it can be assumed that the microbiological activity caused the increased decomposition of silicate minerals.

At the Novi Beograd location, the most suitable method for remediation was in situ bioremediation because it is a clean, efficient and sustainable technology. Before starting the bioremediation process, it was necessary to isolate and grow the microorganisms present at the location of the pollution, so that they could later be used in the bioremediation process. Samples before and after bioremediation were studied using GC and GC×GC–MS to determine how pollution concentrations changed over time. The spatio-temporal change of hydrocarbon content by depth within the zone of greatest pollution over time is shown. After 12 months of bioremediation, the hydrocarbon content in the samples decreased by 82.0%, and based on GC×GC–MS analysis, the order of decomposition of different hydrocarbon groups was as follows: steranes (99.6%), isoprenoids (98.4%), benzene derivatives

(98.4%), alkanes (97.2%), and terpenes (49.3%). The exponential decay model showed the highest rate of hydrocarbon decomposition at depths of 8–10 m, with an average decay constant of 0.227, independent of the initial hydrocarbon concentration.

Keywords: Soil Pollution, Bioremediation, Republic of Serbia, Environment

