

ALEKSANDAR S. RAŠOVIĆ<sup>1,3</sup>  
BRANIMIR S. JOVANČIĆEVIĆ<sup>1,2</sup>  
DUŠAN M. SLADIĆ<sup>1,2</sup>  
ZORAN V. KLJAJIĆ<sup>3</sup>  
GEORG SCHEEDER<sup>4</sup>  
HERMANN WEHNER<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hemijski fakultet, Univerzitet u  
Beogradu

<sup>2</sup>Centar za hemiju, IHTM,  
Beograd

<sup>3</sup>Institut za biologiju mora, Kotor

<sup>4</sup>Institute for Geosciences and  
Natural Resources (BGR),  
Hannover, Germany

NAUČNI RAD

543.9:628.193:665.61 (282.243.7)

## PRIMJENA BIOLOŠKIH MARKERA U IDENTIFIKACIJI ZAGADJIVAČA NAFTNOG TIPA U RECENTNIM SEDIMENTIMA (Aluvijalna formacija rijeke Dunav, Rafinerija nafte Pančevo)

*Cilj ovog rada bio je da se utvrdi uolikoj mjeri se obilnosti i raspodjele pojedinih bioloških markera mogu upotrijebiti za identifikaciju zagađivača naftnog tipa u recentnim sedimentima i podzemnim vodama. Ispitivani su uzorci sa lokaliteta Rafinerije nafte Pančevo (aluvijalna formacija rijeke Dunav). Organska supstanca ispitivanih uzoraka izolovana je ekstrakcijom pomoću hloroforma. U dobivenim ekstraktima određen je grupni sastav i analizirani su najpoznatiji biološki markeri. *n*-Alkani i aciklični izoprenoidni alkani, pristan i fitan, analizirani su gasnohromatografskom (GC) analizom frakcije zasićenih ugljovodonika, a policiklični alkani tipa sterana i triterpana primjenom gasnohromatografsko-masenospekrometrijske (GC-MS) analize karbamidnog neadukta ukupnih alkana (Single Ion Monitoring, SIM, tehnika). Dobiveni rezultati pokazali su da u slučajevima kada se *n*-alkani ne mogu upotrijebiti u identifikaciji zagađivača naftnog tipa (na primjer, ukoliko je naftni zagađivač biodegradovan i/ili prisutan u veoma niskim koncentracijama), sterani i triterpani mogu poslužiti kao veoma pouzdani indikatori prisustva ovog zagađivača u recentnim sedimentima i podzemnim vodama.*

U ekohemijskim ispitivanjima podzemnih voda i recentnih sedimenata sa lokaliteta jedne naftne rafinerije najvažniji zadatak predstavlja određivanje količine i sastava organske supstance rastvorne u organskim rastvaračima ("bitumenska frakcija").

U najvećem broju slučajeva određivanje količine bitumena nije dovoljno da bi se donijeli zaključci o zagađenju naftnog tipa, budući da sadržaj nativne organske supstance u sedimentima nije precizno definisan, i kreće se u širokim opsezima [1, 2]. Zbog toga, da bi se utvrdilo da li je organska supstanca ispitivanih uzoraka nativna ili potiče od nafte i naftnih derivata, izolovani ekstrakti moraju se detaljno analizirati.

S obzirom da su *n*-alkani najzastupljeniji biomarkeri u geološkim uzorcima, kao i na jednostavnost analitičkih postupaka koji se primjenjuju za njihovu identifikaciju, najekonomičniji pristup u rješavanju ovog problema je određivanje grupnog sastava bitumenske frakcije (sadržaj alkana, aromata i polarnih NSO-jedinjenja) i gasnohromatografska (GC) analiza *n*-alkana.

Recentni sedimenti i podzemne vode sadrže veoma malu količinu nativnih *n*-alkana, koji su ili direktno naslijeđeni od bioloških prekursora, ili su nastali preobražajem biogenih karbonskih kiselina, aldehida, ketona ili olefina, gubitkom funkcionalnih grupa, ili promjenama izazvanih hidrogenizacijom [3–6]. Zbog toga je naftni zagađivač moguće identifikovati u recentnim sedimentima, zemljištu i podzemnim vodama zahvaljujući činjenici da su *n*-alkani u naftama prisutni u znatno višim koncentracijama u poređenju sa recentnim sedimentima, kao i na osnovu činjenice da nafta ima karakterističnu raspodelu ovih jedinjenja sa ujednačenom obilnošću članova sa neparnim i parnim brojem C-atoma [1]. Međutim, u ne-

kim slučajevima na osnovu ovih parametara nije moguće identifikovati naftni zagađivač, tako da je neophodno primijeniti složenije analitičke instrumentalne tehnike. Pretpostavka je da se u tu svrhu može primjeniti, prije svega, gasnohromatografsko-masenospekrometrijska analiza sterana i triterpana (GC-MS) karbamidnog neadukta (frakcija račvastih i cikličnih alkana) zasićenih ugljovodonika, i to Single Ion Monitoring (SIM), odnosno Multiple Ion Detection (MID) metoda.

U ovom radu analizirano je 8 uzoraka recentnih sedimenata i 5 uzoraka podzemnih voda sa lokaliteta Rafinerije nafte Pančevo (aluvijalna formacija rijeke Dunav). Pored klasičnih analitičkih metoda razdvajanja i pored gasnohromatografske analize *n*-alkana i izoprenoidnih alkana pristana i fitana, primijenjena je i gasnohromatografsko-masenospekrometrijska analiza policikličnih alkana tipa triterpana i sterana. Cilj rada bio je da se potvrde zaključci doneseni na osnovu analiza *n*-alkana i izoprenoida pristana i fitana, kao i da se utvrdi prisustvo naftnog zagađivača u onim uzorcima u kojima na osnovu raspodele i obilnosti ovih acikličnih ugljovodonika to nije bilo moguće.

### UZORCI I EKSPERIMENTALNE TEHNIKE

Analizirano je 8 uzoraka sedimenata iz 6 istražnih bušotina (B1–3, dva uzorka; B1–4; B1–14; B1–17; B1–18 i B2–19, dva uzorka; dubine su date u tabeli 1) i 5 uzoraka podzemnih voda iz 5 istražnih bušotina (B1–21; B2–21; Bu3–24; B1–24 i B1–7). Uzorkovanje je izvedeno u jesen 1998. godine. Pijezometri istražnih bušotina podzemnih voda bili su na dubinama od oko 3–5 metara.

Bitumenska frakcija ispitivanih uzoraka sedimenata izolovana je metodom ekstrakcije po Soxhletu. Ekstrakcija organske supstance podzemnih voda izvedena je u lijevku za odvajanje. Kao rastvarač korišćen je hloroform. Masa ekstrahovane organske supstance određena je po udaljavanju rastvarača pomoću rotacionog vakum ispari-

Adresa autora: B. Jovančićević, Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Akademski trg 12–16, p.pr. 158, 11001 Beograd  
E-mail: bjovanci@chem.bg.ac.yu  
Rad primlje: Oktobar 17, 2001  
Rad prihvaćen: Decembar 26, 2001

Tabela 1. Sadržaj "bitumenskih frakcija", njihovi grupni sastavi, kao i GC parametri (CPI i najobilniji *n*-alkan) u ispitivanim sedimentima

Table 1. "Bitumen fraction" content, group composition and alkane GC parameters of the sediments

No	Uzorak (dubina)	"Bitumenska frakcija" (%)	Alkani (%)	Aromati (%)	NSO-jedinjenja (%)	CPI	Najobilniji <i>n</i> -alkan
1	B1-3 (0,6-1,0m)	0,07	9,22	28,0	62,8	2,65	C <sub>29</sub>
2	B1-3a (2,2-3,0m)	0,03	9,8	37,1	53,0	1,64	C <sub>19</sub> , C <sub>21</sub> , C <sub>23</sub> , C <sub>25</sub>
3	B1-4 (3,2-6,5m)	0,07	44,4	7,2	48,4	1,01	C <sub>19</sub>
4	B1-14 (0,0-1,0m)	0,04	41,3	3,8	54,8	0,99	C <sub>29</sub>
5	B1-17 (3,0-6,5m)	0,05	20,0	17,8	62,2	1,02	C <sub>25</sub>
6	B1-18 (0,0-1,0m)	0,04	10,1	15,7	74,2	1,99	C <sub>29</sub>
7	B2-19 (0,0-1,4m)	0,03	16,2	17,1	66,7	1,92	C <sub>29</sub>
8	B2-19a (3,6-6,0m)	0,02	16,9	16,9	66,1	1,71	C <sub>29</sub>

vača i ustaljivanjem mase ekstrakata na sobnoj temperaturi u struji vazduha.

Grupni sastav izolovane bitumenske frakcije određen je metodom hromatografije na stubu. Kao adsorbensi upotrijebljeni su aluminijum-oksidi i silika-gel. Frakcija zasićenih ugljovodonika eluirana je pomoću petrol-etra. Aromatične frakcije podzemnih voda eluirane su pomoću smješe benzola i petrol-etra (2:1), a aromatične frakcije sedimentata pomoću benzola. Najpolarnija frakcija NSO-jedinjenja uzoraka sedimentata eluirana je pomoću polarne smješe hloroforma i metanola (1:1). Količina frakcije NSO-jedinjenja uzoraka podzemnih voda određena je iz razlike mase ekstrakata i zbira masa alkanske i aromatične frakcije.

Zasićeni ugljovodonici analizirani su primjenom gasnohromatografske, GC, metode. Upotrijebljen je gasni hromatograf Varian 3300 sa kapilarnom kolonom (25 m x 0,25 mm). Kolona je bila napunjena nepolarnom fazom BP-1. Instrument je sadržao plameno-jonizujuć detektor. Injektor je zagrijavan brzinom 20°C/min u intervalu od 100-280°C, a zatim je temperatura injektora održavana na 280°C u toku 15 min. Kolona je zagrijavana brzinom 6°C/min u intervalu od 100-280°C i izotermno na 280°C u toku 20 min. Kao noseći gas upotrijebljen je vodonik sa brzinom protoka 1 cm<sup>3</sup>/min.

Policiklični alkani tipa sterana i triterpana ispitani su gasnohromatografsko-masenospektrometrijskom, GC-MS analizom, karbamidnog neadukta alkana primjenom Single Ion Monitoring, SIM, metode. Sterani i triterpani identifikovani su u hromatogramima jona (fragmentogramima) *m/z* 217, odnosno *m/z* 191. Upotrijebljen je hromatograf Hewlett Packard 5890 sa plameno-jonizujućim detektorom, koji je sadržao kapilarnu kolonu napunjenu sa HP-5MS. Kao noseći gas upotrijebljen je helijum. Hromatograf je bio priključen na maseni spektrometar Hewlett-Packard 5972 (70 eV).

## PRIKAZ REZULTATA I DISKUSIJA

U većini uzoraka recentnih sedimentata količina organske supstance je relativno mala (0,01-0,07%; Tabela

1). Na osnovu ovog parametra ne može se donijeti zaključak da li je ona nativnog ili antropogenog porijekla. Kod uzoraka iz bušotina B1-3 i B2-19 sadržaj organske supstance se smanjuje sa porastom dubine. Međutim, ovakav trend se može očekivati i u slučaju kada se radi o nativnoj organskoj supstanci i kada je u pitanju naftni zagađivač, tako da se i na osnovu ovog zapažanja ne može donijeti relevantan zaključak.

Poznato je da nativnu organsku supstancu recentnih sedimentata karakteriše dominacija NSO-jedinjenja u odnosu na ukupnu količinu zasićenih ugljovodonika i aromata [1, 2]. U svim ispitivanim uzorcima sedimentata, sem u uzorku iz bušotine B1-4, može se uočiti dominacija frakcija NSO-jedinjenja u poređenju sa ugljovodoncima (Tabela 1). Na osnovu ovih rezultata može se očekivati eventualno prisustvo naftnog zagađivača samo u bušotini B1-4.

Većinu hromatograma *n*-alkana ispitivanih uzoraka karakteriše dominacija članova sa neparnim brojem C-atoma (CPI > 1, Tabela 1), i sa maksimumima pomjerenim ka višim članovima (najčešće na Q<sub>9</sub>; Tabela 1). U uzorku iz bušotine B1-4 može se uočiti ravnomjerna raspodjela članova *n*-alkana sa parnim i neparnim brojem ugljenikovih atoma (CPI = 1,01) sa maksimumom na C<sub>19</sub> (Tabela 1). Ovakva, tipična "naftna raspodjela" predstavlja još jedan dokaz da se u ovoj bušotini nalazi zagađivač naftnog tipa.

Količine organske supstance u podzemnim vodama nisu ujednačene i kreću se u opsegu od 18 mg/L (uzorak iz bušotine B2-21) do 100% "ekstrakta" u uzorku iz bušotine B1-7 (Tabela 2). U ovoj bušotini nesumnjivo se nalazi zagađivač naftnog tipa i kod ovog uzorka nije ni određivan sadržaj organske supstance, već, zapravo, sadržaj vode (primjenom metode po "Dean Starck"-u utvrđeno je da ovaj uzorak ne sadrži vodu). U ostalim uzorcima količina organske supstance nije dovoljna da bi se utvrdilo prisustvo zagađivača naftnog tipa (Tabela 2).

Rezultati grupnog sastava ispitivanih uzoraka podzemnih voda upućuju na zaključak da je u većini uzoraka prisutan naftni zagađivač (značajna količina zasićenih

Tabela 2. Sadržaj "bitumenskih frakcija" u podzemnim vodama i njihovi grupni sastavi  
Table 2. Content and group composition of ground water "bitumen fractions"

No	Uzorak	"Bitumenska" frakcija (mg/L)	Alkani (%)	Aromati (%)	NSO-jedinjenja (%)
1	B1-21	425	32,9	38,0	29,1
2	B2-21	18	11,1	27,8	61,1
3	Bu3-24	416	60,7	29,6	9,6
4	B1-24	47152	28,6	39,6	31,9
5	B1-7	"čist" bitumen	42,8	43,2	14,0

ugljovodonika i aromata, Tabela 2). Izuzetak je uzorak B2-21 (11,1% alkanske frakcije, Tabela 2).

Gasnohromatografskom analizom alkana utvrđeno je da uzorci sa oznakama B1-21, Bu3-24, B1-24 i B1-7 imaju tipične "naftne raspodjele" *n*-alkana (CPI vrednosti oko jedinice; najobilniji *n*-alkani su C<sub>19</sub> i C<sub>20</sub>; Tabela 3), čime je potvrđena pretpostavka donešena na osnovu vrijednosti za grupni sastav ovih uzoraka. Uzorci Bu3-24 i B1-24 imaju slične raspodjele *n*-alkana, i izoprenoidnih acikličnih alkana pristana i fitana (Tabela 3), tako da se sa velikom sigurnošću može reći da su zagađeni istim tipom naftnog zagađivača.

U alkanskoj frakciji uzorka B1-7 dominiraju pristan i fitan ( $Pr/n-C_{17} = 10,22$ ;  $Fit/n-C_{18} = 5,38$ , Tabela 3). Veća obilnost pristana i fitana u odnosu na *n*-alkane karakteristika je nafte koja je bila izložena biodegradaciji niskog do umjerenog intenziteta [7].

Da bi potvrdili pretpostavke donešene na osnovu rezultata određivanja sadržaja "bitumenske frakcije", njenog grupnog sastava, i na osnovu rezultata GC analize alkanskih frakcija (Tabele 1-3), u karabamidnim neaduktima alkanskih frakcija ekstrahovanih "bitumena" GC-MS instrumentalnom tehnikom analizirani su i policiklični alkani tipa triterpana i sterana. Fragmentogrami masa *m/z* 191 (triterpani) i *m/z* 217 (sterani) za ispitivane sedimente dati su na slikama 1a i 1b, a za podzemne vode na slici 2.

U fragmentogramima triterpana većine ispitivanih sedimenta pored 18 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorheohopana (Ts), 17 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopana (Tm), oleanana i gamacerana, identifikovani su i pikovi koji potiču od termodinamički najstabilnijih homohopana u opsegu C<sub>31</sub>-

C<sub>34</sub> (22S epimeri) i od njihovih manje stabilnih 22R-epimera (izuzetak je uzorak B1-14) (Slika 1a i 1b). U fragmentogramima sterana, dominiraju pikovi od biolipidnih, C<sub>27</sub>-C<sub>29</sub>-5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H)(20R) izomera, ali i od tipičnih geoizomera, diasterana, kao i od onih geolipidnih izomera kod kojih su vodonikovi atomi na C<sub>14</sub> i C<sub>17</sub> u  $\beta$ -položaju i koji imaju S-konfiguraciju na C<sub>20</sub>. Ovakve raspodjele triterpanskih i steranskih izomera tipične su za nafte [1, 2], pa se zbog toga može iznijeti pouzdan sud da je, sa izuzetkom uzorka B1-14, u svim ispitivanim sedimentima prisutan zagađivač naftnog tipa.

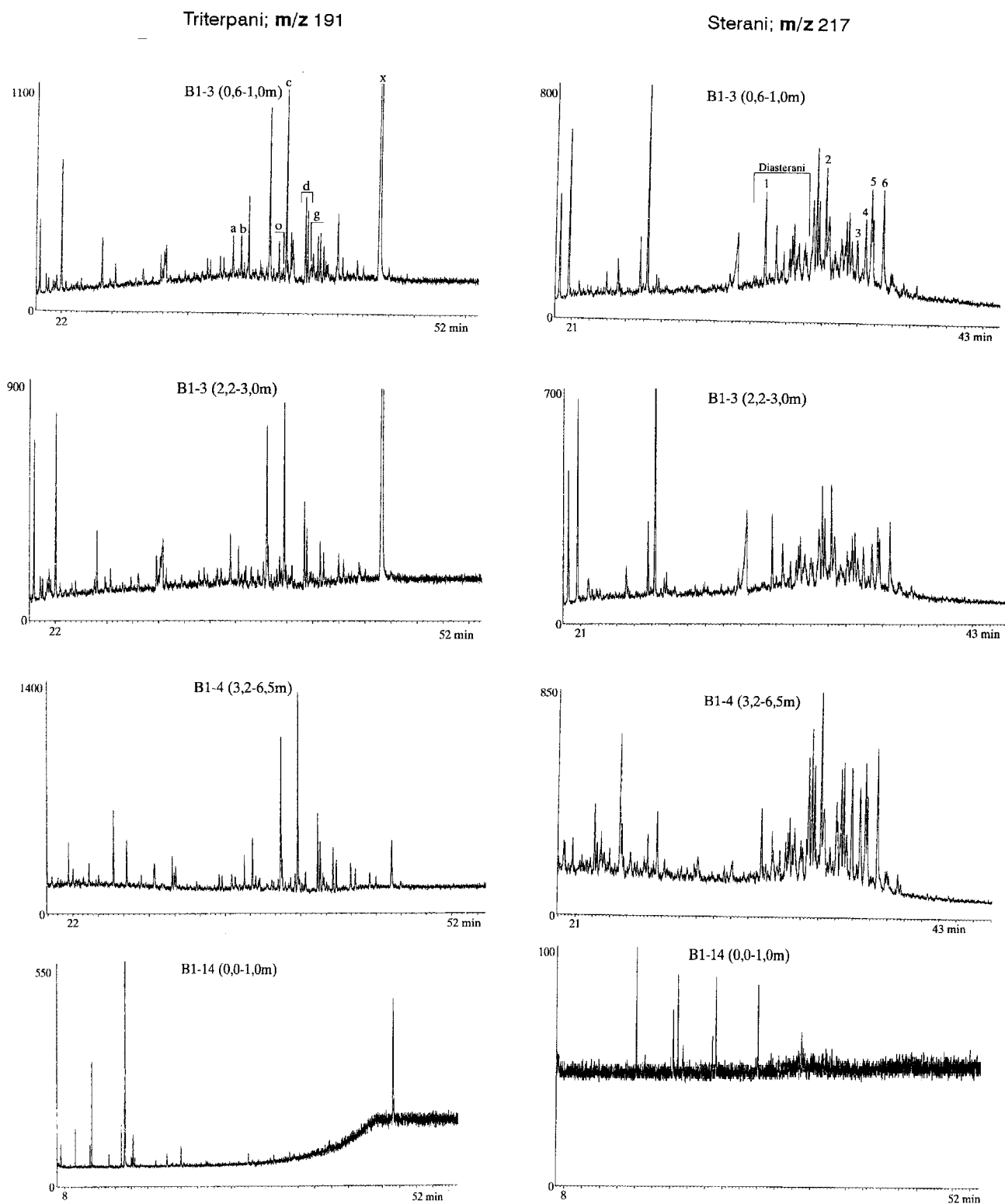
Kada su u pitanju triterpani i sterani alkanskih frakcija izolovanih iz podzemnih voda (Slika 2), može se izneti nedvosmislen zaključak da svi ispitivani uzorci, bez izuzetka, takođe sadrže organsku supstancu naftnog tipa.

Na osnovu raspodjela i obilnosti triterpanskih i steranskih izomera u nekoj nafti može se izračunati niz organsko-geoheimijskih parametara za procjenu njenog porijekla, sredine taloženja i stepena maturisanosti [1, 2]. Međutim, za razliku od organsko-geoheimijskih istraživanja, u ekohemijskim ispitivanjima takav interes ne postoji. Raspodjele bioloških markera tipa triterpana i sterana pored već opisane primene koja se odnosi na identifikaciju zagađivača naftnog tipa u sedimentima ili podzemnim vodama, mogu poslužiti i za utvrđivanje da li je u ispitivanim uzorcima prisutan jedan, ili pak više tipova zagađivača. Na primjer, kada su u pitanju uzorci sedimenta i podzemnih voda koji su ispitivani u ovom radu, na osnovu vrijednosti parametara koji se inače u organsko-geoheimijskim studijama najčešće izračunava-

Tabela 3. Parametri izračunati na osnovu GC analize alkanskih frakcija podzemnih voda.  
Table 3. Alkane GC parameters of ground waters

No	Uzorak	<i>n</i> -Alkanski opseg	CPI	Najobilniji <i>n</i> -alkan	Pr/Fit	Pr/ <i>n</i> -C <sub>17</sub>	Fit/ <i>n</i> -C <sub>18</sub>
1	B1-21	C <sub>17</sub> -C <sub>35</sub>	0,96	C <sub>20</sub>	0,55	2,00	1,57
2	B2-21	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	Bu3-24	C <sub>15</sub> -C <sub>31</sub>	0,97	C <sub>19</sub>	0,70	0,82	0,99
4	B1-24	C <sub>15</sub> -C <sub>31</sub>	1,10	C <sub>19</sub>	0,58	0,72	0,91
5	B1-7	C <sub>16</sub> -C <sub>35</sub>	0,78	C <sub>20</sub>	0,66	10,22	5,38

Napomena: ND označava da parametar nije određen pošto izomer čija je relativna koncentracija uključena u obrazac nije identifikovan.

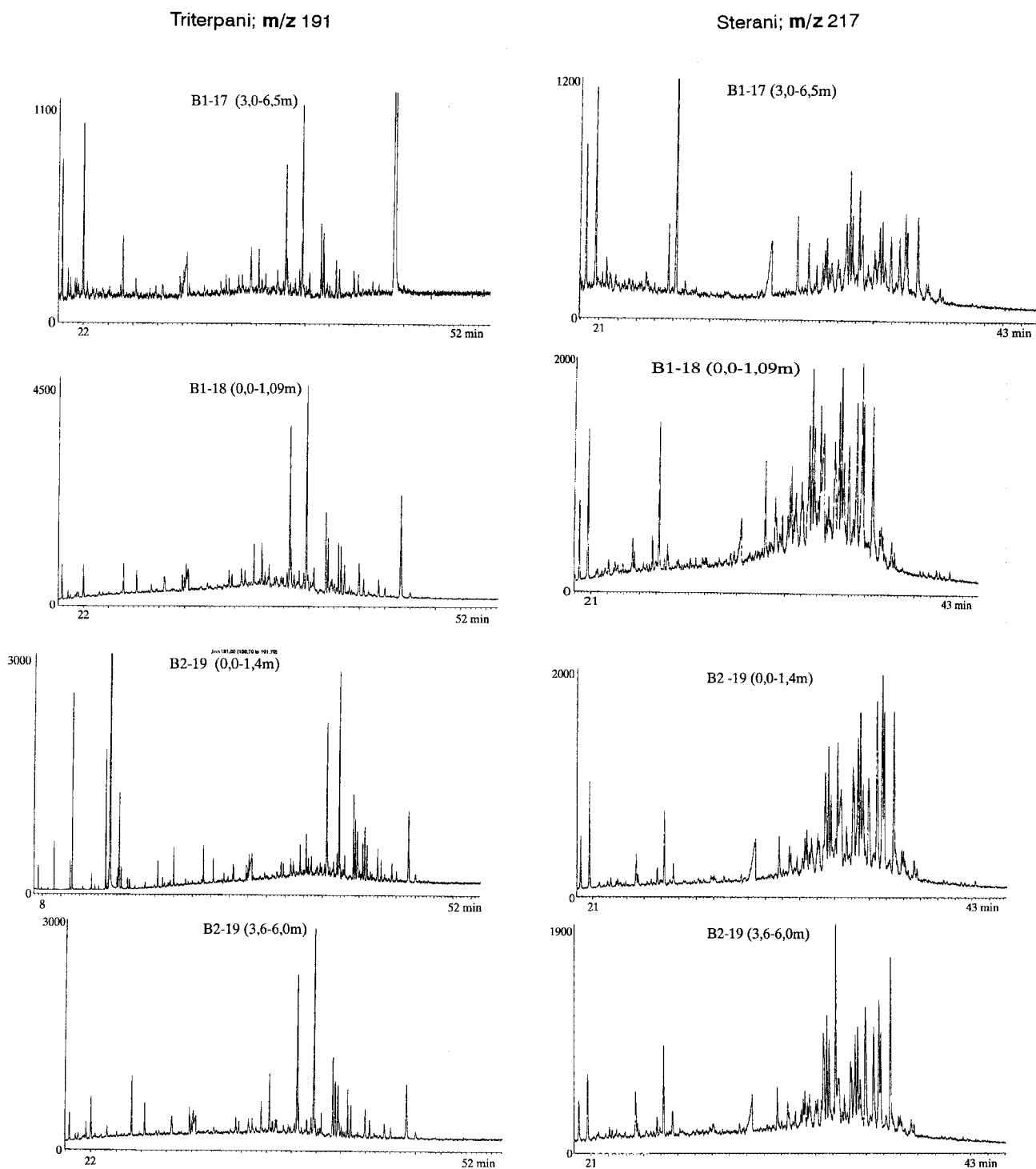


Slika 1a. Raspodjele triterpana i sterana u alkanskim frakcijama uzoraka sedimenata B1-3, B1-3a (uzorak B1-3sa dubine 0,6-1,0 m), B1-4 i B1-14.

Figure 1a. Distributions of triterpanes and steranes in the alkane fractions isolated from sediment samples B1-3, B1-3a (sample B1-3 from 0.6-1.0 m depth), B1-4 and B1-14.

a -  $C_{27}$ -18 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopan (Ts); b -  $C_{27}$ -17 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopan (Tm); c -  $C_{30}$  - 17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H) hopan; d -  $C_{31}$ -17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H) homohopan (22S i 22R); O - oleanan; G - gamaceran; x- neidentifikovani pik.

1 -  $C_{27}$  - 13 $\beta$ (H), 17 $\alpha$ (H) diasteran (20S); 2 -  $C_{27}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20R); 3 -  $C_{28}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20R); 4 -  $C_{29}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20S); 5 -  $C_{29}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\beta$ (H), 17 $\beta$ (H) steran (20R); 6 -  $C_{29}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20R).

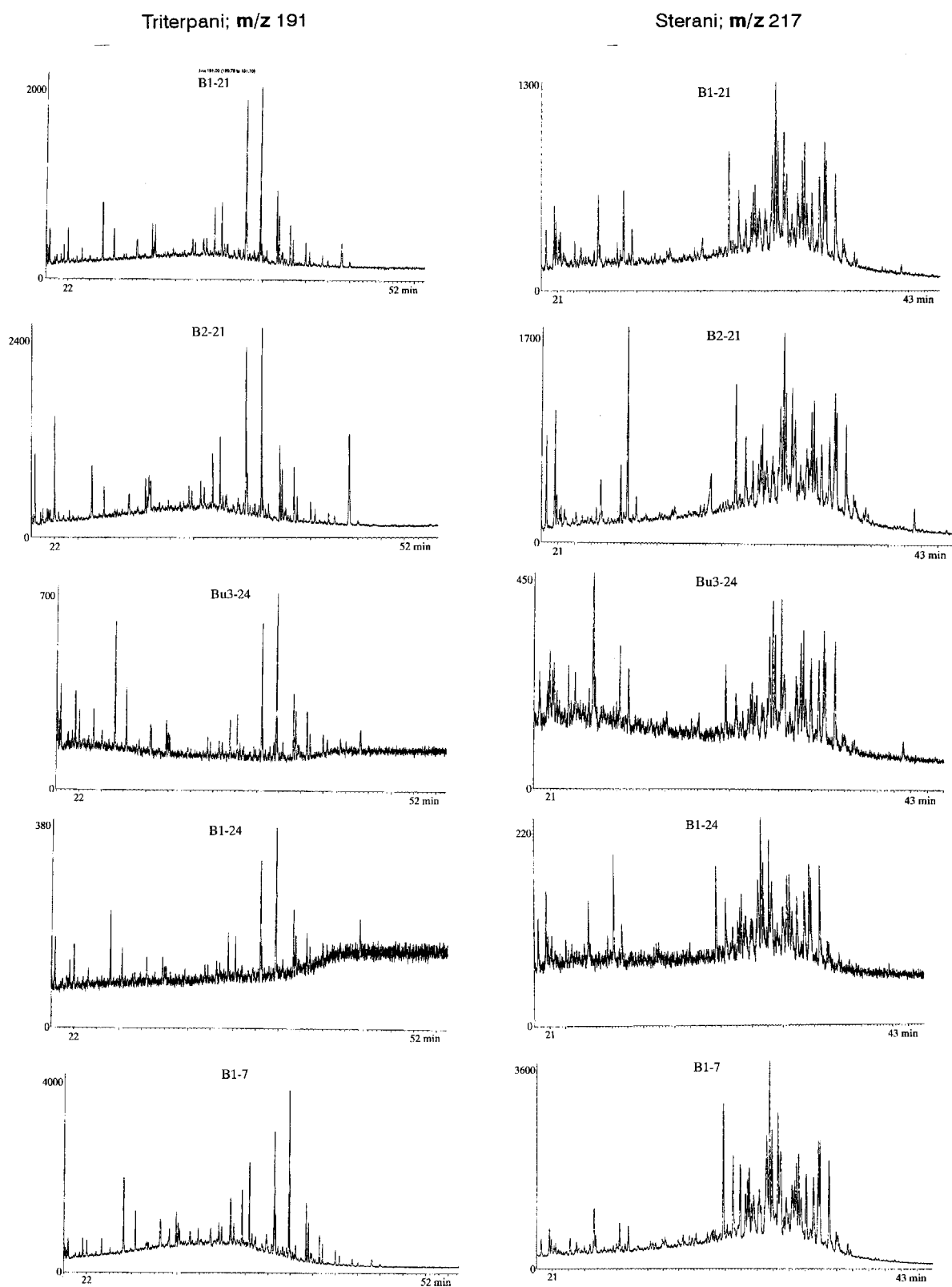


Slika 1b. Raspodele triterpana i sterana u alkanskim frakcijama uzoraka sedimenata B1-17, B1-18, B2-19 i B2-19a (uzorak B2-19 sa dubine 3,6-6,0 m).

Figure 1b. Distributions of triterpanes and steranes in the alkane fractions isolated from sediment samples B1-17, B1-18, B2-19 and B2-19a (sample B2-19 from 3.6-6.0 m depth).

a -  $C_{27}$ -18 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopan (Ts); b -  $C_{27}$ -17 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopan (Tm); c -  $C_{30}$  - 17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H) hopan; d -  $C_{31}$ -17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H) homohopan (22S i 22R); O - oleanan; G - gamaceran; x- neidentifikovani pik.

1 -  $C_{27}$  - 13 $\beta$ (H), 17 $\alpha$ (H) diasteran (20S); 2 -  $C_{27}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20R); 3 -  $C_{28}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20R); 4 -  $C_{29}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20S); 5 -  $C_{29}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\beta$ (H), 17 $\beta$ (H) steran (20R); 6 -  $C_{29}$ -5 $\alpha$ (H), 14 $\alpha$ (H), 17 $\alpha$ (H) steran (20R).



Slika 2. Raspodjele triterpana i sterana u alkanskim frakcijama uzoraka podzemnih voda.

Figure 2. Distributions of triterpanes and steranes in the alkane fractions isolated from ground waters.

a –  $C_{27}$ - $18\alpha(H)$ - $22,29,30$ -trisorhopan (Ts); b –  $C_{27}$ - $17\alpha(H)$ - $22,29,30$ -trisorhopan (Tm); c –  $C_{30}$  –  $17\alpha(H),21\beta(H)$  hopan; d –  $C_{31}$ - $17\alpha(H),21\beta(H)$  homohopan (22S i 22R); O – oleanan; G – gamaceran; x – neidentifikovani pik.

1 –  $C_{27}$  –  $13\beta(H)$ ,  $17\alpha(H)$  diasteran (20S); 2 –  $C_{27}$ - $5\alpha(H)$ ,  $14\alpha(H)$ ,  $17\alpha(H)$  steran (20R); 3 –  $C_{28}$ - $5\alpha(H)$ ,  $14\alpha(H)$ ,  $17\alpha(H)$  steran (20R); 4 –  $C_{29}$ - $5\alpha(H)$ ,  $14\alpha(H)$ ,  $17\alpha(H)$  steran (20S); 5 –  $C_{29}$ - $5\alpha(H)$ ,  $14\beta(H)$ ,  $17\beta(H)$  steran (20R); 6 –  $C_{29}$ - $5\alpha(H)$ ,  $14\alpha(H)$ ,  $17\alpha(H)$  steran (20R).

Tabela 4. Parametri izračunati na osnovu GC-MS analize triterpana i sterana  
Table 4. Triterpane and sterane GC-MS parameters

Uzorak	Sterani						Triterpani
	$\frac{C_{29\alpha\alpha\alpha}20S}{C_{29\alpha\alpha\alpha}20R}$	$\frac{C_{29\alpha\beta}20S}{C_{29\alpha\alpha\alpha}20R}$	$\frac{C_{29\alpha\alpha\alpha}20R}{C_{27\alpha\alpha\alpha}20R}$	$\frac{C_{29\alpha\alpha\alpha}20R}{C_{28\alpha\alpha\alpha}20R}$	$\frac{C_{28\alpha\alpha\alpha}20R}{C_{27\alpha\alpha\alpha}20R}$	$C_{31-17\alpha(H)}, 21\beta(H)-22S/22R$	$\frac{T_m}{T_s}$
B1-3	0,64	0,93	1,03	2,44	0,42	0,55	0,83
B1-3a	0,63	0,86	0,75	1,65	0,46	0,60	0,80
B1-4	0,69	0,86	0,85	1,28	0,66	0,61	1,48
B1-14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B1-17	0,71	0,98	0,87	1,45	0,60	0,53	0,96
B1-18	0,92	1,20	1,34	1,54	0,87	0,57	1,04
B2-19	1,02	1,21	1,47	1,83	0,81	0,58	1,28
B2-19a	0,58	0,73	0,93	1,44	0,65	0,58	1,80
B1-21	0,88	1,27	0,86	1,48	0,58	0,60	1,09
B2-21	0,76	1,27	0,89	1,51	0,59	0,59	1,32
Bu3-24	0,76	1,03	0,88	1,30	0,68	0,57	1,15
B1-24	0,69	0,96	0,94	1,63	0,58	0,55	0,93
B1-7	0,80	0,74	0,82	1,42	0,58	0,60	1,49

Napomena: ND označava da parametar nije određen pošto izomer čija je relativna koncentracija uključena u obrazac nije identifikovan.

ju (Tabela 4), mogu se definisati četiri zasebne grupe uzoraka, odnosno četiri različita tipa naftnog zagađivača (Tabela 5).

Skoro u svim fragmentogramima triterpana (Slike 1 i 2) može se zapaziti pik umjerenog do jakog inteziteta sa retencionim vremenom na oko 47,2 min, a koji se poklapa sa pikom koji potiče od  $C_{31-17\alpha(H)}$ ,  $21\beta(H)$  ( $22S$ )-homohopana. Kako je kod uzorka sedimenta B1-14 (u kojem nije identifikovan naftni zagađivač) ovaj maksimum među najintenzivnijim, može se zaključiti da komponenta "x" pripada nativnoj organskoj supstanci. Stoga se odnos obilnosti pika koji potiče od komponente "x" i pikova koji potiču od naftnih triterpana može koristiti za procjenu odnosa nativne i antropogene organske supstance. Na primjer, sa znatnom sigurnošću se može reći da je udio antropogene organske supstance u uzorcima sedimenata B1-3 i B1-17 manji od udjela nativne organske supstance (Slike 1a i 1b). S druge strane, u uzorku "podzemne vode" B1-7 kod kojeg je već na osnovu sadržaja organske supstance (100% ekstrakt, Tabela 2) zaključeno da se u njemu isključivo nalazi antropogena

Tabela 5. Klasifikacija ispitivanih sedimenata i podzemnih voda prema tipu naftnog zagađivača

Table 5. Investigated sediment and ground water classification according to petroleum type pollutants

Grupa	Uzorci
I	B1-3, B1-3a, B1-17, Bu3-24, B1-24
II	B1-4, B1-7, B2-21
III	B2-19, B2-19a
IV	B1-18, B1-21

organska supstanca (a potvrđeno na osnovu svih ostalih parametara), pik "x" nije ni uočen.

## ZAKLJUČCI

Organsko-geohemijske metode primjenjene su u identifikaciji zagađivača naftnog tipa u osam uzoraka sedimenata i pet uzoraka podzemnih voda sa lokaliteta Rafinerije nafte Pančevo (aluvijalna formacija rijeke Dunav). Na osnovu sadržaja ekstrahovane organske supstance ("bitumenska frakcija"), na osnovu njenog grupnog sastava (alkani, aromati i NSO-jedinjenja), kao i na osnovu GC analize alkanske frakcije ( $n$ -alkani i izoprenoidni alkani pristan i fitan) identifikovan je zagađivač naftnog tipa u samo jednom uzorku sedimenta, i u svih pet uzoraka podzemnih voda. GC-MS analiza bioloških markera tipa triterpana i sterana potvrdila je prisustvo zagađivača naftnog tipa u podzemnim vodama (raspodjele triterpanaskih i steranskih izomera tipične za nafte), ali i u sedam od ukupno osam ispitivanih uzoraka sedimenata. Na osnovu raspodjele triterpana i sterana (parametri izračunati na osnovu obilnosti pojedinih izomera) utvrđena su četiri tipa naftnog zagađivača u ispitivanim sedimentima i podzemnim vodama. S druge strane, na osnovu odnosa obilnosti komponente "x", za koju je dokazano da ima nativno poreklo (pik prisutan i u fragmentogramu triterpana uzorka kod koga nije identifikovan zagađivač naftnog tipa), pokazano je na koji način se može procijeniti odnos udjela nativne i antropogene organske supstance.

Napomena: Istraživanja opisana u ovom radu izvedena su zahvaljujući pomoći Alexander von Humboldt fondacije (Nemačka).

## LITERATURA

- [1] B.P. Tissot and D.H. Welte, *Petroleum Formation and Occurrence*, 2nd Ed., Springer-Verlag, Heidelberg, 1984, 3–63
- [2] D. Waples, *Geochemistry in Petroleum Exploration*, International Human Resources Development Corporation, Boston, 1985, 1–18
- [3] J.G. Erdman, *Geochim. Cosmochim. Acta* **22** (1961) 16
- [4] J.E. Cooper and E.E. Bray, *Geochim. Cosmochim. Acta* **27** (1963) 1113
- [5] P.H. Abelson, *Researches in Geochemistry*, Wiley and Sons, New York, 1967, 2, 63.
- [6] G.D. Hobson and G.C. Speers, *Advances in Organic Geochemistry 1966*, Pergamon Press, Oxford, 1970, 335
- [7] J.K. Volkman, R. Alexander, R.I. Kagi and G.W. Woodhouse, *Geochim. Cosmochim. Acta* **47** (1983) 785

## SUMMARY

## APPLICATION OF BIOLOGICAL MARKERS FOR THE IDENTIFICATION OF OIL-TYPE POLLUTANTS IN RECENT SEDIMENTS (ALLUVIAL FORMATION OF THE DANUBE RIVER, OIL REFINERY PANČEVO)

(Scientific paper)

Aleksandar Rašović<sup>1,3</sup>, Branimir Jovančićević<sup>1,2</sup>, Dušan Sladić<sup>1,2</sup>, Zoran Kijajić<sup>3</sup>, Georg Scheeder<sup>4</sup>, Hermann Wehner<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, University of Belgrade; <sup>2</sup>Center of Chemistry, IChTM, Belgrade;

<sup>3</sup>Institute of Marine Biology, Kotor; <sup>4</sup>Institute for Geosciences and Natural Resources (BGR), Hannover, Germany

The purpose of this paper was to examine to which extent the abundance and distribution of certain biological markers may be used for the identification of oil-type pollutants in recent sediments and ground waters. The samples were taken from the area of the Oil Refinery Pančevo (alluvial formation of the Danube River). The organic matter of the investigated samples was isolated using an extraction method with chloroform. The group composition and usual biological markers were analysed in the obtained extracts. *n*-Alkanes and acyclic isoprenoids, pristane and phytane were analysed using gas chromatography (GC) analysis of saturated hydrocarbons. Polycyclic alkanes of the sterane and terpane type were analysed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), i.e. by analysing the carbamide *no*-*n*-adduct of the total alkane fraction (Single Ion Monitoring, SIM-technique). The obtained results indicate that *n*-alkanes can be used for the identification of oil-type pollutants (for example, if the oil-pollutant is biodegraded or present in very low concentrations), and steranes and triterpanes can be used as very reliable indicators of oil-type pollution in recent sediments and ground waters.

Key words: Recent sediments • Oil type pollutants • *n*-Alkanes • Triterpanes • Steranes •

Ključne reči: Recentni sedimenti • Zagađenje • *n*-alkani • Triterpani • Sterani •