

DRAGAN UGRINOV<sup>1</sup>  
ALEKSANDER STOJANOV<sup>2</sup>

Stručni rad  
UDC: 504.53.062.4:633.453

## Bioremedijacija u tretmanu zagađenog zemljišta

*Ovaj rad opisuje primenu bioremedijacije, uslove za njeno odvijanje kao i ograničavajuće faktore. Bioremedijacija je u suštini proces koji predstavlja sposobnost mikroorganizama da razlažu različite opasne materije, i ima rastuću ključnu ulogu u prečišćavanju zagađenog zemljišta i podzemnih voda. Ovi procesi dobijaju svoje mesto zahvaljujući kapacitetu enzimskog metabolizma mikroorganizama da transformišu organske zagađivače u polutante i manje opasna jedinjenja. Ali, ne treba zaboraviti da ovu metodu nije moguće primeniti u svakom slučaju. Među raspoloživim opcijama za prečišćavanje zagađenog zemljišta, bioremedijacija je najbolja zato što najmanje remeti životnu sredinu i sa ekonomske tačke gledišta-manje košta.*

**Ključne reči:** zemljište, zagađenje, bioremedijacija, mikroorganizmi

### 1. UVOD

Intenzivna urbanizacija, razvoj industrije, saobraćaj i poljoprivredne delatnosti dovode do prekomernog zagađivanja životne sredine, uključujući i zemljište. Opterećenje površinskih slojeva zemljišta velikim količinama otpadnih materija koje se ne mogu razgraditi procesima samoprečišćavanja dovodi do degradacije zemljišta i poremećaja normalnih procesa u njemu, sa negativnim posledicama po ekosistem i zdravlje ljudi.

Sastav i sanitarno stanje zemljišta predstavljaju faktore od značaja za zdravlje populacije, sa direktnim, ali i indirektnim uticajem preko zagađenja površinskih i podzemnih voda, vazduha i životnih namirnica [7].

Izvori zagađenja zemljišta su dominantno posledica ljudskih aktivnosti i bazično se mogu svrstati u tri grupe:

1. Otpadne vode kao zagađivači zemljišta:
  - industrijske otpadne vode,
  - vode zagađene poljoprivrednim aktivnostima (veštačka đubriva, pesticidi, organske materije različitog porekla),
  - otpadne vode iz domaćinstava i od održavanja higijene naselja;
2. Zagađivači poreklom iz atmosfere koji zemljište kontaminiraju ispiranjem, padavinama ili direktnom sedimentacijom:
  - emisija iz industrijskih tehnoloških procesa,
  - emisija usled sagorevanja fosilnih goriva (industrija, energetska postrojenja, individualna ložišta),
  - emisija poreklom od motornih vozila,
  - emisija prilikom sagorevanja različitog organskog materijala;
3. Čvrsti otpad različitog porekla:
  - komunalni otpad,
  - industrijski otpad,

-otpad iz poljoprivrede.

Kada zagađivači dospeju u zemljište na bilo koji od navedenih načina njihova dalja sudbina zavisi od niza fizičkih, hemijskih i bioloških faktora čiji se uticaji prepliću. Vrlo je važan i oblik jedinjenja u kojem se ovi zagađivači nalaze, kao i osobine samog zemljišta (vegetacija, obrada, klimatski uslovi).

### 2. REMEDIJACIONI PROCES

Cilj remedijacionog procesa je da se spreči širenje zagađenja zbog prodiranja u podzemnu vodu, ulaženja opasnih materija u lanac ishrane i slično. Koja varijanta čišćenja će se primeniti zavisi od vrste zagađenja, prirode terena i dr. [8].

U SAD postoje dva pristupa remedijaciji: *korektivna aktivnost i proces remedijacije*. Oba procesa su slična i preduzimaju se radi zaštite zdravlja stanovništva i životne sredine, a razlike se odnose na izvodača radova, obim analiza koje prethode sanaciji, faktore koji se razmatraju pri izboru postupka remedijacije i upotrebu objekta posle remedijacije.

*Korektivnu aktivnost*, regulisanu Zakonom o zaštiti i obnavljanju životne sredine (RCRA – Resource Conservation and Recovery Act) sopstvenim sredstvima izvodi vlasnik zagađenog objekta, ali pod nadzorom Agencije za zaštitu životne sredine, a *proces remedijacije* izvodi Agencija za zaštitu životne sredine SAD (US EPA) sredstvima iz budžeta. Vlasnik može da primeni korektivnu aktivnost bez prehodnih istraživanja zagađenosti, pogotovo ako su poznate zagađujuće supstance, gde je malo nusprodukata ili su bez uticaja na okolinu i gde je mali broj alternativnih tehnika koje bi mogle da se primene. Nasuprot tome, US EPA svaki postupak remedijacije počinje kompletnom karakterizacijom zagađenog objekta. Pre izbora tehnologije remedijacije potrebno je sačiniti plan aktivnosti koji sadrži:

- Procenu zagađenosti objekta (karakterizacija objekta) i identifikaciju tehnologija izolacije, odnosno remedijacije.
- Detaljnu studiju izvodljivosti i identifikaciju alternativa za aktivnosti.

Adrese autora: <sup>1</sup>Zavod za javno zdravlje Pančevo, Pasterova 2, <sup>2</sup>Direkcija za građevinsko Zemljište i izgradnju, J. P., Beograd, Njegoševa 84

- Primenu izabranih tehnologija uz praćenje postignutih rezultata (monitoring).

*Aktivnosti koje čine proces remedijacije su:*

- Polazne osnove.
- Preliminarna procena objekta.
- Obilazak zagađenog objekta.
- Sačinjavanje liste mogućih zagađujućih supstanci i zakonske regulative, državne i lokalne.

*Polazna faza u procesu remedijacije:*

- Prikupljanje postojećih rezultata analize uzoraka sa zagađenog objekta i njihova obrada.

- Razvoj idejnog modela zagađenog objekta.
- Priprema idejnog projekta remedijacije, razmatranje uzroka i najverovatnijeg scenarija zagađivanja; utvrđivanje ciljeva remedijacije.

- Identifikacija svih zakonskih propisa relevantnih za zagađujuće supstance, objekat i njihov položaj i namenu.

- Identifikacija kvaliteta podataka potrebnih za ostvarivanje postavljenih ciljeva.

- Izrada planova u okviru projekta remedijacije.

*Karakterizacija zagađenog objekta:*

- Ispitivanja na samom zagađenom objektu.
- Utvrđivanje prirode i proširenosti zagađenja (tip zagađujućih supstanci, sadržaj, distribucija).

- Identifikacija zakonskih propisa koji se odnose na zagađujuće supstance i lokaciju objekta.

- Procena rizika.

*Razvoj i selekcija alternativnih procesa remedijacije:*

- Identifikacija svih potencijalnih tehnologija i procesa za obradu zagađenih medijuma, tehnologija izolacije, odlaganja ostataka posle obrade ili neobrađenog medijuma.

- Izbor tehnologije.

- Utvrđivanje eventualnih specifičnosti za posmaranu lokaciju.

- Izbor alternativa za specifični objekat.

- Izrada studije izvodljivosti:

- Izvođenje ispitivanja mogućnosti primene odabranih tehnoloških procesa u laboratorijskom, većem laboratorijskom i poluindustrijskom obimu.

- Detaljna analiza alternativa:

- Definisavanje alternativa prema potrebama objekta.

- Analiza alternativa prema određenim kriterijumima.

- Uzajamno poređenje alternativa i dalja selekcija.

- Izbor tehnologije remedijacije.

- Utvrđivanje ciljeva.

- Utvrđivanje aktivnosti remedijacije.

Vrlo često se izbor tehnologije remedijacije ne ograničava samo na jednu tehnologiju već predstavlja kombinaciju više njih, kombinacija tehničke i spontane remedijacije ili mešavina remedijacije sa nebiološkim tretmanom.

*Faktori koji utiču na dizajniranje remedijacionog procesa su:*

- Ciljevi koji se žele postići prilikom tretmana zemljišta.

- Širenje zagađenja (vrsta, koncentracija i lokacija).

- Vrsta biološkog procesa koji efikasno transformiše zagađenje.

- Transportna dinamika zemljišta.

### 3. BIOREMEDIJACIJA

Bioremedijacija je skup postupaka za remedijaciju uz primenu bioloških agenasa. U užem smislu pod bioremedijacijom se smatra remedijacija uz pomoć mikroorganizama, a u širem smislu uz pomoć biljaka (fitoremedijacija). Može obuhvatiti mikrobiološku degradaciju i detoksikaciju zemljišta, površinskih i podzemnih voda i vazduha, čvrstog, tečnog i gasovitog otpada od štetnih supstanci, a i zagađivača kao što su organski zagađivači (nafta, naftni derivati, pesticidi, deterdženti, polimeri, fenoli, organski rastvarači) veštačka đubriva, teški metali (živa, kadmijum, olovo) i drugi toksični elementi i jedinjenja (arsen, cijanidi), otrovni gasovi i radionuklidi (uranijum, plutonijum i dr.) [1].

Biološka degradacija se obavlja u ćelijama mikroorganizama, koji resorbuju neki zagađivač, pa u slučaju da poseduju odgovarajuće enzime dolazi do razgradnje zagađujuće supstance u metabolite. Ugljovodonici iz nafte služe kao izvor nutrienata i energije za rast i razvoj mikroorganizama, koji ih razgrađuju do naftenskih kiselina, alkohola, fenola, hidroperoksida, karbonilnih jedinjenja (aldehidi i ketoni), estara i na kraju do ugljenik(IV)-oksida i vode [6]. U poslednje vreme genetski inženjering nudi velike mogućnosti konstruisanja genetski modifikovanih mikroorganizama sa biodegradacionim svojstvima – kataboličkim genima, tzv. „super mikrobi“, koji predstavljaju potencijalnu opasnost za okolinu zbog još uvek nedovoljnog iskustva u mogućoj interakciji ovih mikroorganizama sa životnom sredinom i nastanka oblika koji bi bili opasni po zdravlje čoveka i njegovu okolinu. S druge strane bioremedijacija je svojevrsan oblik „zelene tehnologije“ koja teži razvoju „zero waste“ tehnologija, odnosno tehnologija koje smanjuju nastanak otpada kao krajnjeg produkta nekog procesa. Stoga se ove tehnologije mogu ubrojati u BAT (*best available technologies/techniques*) koje se odnose na integralnu prevenciju i kontrolu zagađenja [11].

### 4. USLOVI POD KOJIM SE ODVIJA BIUREMEDIJACIJA

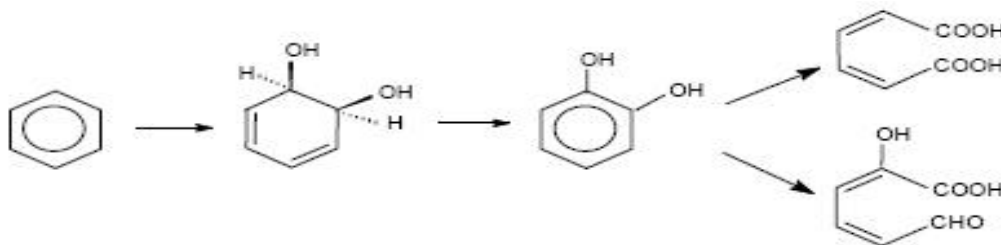
Zavisno od količine prisutnog kiseonika u zemljištu bioremedijacija se može odvijati pod aerobnim i anaerobnim uslovima.

#### 4.1. Aerobna degradacija

Aerobnu razgradnju vrše aerobni mikroorganizmi i na nju, pored kiseonika, značajan uticaj ima prisustvo

mineralnih soli, temperatura i pH. Aerobni mikroorganizmi zahtevaju soli azota, fosfora, kalijuma, magnezijuma, gvožđa, cinka i dr. Najveći rast bakterija i gljivica oksidanasa ugljovodnika zapaža se u temperaturnom intervalu od 25 – 40 °C. Međutim mikroorganizmi pokazuju veliku prilagodljivost na uslove rasta, pa i na temperaturu. Optimalni pH za biorazgradnju se kreće između 7 i 8,5. Promena kiselosti sredine može uticati na promenu dominantne vrste mikroorganizama pa time i uslova za mikrobiološku razgradnju. Degradacija nafte opada sa povećanjem dubine sedimenta i anaerobije. Metil grupe na krajevima molekula alkana i u aromata (toluen, ksilen) podležu reakcijama oksidacije, gde prvo nastaje alkohol, potom aldehid i na kraju karboksilna kiselina. Mikrobiološkom degradacijom toluena može nastati benzaldehid i benzoeva kiselina. Alkil grupe podležu reakcijama subterminalne oksidacije dajući keton ili 10-hidroksi-derivat. Tako, iz heksana nastaje 2-hidroksiheksan i 2-ketoheksan. Alkani podležu i reakcijama

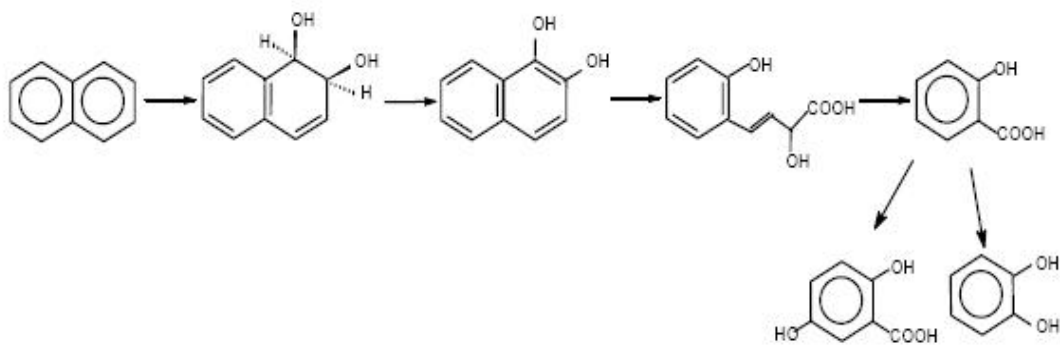
dehidrogenacije: iz n-heptana nastaje 1-hepten. Cikloalkani podležu reakcijama oksidacije: može doći do hidroksilacije cikloheksana pri čemu nastaje cikloheksanol, može da se stvara keto-derivat pri čemu nastaje cikloheksanon, a mogu se dešavati i reakcije dehidrogenacije cikloalkana. Aromatična jedinjenja podležu reakcijama hidroksilacije i građenja ketona. Hidroksilacija je nespecifična i nekad vodi ka građenju ketona ili hinona. Najčešći proizvod je dihidrodiol kad se dve OH grupe uvode na dva susedna C-atoma. Iz benzena može nastati fenol i hidrohinon. Zavisno od supstrata i mikroorganizma mogu nastati različiti proizvodi prilikom otvaranja aromatičnih prstenova. Može se otvoriti samo jedan, nekoliko ili svi prstenovi. U aerobnim uslovima otvaranjem prstena u molekulu se formiraju dve karboksilne ili jedna karboksilna i jedna hidroksilna grupa. *Degradacija benzena* bakterijama započinje formiranjem cis-dihidrodiola, zatim sledi dehidrogenacija do katehola i potom dolazi do otvaranja prstena (slika 1).



Slika 1 - Biodegradacija benzena bakterijama

Bakterijska *degradacija naftalena* je ista kao kod benzena - prvo dolazi do dioksigenacije (cis-1,2-dihidrodiol), potom sledi dehidrogenacija (1,2-

dihidroksinaftalen) i na kraju dolazi do otvaranja prstena (salicilat i katehol) (slika 2).



Slika 2 - Biodegradacija naftalena bakterijama

Kod *PAH-ova* prvo dolazi do dioksigenacije (antracen prelazi u cis-1,2-dihidrodiol, fenantren u cis-1,2- i cis-3,4-dihidrodiol, benz(a)antracen u cis-1,2-, cis-8,9- i cis-10,11-dihidrodiol itd. Potom nagrađeni dihidrodioli dehidrogenacijom daju katehole, zatim dolazi do otvaranja prstena i oksidativne degradacije produkata razgradnje (slika 3).

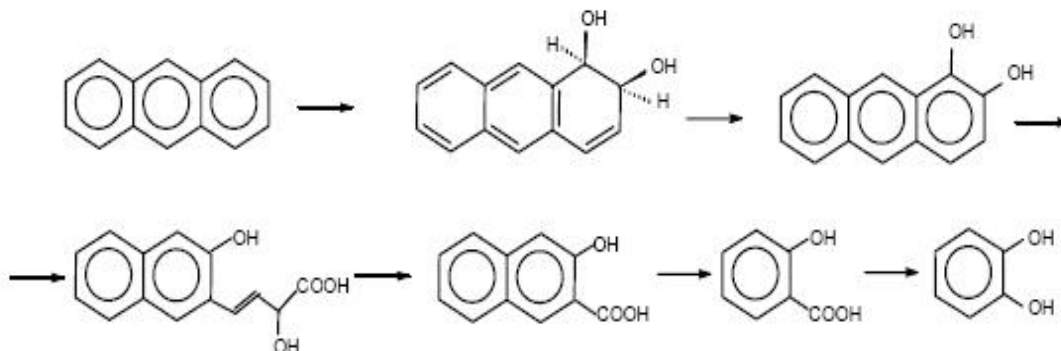
Policiklični aromatični ugljovodonici metaboličkom aktivacijom ispoljavaju mutageni i karcinogeni biološki potencijal [10].

#### 4.2. Anaerobna degradacija

Anaeroban proces se odvija pod dejstvom anaerobnih mikroorganizama i on je toliko spor da je njegov značaj zanemarljiv. Ipak je ustanovljeno da anaerobna razgradnja može uzeti maha nakon što je nafta prethodno bila izložena aerobnim mikroorganizmima. Anaerobna razgradnja ugljovodnika moguća je u dubljim slojevima nafte, u dubini naftonosnih nalazišta bez dotoka vazduha. Pobuđivači anaerobne degradacije su najčešće sulforedukujuće bakterije. Reakcija sulfata pod dejstvom

mikroorganizama predstavlja oksido - redukcionu proces. Pri tome se sulfati redukuju do sumporvodonika, a ugljovodonici oksidišu. Pod anaerobnim uslovima procesi razgradnje su specifičniji, na primer, čiste kulture

bakterija iz toluena mogu nagraditi benzilsukcinat, a iz ksilena metilbenzilsukcinat. Kod aromata može doći i do redukcije dvostrukih veza, tako iz benzena može nastati cikloheksen, a iz toluena 4-metilcikloheksanol.



Slika 3 - Biodegradacija antracena bakterijama

## 5. PRIRODA ZAGAĐENJA

Neke vrste mikroorganizama mogu da koriste naftu kao izvor ugljenika, neke vrste nafta ubija ili inhibira, dok na neke vrste ne utiče. Fizičke i hemijske karakteristike nafte utiču na stepen i brzinu njene degradacije [3].

**Fizički uticaji** od značaja za biodegradivnost su: viskoznost, fotolitička aktivnost, isparavanje, mehanička disperzija, rastvaranje, bioemulzifikacija i sorpcija. Viskoznost utiče na širenje naftne mrlje, a time i na povećanje površine pogodne za napad mikroorganizama koji teže da se koncentrišu na dodirnoj površini nafta - voda. Nafta malog viskoziteta prosuta pri hladnijim uslovima otpornija je na biorazgradnju. Fotolitički proizvodi su polaraniji i time podložniji biodegradaciji od jedinjenja od kojih su nastali. Tečni ugljovodonici su podložniji biorazgradnji od onih u čvrstom agregatnom stanju. Kao poseban faktor od uticaja na biodegradaciju može se razmatrati koncentracija pojedinačnih komponenata u nafti. Pojedina jedinjenja u visokim koncentracijama, npr. fenol, m- i p-krezol, ne mogu biti razgrađeni zbog njihove toksičnosti, dok pri niskim koncentracijama podležu biorazgradnji.

Što se tiče **hemijskog sastava** nafte, n-alkani se razgrađuju brže od drugih grupa jedinjenja. Takođe n-alkani srednje dužine lanca su manje toksični i brže se razgrađuju od n-alkana velike dužine lanca (dužih od 30 C atoma) ili cikloalkana. Razgradnju alkana inhibira njihova razgranatost, naročito pri niskim temperaturama. Lako isparljiva jedinjenja, benzen, toluen, etilbenzen i ksileni (BTEX), relativno lako se razgrađuju usled više faktora: relativno su rastvorni u vodi, mogu služiti kao primarni elektron-donori za mnoge bakterije, brzo se razgrađuju i bakterije koje razgrađuju BTEX brzo rastu u prisustvu kiseonika. PAH-ovi se sporo razgrađuju zbog kompleksne strukture, niske rastvorljivosti i jakih sorptivnih karakteristika. Vreme poluraspada PAH-ova male molekulske mase (naftalen, alkilnaftalen) iznosi neko-

liko dana u atmosferi, nedelja u vodi, meseci u zemljištu i oko godinu dana u sedimentu. PAH-ovi veće molekulske mase, sa pet ili šest kondenzovanih prstenova u molekulu su znatno stabilniji, sa vremenom poluraspada od nekoliko nedelja do nekoliko godina. Efikasnost biodegradacije individualnih PAH-ova u sedimentu opada sa porastom broja kondenzovanih prstenova u molekulu, tako da se petočlani i šestočlani PAH-ovi veoma teško razgrađuju.

## 6. MIKROBIOLOŠKA ZAJEDNICA

Da bi uklanjanje zagađenja bilo efikasno potrebno je obezbediti odgovarajuće naftnooksidujuće mikroorganizme, u dovoljno velikom broju, kao i optimalne uslove za njihov rast i razvoj kao što su dovoljne količine azota i fosfora. Najčešće se primenjuje autohtona mikroflora, koja se izoluje iz zemljišta i razmnožava u bioreaktorima. Pored kvasaca iz rodova *Candida* (*C. lipolytica*, *C. tropicalis*), *Hansenula*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* i gljiva iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma* i druge, osnovnu ulogu u biodegradaciji ugljovodonika nafte imaju bakterije, među kojima dominiraju vrste iz rodova *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* i druge. Nedostatak kataboličkog puta za biodegradaciju određenih ksenobiotika danas se prevazilazi tehnikama bioinženjeringa, jer biohemijški putevi mogu da evoluiraju. U tom smislu razmena genetičkih informacija između različitih vrsta i sojeva, putem plazmida, može znatno da ubrza ove procese. Tako je, na primer, primena genetičkih metoda rezultirala razvojem sojeva *Pseudomonasa* koji su sposobni da degradiraju širok niz hlorobenzoata i hlorfenola. Ukoliko je sproveden genetski inženjering mikroorganizama proces se naziva bioaugmentacija [2]. Bioremedijacija zavisi ne samo od vrste i koncentracije zagađenja i prisutne mikrobiološke zajednice, već i od hidrogeohemijških karakteristika zemljišta.

Tabela 1 - Primer nekih uobičajenih toksičnih jedinjenja i mikroorganizama koji ih metabolišu

Hemikalije	Mikroorganizmi
fenolni spojevi	- Rhizoctonia praticola
p-krezol	- Trametes versicolor
aromatski ugljovodonici	- Pseudomonas aeruginosa UG2
mešavina policiklickih aromatskih ugljovodonika	- Mycobacterium sp.
fluoranten (FA)	- Cunninghamella elegans
aromati 3-klorobenzoat fenantren etilbenzen bifenili (arom.ugljikov.) naftalen pentaklorofenol (PCP)	- Pseudomonas sp.B13 - Pseudomonas sp.R - Pseudomonas putida F1 - Beijerinckia sp - Oscillatoria sp. JCM) - Arthrobacter ATCC33790 Pseudomonas
toluen, benzen mešana metanogena kultura ,	
izopropil N-fenil	
karbamat	- Arthrobacter sp.
paration	- Pseudomonas stutzeri
pentahlorofenol (PCP)	
hloroanilin	
dihlor-difenil-trikloretan (DDT)	- Phanerochaete chrysosporium
polihlorovani bifenili	
dibenzo(p)dioksini	
policiklicki aromatični ugljovodonici (PAH)	- Aspergillus ochraceus Cunninghamella elegans Trametes versicolor Phanerochaete chrysosporium Saccharomyces cerevisiae
hlorovani alkeni	- Xanthobacter sp.

Izvor: Bobic V., Onečišćenje tla naftnim ugljikovodicima – bioobnova: mogućnosti, učinkovitost, iskustva. *Goriva i maziva*, 44, 1: 9-34. (2005)

## 7. HIDROGEOHEMIJSKE KARAKTERISTIKE ZEMLJIŠTA

Bilo o kom tipu bioremedijacije da se radi, uspešno uspostavljanje procesa čišćenja na zagađenom lokalitetu ometano je heterogenošću zemljišta i teškoćom osmatranja. Pogodno zemljište je ono koje je moguće kontrolisati.

Kod *spontane bioremedijacije* nema nikakvih intervencija. Kritični parametar za uspešno sprovođenje spontane bioremedijacije je predvidljivost toka podzemne vode u vremenu i prostoru. To je važno da bi se moglo znati gde će mikroorganizmi delovati (da li na svim mestima gde je prisutno zagađenje) i da li će delovati dovoljno brzo da bi sprečili širenje zagađenja putem podzemne vode.

Prirodne karakteristike zemljišta kod *tehničke bioremedijacije* su manje važne nego kod spontane bioreme-

dijacije zbog toga što se koristi tehnologija za manipulaciju prirodnim uslovima. Kritični parametar za uspešno sprovođenje tehničke bioremedijacije je propustljivost podzemnog materijala za fluide (vodu i vazduh).

Kod oba sistema zagađena zona teže će se tretirati ako postoje naprsline, pukotine ili druge nepravilnosti koje izazivaju strujanje fluida oko zagađenja. Nevodeno-fazne tečnosti (naftni produkti i hlorovani rastvarači) otežavaju remedijaciju. Koncentracija vodonerastvornog zagađenja koje ometa cirkulaciju fluida zavisi od zagađenja i zemljišta. Zagađenje u koncentraciji manjoj od 10000 mg/kg zemljišta često ne smanjuje protok vode i vazduha, jer je na tom nivou zagađenje nepokretno i zauzima mnogo manje pukotina nego voda.

**Nutrijenti** su esencijalni za metabolizam organskih materija od strane mikroorganizama [4]. Izbor nutrije-

nata je mnogo važniji za *in situ* nego za *ex situ* tretman. Prilikom izbora nutrijenata potrebno je voditi računa o vremenu njihovog zadržavanja u zemljištu. Svi potrebni elementi za proces biooksidacije u zemljištu i podzemnoj vodi su skoro uvek prisutni u višku izuzev azota i fosfora. Potreba za nutrijentima zavisi od toga u kojoj se meri obnavljaju nutrijenti iz mrtvih mikroorganizama, koja količina zagađenja je prevedena u CO<sub>2</sub> i koja količina nutrijenata već postoji na lokalitetu. Izvor fosfora je najčešće so fosforne kiseline, a izvor azota može biti amonijumova so, nitratna so, urea ili kombinacija različitih supstanci. Upotreba nutrijenata je zabrinjavajuća jer oni mogu da povećaju nivo nitrata u podzemnoj vodi. Takođe, zabrinjavajući je i rezidual amonijum-jona jer oni mogu da pređu u nitrate. Ortofosfati mogu da prouzrokuju taloženje gvožđa, kalcijuma i magnezijuma i zato treba da se primenjuju uz veliku pažnju. Tripolifosfati rastvaraju gvožđe, kalcijum i magnezijum i u mnogo manjoj meri izazivaju blokadu sistema. Ako se koriste soli natrijuma, glinovito zemljište može da nabrekne i smanji propustljivost i za vodu i za vazduh. U nekim slučajevima proces može teći i bez dodatka nutrijenata.

Iako su **azot i fosfor** važni za mikroorganizme oni manje limitiraju spontanu bioremedijaciju nego elektron-akceptori. Većina komercijalnih bioremedijacionih projekata koristi kiseonik kao elektron-akceptor, iako se mogu koristiti i drugi elektron-akceptori za mikrobiološku razgradnju organskih jedinjenja (nitrati, sulfati, gvožđe(III)-joni).

**Kiseonik** i nutrijenti u prvoj generaciji bioremedijacionih tehnika su dodavani putem cirkulacije podzemne vode ali su postupci biodegradacije koji su se odigrali bili ograničeni malom rastvorljivošću i nestabilnošću kiseonika u vodenom rastvoru. Zbog potrebe za većim količinama kiseonika sve više se primenjivao vodonik-peroksid čijom primenom se značajno povećava količina kiseonika (10-50 puta više kiseonika nego do tada primenjivanim aeracionim sistemima). Međutim, njegova primena ima ograničenja, jer u nekim tipovima zemljišta može doći do prebrze dekompozicije vodonik-peroksida i do obrazovanja začepljenja. U poslednje vreme se sve više koristi raspršivanje vazduha koje podrazumeva injektovanje vazduha ispod vodene površine radi zasićenja podzemne vode vazduhom i na taj način se obezbeđuje kiseonik. Raspršivanje vazduha je relativno jeftino i kiseonik se može distribuirati kroz sve zemljište odjednom, što je bolje nego osloniti se na front kiseonika koji se kreće kroz zemljište.

Varijacije **temperature** utiču na sve biološke procese. Većina aerobnih bioloških tretmana se odvija u osegu 4-39 °C. Bioremedijacioni sistem ne može biti praktičan pod veoma toplim i veoma hladnim vremenskim uslovima bez kontrolisanja temperature u zemljištu. Na primer, u hladnom periodu vazduh se može produvati u

toku toplijeg dela dana ili se može produvati topao vazduh. Na sreću, *in situ* bioremedijacioni proces često može teći u prihvatljivom temperaturnom opsegu bez preduzimanja bilo kakve aktivnosti radi kontrolisanja temperature.

Biooksidacioni procesi su uobičajeno efikasni unutar određenog pH opsega. Većina procesa je ograničena u opsegu 5-9 pH jedinica sa optimalnim intervalom 6,5-8,5. Karakteristike zemljišta mogu da se menjaju zbog prisustva minerala u akviferu u obliku karbonata koji puferuju promene pH što utiče na biološku produkciju CO<sub>2</sub> ili drugih kiselina ili baza. Bitno je da se u toku tretmana ne menja pH vrednost.

## 8. OGRANIČAVAJUĆI FAKTORI BIOREMEDIJACIJE

Postoji niz faktora koji ometaju uspešno uspostavljanje procesa bioremedijacije na zagađenom lokalitetu [2]. Zagađenje može biti "nevidljivo" za mikroorganizme ako je suviše niska koncentracija zagađenja, ako je zagađenje u nevodenoj fazi (u rastvoru koji se ne meša lako sa vodom i zato putuje odvojeno od podzemne vode kroz zemlju), ako je adsorbovano za površinu zemlje ili u porama tako malim da ih voda cirkulacijom teško ispira. U takvim slučajevima treba dodati hemijske agense koji će mobilisati zagađenje. Organsko zagađenje može biti pokrenuto dodavanjem surfaktanata. Male količine surfaktanata smanjuju površinski napon i zagađenje prelazi u vodenu fazu. Kada se primenjuju velike količine surfaktanata dolazi do spajanja molekula surfaktanata u koloide uz građenje micela. Organsko zagađenje rastvara se u micelama i transportuje se sa vodom u njima, tako da nema pravog povećanja koncentracije u vodenoj fazi i biodegradacija nije povećana. U nekim slučajevima bakterije proizvode sopstvene surfaktante.

Zagađenje može biti toksično za mikroorganizme. Neka toksična jedinjenja mogu biti razgradljiva u malim koncentracijama, ali u velikim koncentracijama u vodenoj fazi mogu da uništavaju mikroorganizme. Mikroorganizmi preferiraju lako razgradljiva jedinjenja ili ona jedinjenja koja daju najviše energije. Prirodna jedinjenja mogu da ometaju proces biodegradacije zagađenja zbog selektivne razgradnje, a mogu i da pomažu ukoliko podstiču razvoj mikroorganizama pa time omogućuje razgradnju i onih jedinjenja koja su zbog niske koncentracije "nevidljiva" za mikroorganizme. Parcijalnom razgradnjom zagađenja mogu nastati nusproizvodi toksičniji od zagađenja. Može se desiti da je nemoguće ukloniti zagađenje do niskih koncentracija, iako su uslovi za biodegradaciju dobri, jer jednostavno može biti favorizovana neka druga reakcija. Usled mikrobiološkog rasta može doći do akumulacije mikroorganizama blizu bunara i može doći do začepljenja akvifera, što izaziva smanjenje efikasne cirkulacije ra-

stvora nutrijenata. Protozoe mogu da uklone začepljenje jer se hrane mikroorganizmima. Primenjuju se dve tehnike da se spreči začepljenje: dodaju se nutrijenti i supstrat u porcijama tako da nema nagomilavanja blizu mesta injektiranja i dodaje se vodonik-peroksid kao izvor kiseonika i jak dezinficijens (razgrađuje se do kiseonika i vode).

## 9. BIOLOŠKE METODE

Biološke metode se primenjuju i na zemljište zagađeno radionukleidima i mogu se koristiti i u kombinaciji sa ostalim metodama. Najčešće korišćeni procesi bioremedijacije za ovaj polutant su: *biotransformacija* – gde se kontaminirani molekuli prevode u manje opasne ili neopasne molekule; *biodegradacija* – gde se organske supstance razaraju do manjih organskih i neorganskih molekula; *biomineralizacija* – gde se razgrađuju organski materijali na neorganske, kao što su  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$ . Sva tri procesa se mogu primeniti *in situ* i *ex situ*. Strategije koje se preporučuju za uklanjanje metala i radionukleira uključuju mikrobiološko luženje, mikrobiološke surfaktante, volatilizaciju, bioakumulaciju. U svakom slučaju, bioremedijacijom se obezbeđuju isti procesi kao oni koji se javljaju u prirodi. Zavisno od mesta i kontaminanta, bioremedijacija može biti bezbednija i jeftinija nego alternativne tehnologije kao što su insinercija i odlaganje na deponiju.

Takođe se može primeniti i fitoremedijacija koja podrazumeva upotrebu biljaka za ekstrakciju, sekvencijaciju i/ili detoksikaciju polutanata koji su prisutni u zemljištu. Ova metoda se smatra najjeftinijom i najjednostavnijom za čišćenje zemljišta. Takođe se biljke mogu koristiti i za praćenje efekata remedijacije zemljišta. Ovo se odnosi na biljke sa velikim potencijalom za akumulaciju teških metala i radionukleida, ali kada se radi o hrani za ljudsku ishranu, ista može biti opasna ukoliko sadrži ove opasne materije. Mehanizmi fitoremedijacije:

- Fitostabilizacija – uključuje upotrebu biljaka koje sadrže ili imobilizuju zagađivače u zemljištu putem: adsorpcije i akumulacije putem korenovog sistema, adsorpcije na površinu korena, precipitaciju u zoni korena.

- Fitodegradacija/fitotransformacija – uključuje raspadanje zagađivača kroz: metaboličke procese (interno) i oslobađanje enzima u zemljište.

- Fitovolatilizacija - adsorpcija i transpiracija zagađivača u atmosferu pomoću biljke

- Rizodegradacija – raspadanje zagađivača u zemljištu zbog interakcije mikrobi/koren/zemljište

- Fitohidraulika – podrazumeva upotrebu biljaka za praćenje migracije zagađivača.

## 10. ZAKLJUČAK

Prisustvo registrovanih štetnih i opasnih materija (polutanata) u zemljištu zahteva kontinuirano praćenje

sadržaja ovih materija u zemljištu imajući u vidu njihove ekotoksikološke karakteristike i dugoročno posmatrano moguće efekte na zdravlje ljudi.

Problem zagađenja zemljišta opasnim materijama svakim je danom sve prisutniji kako u svetu, tako i kod nas. Neželjeni incidenti koji donose ogromne štete životnoj sredini događaju se prilikom vađenja, transporta, obrade i skladištenja opasnih materija, prilikom intenzivne poljoprivredne proizvodnje, industrijskih incidenata ali i namernim delovanjem čoveka u toku ratnih uslova. Kako bi se sprečile neželjene posledice takvih zagađenja, potrebno je unapred pripremiti operativne planove u kojima će biti specificirani postupci odgovora na neželjeni incident. Pri tome je potrebno izabrati tehnologije koje neće još više ugroziti životnu sredinu, već će produkti remedijacije biti bezopasni za čoveka i njegovu okolinu.

## LITERATURA

- [1] Bobić V. Onečišćenje tla naftnim ugljikovodicima – bioobnova: mogućnosti, učinkovitost, iskustva. *Goriva i maziva*, 44, 1: 9-34., 2005
- [2] Committee on In Situ Bioremediation, Water Science and Technology Board, Commission on Engineering and Technical Systems, National Research Council. *In situ bioremediation: When Does It Work?.* National Academy Press: Washington., 1993
- [3] Haus F, German J, Junter GA. Primary biodegradability of mineral base oils in relation to their chemical and physical characteristics. *Chemosphere* 45, 983-990., 2001
- [4] Höhener P, Duwig C, Pasteris G, Kaufmann K, Dakhel N, Harms H. Biodegradation of petroleum hydrocarbon vapors: laboratory studies on rates and kinetics in unsaturated alluvial sand, *Journal of Contaminant Hydrology*, 66, 93–115, 2003.
- [5] Lee, E., Banks, M.K., Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: A microbial study. *Environ Sci and Health*, 28: 2187-2198, 1993
- [6] Marković DA, Đarmati ŠA, Gržetić IA, Veselinović DS., Fizičko-hemijski osnovi zaštite životne sredine, Izvori zagađivanja, posledice i zaštita. Univerzitet u Beogradu: Beograd, 1996
- [7] Matić-Besarabić S, Gojković M, Dudić V, Pantelić G, Tanasković M, Mandić M, Pajić D, Majstorović B, Milutinović M. Kvalitet životne sredine grada Beograda u 2004. godini. Regionalni centar za životnu sredinu, kancelarija u SCG. Beograd, 2004.
- [8] Rasulić G., Nafta i životna sredina. Zaštita, zagađivanje i remedijacija. Pro Pets: Beograd, 2007

- [9] Raičević V, Lalević B, Dabić D, Kiković D, Jovanović LJ, Nikšić M., Mikroorganizmi u bioremedijaciji zemljišta i voda. *Zaštita materijala*; 48(2):49-52., 2007
- [10] Rittmann, B.E., Mccarty, P.L. *Environmental biotechnology: Principles and applications*. New York: McGraw-Hill, 2001
- [11] Vrvic M. Remedijacija: stanje-očekivanja-izazovi, Zbornik radova II Medjunarodna naučna konferencija "Remedijacija, stanje i perspective u zaštiti životne sredine". Privredna komora Srbije - Odbor za zaštitu životne sredine i održivi razvoj: Beograd, XI-XX, 2008.

## ABSTRACT

### BIOREMEDIATION IN TREATMENT OF CONTAMINATED SOILS

*This paper describes usage of bioremediation, conditions for its applicability as well as the restricting factors. Bioremediation is basically a process which represents the ability of microorganisms to decompose different dangerous contaminants, and it has an increasingly key role in detoxification of contaminated soil and groundwater. These processes are getting their place owing to capacity of enzyme metabolism of microorganisms to transform organic contaminants into pollutants and less dangerous compounds. But, we shouldn't forget that this method cannot always be applied. Among the available options for purification of contaminated soils, bioremediation is the best because it is less disturbing to environment and from the economic point of view-it costs less.*

**Key words:** soil, contamination, bioremediation, microorganisms