

## BIOINŽINJERSKE TEHNOLOGIJE U FUNKCIJI REMEDIJACIJE KONTAMINIRANOG ZEMLJIŠTA U AKCIDENTNIM SITUACIJAMA

**Akademik prof. dr Rade Biočanin, email: [rbiocanin@np.ac.rs](mailto:rbiocanin@np.ac.rs)**

**Mirsad Imamović, MA, email: [imenager@iu-travnik.com](mailto:imenager@iu-travnik.com)**

**Mubina Čolaković**

Internacionalni univerzitet Travnik u Travniku, Bosna i Hercegovina

**Rezime:** Bioindikatori prikazuju realna način upravljanja lokalitetima, na kojima je potvrđeno prisustvo opasnih zagađivača, posebno u vanrednim situacijama. Indikatorom se prati napredovanje u upravljanju ugroženim lokalitetima kroz praćenje glavnih opasnih polutanata, koji utiču na kvalitet zemljišta i podzemnih voda, kroz realizovanje procesa sanacije i remedijacije. Kontaminacija zemljišta nastaje kao rezultat ekscesnog ispuštanja opasnih materija i njihovog „miješanja“ sa supstancama koje su prirodno prisutne u zemljištu. Bioremedijacija je u suštini proces koji predstavlja sposobnost mikroorganizama da razlažu različite opasne materije, te ima rastuću ključnu ulogu u prečišćavanju kontaminiranog zemljišta i podzemnih voda. Ovi procesi dobijaju svoje mjesto zahvaljujući kapacitetu enzimskog metabolizma mikroorganizama da transformišu organske zagađivače u polutante i manje opasna jedinjenja. Među raspoloživim opcijama za prečišćavanje zemljišta, bioremedijacija je najbolja zato što najmanje remeti životnu sredinu i sa ekonomski tačke gledišta - manje košta. Odlaganje otpada na neadekvatno opremljenim deponijama predstavlja potencijalnu prijetnju po zagađenje životne sredine. Deponije otpada mogu da naruše kvalitet okolnog zemljišta, površinskih i podzemnih voda za duži vremenski period.

**Ključne riječi:** zemljište, akcidenti, kontaminacija, opasan otpad, bioinženjerstvo, remedijacija, mikroorganizmi, eko-bezbednost, održivi razvoj

## BIOENGINEERING TECHNOLOGIES IN FUNCTION REMEDIATE CONTAMINATED SOIL AND ACCIDENTS SITUATIONS

**Abstract:** Bioindicators show the real way to manage sites on which confirmed the presence of dangerous pollutants, especially in emergency situations. Indicator to monitor the progress in the management of endangered sites by monitoring major hazardous pollutants that affect the quality of soil and groundwater through the implementation of process improvement and remediation. Contamination of soil is the result of excessive release of hazardous substances and their "mixing" with the substances that are naturally present in soil. 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. Soil contamination occurs as a result of excessive discharge of hazardous substances and their "mixing" with substances that are naturally present in the soil. Disposal of waste to inadequately equipped landfills poses a potential threat to pollution of environment. Waste dumps can impair the quality of surrounding land, surface and underground water. Waste landfills can impair the quality of the surrounding land, surface and ground water for a longer period of time.

**Key words:** land, accidents, contamination, hazardous waste, bioengineering, remediation, microorganisms, ecological safety, sustainable development

## Uvod

Opstanak čoveka neposredno je uslovljen očuvanjem prirodnih resursa planete Zemlje, čija je osnova ukupna biološka raznovrsnost živog sveta. Stoga je u savremenim strategijama razvoja uvršten koncept zaštite i očuvanja zemljišta i biodiverziteta, odnosno planiranje privrednog i opšte-društvenog razvoja, uz racionalno korišćenje resursa i očuvanje prirode i životne sredine. Ovakav pristup razvoju ustanovljen je i Konvencijom o biodiverzitetu, koja je usvojena 1992. godine u Rio de Žaneiru (Brazil).

Intenzivna urbanizacija, razvoj industrije, saobraćaj, ratna razaranja, NHB akcidenti, NHB terorizam i poljoprivredne delatnosti dovode do prekomernog zagađivanja/kontaminacije 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 za duži vremenski period.

U vanrednim situacijama, kontaminacija zemljišta nastaje kao rezultat nekontrolisanog ispuštanja i mešanja čvrstih ili tečnih opasnih supstanci sa jedinjenjima tj. smešama, koje su prirodno prisutne u zemljištu. Lokacije kontaminirane određenim zagađujućim materijama, zahtevaju remedijaciju. Prema US EPA (United States Environmental Protection Agency), postupku primene određene tehnologije remedijacije prethodi identifikacija prisutnih zagađujućih materija i procena njihovog uticaja na zdravlje ljudi i životnu sredinu. Nakon identifikacije i procene uticaja zagađujućih materija, sledi postupak tretmana ili uklanjanja kontaminiranog medijuma.

Izvori zagađenja/kontaminacije zemljišta se ukratko mogu sagledati na sledeći način: zagađenje zemljišta poreklom iz otpadnih voda, zagađenje zemljišta poreklom iz atmosfere i zagađenje zemljišta čvrstim otpadnim materijalom poreklom iz privrede, domaćinstva, poljoprivrede, vojnih poligona i dr.

Za sprovođenje remedijacije zagađenog zemljišta koristi se širok spektar tehnologija, sa ciljem da se prisutne zagađujuće materije potpuno uklone sa lokacije i/ili da se tretiraju do nivoa kada više neće predstavljati pretnju po zdravlje ljudi i životnu sredinu. Po podacima iz Izveštaja o stanju zemljišta u Srbiji, na području Republike identifikованo je 375 lokaliteta na kojima je zagađenje zemljišta potvrđeno laboratorijskim analizama zemljišta i podzemnih voda u neposrednoj blizini lokalizovanih izvora zagađenja i prisutno je u dužem vremenskom periodu. U identifikovanim lokalitetima najveći procenat čine deponije komunalnog otpada, koje su u većoj ili manjoj meri neuređene i na kojima, zbog njihove specifičnosti, nisu vršena istraživanja da bi se procenio uticaj na zagađenje okолног zemljišta i podzemnih voda.

## 1. Aktivnost remedijacije

Zemljišta se međusobno razlikuju po kapacitetu za zadržavanje teških metala. Gledano sa aspekta vodenih ekosistema, velika količina teških metala se kumuluje i detektuje naročito na ušćima reka i na obalama mora i okeana. Poreklo teških metala u prirodnim zemljištima potiče isključivo iz litosfere. Izvori mineralnog dela zemljišta su stene i minerali koji sačinjavaju Zemljinu koru. Osam elemenata (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg) čini 98,59% Zemljine kore a svi ostali 1,41%. Zbog toga sadržaj elemenata u zemljištu zavisi od sadržaja u stenama iz kojih je proistekao matični supstrat. Koncentracija teških metala, kao što su Co, Cr, Mn, Ni i V zavise od prirodnog sastava zemljišta.

Remedijacija zemljišta je mera sanacije postojeceg zagađenja/kontaminacije zemljišta u cilju snižavanja koncentracije zagađujućih materija do nivoa, koji ne predstavlja opasnost po životnu sredinu, zdravlje ljudi i kvalitet života.

Bioremedijacija je skup postupaka za remedijaciju zemljišta uz primenu bioloških agenasa, pre svega. U užem smislu pod bioremedijacijom se smatra remedijacija uz pomoć mikroorganizama, a u širem smislu uz pomoć biljaka (fitoremedijacija). Može obuhvatiti mikrobiološku degadaciju 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.).

Cilj remedijacionog procesa je da se spriči širenje zagađenja zbog prodiranja u podzemnu vodu, uloženja opasnih materija u lanac ishrane i slično. Koja varijanta čišćenja će se primeniti zavisi od vrste zagađenja, prirode terena i dr. Aktivnosti na remedijaciji se izvode kroz sledeće faze:

- istraživanja u cilju identifikacije vrste i obima zagađenja,
- izrada modela disperzije zagađujuće materije u prirodnoj sredini,
- laboratorijski pilot testovi remedijacije,
- terenski pilot testovi remedijacije,
- izvođenje remedijacije uz kontrolna uzorkovanja i merenja.

Pre izbora tehnologije remedijacije potrebno je sačiniti plan aktivnosti koji sadrži:

- procenu zagađenosti objekta (karakterizacija objekta) i identifikaciju tehnologija remedijacije;
- detaljnu studiju izvodljivosti i identifikaciju alternativa za aktivnosti;
- primenu izabranih tehnologija uz praćenje postignutih rezultata (monitoring).

## 2. Metode remedijacije

Veoma je poželjno upotrebiti odgovarajući remedijacioni proces za kontaminirano zemljište. Iskopavanje i odlaganje zemljišta se više ne smatra trajnim rešenjem. Potražnja za tehnikama tretmana zemljišta stalno raste i razvoj novih, niskobudžetnih, efikasnih, nezagađujućih za životnu sredinu remedijacionih tehnika je postao jedan od ključnih istraživačkih aktivnosti u nauci o životnoj sredini i u tehnologiji. Pri odabiru metode remedijacije zemljišta koja će najviše odgovarati, veoma je bitno da se uzmu u obzir karakteristike zemljišta i kontaminanata. Do sada su predloženi različiti pristupi za remedijaciju zemljišta koje je kontaminirano metalima.

Toksični metali i drugi kontaminanti se mogu izolovati da bi se spričila njihova dalja migracija, slivanjem kroz zemljište ili erozijom zemljišta. Manje, ali uglavnom više kontaminirane, čestice zemljišta mogu biti izdvojene od ostatka zemljišta različitim tehnikama separacije koje su se razvile.

Jedna od metoda obuhvata korišćenje hidrociklona koji razdvajaju veće čestice od manjih korišćenjem centrifugalne sile, a koriste se i separacione tehnike tečno-čvrsto, kao što je gravimetrijsko taloženje i flotacija. Neke od metoda imobilizacije kontaminanata su stabilizacija i solidifikacija, vitrifikacija itd., a od metoda separacije su elektrokinetička ekstrakcija, fitoekstrakcija, pranje zemljišta itd.

Neke od ovih tehnika, kao što je ispiranje zemljišta korišćenjem čestica za separaciju i hemijska ekstrakcija uz pomoć vodenog rastvora surfakanata i uz pomoć mineralnih kiselina, su najviše u upotrebi, dok se tehnologija ispiranja zemljišta pomoću helata, nalazi u fazi razvoja. Takođe, u fazi razvoja je i fitoekstrakcija poboljšana helatima i unapređena elektrokinetička ekstrakcija.

Dve osnovne metode remedijacije su:

- 1) In situ metoda vrši se na samoj lokaciji zagađenja;

- 2) Ex situ metoda podrazumeva iskopavanje i transport na prethodno pripremljenu lokaciju.

U zavisnosti od mesta izvođenja, bioremedijacione tehnologije se dele na dve podvrste: in situ i ex situ bioremedijacione tehnologije. *In situ* bioremedijacione tehnologije se izvode direktno na mestu kontaminacije, dok se kod ex situ bioremedijacionih tehnologija kontaminirano zemljište uklanja sa mesta kontaminacije i transportuje na mesto obrade. In situ bioremedijacione tehnologije su znatno jeftinije od ex situ bioremedijacionih tehnologija, zato što omogućavaju tretman kontaminiranog zemljišta direktno na mestu kontaminacije, pri čemu se izbegavaju troškovi iskopavanja i transporta. In situ bioremedijacione tehnologije su veoma efikasne kad je pod površinsko zemljište veoma propustljivo, kad obuhvata zemljište koje se nalazi na dubinama maksimalno od 8-10 m i kada su podzemne vode prisutne na dubinama ispod 10 m.

Površinska obrada zemljišta predstavlja jednu veoma jednostavnu bioremedijacionu tehnologiju, koja se može primeniti i in situ i ex situ. Ova tehnologija se primenjuje za remedijaciju površinskog sloja zemljišta, a in situ se može primeniti ukoliko je kontaminacija plitka i ukoliko se ispod nje nalazi vodonepropusno tlo. Nakon dodavanja hranljivih supstanci površinski sloj zemljišta se povremeno prevrće radi aeracije i periodično kiasi radi očuvanja vlažnosti.

Kod ex situ bioremedijacionih tehnologija kontaminirano zemljište se iskopava i transportuje do mesta obrade koje je obloženo i pregrađeno tako da sprečava migraciju kontaminanata i ne postoji mogućnost da kontaminanti dospeju do podzemnih voda. Nezavisno od troškova iskopavanja i transportovanja kontaminiranog zemljišta, neophodno je obezbediti veliku površinu na kojoj će kontaminirano zemljište biti tretirano, što dodatno povećava troškove.

*Ex situ* bioremedijacione tehnologije omogućavaju mnogo bolju kontrolu temperature, koncentracije nutrijenta, sadržaja vlage i dostupnosti kiseonika u odnosu na in situ bioremedijacione tehnologije. Neke od najvažnijih ex situ bioremedijacionih tehnologija obuhvataju površinsku obradu zemljišta (landfarming), kompostiranje, uređene biološke gomile (halde) i bioreaktore. Površinska obrada zemljišta može se realizovati i ex situ postupkom.

Kontaminirano zemljište se iskopava, transportuje i raspodeljuje se tako da debljina sloja bude maksimalno 0,5 m, pošto je ova tehnologija ograničena na tretman površinskih 10-35 cm zemljišta. Naneto kontaminirano zemljište se povremeno prevrće pomoću poljoprivredne mehanizacije čime se omogućuje bolja aeracija. Tokom trajanja ovog postupka nutrijenti i vlažnost se kontrolisu kako bi se poboljšala bioremedijacija. Procedne tečnosti se skupljaju sistemom cevi. S obzirom na veliku ekonomičnost, usled smanjenih troškova nadgledanja i održavanja ova jednostavna ex situ bioremedijaciona tehnologija dobila je veliki značaj.

*Tabela 1. Teški metali, izvori i posledice kontaminacije*

TEŠKI METALI	IZVORI	POSLEDICE
Olovo	Jedinjenja olova koriste se kao aditivi za gorivo i boje.	Pad spoznajnih sposobnosti dece javlja se pri veoma niskim koncentracijama olova u krvi.
Živa	Koristi se u mernim instrumentima i aditivima.	Može da prodre u lanac ishrane; utiče na oboljenje bubrega i moždane aktivnosti.
Kadmijum	Koristi se u elektrogalvanizaciji i kao stabilizator za plastične materijale, kadmijumskim baterijama.	Akumulira se u površinskim slojevima zemljišta, ima kancerogene osobine, izaziva oštećenje bubrega; ostavlja posledice na floru i beskičmenjake u vodenim ekosistemima i zemljištu.
Arsen	Postoji u pesticidima, desikacijskim sredstvima i konzervansima za drvo, emituje se iz topionica metala i pri sagorevanju uglja.	Neorganski arsen je dokazani humani karcinogen, akumulira se u vodenim organizmima, prisutan je u vodi za piće usled zagađenja podzemnih voda.
Nikl	Koristi se za legure, veštačka vlakna, staklo, keramiku, elektroniku i u modernoj industriji nakita, emituje se pri sagorevanju goriva za zagrevanje i iz auspuha vozila.	Alergijske reakcije kože i rak kože.
Pesticidi (insekticidi i fungicide sadrže arsen, bakar, cink, živu itd.)	Različita hemijska jedinjenja koja se trenutno koriste kao insekticidi, fungicidi i herbicidi.	Opasnost za radnike i korisnike koji dolaze u kontakt sa pesticidima. Izazivaju direktni i indirektni uticaj na floru, faunu, zagađenje podzemnih voda i jezera. Visoko toksična jedinjenja, mogu da uzrokuju rak i alergijske reakcije.

### 3. Tehnologije remedijacije

U tehnologije remedijacije spadaju: biološka, hemijska, fizička i termička remedijacija. Kriterijumi pri izboru tehnologije su tip, vrsta i količina zagađujuće materije.

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 degadaciju i detoksifikaciju 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.).

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.

U poslednje vreme genetski inžinjering 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. U biološku remedijaciju tla se ubrajaju svi postupci u kojima se remedijacija obavlja uz pomoć mikroorganizama koji odstranjuju zagađujuću materiju. Ove postupke predstavljaju bioremedijacija, bioventilacija i fitoremedijacija.

Bioremedijacija je skup postupaka za remedijaciju uz primenu mikroorganizama (bakterije, gljivice, kvasci) u kojima se biološka degradacija odvija u njihovim stanicama, kroz resporpciju neke zagađujuće materije, gde se uz pomoć odgovarajućih enzima razgrađuju u metabolite. Bioremedijacija se može upotrebiti za razgradnju izlivene sirove nafte i kanalizacije, ugnjenih proizvoda (fenoli, cijanidi), hemikalija u poljoprivredi (pesticidi), razgradnju ugljenih proizvoda (fenoli, cijanidi), lož ulja itd.

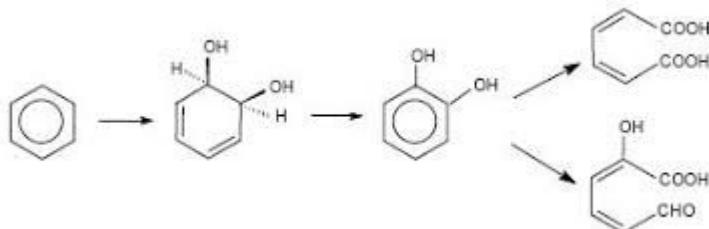
Bioventilacija je oblik bioremedijacije u kojem se koriste vazduh, kiseonik i ili metan. Ovim postupkom se ubrizgava vazduh u zonu kontaminiranog tla takvom brzinom, da se njegovim strujanjem pojača isparavanje organskih zagađujućih materija i istovremeno ostvare optimalni uslovi za aerobnu mikrobnu razgradnju isparljivih organskih jedinjenja. Tehnika bioventilacije se koristi za sanaciju tla kontaminiranog naftnim derivatima (benzin, kerozin, dizel i lož ulja).

Fitoremedijacije tzv. zelena tehnologija sanacije kontaminiranog tla, korišćenjem biljaka koje imaju sposobnost uklanjanja i razgradnje relativno velikog broja zagađujućih materija, posebno metala. Naime, biljke imaju sposobnost da akumuliraju iz tla one metale koji su suštinski važni za njihov rast i rasvoj (gvožđe, mangan, cink, bakar, nikl), a neke mogu da akumuliraju i teške metale (kadmijum, hrom, olovo, kobalt, srebro, selen, živa). S obzirom na njihovu toksičnost, preterana akumulacija u biljkama može imati negativan uticaj na životnu sredinu.

#### **4. Uslovi pod kojima se odvija bioremedijacija**

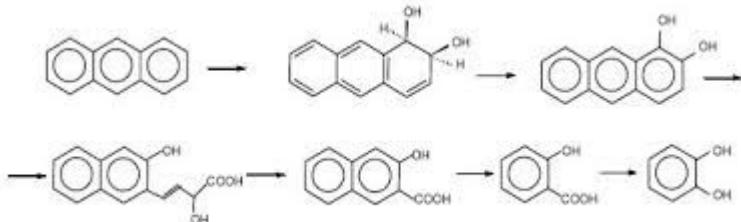
Zavisno od količine prisutnog kiseonika u zemljištu bioremedijacija se može odvijati pod aerobnim i anaerobnim uslovima.

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 ugljovodonika 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 benzena bakterijama započinje formiranjem cis-dihidrodiola, zatim sledi dehidrogenacija do katehola i potom dolazi do otvaranja prstena.



Slika 1. Biodegradacija benzena bakterijama

Kod PAH-ova prvo dolazi do dioksigenacije (antraceen prelazi u cis-1,2-dihidrodiol, fenantren u cis1,2- i cis-3,4-dihidrodiol, benz(a)antraceen u cis-1,2-, cis8,9- i cis-10,11-dihidrodiol itd. Potom nagrađeni dihidrodioli dehidrogenacijom daju catehole, zatim dolazi do otvaranja prstena i oksidativne degradacije produkata razgradnje. Policiklični aromatični ugljovodonici metabolitičkom aktivacijom ispoljavaju mutageni i karcinogeni biološki potencijal.



Slika 2. Biodegradacija antracena bakterijama

Anaeroban proces se odvija pod dejstvom anaerobnih mikroorganizama i on je toliko spor da je njegov značaj zanemarljiv. Ipak je ustavljeno da anaerobna razgradnja može uzeti maha nakon što je nafta prethodno bila izložena aerobnim mikroorganizmima. Pobuđivači anaerobne degradacije su najčešće sulforedukujuće bakterije.

## 6. Mikrobiološka zajednica

Da bi uklanjanje zagađenja bilo efikasno potrebno je obezbititi odgovarajuće naftnooksidajuće 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 autohtonu mikrofloru,

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 nafta imaju bakterije, među kojima dominiraju vrste iz rodova *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* i druge.

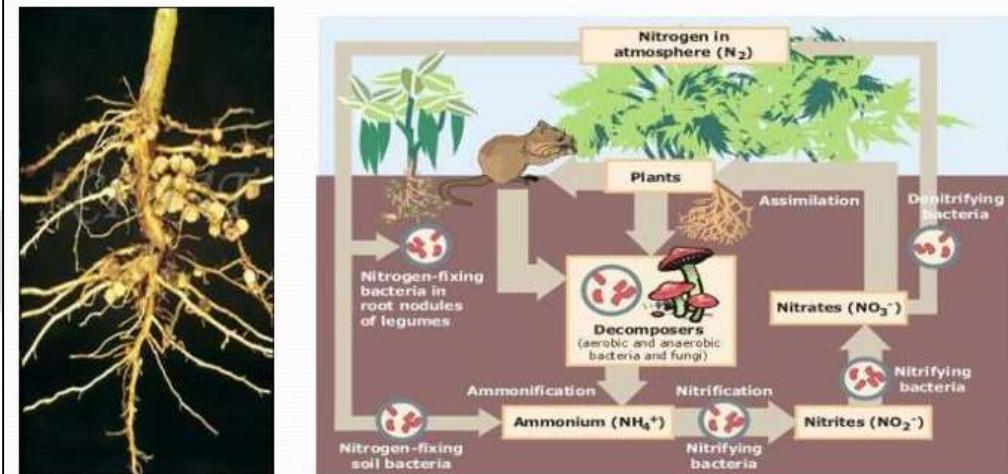
Nedostatak kataboličkog puta za biodegradaciju određenih ksenobiotika danas se prevazilazi tehnikama bioinženjeringu, jer biohemijski putevi mogu da evoluiraju. U tom smislu razmena genetičkih informacija između različitih vrsta i sojeva, putem plazmida, može znatno da ubrza ove procese. Tako je, na primer, primena genetičkih metoda rezultirala razvojem sojeva *Pseudomonasa* koji su sposobni da degradiraju širok niz hlorbenzoata i hlorfenola. Ukoliko je sproveden genetski inženjerинг mikroorganizama proces se naziva bioaugmentacija.

Bioremedijacija zavisi ne samo od vrste i koncentracije zagađenja i prisutne mikrobiološke zajednice, već i od hidrogeohemijskih karakteristika zemljišta.

*Tabela 2. Primeri hemikalija i mikroorganizama koji ih sintetišu*

Hemikalije	Mikroorganizmi
hlorovani alkeni	Xanthobacter sp.
fluoranten (FA)	Cunninghamella elegans
p-krezol	Trametes versicolor
fenolni spojevi	Rhizoctonia praticola
aromatski ugljovodonici	Pseudomonas aeruginosa UG2
paration	Pseudomonas stutzeri
DDT	Phanerochetae

Mikrobiološka azotofiksacija može biti slobodna (bakterije slobodno žive u zemljištu: aerobne i anaerobne) i simbolička (zajednica u kojoj više biljke, leguminoze obezbeđuju bakterijama ugljene hidrate za život, a bakterije biljkama obezbeđuju azotnu hranu).



*Slika 3. Mikrobiološka azotofiksacija - shematski prikaz delovanja*

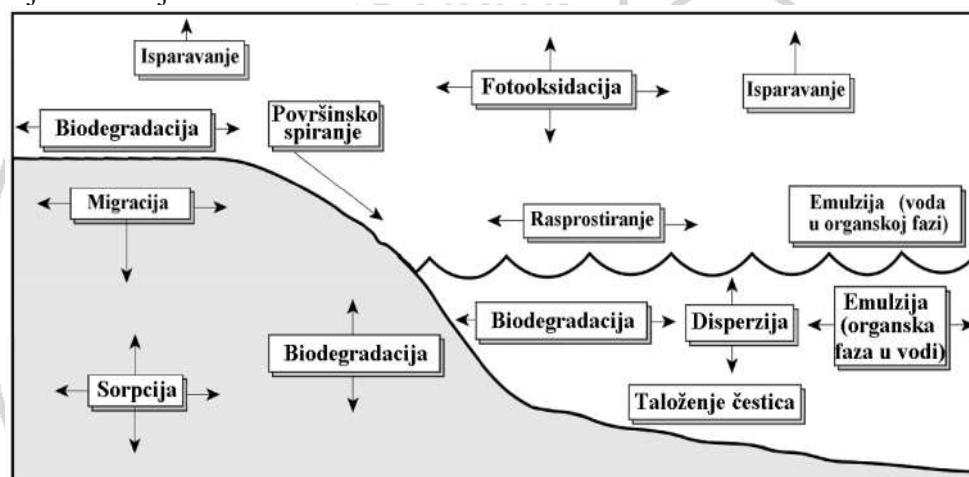
Intenzivna upotreba nitrata u poljoprivrednoj proizvodnji značajno povećava količinu nitrata u prirodi. Sami nitrati su relativno bezopasni, ali produkti nastali njihovom mikrobiološkom redukcijom izazivaju brojne lokalne i globalne probleme vezane za zagađenje životne sredine. Redukcija nitrata u hrani i stočnoj hrani zahteva posebnu pažnju. Sem direktnе toksičnosti, nitrit, uz katalitičko delovanje enzima mikroorganizama, može da reaguje sa sekundarnim aminima koji se nalaze u hrani pri čemu se formiraju N-nitrozoamini, snažni kancerogeni.

Mikrobiološka redukcija nitrata u anaerobni zemljištima i sedimentima dovodi ili do formiranja  $NH_4$  ili, pri niskim vrednosima pH, do izdvajanja  $N_2O$  i molekulskog azota. Vazdušnim strujanjima  $N_2O$  može da se podigne do stratosfere gde doprinosi oštećenju ozonskog sloja.

## 7. Bioremedijacija ekosistema zagađenih naftom

Nafta je smeša velikog broja ugljovodonika (90 – 95%). Ostatak čine 5 – 10 % jedinjenja azota, sumpora i kiseonika (NSO-jedinjenja) i elemenati u tragovima. Zahvaljujući instrumentalnim metodama organske analize do danas je u nafti identifikovano više od 10.000 različitih jedinjenja. Prosečan elementarni sastav nafte iznosi: 80,4 - 80,7% C, 9,6 - 13,8% H, 0 - 3,0% O, 0 - 5,0% S, 0 - 2,0% N. Sumpor je treći po zastupljenosti element u sirovoj nafti. Njegov ukupan sadržaj je najčešće niži od 1%, mada ima izuzetaka. Generalno, što je veća specifična gustina nafte, veći je sadržaj sumpora u njoj. Kiseonik je u naftama obično zastupljen manje od 2% i uglavnom je prisutan kao deo težih frakcija. Azot je uvek prisutan u svim sirovim naftama, ali je njegov sadržaj uglavnom niži od 0,1%

Slučajevi velikih ekoloških katastrofa (Bopal, Černobil, Meksički zaliv, Fokušima), progresivno pogoršanje kvaliteta vodenih ekosistema i uništavanje četinarskih šuma u Evropi i SAD-u) i druge akcidentne situacije, izazvane, pre svega, radom industrijskih postrojenja, doveli su do niza ekoloških problema, za čije riješavanje su angažovani stručnjaci iz različitih oblasti. Njihovi pokušaji, prvenstveno usmereni ka smanjenju toksičnih otpadnih materija, da li su doprinos razvoju bioremedijacionih tehnologija, kao jedne od mogućnosti za detoksifikaciju industrijskih efluenata.



Slika 4. Transformacije zagađivača naftnog tipa u životnoj sredini

Mikroorganizmi koji imaju sposobnost da degradiraju ugljovodonike poreklom iz nafte su široko rasprostranjeni u prirodnim ekosistemima. Degradacija nafte i njenih rezidua najčešće vrše bakterije iz rodova *Arhrobacter*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* i druge. Svi ovi mikroorganizmi na prisustvo ugljovodonika reaguju kako promenom brojnosti tako i funkcionalno. Brzina kojom zajednice mikroorganizama mogu da degradiraju rezidue nafte uglavnom zavise od stepena dostupnog kiseonika i količine nutritijenata, pre svega azota i fosfora.

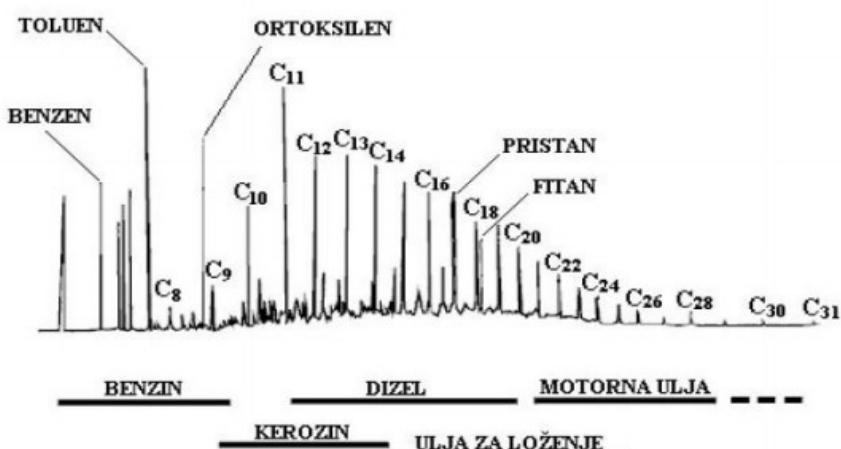
Bioremedijacija se koristi na mestima koja su kontaminirana ugljovodonicima poreklom iz podzemnih oštećenih tankova. U nekim slučajevima tretman je *in situ*, a u drugim se obavlja u bioreaktorima iznad zemlje. Tretmani idu od dodavanja kultura do dodavanja nutritijenata i oksigenacije.

Bioremedijacija je ekonomski isplativa, zelena tehnologija kojom se zagađujuće supstance biološkim putem transformišu u netoksična jedinjenja ili se potpuno razgrađuju do ugljen-dioksida i vode. U današnjim uslovima, u mnogim ekosistemima, koji su pod uticajem čovjeka degradirani, brojni mikroorganizmi, a pre svega bakterije, dobijaju svoju novu ekološku ulogu. Kao biološki agensi se najčešće koriste mikroorganizmi.

Da bi se povećala brzina biološke razgradnje bioremedijaciom se optimizuju uslovi za rast mikroorganizama prisutnih u ekosistemu aeracijom, dodavanjem hranjivih supstanci, najčešće soli azota i fosfora, a ako je potrebno i dodavanjem posebno pripremljenih kultura mikroorganizama.

Postoji niz različitih faktora koji ometaju uspešno uspostavljanje procesa bioremedijacije na zagađenom lokalitetu. 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.

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. Parcijalnom razgradnjom zagađenja mogu nastati nusproizvodi toksičniji od zagađenja.



Slika 5. Hromatogram koji pokazuje opsege ugljovodonika u naftnim derivatima

## Zaključak

Problem zagađenja/kontaminacije 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 incidenta 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.

Remedijacija u životnoj sredini je mera za sanaciju postojećeg zagađenja u cilju snižavanja koncentracije zagađujućih materija do nivoa, koji ne predstavlja opasnost po životnu sredinu. Intezivna 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.

U procesu bioremedijacije mogu učestovati autohtonii mikroorganizmi, koji su izolovani sa dottičnih kontaminiranih lokaliteta. Stimulisanje rasta autohtonih mikroorganizama postiže se obezbjeđivanjem odgovarajuće temperature, kiseonika i hranjivih materija. Ukoliko biološka aktivnost, potrebna za degradaciju pojedinih polutanata i kontaminanata, nije ustanovljena, kontaminiranim lokalitetima se dodaju kulture egzogenih mikroorganizama (prethodno uspješno testiranih na prisustvo različitih kontaminanata) izolovane sa drugih lokaliteta.

Cilj remedijacionog procesa je da se spreči širenje zagađenja zbog prodiranja u podzemnu vodu i ulazeњa opasnih materija u lanac ishrane. Koja varijanta čišćenja/dekontaminacije zemljišta će se primeniti zavisi od vrste zagađenja/kontaminacije i prirode terena, pre svega.

## Literatura

- [1] Biočanin R., Škrbić V. Ekološka bezbednost i održivi razvoj kao uslov za evropske integracije, NUBL, Banja Luka, 2011.
- [2] Biočanin R., Obhođaš S. Zagađivači životne sredine, Internacionaliuniverzitet u Travniku, Travnik, 2012.
- [3] Biočanin R. Zaštita životne sredine pri hemijskim udesima, VII Simpozijum o zaštiti bilja i Savetovanje o primeni pesticida sa međunarodnim učešćem, 25-29. novembar 2002. Zlatibor.
- [4] Bošković B. Pesticidi, toksikologija i terapija trovanja, Institut zaštite na radu, Beograd, 1995.
- [5] Biočanin R. *Quantification of influences on environment in quality system excellence*, VIII Balkan Conference on Operational research (BALCOR-2007), 14-17. September 2007. Belgrade-ZlatiborFavor, J. Risk estimation based on germ-cell mutations in animals. *Genome*, 1989.
- [6] Biočanin R., Badić M. Kovačević B. Multicriteria optimization of eco-safety in chemical accidents and the crisis managment, III Internacionale conference "SED-2010". 7-8. Oktober 2010. Uzice.
- [7] Biočanin R. Biohemija, FIMEK, Univerzitet Privredna akademija Novi Sad, Novi sad, 2018.
- [8] Đekić I. Upravljanje zaštitom životne sredine u proizvodnji hrane, Poljoprivredni fakultet Univerziteta Beograd, 2009.
- [9] Čomić Lj. Ekologija mikroorganizama, Prirodno-matematički fakultet Kragujevac, Kragujevac, 1999.
- [10] Marković D, Đarmati Š, Gržetić I, Veselinović D., Fizičkohemijski osnovi zaštite životne sredine, Izvori zagađivanja, posledice i zaštita. Univerzitet u Beogradu: Beograd, 1996.
- [11] М. Богдановић: Опасности од хемијских ацидената, Задужбина Андрејевић, Београд, 1999.
- [12] M. Manno , C. Viau, J. Cocker et al., "Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA)," Toxicology Letters, vol. 192, no. 1, pp. 3–16, 2010.
- [13] Novaković M. Uticaj bioremedijacionih uslova na biodegradaciju zasićenih i aromatičnih ugljovodonika u zagađivačima naftnog tipa, UNIVERSITY OF BELGRADE- FACULTY OF CHEMISTRY, Beograd, 2013.
- [14] Чворовић: Управљање ризицима у животној средини, Задужбина Андрејевић, Београд, 2005.

- [15] Kastori R. Teški metali u životnoj sredini, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 1997.
- [16] Кековић М. Држава, безбедност и животна средина, Задужбина Андрејевић, Београд, 1999.

