



Ispitivanje bioremedijacionog potencijala zimogenih i alohtonih mikroorganizama na sedimentu uzorkovanom iz kanala otpadnih voda industrijske zone Pančeva



Bioremediation potential of the zymogenous and allochthonous microorganisms on the sediment sampled from the the wastewater canal of Pančevo industrial area

Ognjen Krnjaja^{1,a}, Srđan Miletić², Mila Ilić², Gordana Gojgić-Cvijović², Vladimir P. Beškoski^{1,2,b}

¹Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija, ²Centar za hemiju-Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu, Srbija

^aognjenk@beotel.net, ^bvbeskoski@chem.bg.ac.rs

APSTRAKT

Bioremedijacija je metoda koja omogućava prečišćavanje svih sfera životne sredine kontaminirane zagađujućim supstancama. Cilj ovog rada bio je istraživanje Bioremedijacionog potencijala mikroorganizama koji razlažu ugljovodonike, radi njihove potencijalne primene u dekontaminaciji zagađenog sedimenta kanala otpadnih voda (KOV) industrijske zone Pančeva.

UVOD

Kao ispravan pristup problemu bioremedijacije kontaminiranih terena, nameće se potreba za izolovanjem mikroorganizama iz kontaminirane sredine, njihova selekcija, ispitivanje efekata promene sredine, kako fizičkog, tako i hemijskog tipa i optimizacija uslova u pogledu njihove efikasnosti i u pogledu razlaganja supstrata sa krajnjim ciljem definisanja postupka za njihovo ponovno vraćanje u kontaminiranu sredinu radi njenog izlječenja [1].

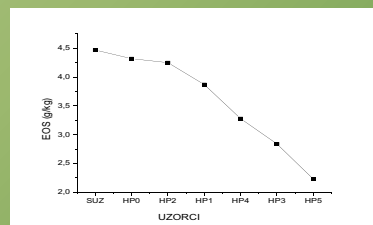
MATERIJAL I METODE

Uzorci sedimenta za mikrobiološko i hemijsko ispitivanje uzimani su iz Kanala otpadnih voda (KOV) južne industrijske zone Pančeva, mestu ulivanja otpadnih voda HIP Petrohemije (Slike 1, 2 I 3). Postavljeno je pet eksperimentacionih model sistema (28°C, 200 rpm, 30 dana) koji su sadržali uzorak sedimenta suspendovan u tečnoj mineralnoj podlozi (10% m/V) [2].

Smanjenje sadržaja zagađujućih ugljovodonika praćeno je kroz promenu grupnog sastava tj. maltena (alifatičnih, aromatičnih, masnih kiselina i NSO jedinjenja) i asfaltena, kao i sadržaja ukupne ekstrabilne organske supstance (EOS) nakon 30 dana fermentacije. Broj ukupnih aerobnih mezofilnih hemoorganoheterotrofnih bakterija (UBA) i mikroorganizama razlagača ugljovodonika (RUV) je analiziran 1, 15. i 30. dana fermentacije. Model sistem je analiziran nakon uzorkovanja (sirov uzorak-HP) i u nultom vremenu (HP0) a u cilju kontrole uticaja abiotičkih faktora na smanjenje koncentracije ugljovodonika, testiran je prethodno sterilisan model sistem (HP2). Analiziran je bioremedijacioni potencijal inokuluma ukupnih zimogenih mikroorganizama (HP4), inokuluma alohtonih razlagača ugljovodonika *Rhodococcus sp.* RNP05, *Pseudomonas sp.* NS22 (HP3) i inokuluma zimogenih sojeva *Pseudomonas sp.* KOV5, *Rhodococcus sp.* KOV17, *Bacillus sp.* KOV21, (HP5). Alohtoni (*Rhodococcus sp.* RNP05, *Pseudomonas sp.* NS22) i zimogeni sojevi (*Pseudomonas sp.* KOV5, *Rhodococcus sp.* KOV17, *Bacillus sp.* KOV21), su izolovani i okarakterisani sekvenciranjem 16S rRNA gena a selektovani su prema mogućnosti upotrebe alifatičnih, aromatičnih i policikličkih aromatičnih jedinjenja kao jedinog izvora C atoma.

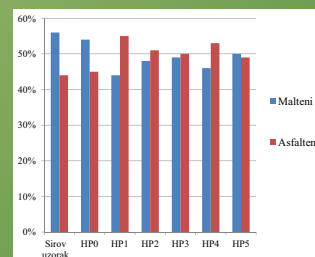
Broj UBA nakon 30 dana fermentacije bio je reda veličine 10⁶ u odnosu na red veličine 10⁵ na početku eksperimenta, odnosno broj RUV ja bio reda veličine 10⁶ nakon 30 dana u odnosu na red veličine 10⁴ na početku vermentacije. Svi podaci dati su u tabelama (Tabele 1-3).

Sadržaj ukupne EOS na početku je bio 4,5 g/kg u HP i 4,3 g/kg u HP0, a nakon 30 dana 4,2 g/kg u abiotičkoj HP2 kontroli, 3,8 g/kg u HP1 3,3 g/kg u HP4, 2,8 g/kg u HP3 i 2,2 g/kg u HP5. Rezultati ukazuju da je do smanjenja sadržaja organske supstance od više od 50% došlo u model sistemu inokulisanom. Biomason zimogenih sojeva razlagača ugljovodonika *Pseudomonas sp.* KOV5, *Rhodococcus sp.* KOV17, *Bacillus sp.* KOV21. Rezultati su prikazani na Slici 4.

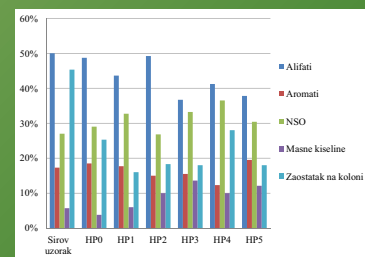


Slika 4. Smanjenje EOS tokom fermentacije

Osim smanjenja ukupne EOS pri fermentaciji je došlo i do promene u grupnom sastavu. Tokom fermentacije uočeno je smanjenje udela maltena uz srazmeran porast udela asfaltena u poređenju sa uzorcima HP i HP0. Udeo maltena bio je u sirovom uzorku 56%, u HP0 55%, u HP144 %, u HP2 48%, HP3 50%, HP4 46% i u HP5 50%. Rezultati su prikazani na Slici 5. Udeo alifatičnih ugljovodonika u uzorcima smanjen je da se istovremeno udeo NSO jedinjenja povećao. Taj trend je naročito izražen kod HP3 i kod HP5 gde je udeo alifata 37%, odnosno 38% u odnosu na 50% kod HP sirovog uzorka. Udeo NSO jedinjenja je sa 27% kod HP porastao na 33% kod HP3, na 30% kod HP5, do čak 36% kod HP4. Istovremeno, došlo je do promene u udelu aromatičnih jedinjenja i u povećanju udela masnih kiselina u uzorcima posle 30 dana eksperimenta. Udeo masnih kiselina je sa 6% kod sirovog uzorka porastao na 13% kod HP3 tj. na 12% kod HP5. Rezultati su prikazani na Slici 6.



Slika 5. Odnos asfaltena i maltena tokom fermentacije



Slika 6. Promena grupnog sastava tokom fermentacije

REZULTATI I DISKUSIJA

Nakon 30 dana fermentacije došlo je do vidnog povećanja broja UBA i RUV bakterija.

Tabela 1. Broj MO posle prvog dana

	UBA	RUV
HP1	1,35x10 ⁵	1,7x10 ⁴
HP3	>10 ⁶	1,6x10 ⁴
HP4	1,6x10 ⁵	1,4x10 ⁴
HP5	>10 ⁶	1,6x10 ⁴

Tabela 2. Broj MO posle 15-og dana

	UBA	RUV
HP1	1,54x10 ⁶	1,46x10 ⁵
HP3	4,2x10 ⁶	1,6x10 ⁵
HP4	1,34x10 ⁶	2,86x10 ⁵
HP5	2,65x10 ⁶	2,16x10 ⁵

Tabela 3. Broj MO posle 30-og dana

	UBA	RUV
HP1	1,6x10 ⁶	1,01x10 ⁶
HP3	8x10 ⁶	3,2x10 ⁶
HP4	2x10 ⁶	1,35x10 ⁶
HP5	3,85x10 ⁶	1,07x10 ⁶

ZAKLJUČAK

Rezultati dobijeni u eksperimentu, pokazuju da su najveći bioremedijacioni potencijal pokazali uzorci HP3 inokulisan alohtonim sojevima *Rhodococcus sp.* RNP05 i *Pseudomonas sp.* NS22 i HP5 inokulisan, zimogenim bakterijskim sojevima *Pseudomonas sp.* KOV5, *Rhodococcus sp.* KOV17, *Bacillus sp.* KOV21.

LITERATURA

- Singh, A., Ward, O.P., (Eds.) Biodegradation and Bioremediation, (2004), Springer, Berlin, Germany
- Beškoski, V.P., Takemine, S., Nakano, T., Slavković Beškoski, L., Gojgić Cvijović, G., Ilić, M., Miletić, S., Vrvčić, M.M., Chemosphere 91 (2013) 1408–1415