

Biodegradace polycyklických aromatických uhlovodíků v sedimentech

Ing. Lucie Nezvalová, Mgr. Eva Pertile, Ph.D., prof. Ing. Peter Fečko, CSc., doc. Ing. Vladimír Čablík, Ph.D.

Vysoká škola báňská – TU Ostrava, Fakulta Hornicko-geologická, Institut environmentálního inženýrství, Ostrava – Poruba,
lucie.nezvalova.st1@vsb.cz

Přijato: 28. 1. 2010, recenzováno (2 posudky): 19. 2. 2010

Abstrakt

V článku je řešena problematika procesu biodegradace polycyklických aromatických uhlovodíků v dnových sedimentech Černého příkopu. Byla studována účinnost degradace sumy polycyklických aromatických uhlovodíků pomocí aerobních bakterií *Pseudomonas putida* a *Rhodococcus* sp. Vyšší účinnosti procesu bylo dosaženo za použití kultury *Rhodococcus* sp.

Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments

The paper focuses on the PAH's biodegradation in sediments of Černý příkop river. PAH's biodegradation efficiency using aerobic bacteria *Pseudomonas putida* and *Rhodococcus* sp. was studied. *Rhodococcus* sp. exhibited higher biodegradation efficiency.

Biodegradation von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Sedimenten

Im Beitrag wird die Problematik des Prozesses von Biodegradation polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe in Sohlen-sedimenten des Schwarzen Grabens (Černý příkop) gelöst. Die Wirksamkeit der Degradation der Summe von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen wurde mithilfe der aeroben Bakterien *Pseudomonas putida* und *Rhodococcus* sp. studiert. Eine höhere Wirksamkeit wurde unter Anwendung der Kultur *Rhodococcus* sp. erreicht.

Klíčová slova: sedimenty Černého příkopu, *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus* sp., polycyklické aromatické uhlovodíky.

Keywords: sediments of Černý příkop, *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus* sp., polycyclic aromatic hydrocarbons.

1 Úvod

Vlivem lidské činnosti docházelo a neustále dochází k negativnímu ovlivňování všech složek životního prostředí. Ostravský region, obdobně jako Mostecko, patří mezi oblasti, které jsou charakteristické rozvinutým průmyslem. Z tohoto důvodu se v těchto oblastech vyskytuje značné znečištění organickými polutanty. [4] Typickým příkladem takového území je lokalita Černý příkop v Ostravě Mariánských Horách, do kterého jsou odváděny předčištěné odpadní vody z okolních průmyslových podniků, např.: koksovny J. Švermy a BorsodChem MCHZ, s.r.o. V této vodoteči se nachází vrstva dnových jílovito-písčitých sedimentů, ve kterých jsou mimo jiné ve vysokých koncentracích polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH). Z důvodu vysokých koncentrací PAH a rozsahu znečištění je důležité snížit jejich obsah v sedimentech. Jednou z možných metod je metoda biodegradace PAH v dnových sedimentech, za použití bakteriálních kultur *Rhodococcus* sp. a *Pseudomonas putida*.

Polycyklické aromatické uhlovodíky se řadí do skupiny persistentních organických polutantů (POP), které se vyznačují především vysokou stabilitou, a proto jsou z prostředí těžce odstranitelné. Z vědeckého, ale i z praktického hlediska je důležité se zabývat eliminací těchto sloučenin v životním prostředí. [5]

Navzdory relativně značné stabilitě aromatického jádra je prokázáno, že dochází k přirozené degradaci PAH. Při jejich degradaci platí, že pro daný kongener počáteční rychlost transformace roste při vyšší počáteční koncentraci a zároveň se snižuje s rostoucím počtem kondenzovaných jader v molekule. To znamená, že čím vyšší je počet kondenzovaných jader, tím je nižší biodegradovatelnost daného kongeneru PAH. Pokles je přitom podmíněn jak fyzikálně-chemickými vlastnostmi prostředí, tak i biochemickými neboli enzymově katalyzovanými reakcemi. [7]

Na biodegradaci se podílí řada půdních aerobních bakterií, které jsou schopné katalyzovat oxidaci látek molekulárním kyslíkem. I když je rychlost tohoto způsobu degradace nesrovnatelně nižší, než je tomu u fotochemického rozkladu, v důsledku vysoké afinity PAH k pevným částicím, tj. vysoké sorpční schopnosti, hrají půdní bakterie při přirozené degradaci PAH velmi důležitou roli. V literatuře byla popsána aktivita řady kmenů z bakteriálních rodů *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Rhizobium* aj., dále některých aktinomycet (r. *Nocardia*) a hub (r. *Saccharomyces*, *Cunninghamella* aj.). [3] Začlenění kyslíku do molekuly PAH probíhá různým mechanismem u prokaryot a eukaryot. Bakterie disponují dioxygenasami, kdežto eukaryota (tj. houby a vyšší živočichové) jsou vybavena souborem monooxygenas. [1]

Počáteční aktivace a oxidace PAH je katalyzována enzymy. Dále následuje enzymatická adice vody, a tím dochází ke vzniku fenolu nebo *trans*-dihydrodiolu. Některé bakterie produkují dioxygenasu, umožňující navázat dva atomy kyslíku na substrát. Jako meziprodukt pak vzniká *cis*-dihydrodiol. Počáteční oxidace benzenového jádra PAH je časově nejnáročnější, po ní už degradační proces pokračuje relativně rychle a je provázen pouze malou akumulací meziproduktů. Ačkoli se počáteční reakce katalyzované různými oxygenasami liší, tj. vznikají různé produkty (*cis*-dihydrodiol, fenol nebo *trans*-dihydrodiol), dalšími biochemickými reakcemi už vzniká jen několik produktů. Nejčastější z těchto produktů je katechol. Tyto metabolity jsou dále degradovány pěti způsoby, při kterých se jádro štěpí a vznikne jedna z následujících kyselin: jantarová, fumarová, pyrohroznová, octová nebo acetaldehyd. Tyto výsledné produkty jsou mikrobiální buňkou využity k syntéze buněčných proteinů doprovázené uvolněním energie, CO₂ a H₂O. [1,6]

2 Experimentální část

V roce 2008 byl na lokalitě Černý příkop odebrán směsný vzorek dnových sedimentů. Černý příkop (obrázek č. 1) se nachází na území města Ostravy, v městské části Mariánské Hory, Moravská Ostrava a Přívoz. Jedná se o uměle vybudovanou vodoteč z roku 1952, která sloužila pro odvodnění stanoviště koksovy Jana Švermy a také plnila požadavek na vypouštění odpadních vod z okolních průmyslových podniků. Černý příkop protéká souběžně s korytem řeky Odry. [2] Tato lokalita patří mezi jednu z nejvíce znečištěných lokalit na území města Ostravy.

Odběr vzorku dnových sedimentů byl proveden v souladu s požadavky normy ČSN ISO 56 67-12 Jakost vod – odběr vzorků – část 12: Pokyny pro odběr vzorků dnových sedimentů. Okamžitě po odběru byly vzorky převezeny do laboratoře Institutu environmentálního inženýrství VŠB-TU Ostrava, kde byly dále zpracovány. Po homogenizaci bylo provedeno zjištění obsahu sušiny ve vzorku na analyzátoru vlhkosti Denver instrument IR-30. Zjištění hmotnostního podílu sušiny ve vzorku bylo důležité pro určení přesného množství vlhkého vzorku, který se používal při biodegradaci v laboratorních podmínkách. Dále byl připraven vzorek pro vstupní analýzu pro zjištění koncentrací jednotlivých kongenerů PAH a to: antracenu (ANT), naftalenu (NAP), benzo[*a*]antracenu (BaA), benzo[*a*]pyrenu (BaP), benzo[*b*]fluoranthenu (BbF), benzo[*ghi*]perylenu (BgP), benzo[*k*]fluoranthenu (BkF), fluoranthenu (FLT), fenanthrenu (PHE), chrysenu (CHR), indeno[1,2,3-*cd*]pyrenu (INP) a pyrenu (PYR). Analýza vzorku byla provedena Centrem nanotechnologií vysokoškolského ústavu VŠB-TU Ostrava.

Pro výzkum procesu biodegradace byly použity dvě bakteriální kultury, jež byly získány v České sbírce mikroorganismů, která působí u Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně. První zvolenou bakteriální kulturou byla *Pseudomonas putida*, jedná se o gramnegativní, chemoorganotrofní, obligátně aerobní mikroorganismy s aerobně respiračním metabolismem. Jako druhá kultura byla použita grampozitivní, chemoorganotrofní, obligátně aerobní bakterie *Rhodococcus* sp. s aerobně respiračním metabolismem. Po zjištění hmotnostního podílu sušiny sedimentu byl ke 100 g sušiny přidán kultivační roztok M1 s čistou bakteriální kulturou (v případě degradace za



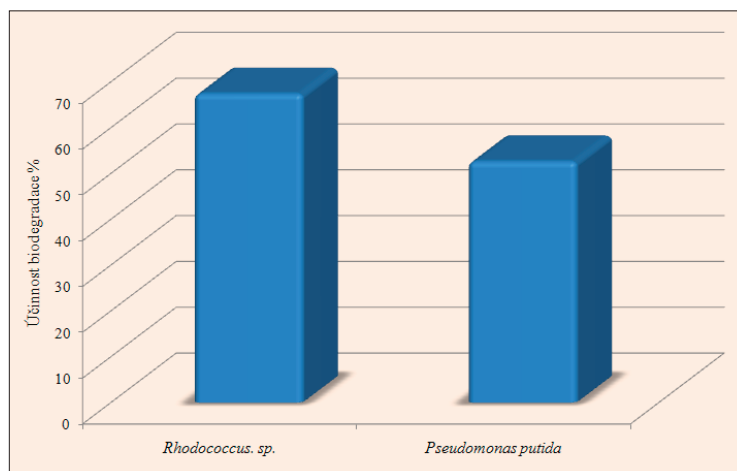
Obr. 1: Lokalita Černý příkop.

použití čistých bakteriálních kultur *Pseudomonas putida*) a roztok M96 včetně bakterií (při degradaci pomocí bakteriální kultury *Rhodococcus* sp.). Pro zajištění optimálních podmínek biodegradace bylo zapotřebí zajistit dostatečný přísun kyslíku. Délka procesu biodegradace v laboratorních podmínkách se odvíjí z počtu aromatických jader v jednotlivých analytech PAH. Laboratorní experiment probíhal při laboratorní teplotě a trval tři týdny, přičemž po deseti dnech a třech týdnech byl odebrán vzorek pro stanovení obsahu jednotlivých PAH.

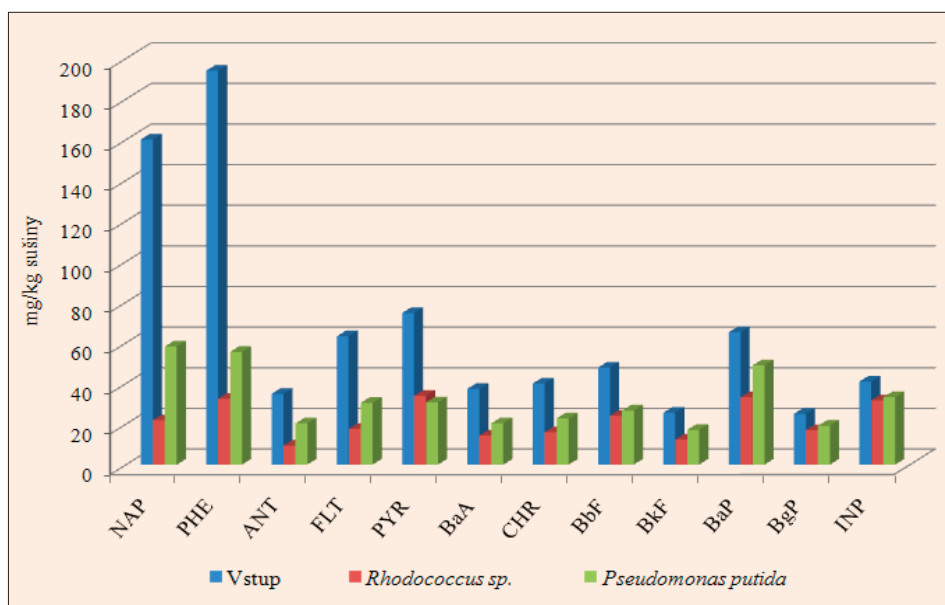
Vzhledem k tomu, že se vzrůstajícím počtem aromatických jader v molekule PAH se zvyšuje také čas potřebný pro jejich degradaci, byl během laboratorního experimentu sledován rovněž průběh degradace jednotlivých kongenerů PAH.

3 Výsledky procesu biodegradace

Na základě výsledků analýz byla zjištěna účinnost procesu biodegradace pro jednotlivé bakteriální kultury. Bylo prokázáno, že pro degradaci PAH z dnových sedimentů je vhodnější použít kulturu *Rhodococcus* sp., pomocí níž bylo dosaženo vyšší účinnosti biodegradace. Konkrétně po třech týdnech bylo dosaženo účinnosti 67,44 %, zatímco u bakteriální kultury *Pseudomonas putida* byla účinnost jen 52,62 % (obrázek č. 2).



Obr. 2: Srovnání účinnosti biodegradace při použití bakteriálních kultur *Pseudomonas putida* a *Rhodococcus* sp.



Obr. 3: Průběh odbourávání jednotlivých kongenerů PAH.

4 Závěr

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že použité bakteriální kultury lze použít pro účely biodegradace PAH. V současné době probíhá v rámci řešení projektu GA ČR 105/09/H014 optimalizace procesu a studium dalších bakteriálních kultur a jejich směsí.

Literatura

- [1] BRENER, V. Biodegradace persistentních xenobiotik. In HALOUSKOVÁ, Olga (ed.). *Biodegradace VI: sborník konference: 5.-6.3.2003, hotel Jezerka, Seč-Ústupy*. Chrudim: Vodní zdroje Ekomonitor, 2003. s. 45-47. ISBN 80-903203-2-5.
- [2] BROSCHE, O. *Povodí Odry*. Nakladatelství ANAGRAM s.r.o., Ostrava, 2005. 323 s. ISBN 80-7342-048-1.
- [3] FEČKO, P. aj. *Environmentální biotechnologie*. Ostrava: VŠB – Technická univerzita Ostrava, 2004. 180s. ISBN 80-248-0700-9.
- [4] Národní implementační plán Stockholmské úmluvy o persistentních organických polutantech. Brno: 2006 [cit. 8-1-2009]. Dostupný na WWW: <http://www.recetox.muni.cz/sources/unido_NIP/Anex_01.pdf>.
- [5] Národní implementační plán Stockholmské úmluvy o persistentních organických polutantech. Brno: 2006 [cit. 8-1-2009]. Dostupný na WWW: <http://www.recetox.muni.cz/sources/unido_NIP/Anex_06.pdf>.
- [6] RACLAVSKÁ, Helena. *Znečištění zemin a metody jejich dekontaminace*. Ostrava: VŠB – Technická univerzita Ostrava, 1998. ISBN 80-7078-508-X.
- [7] RACLAVSKÝ, K.; RACLAVSKÁ H.; MATÝSEK D. *Ochrana půd* [CD-ROM]. Ostrava: VŠB – Technická univerzita Ostrava, 2002.

Aktuality

Poptávková a výběrová řízení Skupiny Czech Coal jsou od ledna na internetu

Společnost Czech Coal Services a. s. ze skupiny Czech Coal od 1. ledna 2010 zveřejňuje na webových stránkách skupiny www.czechcoal.cz seznam všech vyhlašovaných poptávkových a výběrových řízení. Cílem je maximální otevřenost soutěže,

poskytnutí rovných šancí všem uchazečům a zvýšení transparentnosti procesu výběru. Většina poptávkových řízení bude realizována elektronicky v aplikaci Proebiz.

(red)