



Srpsko hemijsko društvo  
Serbian Chemical Society



Sekcija za hemiju i zaštitu životne sredine  
Chemistry and Environmental Protection Division



**6. simpozijum**  
**Hemija i zaštita**  
**životne sredine**  
**EnviroChem 2013**

sa međunarodnim učešćem

*6<sup>th</sup> Symposium*  
**Chemistry and Environmental**  
**Protection EnviroChem 2013**  
*with international participation*

**KNJIGA IZVODA**  
**BOOK OF ABSTRACTS**

Vršac, Srbija  
21 - 24. maj 2013.

**6. simpozijum**  
**Hemija i zaštita životne sredine**  
sa međunarodnim učešćem

---

**6<sup>th</sup> Symposium**  
***Chemistry and Environmental Protection***  
*with international participation*

**KNJIGA IZVODA**  
**BOOK OF ABSTRACTS**

*Vršac, Srbija*  
*21 - 24. maj 2013.*

**Naslov**

*Title*

**KNJIGA IZVODA**

**6. simpozijum Hemija i zaštita životne sredine**

**BOOK OF ABSTRACTS**

*6<sup>th</sup> Symposium Chemistry and Environmental Protection*

**Izdavač**

*Publisher*

**Srpsko hemijsko društvo**

**Karnegijeva 4/III, Beograd, Srbija**

*The Serbian chemical society*

*Karnegijeva 4/III, Beograd, Srbija*

**Za izdavača**  
*For the publisher*

**Živoslav Tešić, predsednik Društva**

*Živoslav Tešić, president of the Society*

**Urednici**

*Editors*

**Ivan Gržetić, Bojan Radak, Vladimir P. Beškoski**

**Tehnički urednik**  
*Technical assistance*

**Dubravka Milovanović**

**Prelom i priprema**  
*Design and prepress*

**Atelje, Beograd**

**www.atelje.rs**

**Štampa**  
*Printed by*

**Dosije studio, Beograd**

**www.dosije.rs**

**Tiraž**  
*Circulation*

**200 primeraka**

*200 copies*

**ISBN**

**978-86-7132-052-8**

©copyright by SHD

This publication was prepared within the TEMPUS project "Modernisation of Post-Graduated Studies in Chemistry and Chemistry Related Programmes" (www.tempus-mchem.ac.rs) funded with support from the European Commission.

This publication reflects the views only of the author, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

## 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<sup>1,a</sup>, Srđan Miletic<sup>2</sup>, Mila Ilić<sup>2</sup>,  
Gordana Gojgić-Cvijović<sup>2</sup>, Vladimir P. Beškoski<sup>1,2,b</sup>

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

<sup>2</sup>Centar za hemiju-Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu, Srbija

<sup>a</sup>ognjenk@beotel.net, <sup>b</sup>vbeskoski@chem.bg.ac.rs

#### Uvod

Bioremedijacija je metoda koja omogućava prečišćavanje svih sfera životne sredine kontaminirane najrazličitijim zagađujućim supstancama [1]. Cilj ovog rada bio je istraživanje bioremedijacionog potencijala mikroorganizama koji razlažu ugljovodonike, radi njihove potencijalne primene u dekontaminaciji sedimenta kanala otpadnih voda (KOV) industrijske zone Pančeva [2].

#### Materijal i metode

Bioremedijacioni potencijal zimogenih (izolovanih iz sedimenta KOV) i alohtonih mikroorganizama (izolovanih sa drugih lokacija kontaminiranih ugljovodonocima) je proučavan na uzorku sedimenta uzorkovanom na mestu ulivanja otpadnih voda HIP Petrohemije. Eksperimentalni fermentacioni model sistemi (28°C, 200 rpm, 30 dana) su sadržali uzorak sedimenta suspendovan u tečnoj mineralnoj podlozi (10% m/V).

Smanjenje sadržaja zagađujućih ugljovodonika praćeno je kroz promenu sadržaja ukupne ekstrabilne organske supstance (EOS) kao i promenu grupnog sastava tj. maltena (alifatičnih, aromatičnih, masnih kiselina i NSO jedinjenja) i asfaltena. Broj ukupnih aerobnih mezofilnih hemoorganoheterotrofnih bakterija (UBA) i mikroorganizama razlagača ugljovodonika (RUV) je analiziran 1, 15. i 30. dana fermentacije. HP0 je model sistem analiziran u nultom vremenu. U cilju kontrole uticaja abiotičkih faktora na smanjenje koncentracije ugljovodonika, analiziran je i prethodno sterilisan model sistem (HP1). Ispitivan je bioremedijacioni potencijal inokuluma alohtonih razlagača ugljovodonika *Rhodococcus sp.* RNP05, *Pseudomonas sp.* NS009 (HP2), inokuluma zimogenih sojeva *Pseudomonas sp.* CH-KOV5, *Rhodococcus sp.* CH-KOV17, *Bacillus sp.* CH-KOV21, (HP3) i inokuluma ukupnih zimogenih mikroorganizama (HP4).

Alohtoni (*Rhodococcus sp.* RNP05, *Pseudomonas sp.* NS009) i zimogeni sojevi (*Pseudomonas sp.* CH-KOV5, *Rhodococcus sp.* CH-KOV17, *Bacillus sp.*

CH-KOV21) su izolovani i okarakterisani sekvenciranjem 16SrRNK gena a selektovani su prema mogućnosti upotrebe alifatičnih, aromatičnih i policikličnih aromatičnih jedinjenja kao jedinog izvora C atoma.

### Rezultati i diskusija

Broj UBA nakon 30 dana fermentacije bio je u opsegu  $10^5$  -  $10^6$ , odnosno  $10^4$  -  $10^6$  RUV bakterija. U inokulisanim uzorcima HP2-HP4 udeo RUV u UBA je iznosio više od 90% što ukazuje da je ta frakcija mikroorganizama bila dominantna tokom fermentacije.

Sadržaj ukupne EOS u uzorku HP0 je bio 4,5 g/kg, a nakon 30 dana 4,2 g/kg u sterilnoj HP1 kontroli, 2,8 g/kg u HP2, 2,2 g/kg u HP3 i 3,3 g/kg u HP4. Rezultati ukazuju da je do smanjenja sadržaja organske supstance od više od 50% došlo u model sistemu inokulisanom biomasom zimogenih sojeva razlagača ugljovodonika HP3.

Osim smanjenja ukupne EOS pri fermentaciji je došlo i do kvantitativne i kvalitativne promene u grupnom sastavu. U poređenju sa uzorkom HP0 uočeno je smanjenje udela maltena uz srazmeran porast udela asfaltena u svim inokulisanim model sistemima. Najveća smanjenje maltenske frakcije sa početnih 55% na 46% zabeleženo je u uzorku HP4.

Udeo alifatičnih ugljovodonika u inokulisanim model sistemima je smanjen uz istovremeno povećanje udela NSO jedinjenja. Taj trend je naročito izražen kod uzoraka HP2 i HP3 gde je udeo alifatičnih ugljovodonika nakon 30 dana bio 37%, odnosno 38% u odnosu na početnih 50% kod HP0. 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 uzorka HP0 porastao na 13% kod HP2 tj. na 12% kod HP3, što ukazuje na intenzivne oksidacione procese.

### Zaključak

Rezultati dobijeni u eksperimentu, pokazuju da su najveći bioremedijacioni potencijal pokazali uzorci HP2 inokulisan alohtonim sojevima *Rhodococcus sp.* RNP05 i *Pseudomonas sp.* NS009 i HP3 inokulisan, zimogenim bakterijskim sojevima *Pseudomonas sp.* CH-KOV5, *Rhodococcus sp.* CH-KOV17, *Bacillus sp.* CH-KOV21.

### Zahvalnica

Istraživanje je finansirano od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije, projekat broj III43004.

### Literatura

1. Singh, A., Ward, O.P., (Eds.) Biodegradation and Bioremediation, (2004), Springer, Berlin, Germany
2. Beškoski, V.P., Takemine, S., Nakano, T., Slavković Beškoski, L., Gojgić-Cvijović, G., Ilić, M., Miletić, S., Vrvić, M.M., Chemosphere (2013) doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.12.079

---

CIP - Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије, Београд

**CIP**

54(048)  
502/504(048)  
577.1(048)  
66(048)

СИМПОЗИЈУМ Хемија и заштита животне средине  
са међународним учешћем (6 ; 2013 ; Вршац)

Књига izvoda = Book of Abstracts / 6.  
simpozijum Хемија и заштита животне средине  
sa међународним учешћем, Вршац, Србија,  
21-24. мај 2013. = 6th Symposium Chemistry  
and Environmental Protection with  
International Participation ; [urednici,  
editors Ivan Gržetić, Bojan Radak, Vladimir  
Bešković]. - Београд : Српско хемијско  
друштво = Serbian Chemical Society, 2013  
(Београд : Dosije studio). - 421 str. :  
ilustr. ; 24 cm

Tiraž 200. - Текст на срп. и енгл. језику. -  
Registar.

ISBN 978-86-7132-052-8

a) Хемија - Апстракти b) Животна средина  
- Заштита - Апстракти c) Биохемија -  
Апстракти d) Биотехнологија - Апстракти  
COBISS.SR-ID 198328844

---





Tempus



**Prethodni skupovi iz oblasti hemije i zaštite životne sredine**  
*Previous symposia on chemistry and environmental protection*

- 1985 • I Jugoslovenski simpozijum, Beograd
- 1993 • II Jugoslovenski simpozijum, Vrnjačka Banja
- 1995 • I Regional Symposium, Vrnjačka Banja
- 1998 • III Jugoslovenski simpozijum, Vrnjačka Banja
- 2001 • IV Jugoslovenski simpozijum, Zrenjanin
- 2003 • II Regional Symposium, Kruševac
- 2008 • V Simpozijum, planina Tara



ISBN 978-86-7132-052-8



9 788671 320528 >



# 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<sup>1,a</sup>, Srđan Miletić<sup>2</sup>, Mila Ilić<sup>2</sup>, Gordana Gojgić-Cvijović<sup>2</sup>, Vladimir P. Beškoski<sup>1,2,b</sup>

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

<sup>a</sup>ognjenk@beotel.net, <sup>b</sup>vbeskoski@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].

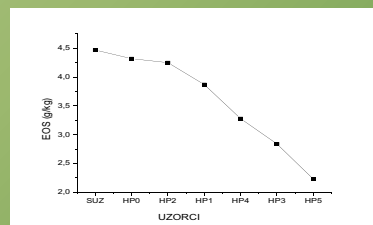
### MATERIJAL I METODE

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.

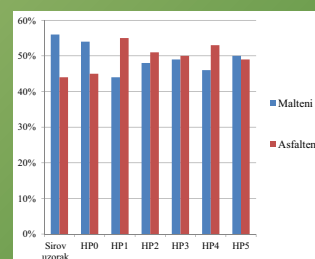
Broj UBA nakon 30 dana fermentacije bio je reda veličine 10<sup>6</sup> u odnosu na red veličine 10<sup>5</sup> na početku eksperimenta, odnosno broj RUV ja bio reda veličine 10<sup>6</sup> nakon 30 dana u odnosu na red veličine 10<sup>4</sup> na početku vermentacije. Svi podaci dati su u tabelama (Tabele 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.

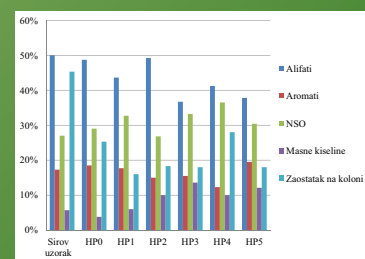


Slika 4. Smanjenje EOS tokom fermentacije

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



Slika 1. Lokacija KOV Pančevo



Slika 2. KOV Pančevo



Slika 3. Uzorkovanje

### 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 <sup>5</sup> | 1,7x10 <sup>4</sup> |
| HP3 | >10 <sup>6</sup>     | 1,6x10 <sup>4</sup> |
| HP4 | 1,6x10 <sup>5</sup>  | 1,4x10 <sup>4</sup> |
| HP5 | >10 <sup>6</sup>     | 1,6x10 <sup>4</sup> |

Tabela 2. Broj MO posle 15-og dana

|     | UBA                  | RUV                  |
|-----|----------------------|----------------------|
| HP1 | 1,54x10 <sup>6</sup> | 1,46x10 <sup>5</sup> |
| HP3 | 4,2x10 <sup>6</sup>  | 1,6x10 <sup>5</sup>  |
| HP4 | 1,34x10 <sup>6</sup> | 2,86x10 <sup>5</sup> |
| HP5 | 2,65x10 <sup>6</sup> | 2,16x10 <sup>5</sup> |

Tabela 3. Broj MO posle 30-og dana

|     | UBA                  | RUV                  |
|-----|----------------------|----------------------|
| HP1 | 1,6x10 <sup>6</sup>  | 1,01x10 <sup>6</sup> |
| HP3 | 8x10 <sup>6</sup>    | 3,2x10 <sup>6</sup>  |
| HP4 | 2x10 <sup>6</sup>    | 1,35x10 <sup>6</sup> |
| HP5 | 3,85x10 <sup>6</sup> | 1,07x10 <sup>6</sup> |

### 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