



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

6th 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

6th 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

6th 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. Beškosi

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.

ODBORI

COMMITTEES

POČASNI ODBOR

HONORARY COMMITTEE

Dragan Veselinović
Petar Pfenđt
Nada Miljević
Mirjana Vojinović Miloradov
Dragan Marković

NAUČNI ODBOR

SCIENTIFIC COMMITTEE

Ivan Gržetić, predsednik
Ivana Ivančev-Tumbas, potpredsednik
Marko Anđelković
Tatjana Anđelković
Mališa Antić
Milan D. Antonijević
Vladimir P. Beškoski
Ilija Brčeski
Olga Cvetković
Božo Dalmacija
Dragana Đorđević
Branimir Jovančičević
Mila Laušević
Dragan Manojlović
Zoran Matović
Olivera Novitović
Srđan Petrović
Aleksandar Popović
Bojan Radak
Goran Roglić
Biljana Škrbić
Mirjana Tasić
Maja Turk-Sekulić
Ljubiša Ignjatović
Anatoly K. Golovko

ORGANIZACIONI ODBOR

ORGANIZING COMMITTEE

Bojan Radak, predsednik
Vladimir P. Beškoski, potpredsednik
Dubravka Milovanović, izvršni sekretar
Milan D. Antonijević
Anka Cvetković
Snežana Dragović
Dragana Đorđević
Milena Jovašević Stojanović
Miodrag Lazić
Valentina Mart
Snežana Matić-Besarabić
Antonije Onjia
Pavle Pavlović
Srđan Petrović
Ivanka Popović
Jelena Radonić
Jasminka Randelović
Zoran Todorović
Amalija Tripković
Maja Turk-Sekulić
Vlada Veljković
Branka Žarković
Aleksandra Žujić
Svetlana Radojković
Nikola Oluić
Srđan Miletić
Sandra Petković
Ljubiša Ignjatović
Tatjana Šolević Knudsen

IZVRŠNI ODBOR

EXECUTIVE COMMITTEE

Bojan Radak
Vladimir P. Beškoski
Dubravka Milovanović
Maja Turk-Sekulić
Ljubiša Ignjatović
Jelena Radonić

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

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 ugljovodonicima) 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)

Knjiga izvoda = Book of Abstracts / 6.
simpozijum Hemija i zaštita životne sredine
sa međunarodnim učešćem, Vršac, Srbija,
21-24. maj 2013. = 6th Symposium Chemistry
and Environmental Protection with
International Participation ; [urednici,
editors Ivan Gržetić, Bojan Radak, Vladimir
Beškoski]. - Beograd : Srpsko hemijsko
društvo = Serbian Chemical Society, 2013
(Beograd : Dosije studio). - 421 str. :
ilustr. ; 24 cm

Tiraž 200. - Tekst na srp. i engl. jeziku. -
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

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
ognjenk@beotel.net, vbekoski@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 izlečenja [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 eksperimentalnih 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 16SrRNA gena a selektovani su prema mogućnosti upotrebe alifatičnih, aromatičnih i policikličkih aromatičnih jedinjenja kao jedinog izvora C atoma.



Slika 1. Lokacija KOV Pančevo



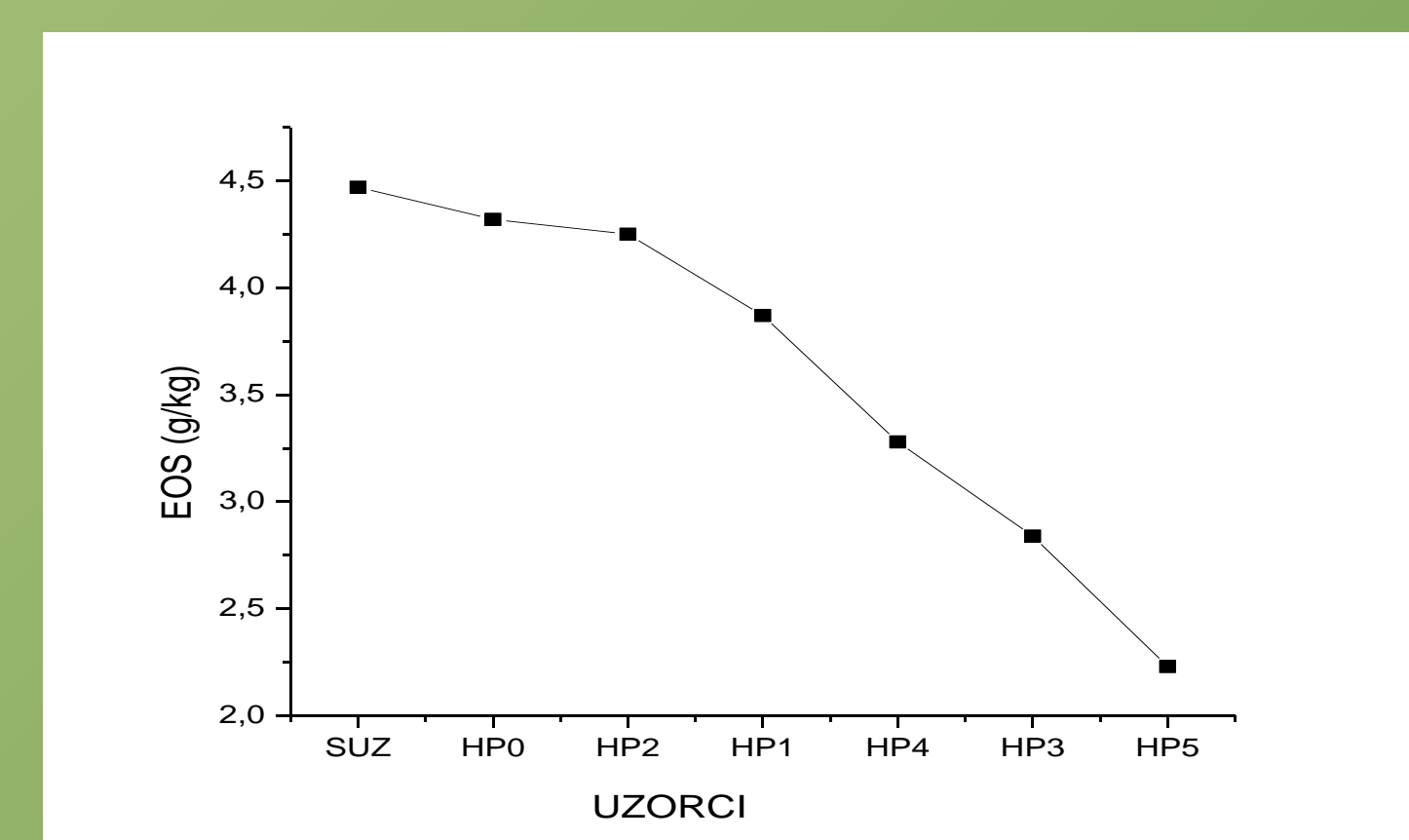
Slika 2. KOV Pančevo



Slika 3. Uzorkovanje

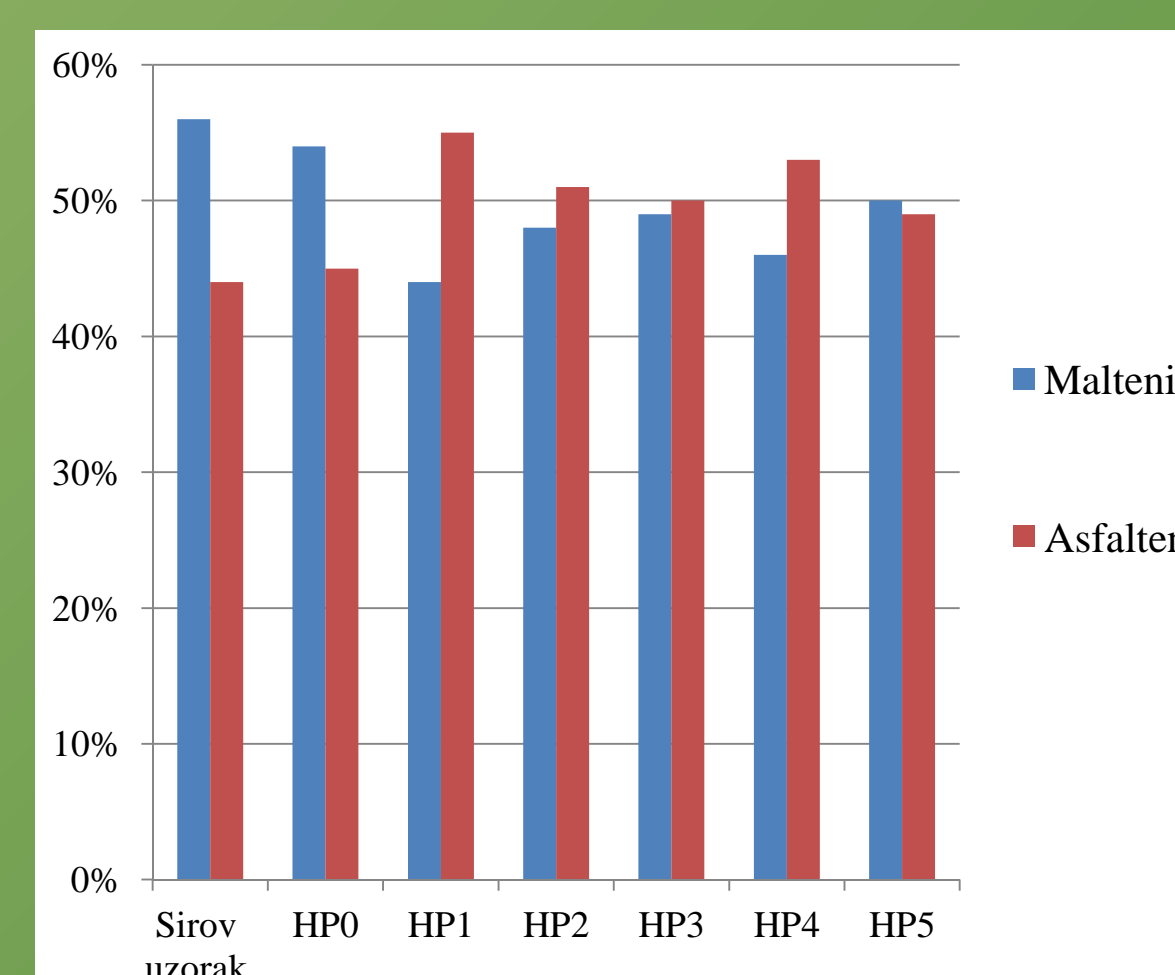
Broj UBA nakon 30 dana fermentacije bio je reda veličine 10^6 u odnosu na red veličine 10^5 na početku eksperimenta, odnosno broj RUV ja bio reda veličine 10^6 nakon 30 dana u odnosu na red veličine 10^4 na početku fermentacije. Svi podaci dati su u tabelama (Tabele 1-3).

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. Biomasom zimogenih sojeva razlagača ugljovodonika *Pseudomonas sp.* KOV5, *Rhodococcus sp.* KOV17, *Bacillus sp.* KOV21. Rezultati su prikazani na Slici 4.

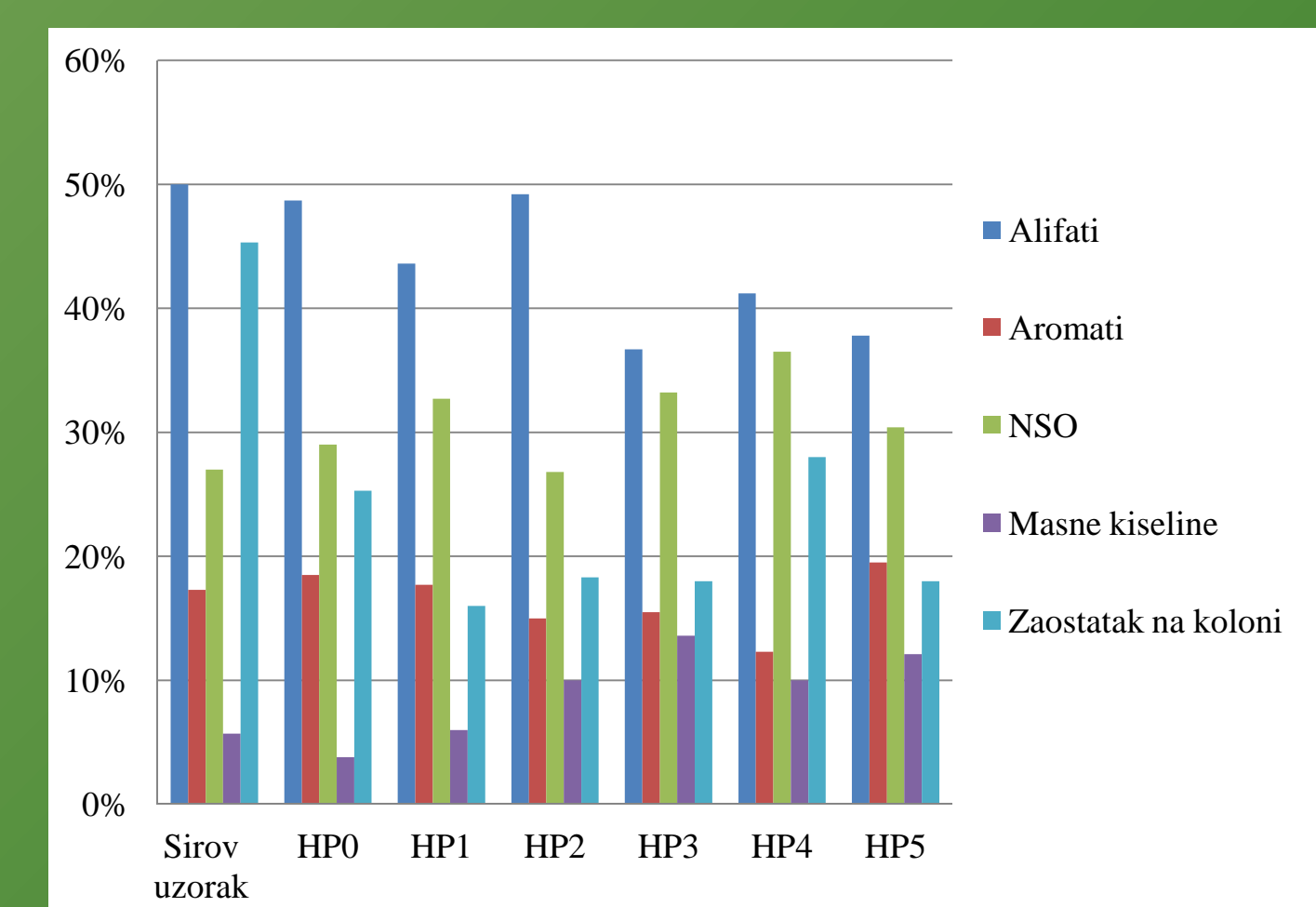


Slika 4. Smanjenje EOS tokom fermentacije

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 poredjenju sa uzorcima HP i HP0. Udeo maltena bio je u sirovom uzorku 56%, u HP0 55%, u HP1 44%, u HP2 48%, HP3 50%, HP4 46% i u HP5 50%. Rezultati su prikazani na Slici 5. Udeo alifatičnih ugljovodonika u uzorcima smanjen a 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	$1,35 \times 10^5$	$1,7 \times 10^4$
HP3	$> 10^6$	$1,6 \times 10^4$
HP4	$1,6 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$
HP5	$> 10^6$	$1,6 \times 10^4$

Tabela 2. Broj MO posle 15-og dana

	UBA	RUV
HP1	$1,54 \times 10^6$	$1,46 \times 10^5$
HP3	$4,2 \times 10^6$	$1,6 \times 10^5$
HP4	$1,34 \times 10^6$	$2,86 \times 10^5$
HP5	$2,65 \times 10^6$	$2,16 \times 10^5$

Tabela 3. Broj MO posle 30-og dana

	UBA	RUV
HP1	$1,6 \times 10^6$	$1,01 \times 10^6$
HP3	8×10^6	$3,2 \times 10^6$
HP4	2×10^6	$1,35 \times 10^6$
HP5	$3,85 \times 10^6$	$1,07 \times 10^6$

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., Vrvic, M.M., Chemosphere 91 (2013) 1408–1415