Neki aspekti uloge bakterija u podzemnim vodama

Dr Dragan Kaludjerović dipl.ing.geol.

Nezavisni konsultant, email: advancedgwt@gmail.com , web strana: www.advancegwt.com ,
mobilni : +381-62-965-1748

Rezime:
Usled razvitka nauke u poslednje vreme, naročito u oblasti biodegradacije, postalo je jasno da razne vrste aerobnih i anaerobnih bakterija naseljavaju izdani. Usled promenjenih uslova u izdanima, unošenje naftnih jedinjenja kao zagađenja npr., bakterije se aktiviraju i učestvuju u raznim procesima prirodne biodegradacije. Veliki doprinos razumevanju funkcionisanja bakterija koje se nalaze u izdanima dat je iz oblasti regeneracije bunara usled posledica nastalih biozarastanjem i biološki izazvanom korozijom. U ovom radu je pokušano da se ukratko prikaže nekoliko prirodnih procesa vezanih za bakterije u izdanima i ukaže na njihov značaj kao i na rasprostranjenost različitih bakterija u podzemnim vodama.

KLJUČNE REČI: podzemne vode, bakterije, biodegradacija, biofilm, emulsifikovano ulje, PCE, TCE

Some aspects of bacterial role in ground water

Abstract:
Due to development in the science, especially in the area of biodegradation, it becomes clear that different species of aerobic and anaerobic bacteria are indigenous in the ground water. Due to changed condition in ground water, like infiltration of petroleum hydrocarbons, indigenous bacteria start to react and are involved in different processes of natural biodegradation. Also, great contribution of understanding how bacteria functionating in ground water is given from the field of well regeneration due to consequences of biofouling and biologically induced corrosion. In this article several natural processes related to bacteria are analyzed and its importance and distribution in ground water is shown.

KEYWORDS: ground water, bacteria, biodegradation, biofilm, emulsification oil, PCE, TCE

1 UVOD

Sve do 1980ih godina podzemna voda se smatrala sterilnom (izuzimajući antropogeni uticaj u plitkim izdanima, kroz septičke jame npr.) i smatrano je da je potencijal za biološki događaj veoma mali, praktično zanemarujući.

Raznim istraživanjima je dokazano da mikroorganizmi postoje ne samo u plitkim nego i u dubljim delovima izdani i da oni imaju značajnu ulogu u raznim procesima koji se događaju u podzemnim vodama. Procesi kao što su biozarastanje bušotina i prirodna biodegradacija organskih i neorganskih jedinjenja jasno pokazuju da razni mikroorganizmi postoje u izdanima i da pod određenim uslovima mogu da dovedu do biološkog događaja.

Najveći broj mikroorganizama raste i razmnožava se u standardnim uslovima kao što je pritisak 1 atm, pH 6.5 – 8.5, temperatura 8 ^{o}C – 45 ^{o}C, redox potencijal (Eh) – 50 mv - +150 mv i koncentracije soli manje od 6% NaCl. Izvan ovih granica dolazi do značajne restrikcije broja mikrobioloških vrsta. Od mikrobioloških organizama najčešće su bakterije te koje imaju ulogu u biološkim manifestacijama kao što je na primer biodegradacija ili biozarastanje. Jedan od razloga je što bakterije mogu da žive i u aerobnim i u anaerobnim uslovima za razliku od drugih mikrobioloških vrsta.

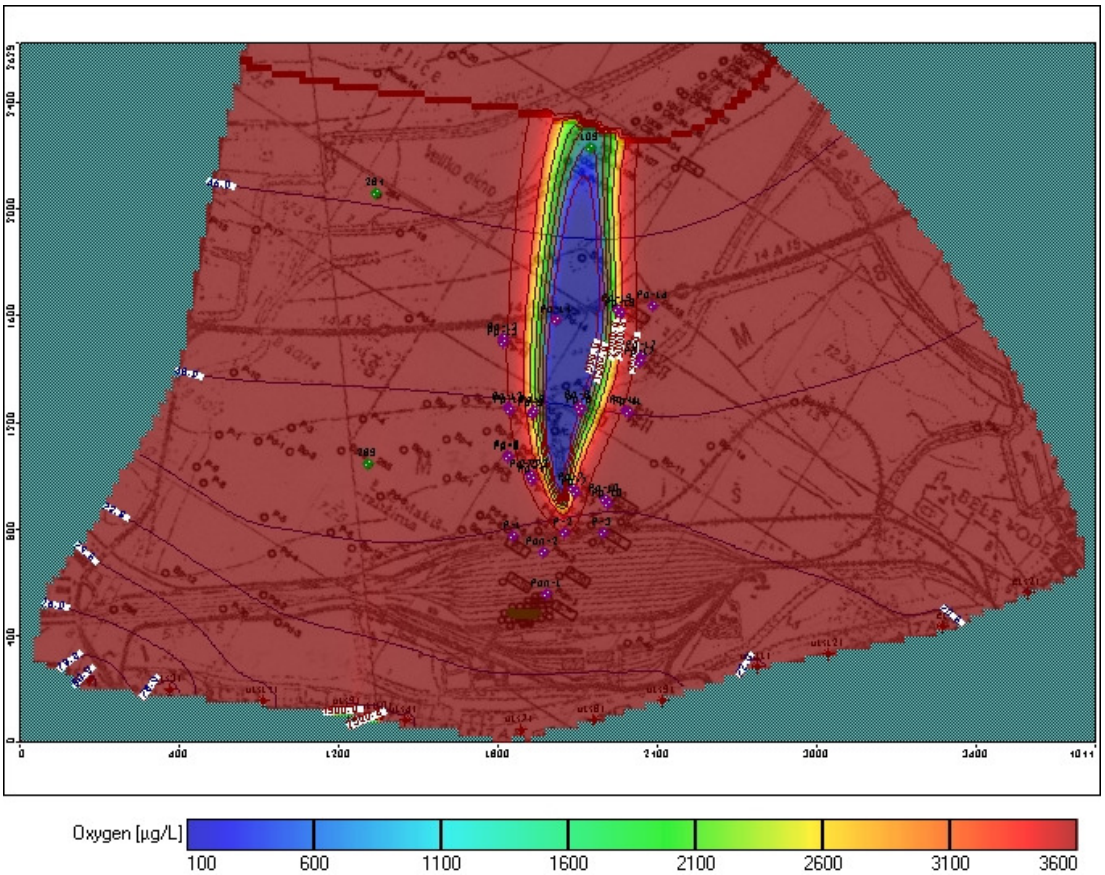
2 BIODEGRADACIJA ORGANSKIH JEDINJENJA U PODZEMNIM VODAMA

2.1 Prirodna biodegradacija naftnih ugljovodonika

U zadnje dve decenije brojne laboratorijske i terenske studije pokazale su da bakterije koje se nalaze u izdanima kao prirodnom staništu mogu da prouzrokuju prirodnu biodegradaciju naftnih ugljovodonika uključujući benzin, kerozin i dizel gorivo (Wiedemeier 1995). Kada je u pitanju benzen sledeće bakterije učestvuju u biorazgradnji: *Pseudomonas putida, P. rhodochrous, P. aeruginosa, Acinetobacter sp., Methylosinus trichosporium OB3b, Nocardia sp., methanogens, anaerobes.* Tokom biodegradacije bakterije transformišu hranljive sastojke u oblike pogodne za reprodukciju ćelije a energiju dobijaju prilikom transfera elektrona sa elektron donora na elektron akceptor. Ovo rezultuje oksidacijom elektron donora i redukcijom elektron akceptora. Elektron donori su prirodne organske supstance i naftni ugljovodonici a elektron akceptori su elementi koji se nalaze u relativno oksidovanom stanju - rastvoreni kiseonik, nitrat, Fe^{3+}, sulfat i ugljen dioksid.

Biodegradacija prouzrokuje hemijske promene koje se mogu izmeriti u podzemnoj vodi. Tokom aerobne respiracije kiseonik je redukovan u vodu i koncentracija rastvorenog kiseonika opada. U anaerobnim uslovima kada je nitrat elektron akceptor on se redukuje do azot gasa N_2 i koncentracija nitrata opada. Kada je Fe^{3+} elektron akceptor, Fe^{3+} se redukuje u Fe^{2+} i koncentracija Fe^{2+} raste. Sulfat kao elektron akceptor je redukovan u H_2S i koncentracija sulfata opada. U anaerobnim sistemima kada je CO_2 elektron akceptor CO_2 redukuje se metanogenim bakterijama u CH_4. Tokom aerobne respiracije, denitrifikacije, Fe^{3+} redukcije i sulfato redukcije zbog proizvodnje CO_2 ukupna alkalnost raste dok tokom metanogeneze ona ostaje ista. Na slici 1 pokazana je "praznina" u koncentraciji O_2 koja je ostala nakon prolaska tela zagađenja i aktiviranja rada bakterija usled pojave izvora organskog ugljenika, u ovom slučaju ksilen (Kaluđerović 2008). Iz tehničkih razloga nisu prikazane ostale "praznine" elektron akceptora (nitrat, Fe^{2+}, sulfat SO4)

I pored toga što denitrifikacija proizvodi više energije od aerobne respiracije rastvoreni kiseonik u koncentracijama većim od 0.5 mg/l je toksičan za anaerobne bakterije tako da prvo mora da se potroši rastvoreni kiseonik da bi denitrifikacija mogla da počne. Takođe, kad je i nitrat prisutan u visokim koncentracijama on je toksičan za sulfato redukujuće organizme i sulfat ne može da se koristi kao elektron akceptor sve dok su kiseonik i nitrat u visokim koncentracijama.



Slika 1. Zona u kojoj je kiseonik potrošen usled prirodne biodegradacije organskog zagađenja – ksilen – Makiško polje (Kaluđerović 2008)
Figure 1. Area in which oxygen is depleted due natural biodegradation with organic contamination - xylene – Makis field (Kaludjerovic 2008)

2.2 Indukovana anaerobna biodegradacija emulsifikovanim uljem

Izdani predstavljaju prirodno stanište za razne mikroorganizme i aktivnost te mikrobiološke zajednice se menja kako se i sredina, tj. uslovi u izdani menjaju. Kada su npr. hlorovani rastvarači u pitanju injektovanjem biljnog ulja dolazi do povećanja organskog ugljenika koji služi kao elektron donor za bakteriju dok je sam hlorovani rastvarač elektron akceptor koji vodi do sekvencijalne biodegradacije (PCE-TCE-DCE-VC-etan npr.) U praksi je pokazano da bakterije koje vrše razlaganje PCE-TCE-DCE postoje u većini izdani dok za ostali deo lanca biodegradacije bakterije nisu sveprisutne u izdani već često moraju da se ubacuju (bioagumentacija). Kompletna biodegradacija od TCE do etena dokazana je za bakteriju *Dehalococcides etenogenes* jer bez njenog prisustva sekvencijalna biodegradacija ide samo do DCA člana.

In situ anaerobna biodegradacija se zasniva na principu injektiranja organskog supstrata u izdan koji pospešuje rast bakterija, proizvodi anaerobne uslove i samim tim izaziva "trošenje" nitrata i drugih elektron akceptora. Pored nitrata, biodegradaciji u anaerobnim uslovima podložni su i hlorovani eteni, etani, perhlorat, TNT, RDX, radionukleidi i kisele rudničke vode (Kaluđerović 2008). .

U trenutnim istraživanjima emulsifikovana biljna ulja pokazuju najviše potencijala za jednostavno i ekonomično izazivanje anaerobnih uslova u izdanima u kojima dolazi do biodegradacije gore pomenutih jedinjenja. US Department of Agriculture (Odsek za poljoprivredu) održava listu GRAS (Generally Recognized as Safe - generalno priznate kao sigurne) u kojoj se nalaze materijali odobreni za direktnu ugradnju u hranu. Ova lista uključuje različite masti i ulja kao i biljna ulja[1]

Biljna ulja se intenzivno mešaju sa vodom i formiraju emulziju koja se sastoji od malih kapljica (oko 1 μm, red veličine bakterija). Nakon injektiranja, emulzija se zadržava u poroznoj sredini i formira bioreaktivnu zonu bogatu organskim ugljovodonikom. Kretanjem podzemne vode kroz ovu zonu pospešuje se biodegradacija jer biljno ulje tokom vremena otpušta izvor ugljenika za bakterije. Ova zona je stacionarna i traje nekoliko godina nakon jednog injektovanja. U suštini sva biljna (jestiva) ulja se fermentišu u vodonik i acetat usled dejstva mikroorganizama i kada se bira biljno ulje primarni faktor koji treba uzeti u obzir je cena, dostupnost, viskozitet i tačka topljenja. Sojino ulje ima nisku cenu i lako je dostupno tako da se najčešće koristi za biodenitrifikaciju.

3 BIOZARASTANJE I KOROZIJA BUNARA

3.1 Formiranje biofilma

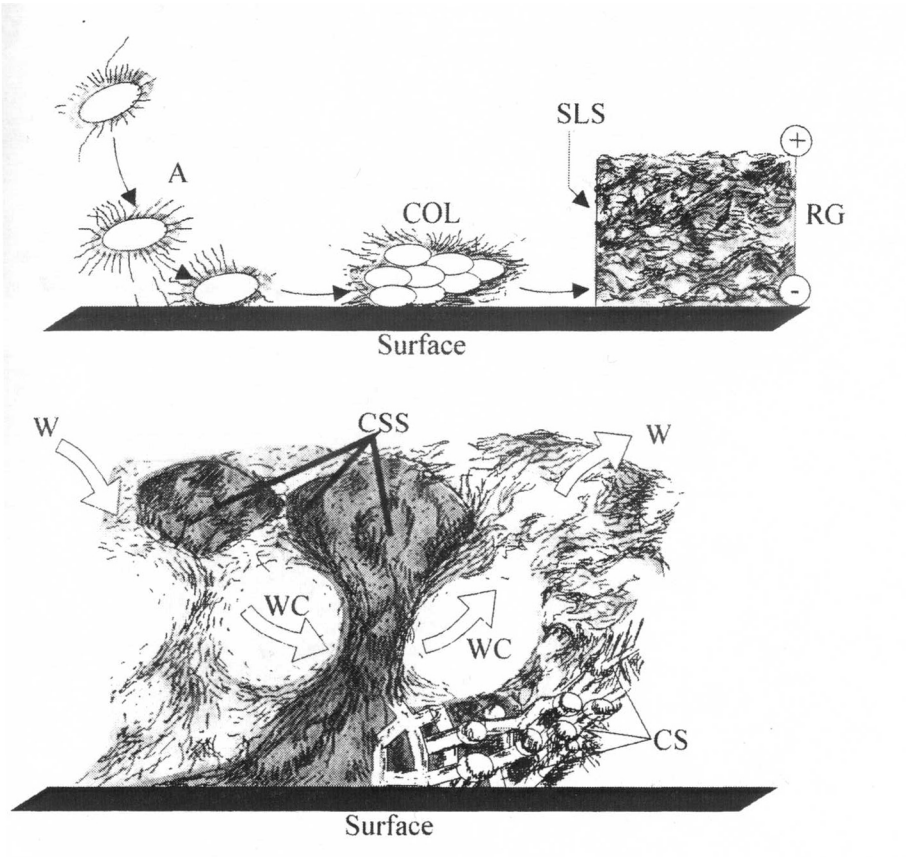
Sa instalacijom novog bunara dolazi do difuzije kiseonika u podzemne vode čime se pospešuje rast bakterija u njihovom prirodnom staništu. Takođe, sa uključenjem pumpe dolazi i do pojačanog priliva raznih nutrijenata koji takođe pospešuju rast bakterija. Ovim procesima počinje biozarastanje bušotine, tj. promenom prirodnih uslova pospešuje se rad bakterija i počinje stvaranje biofilma. Biofilm služi kao katalizator za procese biozarastanja i korozije u bunaru.

Kada je biozarastanje bunara u pitanju najpoznatije su gvožđevite bakterije i to *Gallionella*, *Crenothrix, Leptothrix i Sphaerotilus.* Istraživanjima prof. Cullimore (1999) potvrđeno je da se ove bakterije nalaze u izdanima kao prirodnom staništu na svim kontinentima.

Bakterija se generalno nalazi u dva stanja: *planktonskom* stanju kada pliva slobodno u podzemnoj vodi i *sesilnom* stanju – prikačena u biofilmu na neku čvrstu podlogu. Uobičajeno mišljenje je da bakterije u vodi slobodno plivaju dok u stvarnosti bakterije teže da se prikače za čestice porozne sredine i da tu ostanu. Na slici br. 2 prikazan je način stvaranja biofilma – bakterija je negativno naelektrisana i biva privučena od pozitivnih naboja na čestici porozne sredine. Dalje, bakterija izlučuje organske polimere koji služe kao lepak i učvršćivač.

---

[1] Jedno vreme se čak i razmišljalo o upotrebi ulja potrošenog u restoranima ali su ta ulja bila zagađena raznim organskim materijama tokom prženja, tako da se odustalo od te ideje



Slika 2. Formiranje biofilma (Cullimore 1999)
Figure 2. Biofilm forming (Cullimore 1999)

Posle nekog vremena, koje zavisi od raznih uslova u izdani, stvara se biofilm koji se ponaša kao biološki interfejs preko koga bakterija razmenjuje materiju za vodom koja struji preko njega. Hemijska jedinjenja koja se apsorbuju i akumuliraju u biofilmu mogu se podeliti na hranjive sastojke i bioakumulate. Hranjivi sastojci se koriste od strane bakterija za rast i reprodukciju organizma i njihova koncentracija ne raste kontinualno dok se bioakumulati ne koriste od strane bakterije u metabolizmu već se inkorporiraju u strukturu biofilma (sl. 2). Bioakumulati su jedinjenja koja ne podležu biodegradaciji i sastoje se od metaličnih jona kao što su Fe, Mn, Al, Cu i Zn.

Ovako formiran biofilm predstavlja osnovu za razne bio događaje kao što su biozarastanje i korozija bunarskih cevi. Biofilm prolazi kroz nekoliko faza u kojima se njegova zapremina prvo povećava, zatim smanjuje sa stvaranjem kanala kroz koje protiče voda (WC na sl. 2) i sa kristalnim strukturama od bioakumulata (CS na sl. 2). Pored biozarastanja bakterije koje su stratifikovane u okviru biofilma (RG na sl. 2) mogu da proizvode i kiseline koje dovode do korozije bunarske konstrukcije.

Biofilm može biti obojen, crna boja biofilma ukazuje na sulfato redukujuće bakterije i redukcione uslove u podzemnoj vodi dok narandzasta, crvena i smeđa boja biofilma ukazuju na aerobne uslove i gvožđevite

bakterije. Ukoliko dođe do otkidanja bakterija sa biofilma može doći i do zamućenja podzemne vode što se može proveriti mikroskopom jer se bakterije nalaze u vodi u grupama praveći suspendovane čestice bez jasno definisanog oblika.

Takođe, poznato je da različite bakterije proizvode različite mirise koji mogu da se koriste kao pomoć u inicijalnom određivanju tipa bakterija koje su prouzrokovale problem i dovele do npr. smanjenja kapaciteta bunara. Miris na pokvarena jaja ukazuje na anaerobne bakterije i sulfato redukujuće bakterije dok miris na ribu ukazuje na pseudomonad bakterije i aerobnu sredinu. Do obojenosti vode može doći usled otpuštanja gvožđevitih i manganskih soli iz biofilma.

4 Zaključak

Odavno je prošlo vreme kada se za podzemnu vodu mislilo da je sterilna, bez bakterija i drugih mikroorganizama. Istraživanja iz različitih oblasti hidrogeologije, najviše iz oblasti remedijacije podzemnih voda, potvrđuju da u izdanima postoje razne bakterije koje učestvuju u različitim procesima, aerobnim i anaerobnim. Na neki način može se reći da one "čekaju" da se promene uslovi sredine i da počnu da rastu i da se razmnožavaju u velikom broju. Pod promenom uslova sredine misli se na povećanje količine organske materije, elektron donora i akceptora i raznih nutrijenata koje omogućavaju rast i reprodukciju bakterija. Prirodna i indukovana biodegradacija raznih organskih jedinjenja, biozarastanje i korozija bunarskih konstrukcija pokazuju raznolikost vrsta bakterija koje postoje u podzemnim vodama i njihovu sposobnost da učestvuju u raznim prirodnim procesima.

5 Literatura

(1) Cullimore, R. *Microbiology of Well Biofouling*, Lewis Publishers, 1999.
(2) Kaluđerović D., *Prirodno prečišćavanje izdani*, Doktorska disertacija, 2008.

(3) Kaluđerović D. *Mogućnosti revitalizacije izdani zagađene nitratima metodom in situ biodenitrifikacije,* Vodoprivreda, Beograd, 2008.

(4) Wiedemeier, T.H., Wilson, J.T., Kampbell, D.H., Miller, R.N., and Hansen, J.E., *Technical protocol for implementing intrinsic remediation with long-term monitoring for natural attenuation of fuel contamination dissolved in groundwater*:, U.S. Air Force Center for Environmental Excellence, San Antonio, TX. 1995.