

Postupci uklanjanja pesticida iz okoliša

KUI – 14/2012
Prispjelo 3. studenog, 2011.
Prihvaćeno 25. siječnja, 2012.

M. Đokić,^a N. Bilandžić^{a*} i F. Briški^b

^a Laboratorij za određivanje rezidua, Odjel za veterinarsko javno zdravstvo, Hrvatski veterinarski institut, Savska 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

^b Zavod za industrijsku ekologiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 19, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Organoklorni i organofosforni pesticidi se u velikim količinama upotrebljavaju u proizvodnji hrane zbog svoje učinkovitosti i niske cijene i smatra se da danas na svjetskom tržištu postoji oko 1500 aktivnih tvari s pesticidnim učinkom. Ovi postojani organski onečišćivači dugo nakon primjene mogu zaostajati u tlu, mulju i sedimentima ili ući u vodene tokove, te dospjeti izravno u prehrambeni lanac. Danas se za uklanjanja pesticida s onečišćenih lokacija primjenjuju sljedeći postupci: niskotemperaturna toplinska desorpcija, spaljivanje, bioremedijacija i fitoremedijacija. Svaka od tehnologija ima svoje prednosti i nedostatke. U konačnici idealan proces remedijacije bio bi takav da u potpunosti razgradi onečišćivač bez stvaranja međuprodukata. Neki od procesa imaju samo sposobnost razmještanja i stabilizacije onečišćivača, no ne postižu potpuno uklanjanje. Niskotemperaturna toplinska desorpcija je tehnologija čišćenja *ex situ* najčešće primjenjivana za uklanjanje pesticida. Prednost primjene spaljivanja je potpuno uklanjanje onečišćivača, međutim proces je skup jer zahtijeva transport medija do spalionice. Procesi bioremedijacije potaknuti su prirodnim procesom mikrobiološke razgradnje onečišćivača odnosno interakcijom mikroorganizama i komponenata otpada. Postupak *ex situ* uključuje upotrebu bioreaktora. Jedan od postupaka je i postupak *land spreading* kod kojeg se onečišćeni medij miješa s tlom pri čemu autohtoni mikroorganizmi razaraju onečišćivače. Učinkovitost u biorazgradnji toksičnih onečišćivača utvrđena je za gljive bijelog truljenja, posebno iz roda *Phanerochaete*. Fitoremedijacija je tzv. "zelena tehnologija" primjenom biljaka, pri čemu biljke nisu izravno uključene u proces i služe kao katalizator za pojačavanje rasta i aktivnosti populacije mikroorganizama korijenja. U fitoremedijaciji pesticida najčešće se primjenjuju biljke roda *Kochia*, za koje je utvrđeno da zbog interakcija biljke i mikroorganizama iz područja rizosfere dolazi do razgradnje prisutnih pesticida. Bioremedijacija i fitoremedijacija su danas dvije nove metode koje se još procjenjuju. Brojnim laboratorijskim istraživanjima i pilot-studijama nastoji se povećati raspoloživost primjene bioremedijacije i fitoremedijacije te nadvladati ograničenja ovih metoda.

Ključne riječi: Pesticidi, onečišćenje okoliša, bioremedijacija, fitoremedijacija

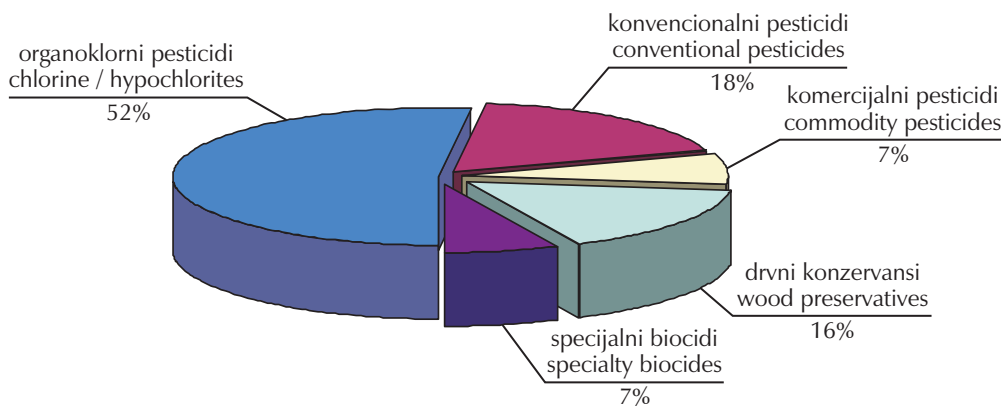
Uvod

Onečišćenje okoliša jedan je od najvećih globalnih problema današnjice. Dnevno se u oceane, jezera i rijeke izlijeva više od dva milijuna tona nepročišćene otpadne vode. Glavni uzroci onečišćenja su otpadne vode naselja, industrije, ispiranje poljoprivrednih površina i prometnica, polulegalni deponiji otpada, kisele kiše te izvanredna onečišćenja uzrokovana različitim nesrećama. Stoga su vode i tlo postali velika smetlišta u koja se odlažu teški metali, toksični organski spojevi, nitrati, fosfati te druge vrlo opasne tvari.¹ Dugo nakon njihove primjene te štetne tvari mogu zaostati u tlu i sedimentima te dospjeti izravno u prehrambeni lanac. Također mogu stići do vodenih tokova i jednom kada dospiju u podzemne vode ovi onečišćivači mogu dospjeti i u pitku vodu i izazvati velike zdravstvene smetnje u ljudi, odnosno životinja. Zbog toga se danas poduzima niz mjera i postupaka kojima se okoliš nastoji zaštititi od daljnjeg onečišćenja posebice postojanim organskim tvarima kao što su pesticidi.

Onečišćenja pesticidima i utjecaj na ljudsko zdravlje

Još od davnina ljudi su za zaštitu svojih usjeva upotrebljavali pesticide. Prvi poznati pesticid bio je elementarni sumpor, koji su upotrebljavali Sumerani radi kontrole kukaca i grinja prije otprilike 4500 godina. U 17. stoljeću nikotin-sulfat ekstrahirani je iz duhana i tada prvi put upotrijebljen kao insekticid. U 19. stoljeću pojavljuju se prvi prirodni pesticidi piretrum dobiven iz krizanteme i rotenon dobiven iz korijena tropske biljke *Lonchocarpus nicou*.² U 20. stoljeću poznati kemičar Paul Müller otkriva insekticidna svojstva danas najpoznatijeg insekticida DDT-a (diklordifeniltriklor-etan), te od tada počinje tzv. era organoklornih pesticida, koje tek 1975. godine počinju zamjenjivati organofosforni pesticidi i karbamati. Nakon 1940. godine počinje masovna proizvodnja sintetičkih pesticida i njihova upotreba postaje jako raširena. Broj aktivnih tvari s pesticidnim učinkom sve je veći te se procjenjuje da danas na svjetskom tržištu postoji oko 1500 aktivnih tvari.³ Prema službenim podacima FAO-a 2009. godine utrošeno je preko 803 000 tona aktivnih tvari, od čega preko 75 % potrošnje otpada na razvijene zemlje.⁴ Najviše se upotrebljavaju organoklorni pesticidi (slika 1).

* Autor za dopisivanje: dr.sc. Nina Bilandžić,
e-pošta: bilandzic@veinst.hr

Slika 1 – Udio pojedinih pesticida u svakodnevnoj upotrebi²Fig. 1 – Portion of various pesticides in every-day use²

Primjena pesticida u kontroli velikog broja kukaca i bolesti u poljoprivrednoj proizvodnji raširena je u svim zemaljama. Organoklorini i organofosforini pesticidi se zbog svoje učinkovitosti i niske cijene upotrebljavaju u velikim količinama u kontroli različitih nametnika.⁵ Zbog njihove široke te često neprikladne primjene na farmama te njihova sporog raspadanja u okolišu dolazi do onečišćenja vode, tla, zraka, usjeva te na kraju i životinja odnosno čovjeka.^{6,7,8} Pesticidi se se prema cilju, tj. prema organizmu na koji djeluju, dijele na: algicide, akaricide, fungicide, herbicide, insekticide, moluskicide, nematocide, regulatore rasta, rodenticide i druge. Također se dijele na anorganske, sintetičke i biopesticide premda je takva podjela dosta nejasna. Prema američkoj Agenciji za zaštitu okoliša (EPA) pesticidi se definiraju kao tvar ili mješavina tvari koja služi za sprječavanje ili ublažavanje djelovanja štetočina na biljkama i životinjama ili za njihovo uništavanje. Također, pesticidi se mogu opisati kao fizičko, kemijsko ili biološko sredstvo koje će uništiti štetočine bilo da se radi o biljkama ili životinjama. Pesticid je generički naziv za niz sredstava koja se najtočnije mogu klasificirati prema djelovanju na ciljane organizme.⁹

Prisutnost pesticida ima negativan utjecaj na okoliš i ljudsko zdravlje. Organoklorini i organofosforini pesticidi zbog svoje lipofilne prirode i velike stabilnosti lako ulaze u prehrambeni lanac i nakupljaju se u masnom tkivu te žumanjku jaja i jetri različitih životinja kao i ulju biljaka, te se zato smatraju postojanim organskim spojevima.¹ Iako su organofosforini pesticidi relativno nepostojani u okolišu, imaju sposobnost stvaranja odgođene neurotoksičnosti u ljudi.¹⁰

Pesticidi u ljudsko tijelo mogu dospjeti na tri načina: inhalacijom, oralno ili kroz kožu. Zbog njihove stabilnosti i otpornosti najopasniji za zdravlje su organoklorini pesticidi poput DDT-a, aldrina, dieldrina i klordana. S druge strane, organofosforini pesticidi poput malationa i karbamati poput karbarila nisu toliko postojani i perzistiraju u okolišu od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci. Akutni znakovi trovanja DDT-om, metoksiklorom i klorbenzilatom su tremor, mučnina, umor, letargija, povraćanje, vrtoglavica, glavobolja, dok su kronični znakovi trovanja gubitak na težini, anoreksija, anemija, slabost mišića, promjene na EEG-u, anksioznost i nervoza. Akutni znakovi trovanja lindanom, endrinom, endosulfanom, heptaklorom, aldrinom i dieldrinom su vrtoglavica, glavobolja, mučnina, napadaji grčeva, dok se pri kroničnom izlaganju javljaju glavobolja, gubitak

svijesti, kožni osip, problemi s vidom, gubitak pamćenja, nesanica i anksioznost.⁹

Znakovi trovanja organofosforinim pesticidima i karbamatima su: bronhokonstrikcija, mioza, gastrointestinalni grčevi, dijareja, bradikardija, tahikardija, hipertenzija, tremor, slabost mišića, paraliza, do onih nastalih kao rezultat djelovanja na centralni živčani sustav poput nemira, emocionalne nestabilnosti, letargije, mentalne konfuzije, ataksije, gubitka pamćenja, kome. Znakovi trovanja piretroidima kao što su aletrin, cismetrin, resmetrin i tetrametrin su nemir, nekoordinacija, paraliza, agresivnost, tremor cijelog tijela, dok spojevi ciflutrin, cipermetrin, deltametrin, fenvalerat i fluvalinat uzrokuju hiperaktivnost, nekoordiniranost, konvulzije, kožne trnce i grčeve.⁹

Zbog glavnog puta unosa herbicida, tj. dermalno, oni štetno djeluju na kožu uzrokujući kožni osip i kontaktni dermatitis, također mogu nastati astmatični napadaji ili čak anafilaktički šok. Klorfenoksi-herbicidi uzrokuju glavobolju, vrtoglavicu, nervozu, netoleranciju na hladnoću, dispneju, a u težim slučajevima urođene mane, rak, sarkom mekog tkiva, ne-Hodgkinov limfom (*non-Hodgkin*, NHL) i Hodgkinov limfom.⁹ Pri kroničnoj izloženosti triazinskim herbicidima dolazi do gubitka na težini, pojave zloćudnih tumora mliječne žlijezde kod žena, adenokarcinoma i karcinosarkoma te smanjene reprodukcije.¹¹

Utjecaj pesticida na ljudsko zdravlje još nije u potpunosti istražen, stoga je remedijacija pesticida s onečišćenih lokaliteta izrazito važna.

Postupci remedijacije pesticida

Prisustvo organskih onečišćivača je svjetski problem, međutim samo razvijene zemlje imaju novčana sredstva kojima mogu istraživati nove metode za njihovo uklanjanje. Zemlje u razvoju još uvijek upotrebljavaju neke pesticide koji su u razvijenim zemljama danas zabranjeni, te implementacija novih tehnika igra važnu ulogu u remedijaciji. Prilikom odabira postupka remedijacije treba uzeti u obzir niz faktora, odnosno vrstu onečišćivača i medij u kojem oni opstaju.^{1,12} Međutim, u većini slučajeva prisutno je višestruko onečišćenje i različiti mediji. Postoji široka paleta onečišćenja posebno ako je onečišćeni lokalitet bivše industrijsko po-

strojenje te su prisutni i proizvodi te industrije kao i među-produkti, sirovine te različita otapala. Onečišćenja se mogu naći u tlu, kanalizaciji, sedimentima te podzemnim i površinskim vodama.^{1,13}

Pesticidi zaostaju u okolišu zbog toga što ne dolazi do njihove biorazgradnje, odnosno zato što na lokaciji nisu prisutni mikroorganizmi koji ih mogu razgraditi. Međutim, čak i ako su mikroorganizmi prisutni, ograničavajući faktori od kojih je najvažniji nedostatak potrebnih sastojaka mogu stvoriti nepovoljne uvjete za biorazgradnju organskih tvari.¹⁴ Također, spoj može biti otporan na biorazgradnju, odnosno molekulu nije moguće transportirati kroz staničnu membranu te ju enzimi ne mogu hidrolizirati. Zapravo, najotpornije organskih tvari su sintetičke molekule te se uvelike razlikuju od prirodno zastupljenih molekula. U nekoliko desetljeća koliko su ti spojevi prisutni u okolišu, mikroorganizmi nisu još imali dovoljno vremena da razviju mehanizam detoksikacije i metaboliziranja tih spojeva.

Primjenom različitih metoda sanacije nastoje se nadići ograničenja kako bi postupci remedijacije bili učinkovitiji. Danas se primjenjuju postupci niske temperature toplinske desorpcije, spaljivanja, bioremedijacije i fitoremedijacije (tablica 1). Svaka tehnologija ima svoje prednosti i nedostatke.¹ U idealnim uvjetima postupci remedijacije trebali bi potpuno razgraditi spojeve bez stvaranja međuprodukata. Neki procesi remedijacije imaju sposobnost samo razmještanja i stabilizacije organskih tvari i ne postižu traženo razaranje i uklanjanje.

Vrlo često su pesticidi prisutni u svim slojevima lokaliteta odnosno tlu, sedimentu, kanalizaciji i podzemnoj vodi. Zbog toga postupak remedijacije zahtijeva različite pristupe svakom od medija, što uvelike povećava troškove procesa. Zaključeno je da npr. toplinska desorpcija ima uspješnost 99 % prilikom uklanjanja onečišćenja s konačnom cijenom od 155 do 205 \$ po toni medija.¹ Bioremedijacija uz pomoć gljive bijelog truljenja nije se pokazala uspješnom kod uklanjanja DDT-a i toksafena iz tla. Međutim, bioremedijacija bakterijama primjenom ciklusa anaerobno – aerobno pokazala se uspješnom pri razaranju tih dviju supstancija. Primjena ove tehnologije ima najniže troškove, međutim

zahtijeva dulje vrijeme za uklanjanje istog volumena i koncentracije pesticida za razliku od toplinske desorpcije.¹

Danas su niske temperature toplinska desorpcija i spaljivanje najčešće primjenjivani i dokazani postupci za remedijaciju tla onečišćenog pesticidima. S obzirom na sam lokalitet bioremedijacija ili fitoremedijacija ne moraju uvijek biti najbolje metode, te danas postoje dvije nove metode koje se još procjenjuju.

Niskotemperaturna toplinska desorpcija pesticida

Niskotemperaturna toplinska desorpcija je tehnologija čišćenja *ex situ* i ujedno je najčešće primjenjivan postupak za uklanjanje pesticida. Ovim postupkom mogu se ukloniti poluhlapive i hlapive organske komponente uključujući i pesticide iz tla, sedimenta i filterškog kolača.¹⁵ Zasniava se na postupku zagrijavanja medija na temperaturu od 150 do 540 °C, čime se postiže isparavanje, ali ne i razaranje organske komponente. Nastali organski plinovi zatim prolaze kroz komoru za dogorijevanje ili hlađenje plinova te se hvataju na ugljenim filterima. Prolaskom plinovite frakcije kroz komoru za dogorijevanje plinovi su potpuno uništeni. Kondenzator pretvara plinovitu frakciju u tekućinu za daljnje uklanjanje, dok ugljeni filter procesom adsorpcije vezuje nastale produkte.⁸ Ovaj način remedijacije nije sposoban ukloniti npr. teške metale i anorganska onečišćenja, te je za njega nužno da u onečišćenom mediju bude najmanje 20 % čvrste faze.¹

Uklanjanje pesticida spaljivanjem

Spaljivanje je postupak koji se najčešće primjenjuje za uklanjanje pesticida iz tla i sedimenta. Pod utjecajem topline i kisika onečišćeni medij i organske komponente se oksidiraju. U prvoj fazi organski otpad spaljuje se pri temperaturi od 540 do 990 °C, prilikom čega nastaju hlapive organske komponente. Druga faza je spaljivanje pri 870 do 1200 °C, čime se postiže potpuno razaranje organskih tva-

Tablica 1 – Usporedba tehnologija za uklanjanje pesticida sa onečišćenih područja¹

Table 1 – Comparison of technologies for the treatment of sites contaminated by pesticides¹

Tehnologija Technology	Trajanje postupka* / mjeseci Treatment time* / months	Vrsta medija Treatable media	Učinkovitost uklanjanja Removal efficiency
niskotemperaturna toplinska desorpcija low temperature thermal desorption	0,75	zemlja, mulj i sedimenti soil, sludge and sediment	od 82 do 98% from 82 to 98%
spaljivanje incineration	1	zemlja, mulj i sedimenti soil, sludge and sediment	99,99 %
bioremedijacija bioremediation	3,1 (<i>ex situ</i>)	zemlja, mulj, sedimenti i podzemne vode soil, sludge, sediment and groundwater	99,8 %
fitoremedijacija phytoremediation	nema podataka no data	zemlja, mulj, sedimenti i podzemne vode soil, sludge, sediment and groundwater	80 %

* Temeljeno na tretiranju 1000 yd³ (764,55 m³) tla onečišćenog različitim organskim spojevima

* Based on treatment of 1000 yd³ (764.55 m³) of soil contaminated with various organic compounds

ri.¹⁶ Tako nastali pepeo može se odlagati ako zadovoljava sigurnosna pravila.

Prednost ovog načina remedijacije je što potpuno uklanja onečišćivače. Međutim proces je skup jer zahtijeva transport medija do spalionice, čime se povećava rizik od daljnje onečišćenja.¹

Bioremedijacija pesticida

Postupak bioremedijacije je tehnologija koja se primjenjuje u posljednja dva desetljeća za remedijaciju različitih lokaliteta.^{1,17} Proces bioremedijacije potaknut je prirodnim procesom mikrobiološke razgradnje organskih tvari odnosno interakcijom mikroorganizama i sastojaka otpada, npr. izvorima ugljika i elektron-donora.

U osnovi, bioremedijacija je intenzivno pojačavanje procesa samopročišćavanja koji se događa u prirodi. Pri tome se istodobno odvijaju tri različita procesa:¹⁸

1. oksidacija: $\text{COHNS}(\text{organska tvar}) + \text{O}_2 + \text{bakterije} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + \text{ostali produkti} + \text{energija}$
2. biosinteza: $\text{COHNS}(\text{organska tvar}) + \text{O}_2 + \text{bakterije} \rightarrow \text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2(\text{nove stanice})$
3. autooksidacija: $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2(\text{nove stanice}) + 5 \text{O}_2 \rightarrow 5 \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + 2 \text{H}_2\text{O} + \text{energija}$

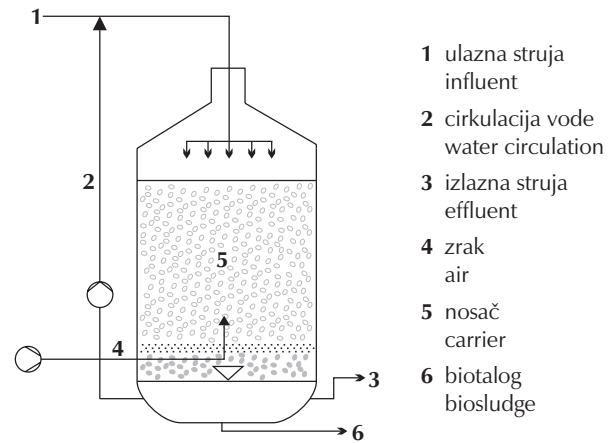
Krajnji produkti bioremedijacije trebaju biti CO_2 i H_2O bez stvaranja međuprodukata. Općenita podjela bioremedijacijskih postupaka je na postupke *ex situ* i *in situ*. Postupci *ex situ* uključuju primjenu bioreaktora, biofiltera i kompostiranje. Kompostiranje uključuje miješanje onečišćenog tla s organskim supstratom koji je izvor ugljika za aerobne mikroorganizme iz tla.

Postupci bioremedijacije *in situ* uključuju bioventiliranje, bioprskanje i biostimulaciju.¹ Bioventiliranje i bioprskanje vrlo su slični postupcima *in situ*. Obje metode uključuju uvođenje kisika u propusno tlo radi povećanja aktivnosti aerobnih mikroorganizama.

Pri primjeni prokapnih bioreaktora *ex situ* otpadna onečišćena voda kapa na čvrstu podlogu koloniziranu mikroorganizmima (slika 2). Tijekom prolaska onečišćivača mikroorganizmi ih razgrađuju, a prije nego se nastali produkt razgradnje ukloni, potrebno je odrediti koncentraciju mikroorganizama u njemu. Postupak je primjenjiv za hlapive organske komponente.¹

Druga vrsta bioreaktora je zatvorena posuda u kojoj se miješaju onečišćeni medij, dodaci i mikroorganizmi. Zatvoreni sustav omogućava kontrolu pH i kisika. Otpadni medij uvodi se u sustav u kojem se miješa s kisikom da bi proces bio aeroban. Spajanjem više bioreaktora postupak čišćenja daje znatno bolje rezultate. Ovi se biorektori upotrebljavaju za obradu onečišćenog tla, pri čemu se voda dodaje u tlo te se nastala emulzija dalje obrađuje.¹

Varijacije dvaju navedenih sustava primjenjuju se najčešće za pročišćavanje voda. Pri tome se upotrebljavaju crpke za uklanjanje onečišćene vode iz vodonosnika. Zatim se onečišćena voda crpkama odvodi nedaleko od lokaliteta u biorektor u koji se za postizanje razgradnje *in situ* dodaju hranjive tvari i elektron-donori da bi se povećala razgradnja autohtonim mikroorganizmima (slika 3). Za postizanje



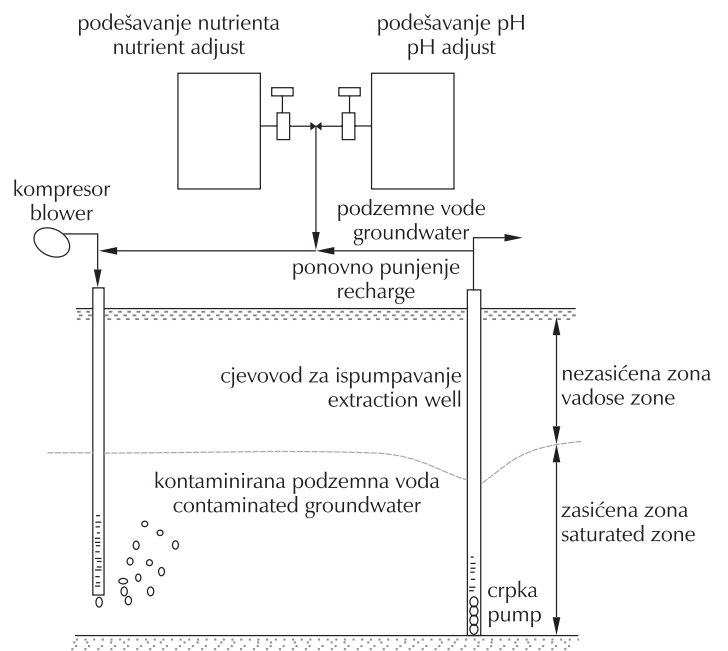
Slika 2 – Princip rada bioreaktora¹

Fig. 2 – Basic principle of bioreactor¹

aerobnih uvjeta zračnom crpkom dodaje se O_2 . Ako obrađena voda nije zadovoljila tražene kriterije čistoće, sprema se u spremnike ili se recirkulacijom vraća u novi ciklus uz dodatak novih hranjivih tvari. Proces se nastavlja dok dobivena pročišćena voda ne zadovolji zadane kriterije čišćenja.^{19,20}

Kod postupka *ex situ* na samoj onečišćenoj lokaciji materijal se iskopa i oblikuje u gredice ili gomile. Zatim se dodaju organski supstrat, dušik i fosfor. Vлага, pH i redoks-potencijal se kontroliraju, dok se onečišćeni materijal miješa i time omogućava aeracija. Gredice se mogu prekriti plastičnim pokrovom, pri čemu aerobni mikroorganizmi iskoriste kisik, a zatim anaerobni mikroorganizmi postaju aktivni i mogu razoriti organske tvari koje nisu uklonjene uz pomoć aerobnih mikroorganizama.¹

Još jedan od načina remedijacije je tzv. *land spreading* kod kojeg se onečišćeni medij miješa s tlom, pri čemu autohtoni



Slika 3 – Bioremedijacija *in situ*¹

Fig. 3 – *In situ* bioremediation¹

mikroorganizmi razgrađuju onečišćivače. Ovaj postupak predstavlja potpunu bioremedijaciju jer se onečišćeni medij, tlo, mulj ili sediment prevode u prvobitno stanje. Iako je sam proces poprilično dugotrajan, veoma je prihvatljiv malim poljoprivrednicima zbog niske cijene. U Sjedinjenim Američkim Državama to je jedan od najčešće primjenjivanih remedijacijskih postupaka *ex situ*.²¹

Navedeni postupci bioremedijacije mogu se primjenjivati za različite onečišćujuće tvari. Remedijacijom *in situ* u Arizoni je obrađena površina od 67 000 m² u procesu uklanjanja parationa i toksafena. Pri tome je onečišćeno tlo obogaćeno vodom i hranjivim tvarima da bi se povećao stupanj biorazgradnje. Paration je na taj način uklonjen, ali da bi se uklonio toksafen, dodani su gnojivo, mulj, sumporna kiselina i vodikov peroksid te je nakon podešavanja pH koncentracija toksafena pala na prihvatljivu vrijednost.¹

Iako bioremedijacija ima svoje prednosti i obećava kao tehnika za uklanjanje pesticida, još uvijek se nastoji poboljšati.²² Do sada su utvrđene neke smjernice za uklanjanje pesticida, tako da se npr. organofosforni pesticidi iz tla uglavnom uklanjaju kompostiranjem i *land spreadingom*, dok se iz onečišćene vode uklanjaju uz pomoć aerobnih bioreaktora. Organoklorni pesticidi uklanjaju se aerobnom i anaerobnom bioremedijacijom.^{23,24} Utvrđeno je da gljive bijelog truljenja iz roda *Phanerochaete* učinkovito razgrađuju toksične tvari. Većina istraživanja provedena je s vrstom *Phanerochaete chrysosporium*, koja razara postojeće spojeve, dok su *Phanerochaete sordida*, *Pleurotus ostreatus*, *Phellinus weirii* i *Polyporus versicolor* pokazali dobre rezultate u laboratorijskim uvjetima.^{25,26} Ove gljive su značajne jer mogu razgraditi klordan, lindan i DDT. Međutim potrebna je velika količina gljiva na onečišćenju lokaciji jer je sama razgradnja vrlo spora. Iako su u prirodi sveprisutne, u laboratorijskim uvjetima nije moguće ostvariti remedijaciju onečišćenog tla.

Danas se primjenjuju suvremeni postupci, kao npr. Daramend i EHC koji se temelje na primjeni kombinacije organskog ugljika i željeza (ZVI, *zero-valent iron*). Dodavanjem ove smjese u tlo i vodu dolazi do stvaranja uvjeta koji podržavaju brzu i potpunu deklorinaciju mnogih organskih spojeva.^{27,28} Ukratko, kombinacijom kemijske ugradnje kisika (korozija Fe) te mikrobnog ugradnje kisika postiže se pojačavanje uvjeta za kemijski i mikrobnog postupak dehalogenacije te se postiže vrlo visok stupanj potpune deklorinacije bez nakupljanja metabolita. Ponavljanjem postupka Daramend u onečišćenu tlu, pri čemu broj ciklusa ovisi o koncentraciji pesticida, smanjuju se udjeli toksafena, DDT-a, DDD-a i DDE-a s 189, 81, 180 i 25 mg kg⁻¹ na 10, 9, 52 i 6 mg kg⁻¹, što zadovoljava traženo uklanjanje i razaranje od 95, 89, 71 i 76 %. Primjenom ove metode *in situ* uspješno je uklonjen dieldrin iz 2600 tona tla na Floridi 2004. godine. Primjenom dvaju ciklusa pročišćavanja u vremenu od 2 do 3 tjedna udjel dieldrina je s 45,9 µg kg⁻¹ smanjen na 15,1 µg kg⁻¹, a primjenom trećeg ciklusa na 5,8 µg kg⁻¹, odnosno redukcija je iznosila od 85 do 90 %.²⁸

Najbolji rezultati u razgradnji atrazina postignuti su primjenom bakterije *Pseudomonas* sp., soj ADP, izolirane na lokacijama onečišćenim tim herbicidom.^{29,30,31} *Pseudomonas* sp. ADP koristi se atrazinom kao izvorom dušika te ga razgrađuje tako da u prvom koraku provodi deklorinaciju do hidroksiatrazina i zatim ga metabolizira do cijanurične

kiseline i konačno do CO₂ i NH₃.^{30,32} Tako je primjenom ovog mehanizma te kombiniranjem postupaka bioaugmentacije populacijom *Pseudomonas* sp. ADP i biostimulacije dodatkom izvora ugljika postignut efikasan postupak za čišćenje tla onečišćenog atrazinom.³³

Obećavajući rezultati u razvoju bioremedijacijskog postupka za razgradnju organofosfatnog pesticida diazinona postignuti su primjenom triju bakterijskih vrsta *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens* i *Pseudomonas* sp. u mineralnom mediju obogaćenom glukozom.³⁴

Fitoremedijacija pesticida

Fitoremedijacija je ekološki prihvatljiva tzv. "zelena tehnologija" i u primjeni je posljednja dva desetljeća. Ovaj postupak primjenom biljaka za razgradnju, asimilaciju, metabolizam ili detoksikaciju različitih onečišćivača provodi pročišćavanje ili saniranje tla i sedimenata.^{1,35,36} Smatra se da je mehanizam transporta i razgradnje organskih onečišćivača u biljkama sljedeći: sustav korijenja utječe na fizička i kemijska svojstva tla; dolazi do znatnog povećanja populacije mikroorganizama i različitosti populacije; opskrba krajeva korijenja metabolitima razgradnje; stimulacija i humifikacija; upijanje i unos u biljku te translokacija.^{37,38}

Velika populacija mikroorganizama koja obitava na korijenju biljaka (rizosfera) te njihova simbioza omogućuje opskrbu organskim i anorganskim spojevima za obje vrste. Biljke zapravo nisu izravno uključene u proces te služe kao katalizator za pojačavanje mikrobnog rasta i aktivnosti, što znatno pojačava potencijal biorazgradnje.³⁹ Upravo bogata mikrobna aktivnost rizosfere daje potencijal za biorazgradnju onečišćivača. Ograničavajući faktor za mikroorganizme rizosfere je što ne mogu opstajati dalje od korijenja biljaka, te se ovaj proces zapravo naziva fitostimulacija ili bioremedijacija uz pomoć biljaka.¹

Prema tome fitoremedijacija se dijeli na:

1. fitoekstrakciju: biljka sa sposobnošću akumulacije onečišćivača transportira ga iz tla i pohranjuje u svoje tkivo;
2. rizofiltraciju: korijen biljke adsorbira ili samo uzima toksine iz vode ili kanalizacije;
3. fitorazgradnju: biljke ili pridruženi mikroorganizmi razgrađuju onečišćivač;
4. fitostabilizaciju: vezanje onečišćivača upijanjem i vezanjem u strukturu biljke, čime se smanjuju migracije kroz tlo.

Fitotransformacija nastaje kada biljka transformira organske onečišćivače u manje toksične, manje pokretne ili manje stabilne molekule. Taj proces uključuje fitorazgradnju, pri čemu biljka metabolizira odnosno enzimima cijepa organsku molekulu te je izlučuje (isparava) kroz lišće i tako ispušta u zrak, čime se jedan onečišćivač zamjenjuje drugim. Sam proces fitoremedijacije nije idealno rješenje za uklanjanje većine onečišćivača te je ograničeno na dubinu tla do 45 cm zbog dužine korijenja, odnosno dubinu vodonosnika do 3 m.¹

Za fitoremedijaciju pesticida najčešće se upotrebljava biljka *Kochia* sp., za koju je utvrđeno da interakcijom s mikroorganizmima u rizosferi dolazi do razgradnje prisutnih pesticida.⁴⁰ U laboratorijskim ispitivanjima dokazano je da biljke s dubokim korijenjem postižu bolju remedijaciju tako što

biljke apsorbiraju pesticide i transformiraju ih u organske molekule nužne za svoj razvoj. Ovaj proces djelotvorno smanjuje biosposobnost onečišćivača te zapravo svaka biljka prisutna na onečišćenom području doprinosi postupku fitostabilizacije.⁴¹ Taj postupak se pokazao uspješnim u remedijaciji tla i vode onečišćenih atrazinom.¹ Tako se npr. stablo javora upotrebljava za remedijaciju podzemnih voda onečišćenih nitratima, atrazinom i aroklorom. Istraživanje s trima različitim biljkama u vremenu od osam dana pokazalo je redukciju količine organofosfornih pesticida: malationa > 83 %, demeton-S-metila > 78 %, krufomata do 58 %.⁴²

U današnjim istraživanjima na primjer u tlu onečišćenom lindanom mogu se primijeniti i četiri mikroorganizma kao što su *Kocuria rhizophila*, *Microbacterium resistens*, *Staphylococcus equorum* i *Staphylococcus cohnii* izolirana iz rizo-sfere odabranih biljaka za fitoremedijaciju.⁴³

Zaključak

Postojani organski onečišćivači kao što su pesticidi predstavljaju ekološki problem današnjice. Zemlje u razvoju još uvijek upotrebljavaju neke pesticide koji su u razvijenim zemljama danas zabranjeni, te implementacija novih tehnika igra važnu ulogu u remedijaciji. Odabir učinkovitog postupka remedijacije određen je vrstom onečišćivača i vrstom medija, odnosno onečišćenja se danas mogu naći u tlu, kanalizaciji, sedimentima te podzemnim i površinskim vodama. Danas se primjenjuju postupci niske temperature toplinske desorpcije, spaljivanja, bioremedijacije i fitoremedijacije. Svaka tehnologija ima svoje prednosti i nedostatke, te neki procesi ne postižu traženo razaranje i uklanjanje nego samo razmještaju i stabiliziraju organske tvari.

Danas su niske temperature toplinska desorpcija i spaljivanje najčešće primjenjivani i dokazani postupci za remedijaciju tla onečišćenog pesticidima. Postupci bioremedijacije i fitoremedijacije danas su dvije nove metode koje se još procjenjuju. Fitoekstrakcija i fitostabilizacija ne razgrađuju onečišćivače, nego ih akumuliraju i na taj način imobiliziraju. Zbog toga fitoremedijacija još nije potpuno primjenjiva tehnologija i njezine mogućnosti se dalje ispituju. Brojnim laboratorijskim istraživanjima i pilot-studijama nastoji se povećati raspoloživost primjene bioremedijacije i fitoremedijacije te nadvladati ograničenja ovih metoda.

Popis kratica

List of abbreviations

- DDD – diklordifenildikloretan
– dichlorodiphenyldichloroethane
- DDE – diklordifenildikloretilen
– dichlorodiphenyldichloroethylene
- DDT – diklordifeniltrikloretan
– dichlorodiphenyltrichloroethane
- EEG – elektroencefalograf
– electroencephalograph
- FAO – Organizacija za prehranu i poljoprivredu
– Food and Agriculture Organization

Literatura References

1. C. Frazar, The Bioremediation and Phytoremediation of Pesticide-contaminated Sites, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 2000.
2. E. H. Smith, G. G. Kennedy, History of Pesticides, u D. Pimentel (ur.), Encyclopedia of Pest Management, Informa Taylor & Francis Group, London, 2002.
3. C. Tomlin (ur.), The Pesticide Manual (Incorporating the Agrochemicals Handbook), 15. izd., Datix International, Bungay, 2009.
4. FAOSTAT, URL: <http://faostat.fao.org/site/424/default.aspx#ancor> (16. 12. 2011.)
5. M. E. DeLorenzo, G. I. Scott, P. E. Ross, Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review, *Environ. Toxicol. Chem.* **20** (2001) 84–98.
6. P. P. Bolaños, A. G. Frenich, J. L. M. Vidal, Application of gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry in the quantification-confirmation of pesticides and polychlorinated biphenyls in eggs at trace levels, *J. Chromatogr. A* **1167** (2007) 9–17.
7. M. Alexander, Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants, *Environ. Sci. Technol.* **34** (2000) 4259–4265.
8. S. A. Hannah, B. M. Austern, A. E. Eralp, R. H. Wise, Comparative removal of toxic pollutants by six wastewater treatment processes, *Journal WPCF* **58** (1986) 27–64.
9. Curtis D. Klaassen, Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 6. izd., McGraw-Hill, 2001
10. E. Hodgson, A Textbook of Modern Toxicology, 4. izd., John Wiley & Sons, 2010., str 55–66.
11. R. Krieger, Handbook of Pesticide Toxicology, 2. izd., Academic Press, 2001., str. 707–725
12. M. Vidali, Bioremediation. An overview, *Pure Appl. Chem.* **73** (2001) 1163–1172.
13. B. K. Singh, A. Walker, Microbial degradation of organophosphorus compounds, *FEMS Microbiol. Rev.* **30** (2006) 428–471.
14. R. R. Dupont, C. J. Bruell, D. C. Downey, S. G. Huling, M. C. Marley, R. D. Norris, B. Pivetz, Innovative Site Remediation Technology, Design & Application: Bioremediation, American Academy of Environmental Engineers, Annapolis, 1998.
15. Thermal desorption treatment, EPA/540/S-94y, Engineering Bulletin, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1994.
16. R. Singhvi, R. N. Koustas, M. Mohn, Contaminants and remediation options at pesticide sites, EPA/600/R-94/202, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, 1994.
17. D. R. Showers, R. D. Norris, A. N. Clarke, Treatability studies for pesticides contaminated soil from a superfund site: A case of study of six technologies, Air & Waste management association, 89th annual meeting & exhibition, Nashville, 1996.
18. M. von Sperling, C. V. Andreoli, F. Fernandes, Sludge Treatment and Disposal, Vol. 6, IWA Publishing, London, 2007.
19. J. C. Quintero, M. T. Moreira, G. Feijoo, J. M. Lema, Effects of surfactants on the soil desorption of hexachlorocyclohexane (HCH) isomers and their anaerobic biodegradation, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **80** (2005) 1005–1015.
20. J. C. Quintero, M. T. Moreira, J. M. Lema, G. Feijoo, An anaerobic bioreactor allows the efficient degradation of HCH isomers in soil slurry, *Chemosphere* **63** (2006) 1005–1013.
21. Treatment technologies for SITE clean up: Annual status report, 9. izd., EPA/542/r-99/001, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1997.

22. P. J. Sturman, P. S. Stewart, A. B. Cunningham, E. Bouwer, J. Wolfram, Engineering scale-up of *in situ* bioremediation processes: a review, *J. Contam. Hydrol.* **19** (1995) 171–203.
23. A. A. M. Langenhoff, J. J. M. Staps, C. Pijls, A. Alphenaar, G. Zwiép, H. H. M. Rijnaarts, Intrinsic and stimulated *in situ* biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH), *Water Air Soil Poll. Focus* **2** (2002) 171–181.
24. T. P. Baczynski, D. Pleissner, T. Grotenhuis, Anaerobic biodegradation of organochlorine pesticides in contaminated soil – significance of temperature and availability, *Chemosphere* **78** (2010) 22–28.
25. S. I. Safferman, R. T. Lamar, S. Vonderhaar, R. Neogy, R. C. Haught, Treatability study using *Phanerochaete sordida* for the bioremediation of DDT contaminated Soil, *Toxicol. Environ. Chem.* **50** (1995) 237–251.
26. J. A. Bumpus, S. D. Aust, Biodegradation of DDT [1,1,1-Trichloro-2,2-Bis(4-Chlorophenyl)Ethane] by the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.* **53** (1987) 2001–2008.
27. W. A. Arnold, L. A. Roberts, Pathways and kinetics of chlorinated ethylene and chlorinated acetylene reaction with Fe(0) particles, *Environ. Sci. Technol.* **34** (2000) 1794–1805.
28. A. Seech, K. Bolanos-Shaw, D. Hill, J. Molin, *In Situ* Bioremediation of Pesticides in Soil and Groundwater, *Remed. J.* **19** (2008) 87–98.
29. R. T. Mandelbaum, D. L. Allan, L. P. Wackett, Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine, *Appl. Environ. Microb.* **61** (1995) 1451–1457.
30. L. P. Wackett, M. J. Sadowsky, B. Martinez, N. Shapir, Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies, *Appl. Microbiol. Biot.* **58** (2002) 39–45.
31. M. L. de Souza, L. P. Wackett, M. J. Sadowsky, The atzABC genes encoding atrazine catabolism are located on a self-transmissible plasmid in *Pseudomonas* sp. strain ADP, *Appl. Environ. Microb.* **64** (1998) 2323–2326.
32. E. Silva, A. M. Fialho, I. Sá-Correia, R. G. Burns, L. J. Shaw, Combined bioaugmentation and biostimulation to cleanup soil contaminated with high atrazine concentrations, *Environ. Sci. Technol.* **38** (2004) 632–637.
33. D. Lima, P. Viana, S. André, S. Chelinho, C. Costa, R. Ribeiro, J. P. Sousa, A. M. Fialho, C. A. Viegas, Evaluating a bioremediation tool for atrazine contaminated soils in open soil microcosms: The effectiveness of bioaugmentation and biostimulation approaches, *Chemosphere* **74** (2009) 187–192.
34. M. Cycoña, M. Wójcickb, Z. Piotrowska-Segetc, Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil, *Chemosphere* **76** (2009) 494–501.
35. D. E. Salt, M. Blaylock, N. Kumar, V. Dushenkov, B. D. Ensley, I. Chet, I. Raskin, Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants, *Biotechnology* **13** (1995) 468–474.
36. C. Garbisu, J. Hernandez-Allica, O. Barrutia, I. Alkorta, J. M. Becerril, Phytoremediation: a technology using green plants to remove contaminants from polluted areas, *Rev. Environ. Health* **17** (2002) 173–188.
37. T. Günther, B. Kirsche, W. Fritsche, Potential of plant–microbe-interactions for *in situ* bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils, u D. L. Wise, D. J. Trantolo, E. J. Cichon, H. I. Inyang, U. Stottmeister (ur.), *Bioremediation of Contaminated Soils*, Marcel Dekker, New York – Basel, 2000., str. 285–293.
38. E. Escalante-Espinosa, M. E. Gallegos-Martínez, E. Favela-Torres, M. Gutiérrez-Rojas, Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system, *Chemosphere* **59** (2005) 405–413.
39. H. Morikawa, O. C. Erkin, Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control, *Chemosphere* **52** (2003) 1553–1558.
40. J. R. Coats, T. A. Anderson, The use of vegetation to enhance bioremediation of surface soils contaminated with pesticide wastes, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1997.
41. E. L. Arthur, J. R. Coats, Phytoremediation, u P. C. Kearney, T. Roberts (ur.), *Pesticide Remediation in Soil and Water*, Wiley, New York, 1998., str. 251–283.
42. J. Gao, A. W. Garrison, C. Mazur, N. L. Wolfe, C. Hoehamer, Phytoremediation of organophosphorous (OP) compounds using axenic plant tissue cultures and enzyme extracts, u A. Leeson, B. C. Alleman (ur.), *Phytoremediation and Innovative Strategies for Specialized Remedial Applications*, Batetelle Press, Columbus, 1999., str. 151–156.
43. P. C. Abhilash, S. Srivastava, N. Singh, Comparative bioremediation potential of four rhizospheric microbial species against lindane, *Chemosphere* **82** (2011) 56–63.

SUMMARY

Procedures for removal of pesticides from the environment

M. Đokić,^a N. Bilandžić,^a and F. Briški^b

Pesticides are widely used in food production, and it is believed that more than 1000 types of pesticides are in use. Organochlorines and organophosphorous pesticides are used in large quantities due to their efficacy and low cost. These persistent organic pollutants remain in the soil, silt, and sediment long after application, and enter into watercourses, finding their way directly into the food chain. Today, the following procedures are used to remove pesticides from polluted localities: low temperature thermal desorption, incineration, bioremediation and phytoremediation. Each of these technologies has its advantages and disadvantages. Ultimately, the ideal remediation process would be to completely destroy the pollutant without the production of by-products. Some of these processes are only capable of moving and stabilizing the contaminant, but do not clean or fully eliminate the pollutant. Low temperature thermal desorption is an *ex situ* cleaning technology most often used to remove pesticides. The advantage of incineration is the complete elimination of the pollutant; however, this process is very expensive, as it requires transport of the media to the incinerator. The processes of bioremediation are stimulated by natural processes of microbiological degradation of contaminants through the interaction of microorganisms and nutrients from waste. *Ex situ* procedures include the use of bioreactors. Another procedure is land spreading, in which the contaminated medium is mixed with the soil, in which the native microorganisms degrade the pollutants. Efficacy in the biodegradation of toxic pollutants has been established for white root fungi, particularly those from the genus *Phanerochaete*. Phytoremediation is a green technology that uses plants, in which plants are not directly included in the process but serve as a catalyser for increasing the growth and activity of root microorganisms. In phytoremediation of pesticides, plants of the genus *Kochia* are often used, as it has been established that the interaction between the plants and microorganisms in the rhizosphere leads to the degradation of pesticides. Bioremediation and phytoremediation are two new methods that are still under assessment. Numerous laboratory studies and pilot studies are attempting to increase the applicable uses of bioremediation and phytoremediation, and overcome the limitations currently presented by these methods.

^a *Laboratory for Residue Control, Department of Veterinary Public Health, Croatian Veterinary Institute, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Croatia* Received November 3, 2011
Accepted January 25, 2012

^b *Department of Industrial Ecology, Faculty of Chemical Engineering and Technology, University of Zagreb, Marulićev trg 19, 10 000 Zagreb, Croatia*