

Toksični organski spojevi - ksenobiotici



Prof.dr.sc. Tibela Landeka Dragičević

Što znači ksenobiotik ?

engl. *Xenobiotics* (Xeno = stran; Bios = život)

Pojam **ksenobiotik** je izveden od grčke riječi ξένος (**xenos**) = stranac, stran; i βίος (**bios, vios**) = život, plus grčki sufiks za pridjeve -τικός, ή-, -ό (tic)

Pojam **ksenobiotik** (engl. *xenobiotics*) se često uporabljuje u kontekstu **zagađivala**, poput primjerice dioksina i polikloriranih bifenila, i njihovog učinka na **životne zajednice**, budući su ksenobiotici strani prirodi - biološkim sustavima, odnosno to su tvari koje ne postoje u prirodi nego ih je čovjek načinio – sintetizirao.

Ksenobiotici, sve veći problem postaju i na sustavima pročišćavanja otpadnih voda, jer su relativno nove tvari i teško ih je kategorizirati.

Antibiotici, primjerice, uz prirodno uobičajeno onečišćenja gradskog sustava za pročišćavanje otpadnih voda, čine gotovo nemogućim ukloniti to novo opterećenje.

Neki ksenobiotici su otporni na razgradnju.

Na primjer, oni mogu biti sintetički organokloridi poput plastike i pesticida, ili prirodne organske kemikalije, kao što su poliaromatski ugljikovodici (PAH) i neke frakcije nafte i ugljena.

Međutim, vjeruje se da su mikroorganizmi sposobni razgraditi gotovo sve različite složene i otporne na razgradnju ksenobiotike pronađene na Zemlji.

Vrste ksenobiotika

☐ **Naftni proizvodi** (BTEX, MBTE)

☐ **Pesticidi** (DDT, DDE)

☐ **Herbicidi** (Atrazin)

☐ **Industrijski otpad** (PCBs, aromti:benzen, toluen, naftalen , naftol, fenol, bifenili)

Halogenirani spojevi: ugljikov tetraklorid, kloroform, vinil-klorid, trikloro-, tertrakloro-
etilen, benzoati

Halogenirani aromatski spojevi: poliklorirani bifenili (PCBs); organoklorni insekticidi
(DDT, Taksofen); klorirani herbicidi (Atrazin); klorirani fenoli (pentaklorofenol,
nitrofenol i dr.);

BTEX – akronim za benzen, toluen, etilbenzen, ksilen

MBTE – $(\text{CH}_3)_3\text{COCH}_3$ Metil t-butil eter

Ksenobiotici su kemijski spojevi načinjeni od čovjeka, vrlo teško razgradivi.

Ti spojevi su načinjeni kao sintetske organske kemikalije, strani su prirodi.

Nakupljaju se u okolišu i imaju štetan učinak na živi svijet.

Ksenobiotici uključuju-obuhvaćaju kemijski sintetizirane spojeve poput pesticida, polietilena, polistirena, PVC.

Neki spojevi su **rekalcitrantni spojevi**, odnosno otporni su na razgradnju, nisu lako razgradivi zbog vrlo razgranatih molekula ili zbog prisutnih halogenih, nitro ili sulfo skupina u molekulama.

Halogenirani alifatski i aromatski spojevi su najčešći - najvažniji ksenobiotici jer imaju **ogroman potencijal štetnosti za okoliš**.

Iako su mnogi od takvih spojeva visoko djelotvorni za čovjeka ipak njihovo dugotrajno prisustvo u okolišu ima štetan učinak.

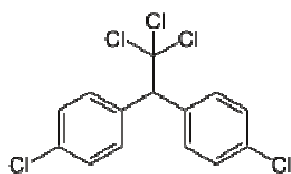
Rekalitrantni toksični pesticidi poput BHC (β -heksaklorocikloheksan), PCBs (poliklorirani bifenili) i DDT (diklorodifeniltrikloretan) nisu lako razgradivi i njihova koncentracija se povećava u zemlji i vodi s vremenom.

Primjerice, zapažen je stalni porast koncentracije DDT u nizu trofičkih nivoa u prehrambenom lancu.

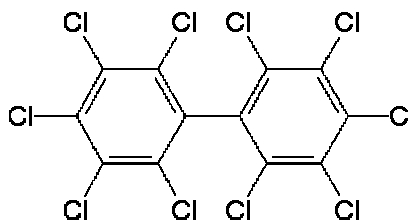
Modelni spojevi DDT, kao što su difenilmetan i diklorodifenilmetan su biorazgradivi s različitim mikroorganizmima.

Pseudomonas putida prevodi DDT u nekoliko spojeva pri anaerobnim uvjetima.

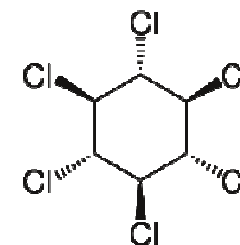
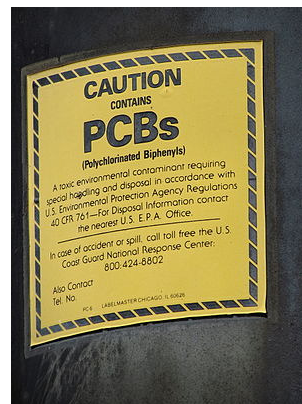
U aerobnim uvjetima, raskidanjem prstena nastaje p-klorofeniloktenu kiselina koja služi kao supstrat vrstama *Arthrobacter*.



DDT

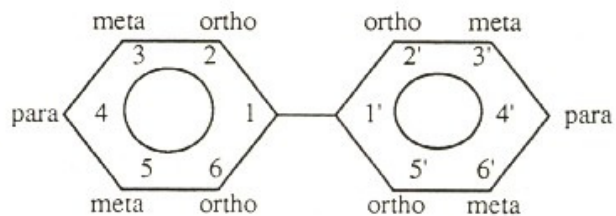


PCB

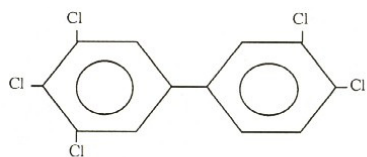


BHC

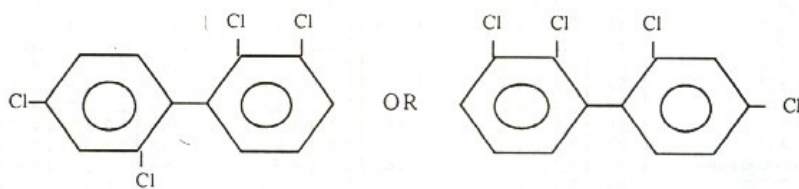
Struktura bifenilnih molekula i nomenklatura polikloriranih bifenila



Bifenilne molekule – sustav brojeva i supstitucije (orto, meta i para)

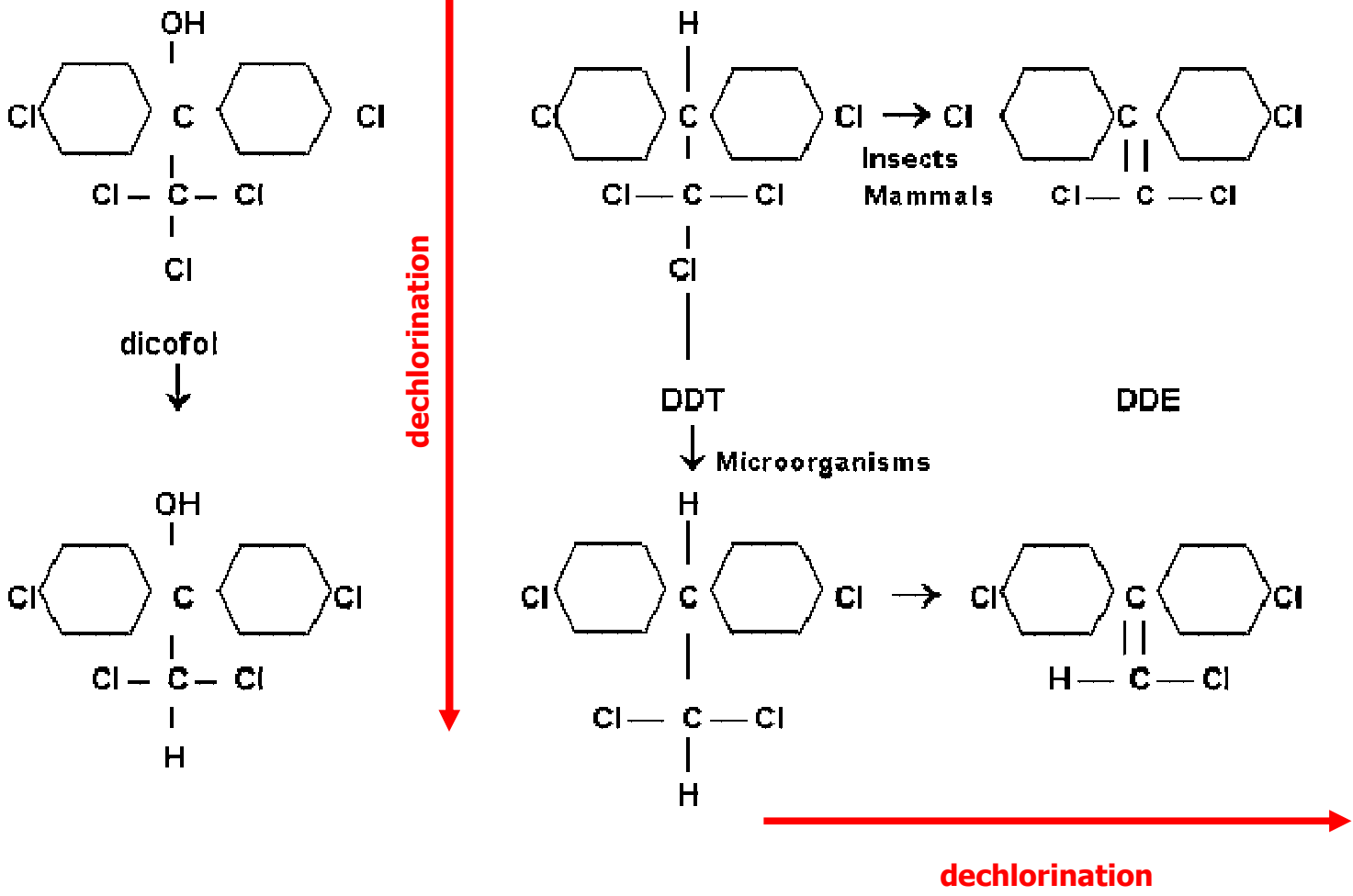


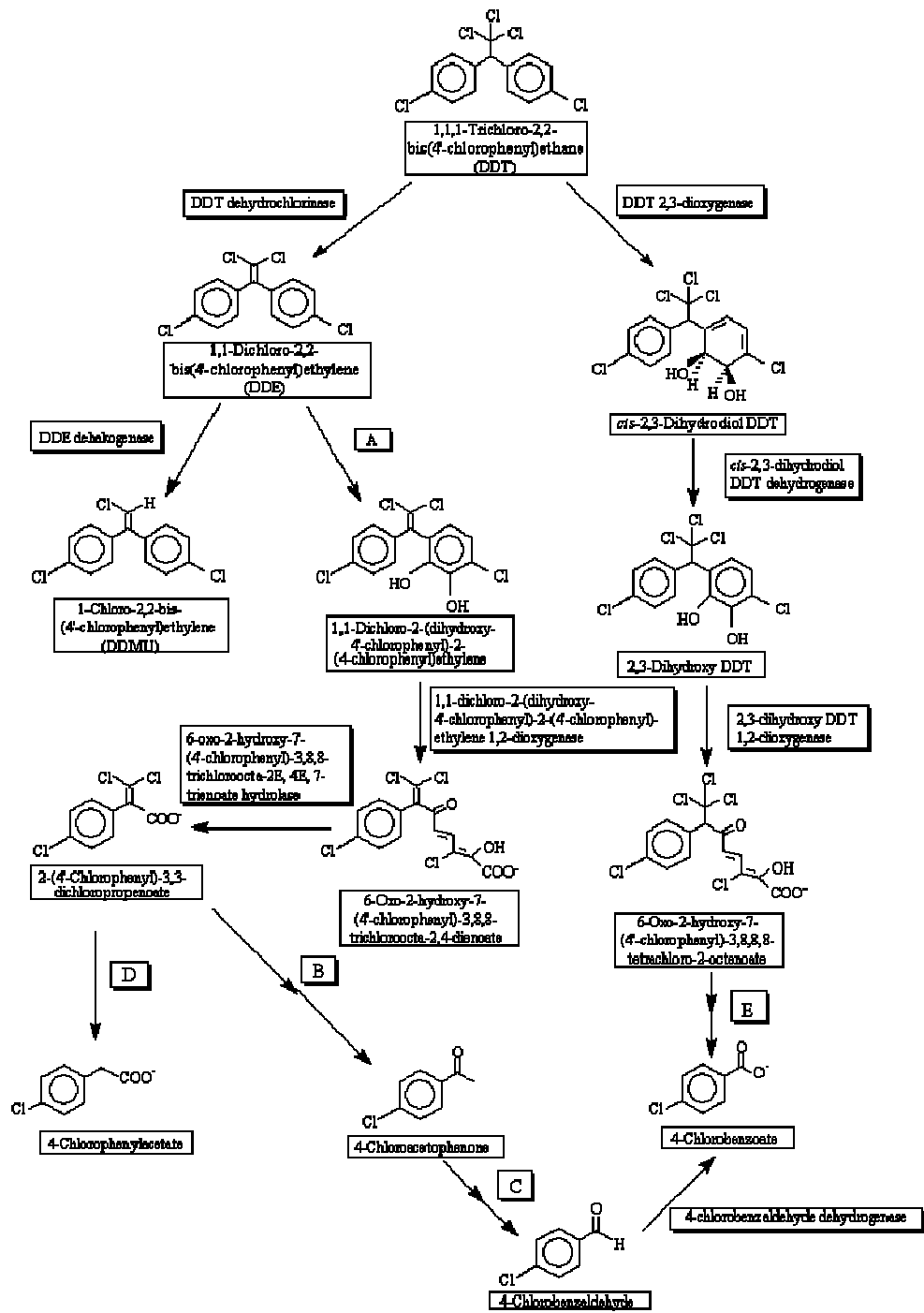
3,3',4,4',5-pentaklorobifenil



2,2',3,4'-tetraklorobifenil

BIORAZGRADNJA DDT





BIORAZGRADNJA

engl. *Biodegradation*

Biorazgradnja je pojam koji označava transformaciju kemijskih spojeva iz vrlo složenih oblika (organskih) u jednostavnije (anorganske) biološkim sredstvima.

Biorazgradivi spojevi su spojevi koji se biološki mogu prevesti u različite anorganske oblike ili mogu biti mineralizirani (potpuna razgradnja) = prevedeni u CO₂ i H₂O.

OSNOVE BIORAZGRADNJE

Mikroorganizmi imaju **najvažniju ulogu u biorazgradnji**.

Abiotički čimbenici i foto-oksidacija također igraju važnu ulogu u razgradnji organskih kemikalija ali takve transformacije su općenito nepotpune jer tim procesima se ne mogu organski spojevi prevesti u anorganske.

Prije industrijalizacije biosfera zemlje se održavala konstantnom – stalnom, zbog više-manje uravnoteženih reakcija biosinteze i biorazgradnje.

Biosfera (iz starogrčkog βίος, bíos = život i σφαίρα, sfaira = lopta) označava prostor ili područje na nebeskom tijelu u kojem se nalaze živi organizmi.

Svi ekosustavi Zemlje čine funkcionalnu cjelinu nazvanu biosfera (sfera života).

Biosferu sačinjavaju dijelovi ostalih Zemljinih sfera koje su naseljene živim bićima:

atmosfera: sloj plinova koji čini perifernu oblogu naše planete;

hidrosfera: vodeni omotač Zemlje i

litosfera: površinski, tvrdi pokrivač Zemlje

Tijekom evolucije, vrlo različiti kemijski spojevi su biosintetizirani u prirodi i mikroorganizmi su bili izloženi tim spojevima.

Tijekom milijuna godina izloženosti, razvili su sposobnost i mehanizme da „napadnu” te spojeve.

Od nekoliko kemijskih spojeva koje su sintetizirali kemičari, mnogi imaju strukturalna obilježja i veze slične prirodnim spojevima, i oni mogu biti biorazgrađeni.

BIORAZGRADNJA AROMATSKIH SPOJEVA

Izvori aromatskih spojeva u okolišu: razgradnju lignina u biljkama, uporaba detergenata, pesticida, lijekova, boja i drugo.

Nekoliko policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAHs) podrijetlom iz industrijskih procesa su kancerogeni.

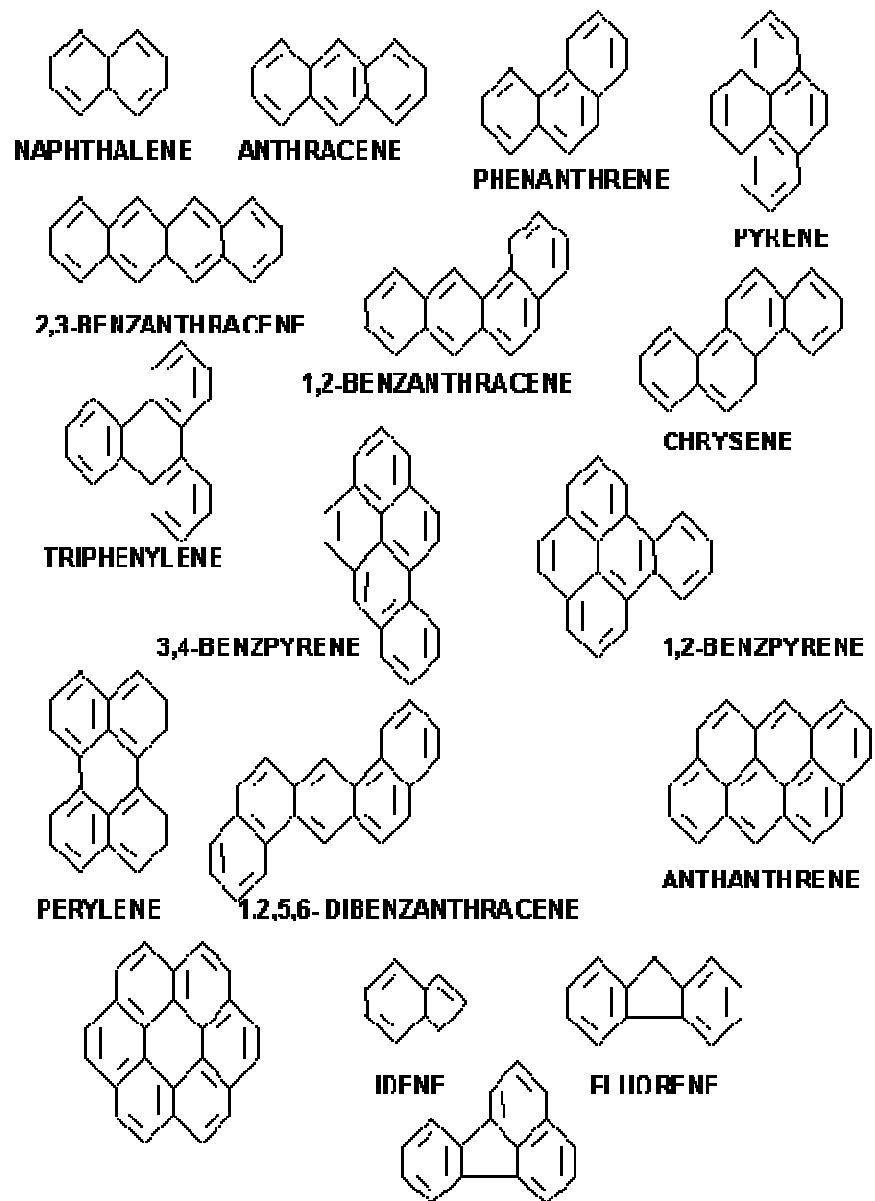
Raznovrsni - brojni mikroorganizmi uključujući bakterije, funge i kvasci mogu imati utjecaj na ove spojeve i razgraditi ih.

Benzen, toluen, ksilen, etilbenzen su razgrađeni pomoću bakterija.

Prisustvo metil-, kloro-, nitro-, amiono-, sulfonil- skupina u benzenskom prstenu uzrokuje **rekalcitrantnost** (spojevi otporni na biološku razgradnju ili biološki nerazgradivi) spoja.

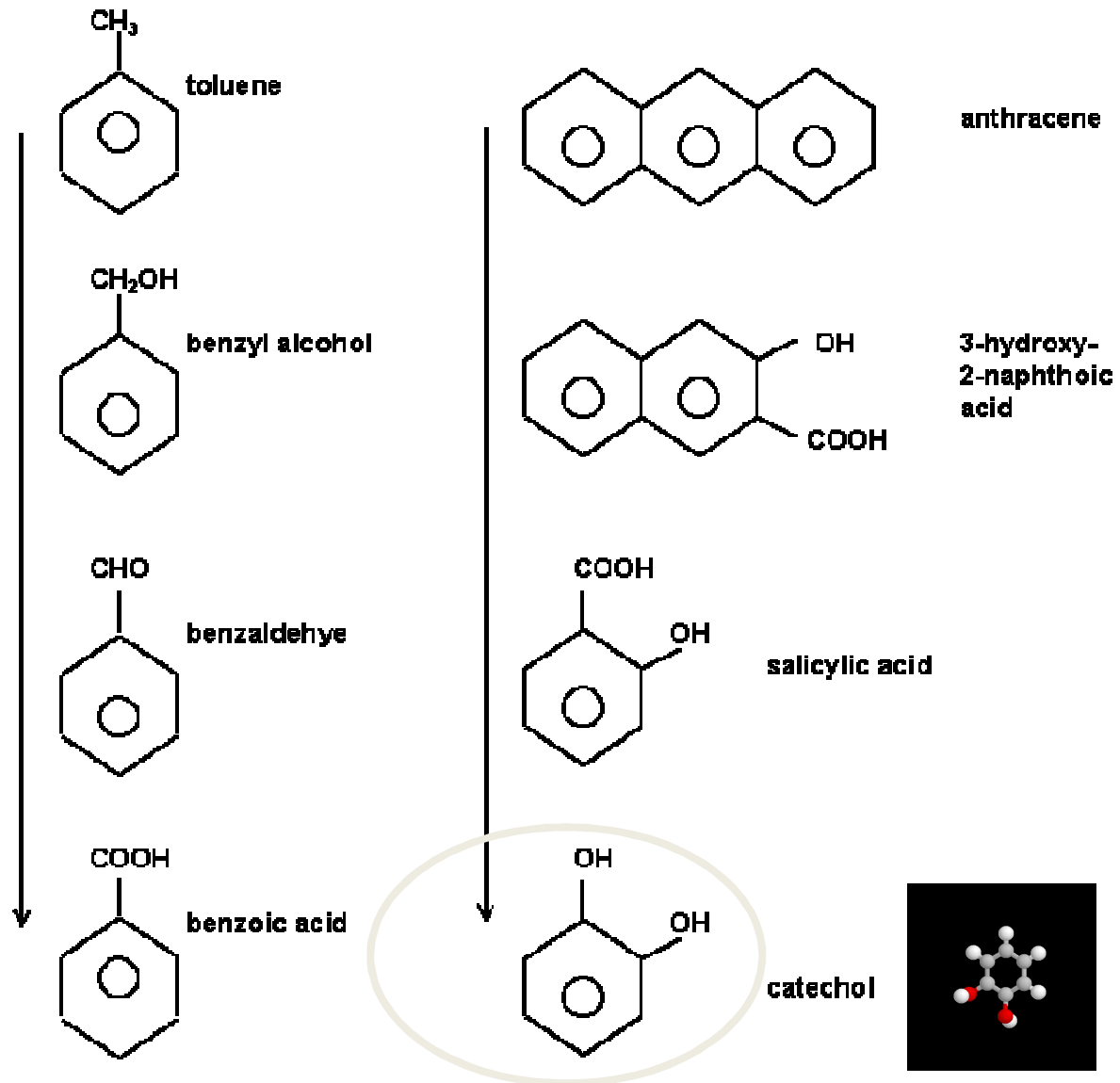
Evolucija mikrobni kataboličkih enzima ne ide u korak sa brzim uvođenjem novih spojeva u okoliš. Ti novosintetizirani spojevi su sporo biorazgradivi ili nisu biorazgradivi, poznati su pod nazivom REKALCITRANTNI SPOJEVI, i u rasponu su od jednostavnih halogeniranih ugljikovodika do složenih polimera.

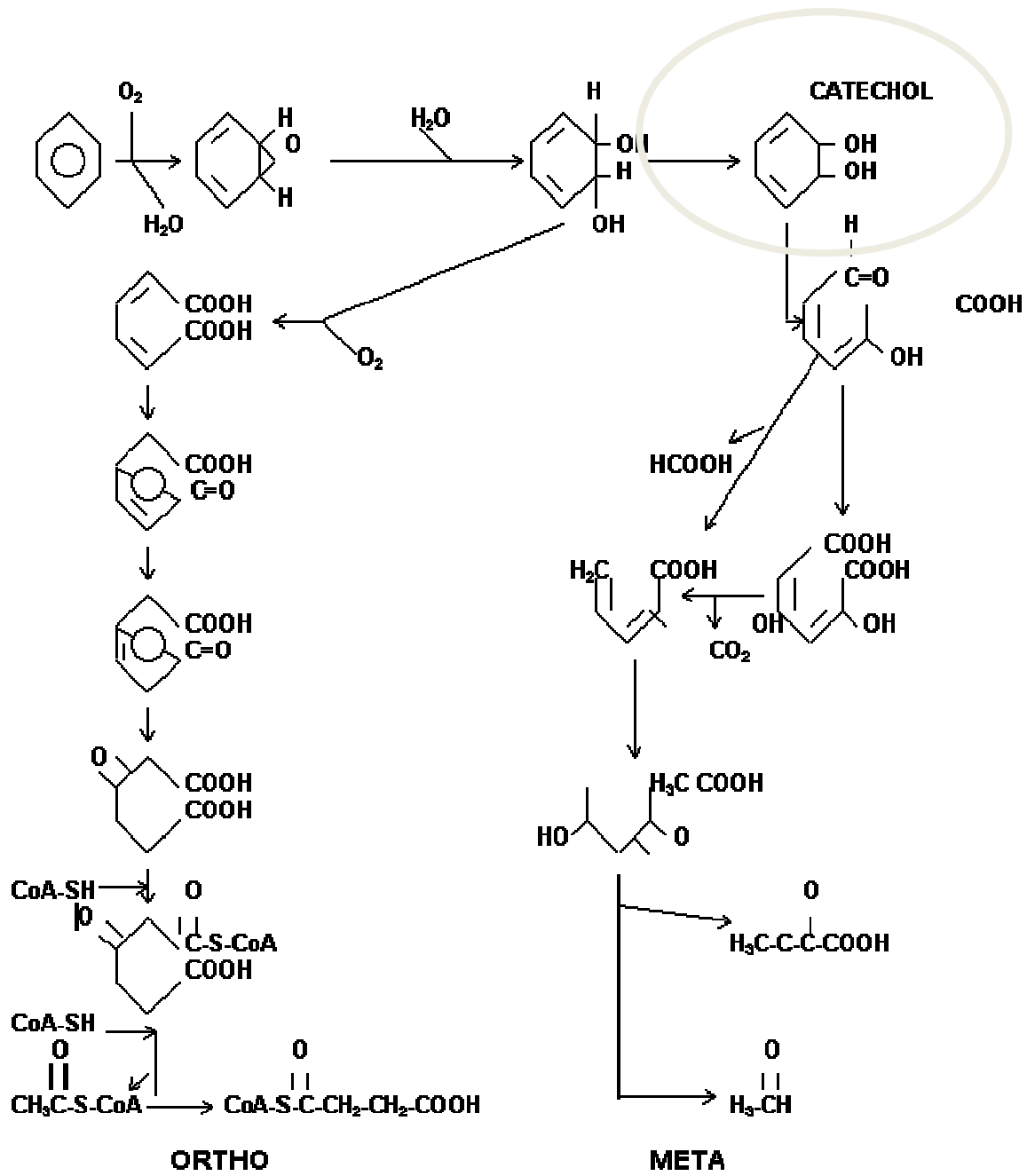
Rekalcitrantni spojevi mogu biti biorazgradivi razvojem mikroorganizama sposobnih za razgradnju tih spojeva. Mnogi čimbenici doprinose otpornosti na razgradnju - rekalcitrantnosti.



Primjeri najčešćih poliaromatskih ugljikovodika

Općeniti metabolizam aromata





BIORAZGRADNJA PESTICIDA

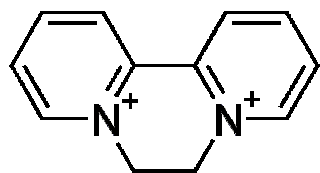
U zemlji herbicidi i pesticidi se razgrađuju različitim brzinama.

Primjerice:

Diquat i paraquat su fotolizirani do α -pikolinata i N-metil-izonikotinata, koji su potom razgrađeni pomoću mikroorganizama.

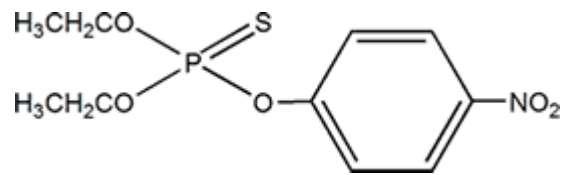
Vežanje herbicida na čestice zemlje usporava njihovu razgradnju.

Paration hidrolaza iz *Pseudomonas diminuta* je kodirana u plazmidu, koji hidrolizira paration u p-nitrofenol, koji se onda razgrađuje s pomoću mikroorganizama.



Diquat

6,7-Dihydrodipyrido[1,2-a:2',1'-c]pyrazinedium dibromide (IUPAC)



Paration, $C_8H_{10}NO_5PS$

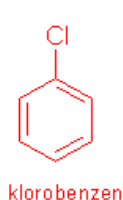
Structure	Name	Acute oral LD ₅₀ to rats (mg/kg)
	I diquat ion	231
	II TOPPS, 1,2,3,4-tetrahydro-1-oxo-2H-pyrido[1,2-a]-5-pyrazinium ion.	~ 4000
	III Diquat monopyridone, 6,7-dihydro-4-oxo-dipyrido[1,2-a:2',1'-c]pyrazin-8-ium ion.	~ 4000
	IV Diquat dipyrindone, 6,7-dihydrodipyrido[1,2-a:2',1'-c]pyrazin-4,9-dione.	
	V picolinamide	400-800
	VI picolinic acid	400-800

FIGURE 1. Structures of diquat and its photoproducts

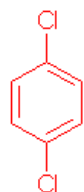
BIORAZGRADNJA KLORIRANIH AROMATSKIH SPOJEVA

Klorirani aromatski spojevi su zagađivala glavnog koncerna, toksični su i otporni na biorazgradnju.

Kloro-, dikloro- i triklorobenzen nisu lako biorazgradivi u sustavu biološke obrade.



klorobenzen



1,4-diklorobenzen

No, razgrađeni su s nekim mikroorganizmima iz zemlje i kometabolitički sa sojevima *Pseudomonas putida*.

Klorofenol i klorokatehol su međuprodukti u biorazgradnji klorobenzena, različitih pesticida i drugih kloroaromatskih spojeva.

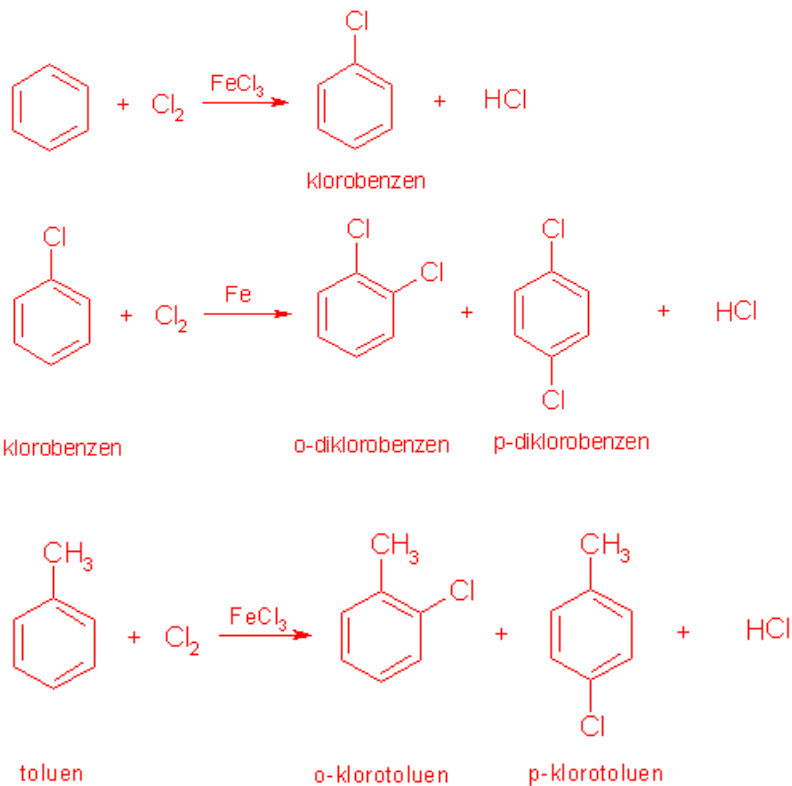
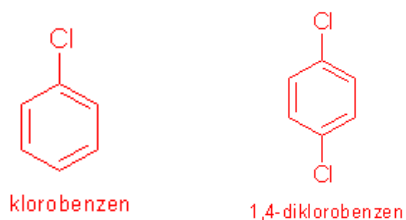
2,4,-diklorofenol je lako razgradiv s pomoću *Pseudomonas*, *Achromobacter* i *Arthrobacter*.

Poliklorirani fenoli, posebice pentaklorofenol (PCP) se koristi za konzerviranje (očuvanje) drva kao fungicid i herbicid.

PCP inhibira anaerobnu digestiju mulja.

Halogeni elementi lako reagiraju sa aromatima, na tri načina:

- Adicijom na dvostruke veze - produkti više nisu aromati
- Zamjenom vodikovog atoma benzenovog prstena – dobiju se arilhalogenidi
- Zamjenom vodika u alkinjoj skupini koja je vezana na aromat - dobije se aralalkilhalogenid



Okoliš je kontaminiran sa spojevima koji nisu biološki razgradivi zbog revolucije-napretka u znanosti i tehnologiji.

Najčešći kontaminanti nađeni u okolišu su komercijalni ugljikovodici, benzin, dizel, mlazna goriva, sirovi kemijski spojevi - kemikalije u industriji, benzen, toluen, etilen, ksilen, organohalogenirani spojevi poput trikloro-, tetrakloretilena i drugih.

Okoliš je također kontaminiran sa teškim metalima, poput žive i drugih.

Okoliš je kontaminiran sa nerazgradivim kemijskim spojevima poput:

 Trikloroetilen: ovo je vodeni kontaminant

 Perkloroetilen: ovaj spoj se koristi kao sredstvo za suho čišćenje

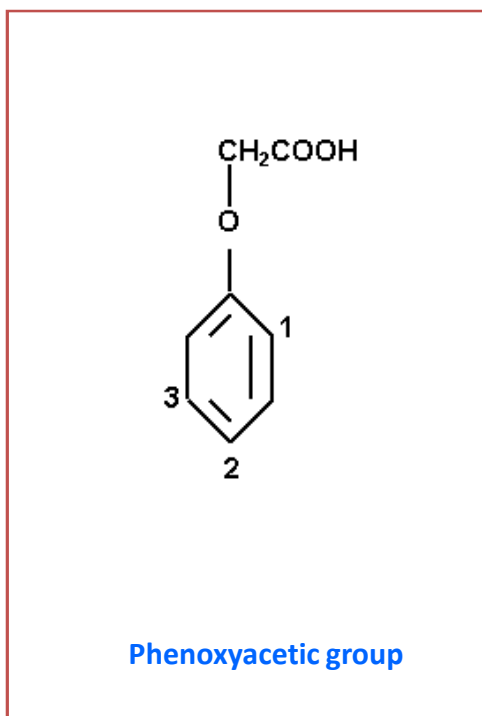
 Teški metali poput: arsena, kroma, selena

Sva **ova onečistila** okoliša **se mogu razgraditi** uporabom bioloških tehnika poznatih kao **bioremedijacija – biološko obnavljanje okoliša**.

Herbicidi – fenoksi kiseline i derivati

Tri su glavne skupine: fenoksiacetati, fenoksipropionati i feniksibutirati - derivati.
Mnogi od njih: kiseline iz tih grupa, te esteri i amini.

Osnovna struktura je:



1 Cl

2 Cl = 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D)

3 H

1 Cl

2 Cl = 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

3 Cl

1 CH

2 Cl = MCPA

3 H

Razgradnja fenoksi herbicida

Biljke su sposobne razgraditi ovaj herbicid u svome tkivu, ali brzina razgradnje je vrlo spora.

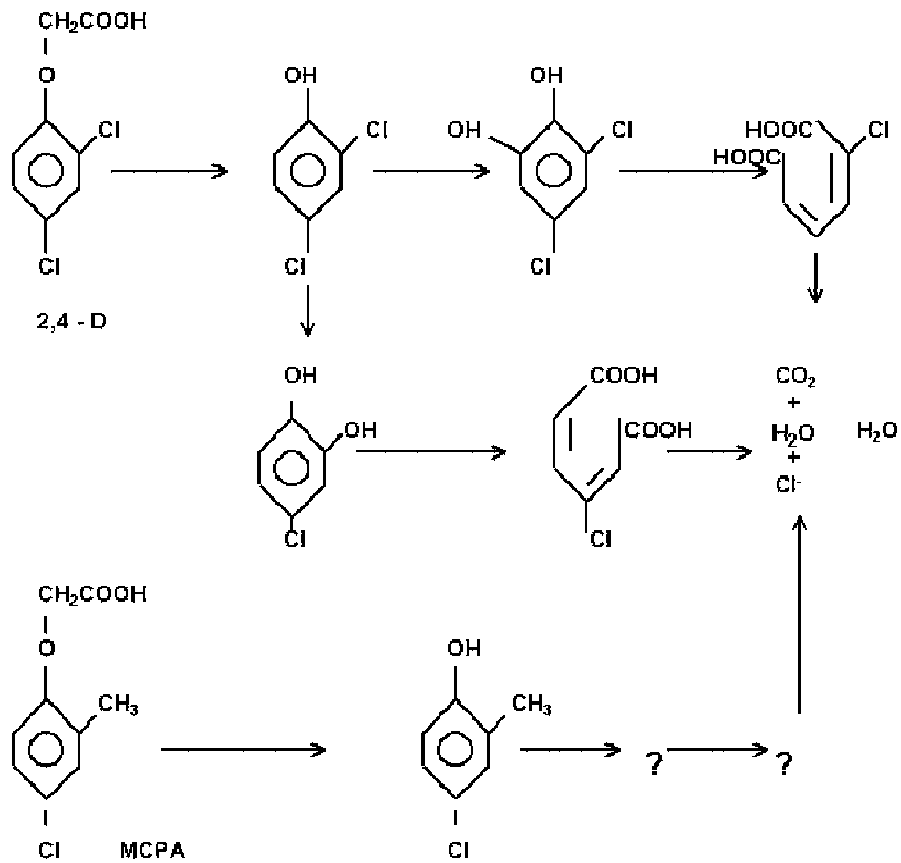
Brzina razgradnje u zemlji značajno varira.

Većina dostupnih rezultata o razgradnji fenoksi herbicida se odnosi na razgradnju 2,4-D.

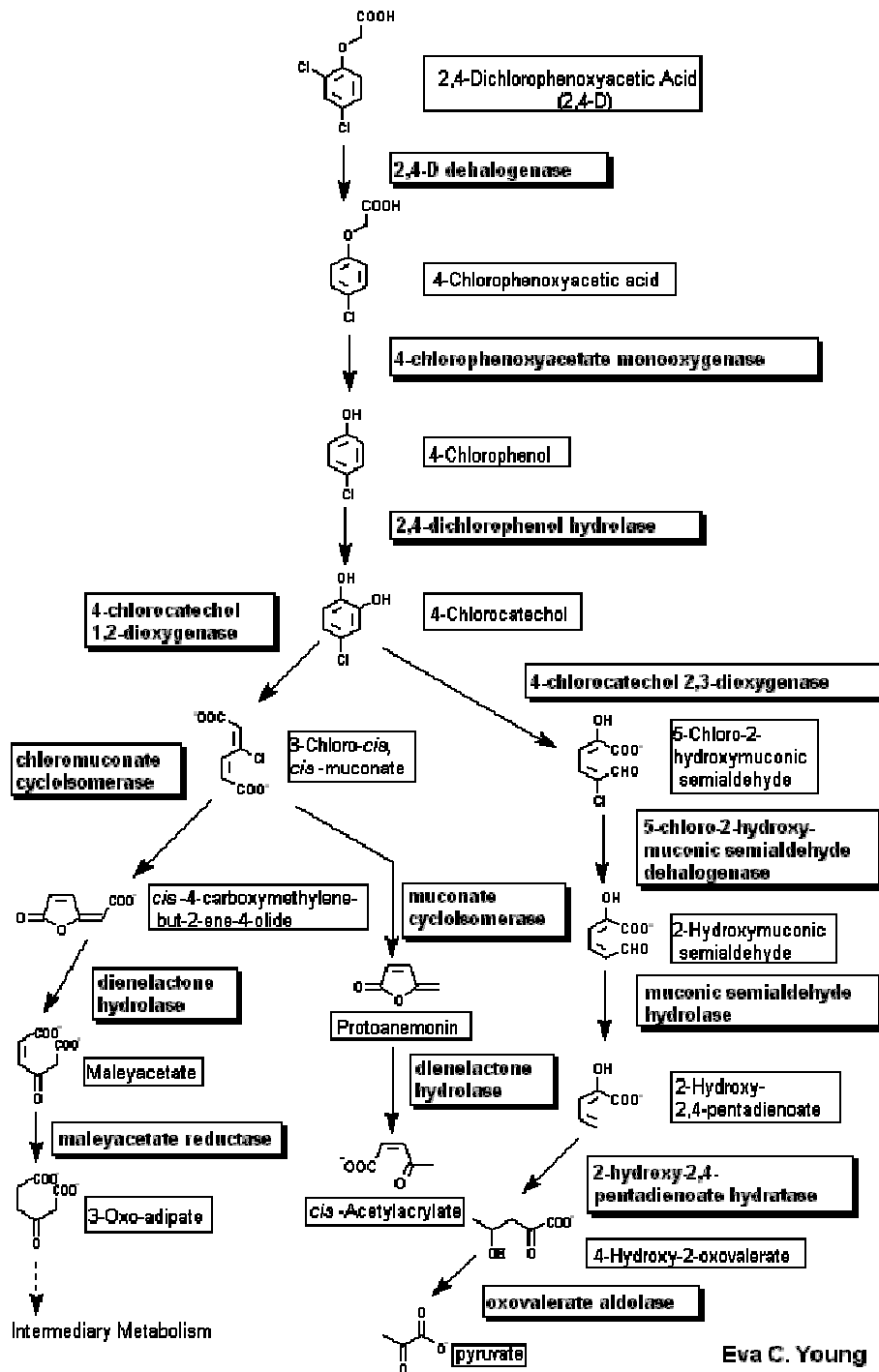
Čimbenici mikrobne razgradnje su:

- 1./ 2,4-D se brzo razgradi uzemlji. MCPA je puno otporniji na razgradnju i 2,4,5-T je još otporniji
- 2./ Mikroorganizmi u zemlji se prilagođavaju na dva različita načina:
 - A./ Indukcijom enzima.
 - B./ Selekcijom organizama za razgradnju 2,4-D
- 3./ Takva adaptacija često dopušta brzu razgradnju drugih članova grupe fenoksi herbicida
Većina mikroorganizama mogu razgraditi više herbicida.
- 4./ Dva su puta biorazgradnje
 - A./ preko hidroksifenoksioktene kiseline
 - B./ preko fenola

2,4-D i MCPA biorazgradnja



Potpunija verzija razgradnje 2,4-D



Eva C. Young

BIOREMEDIJACIJA

- ❑ **Bioremedijacija** je biotehnološka tehnika u kojoj se koriste mikroorganizmi za razgradnju kontaminanata prisutnih u zemlji ili površinskoj vodi.

Ti mikroorganizmi razgrađuju toksična zagađivala u manje toksične spojeve.

Mikroorganizmi koji se koriste u bioremedijaciji mogu biti autohtoni ili genetički preinačeni za određenu svrhu.

- ❑ Bakterije energiju potrebnu za rast i reprodukciju dobivaju razgradnjom organskog otpada.

Bioremedijacija koristi taj isti princip ali u posve različitim (drugačijim) postavkama.

Koristeći tehniku bioremedijacije ubrzava se proces pretvorbe toksičnih spojeva u manje toksične spojeve, povećanjem brzine bakterijskog metabolizma i rasta.

- ❑ Bioremedijacija je isplativa tehnika jer:

- ❖ kontaminacija je tretirana više puta u mjestu, time su smetnje minimizirane

- ❖ je učinkovita metoda

- ❖ u nekima incidentnim situacijama prirodni mikroorganizmi se mogu uporabiti u svrhu bioremedijacije

- ❑ Biorazgradnja toksičnih kontaminanata može biti vrlo učinkovita u mjestu, u kojem su prisutne u velikoj koncentraciji tvari (poput metala, kloriranih organskih spojeva) koje su toksične za mikroorganizme

- ❑ Okoliš je kontaminiran i sa teškim metalima, koji mogu biti prisutni u prehrambenom lancu te će izazvati ogromne zdravstvene probleme kod ljudi..

Primjerice:

uran: radioaktivni otpad, kontaminira vodu, može se razgraditi sa bakterijama koje trebaju željezo (“iron-eating bacteria”)

živa: znanost može dizajnirati bakterije za razgradnju

MIKROORGANIZMI U BIOREMEDIJACIJI

Brojni mikroorganizmi se mogu koristiti u bioremedijaciji, zbog toga što mnogi od njih koriste toksične kemijske spojeve kao izvor energije.

Mikroorganizmi, poput bakterija, kvasaca i funga se koriste u bioremedijaciji.

Primjeri nekih bakterijskih vrsta koje se koriste u bioremedijaciji su: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Flavocabterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Mycobacterium* idr.

Uporaba bakterija u bioremedijaciji ima neke dobre karakteristike, poput:

- ❖ bakterije koriste organske spojeve
- ❖ bakterijske stanice brzo rastu i reproduciraju se
- ❖ bakterije brzo i potpuno digestiraju organski otpad
- ❖ bakterije digestiraju toksične materijale bez nastajanja otrovnih spojeva ili plinova
- ❖ bakterije koje se koriste u remedijaciji nisu patogene i nemaju sposobnost uzrokovanja bolesti ljudi ili životinja

VRSTE BIOREMEDIJACIJE

Aerobna bioremedijacija: mikroorganizmi uporabljeni za razgradnjo nekih toksičnih spojeva, to čine koristeći atmosferski kisik.

Anaerobna bioremedijacija: mikroorganizmi uporabljeni za razgradnjo nekih toksičnih sestojaka, to čine razlažući kemijske spojeve da dobiju energiju potrebnu za funkcioniranje.

ODABIR TEHNIKE BIOREMEDIJACIJE

Povoljna tehnologija bioremedijacije se može odrediti s obzirom na prisutne organizme, stanje mjesta onečišćenja, i količine i nivoa toksičnih kontaminanata – onečišćivaća.

Primjena metode bioremedijacije može se podijeliti u dvije glavne kategorije:

- in-situ (u mjestu)
- ex-situ (iz mjesta)

In situ: ako se kontaminacija – onečišćenje dogodilo u vodenom mediju ili zemlji, bioremedijacija se čini u mjesti (in-situ). In-situ bioremedijacija, bioremedijacija na mjestu nastanka onečišćenja je povoljna. Primjer za in-situ bioremedijaciju je bio-prozračivanje.

Ex-situ: Bioremedijacija se ne provodi na mjestu nastanka onečišćenja (kontaminacije). Kontaminirana zemlje ili voda se izuzmu iz mjesta nastanka kontaminacije, prije obrade. Primjer ex-situ bioremedijacije je obrada gnojnice.

PRIMJENA BIOREMEDIJACIJE

Bioremedijacija se može uporabiti :

- ❖ za razgradnju izlivenih sirove nafte, kanalizacije, kloriranih i nekloriranih otapala koji se koriste u industriji
- ❖ za razgradnju ili razlaganje ugljenih proizvoda poput fenola i cijanida
- ❖ za razgradnju ili razlaganje kemikalija u poljoprivredi i pesticida
- ❖ za razgradnju ili razlaganje loživog ulja
- ❖ za razgradnju ili razlaganje konzervansa odnosno sredstava za očuvanje drva

Razvoj različitih industrijskih procesa rezultiraju u produkciji otpada koji je toksičan za okoliš i čini prijetnju za zdravlje ljudi i drugih organizama, opasan je.

Takav otpad može biti ili organski ili anorganski.

Opasni otpad se može svrstati u četiri skupine:

- gorivi
- toksični
- visoko reaktivni
- korozivni

Otpad može biti štetan po ljudsko zdravlje bilo da ljudi dolaze u kontakt s njim, udišu ga ili konzumiraju hranom.

Većina industrijskog proizvedenog otpada nije uspješno razgrađena mehanički, primjerice korištenjem kemikalija ili gorenjem.

Stoga se trebaju primjeniti alternativne metode upravljanja otpadom.

Mikroorganizmi su organizmi nevidljivi golimom okom.

Oni uključuju bakterije, gljivice i protiste.

Mnogi od ovih organizama su saprofiti, hrane se razgrađujući organski materijal u okolišu.

(SAPROFITI razgrađuju uginule organizme sve do najjednostavnijih kemijskih spojeva. Konačni produkti razgradnje su voda, ugljikov-dioksid i dušik. Možemo reći da proces razgradnje "pokreće život" jer se hranjive i mineralne tvari oslobađaju natrag u tlo i organizmi ih ponovno mogu iskoristiti).

Ta spoznaja može poslužiti kao način upravljanja otpadom i otpad se može razgraditi sa tim organizmima.

Uklanjanje otpada iz okoliša pomoću mikroorganizama je poznato pod pojmom BIOREMEDIJACIJA.

Bioremedijacija ne predstavlja novi pristup rješavanju problema onečišćenja okoliša, ali danas sa svim prednostima i mogućnostima znanosti, može doprinijeti na novoj razini pristupa problemu.

Neki mikroorganizmi ne mogu razgraditi otpad ali ga mogu akumulirati u velikim količinama, bez ugibanja.

Geni odgovorni za akumulaciju i toleranciju toksičnih tvari u organizme se mogu identificirati u uzorcima iz okoliša.

Ti geni mogu biti genetičkim inženjersvom ugrađeni u veći organizam koji ima veće kapacitete podnošenja onečišćenja, poput biljaka, te koristiti biljke koje će biti sposobne ukloniti opasni materijal iz okoliša i preživjeti uz te toksične nivoe onečišćenja.

Tipičan primjer organizma bioinženjerski priređenog za remedijaciju je *Pseudomonas fluorescence* koji je rastao u uvjetima kontaminiranim sa poliaromatskim ugljikovodicima i koji je bioinženjerski promjenjen sa naftalen kataboličkim plazmidom.

To je učinilo da bioinženjerski soj odgovori na prisutnost naftalena povećanjem razine svog kataboličkog gena što rezultira povećanjem razgradnje naftalena.

Taj bioinženjerski soj *P. Fluorescence* je nazvan HK44.

Genetički modificirani organizmi

GMOs za poboljšanje bioremedijacije još uvijek predstavljaju izazov, i prije nego se otpuste u okoliš – primjene u okolišu, moraju biti intenzivno istraženi na znanstvenom polju.

Također, mikroorganizmi su bioinženjerski preinačeni da su puno „gladniji” za spojevima sa ugljikom.

Tako kada prestane opskrba sa ugljikom, kao i kada otpad bude razgrađen, potreba organizama za ugljikom ne može biti zadovoljena.

Načini suzbijanja tih problema moraju se istražiti sa različitih područja biologije uključujući biotehnologiju, i zajedničkim radom potrebno je usvojiti strategiju učinkovitijeg rada u rješenu problema sve većih količina otpada u okolišu.



HVALA NA PAŽNJI !