

BIODEGRADÁCIA A BIOREMEDIÁCIA PENTACHLÓRFENOLU (PCP)

KATARÍNA DERCOVÁ^{a,*}, ZUZANA KYSELOVÁ^a,
GABRIELA BARANČIKOVÁ^b,
ZUZANA SEJÁKOVÁ^a a ANNA MALOVÁ^a

^aKatedra biochemickej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^bVýskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy, Reimannova 1, 080 01 Prešov, Slovenská republika

e-mail: dercova@chtf.stuba.sk

Došlo 7.3.02, prepracované 17.10.02, prijaté 12.1.03.

Kľúčové slová: biostimulácia, bioaugmentácia, bioremediácia, degradácia, pentachlórphenol, PCP

Obsah

1. Úvod
2. Fenol a jeho chlórderiváty – zdroje, výskyt
3. Chemická štruktúra a vlastnosti PCP
4. Mikrobiálna degradácia chlórphenolov
 - 4.1. Aeróbná degradácia chlórphenolov
 - 4.2. Anaeróbná degradácia chlórphenolov
5. Faktory ovplyvňujúce biodegradáciu PCP
6. Bioremediačné technológie používané pri dekontaminácii PCP
 - 6.1. Čistenie pôdy
 - 6.2. Kompostovanie
 - 6.3. Pôdne hromady
 - 6.4. Kalové hospodárstvo
 - 6.5. Biovzdušnenie a kropenie vzduchom
 - 6.6. Bioaugmentácia
7. Génové inžinierstvo
8. Limitácie a možnosti bioremediačných technológií
9. Záver

1. Úvod

Znečistenie životného prostredia v súčasnom období nabúda čoraz väčšie rozmery. Každoročne sa na svetových trhoch objavuje viac než tisíc nových chemikálií, ktorých osud a správanie sa v prírode je možné iba ťažko predvídať. Neustále sa zvyšujúca priemyselná výroba a intenzívne poľnohospodárstvo sú príčinou vysokej koncentrácie látok, ktoré nemajú prírodný charakter a sú „cudzie“ životnému prostrediu. Veľké množstvo organických zlúčenín vyrábaných človekom je halogénovaných, čo je príčinou ich perzistencie v životnom prostredí. Chlóraromáty patria medzi vážne a nebezpečné

kontaminanty v dôsledku vysokej priemyselnej produkcie, značnej perzistencie, bioakumulácie a toxicity. Navyiac, tieto látky patria k nebezpečným škodlivinám, t.j. sú charakteristické takými vlastnosťami, ktoré môžu byť príčinou poškodenia zdravia ľudí a poškodenia životného prostredia.

Veľkú skupinu chlóraromátov predstavujú chlórphenoly, ktoré sa v dôsledku svojich vynikajúcich vlastností intenzívne využívajú v mnohých odvetviach priemyslu i poľnohospodárstva viac ako 50 rokov. Okrem toho, že sa využívajú ako antiseptické a selektívne rozpúšťadlá, v životnom prostredí sa vyskytujú aj ako medzi produkty degradácie pesticídov. Z tohto dôvodu sa v značných koncentráciách nachádzajú v pôde, vode i sedimentoch.

Najväčšie využitie medzi chlórphenolmi má pentachlórphenol (PCP), ktorý sa ešte v nedávnej minulosti intenzívne používal ako všestranný herbicíd, fungicíd a insekticíd, pri ochrane a konzervácii dreva a pri pestovaní ryže. PCP sa v pôde nachádza aj ako degradačný produkt bežne používaných pesticídov (lindánu, pentachlórbenzenu, fenoxyoctovej kyseliny a hexachlórbenzenu). V dôsledku toxicity a veľkého rozšírenia v životnom prostredí patrí medzi najviac študované phenoly.

Neustály tlak priemyselnej výroby, tlak rôznych ekologických organizácií a v neposlednej rade požiadavka čo najmenej ekonomickej náročnosti posunuli do popredia záujmu výskumu prírodné procesy, umožňujúce bez väčších finančných požiadaviek a ďalšej záťaže pre prírodu odstrániť kontamináciu. Remediacné technológie, využívajúce biologické postupy degradácie kontaminantov, predovšetkým metabolickú činnosť mikroorganizmov, sa nazývajú bioremediácie. Bioremediačné technológie sa javia ako perspektívna ekologická a ekonomická alternatíva fyzikálno-chemických postupov odstraňovania kontaminantov.

2. Fenol a jeho chlórderiváty

Fenol a jeho chlórderiváty patria medzi bežné polutanty vodných zdrojov a pôdy, pričom ich pôvod býva rozmanitý. Chlórphenoly a najmä pentachlórphenol patrili medzi široko používané biocídy v priemyselných odvetviach a v poľnohospodárstve už od roku 1920. Chlórphenoly boli všestranne používané vďaka ich rozpustnosti v organických rozpúšťadlách, ako aj rozpustnosti v sodných soliach. Jedným z najdôležitejších použití bola ochrana čerstvo spíleného dreva proti hubám poškodzujúcim miazgu a tiež pre dlhodobú ochranu drevenej guľatiny, železničných podvalov a stavebného dreva. PCP sa tiež používali ako biocídne prísady do farieb a rôznych druhov olejov a ako herbicídy na ryžových poliach^{1,2}.

Sú známe aj iné zdroje chlórphenolov okrem vyššie uvedených využití ako biocídov. Chlórphenoly sú intermediátmi v syntézach iných biocídov, napríklad herbicídu kyseliny 2,4-dichlórphenoxyoctovej (2,4-D) a kyseliny 2,4,5-

* Autor pre korešpondenciu

-trichlórfenoxyoctovej (2,4,5-T) (cit.³). 2,4-Dichlórfenol a 2,4,5-trichlórfenol sú produkty mikrobiálneho rozkladu týchto herbicídov. 2,4-D je jeden z najpoužívanejších herbicídov na svete.

Veľké množstvo chlórovaných organických zlúčenín, vrátane chlórovaných fenolov, je produkované počas chemického bielenia chlóróm. Nové spôsoby bielenia výrazne znižujú hladinu chlórovaných fenolov⁴. Chlórfenoly sú analogicky tvorené počas chlorácie pitnej vody obsahujúcej humínové látky⁵. Vznikajú tiež počas horenia organického materiálu v prítomnosti chlóru, napríklad spaľovaním mestských tuhých odpadov alebo počas horenia čerstvého dreva, pričom unikajú do ovzdušia^{6,7}. Chlórfenoly sú teda globálne polutanty, ktoré boli nájdené aj v sedimentoch jazier odľahlých od priemyselných centier⁸. Boli nájdené v usadeninách slojov starších ako 50 rokov pred započatím priemyselnej výroby, z čoho vyplýva, že vznikli pravdepodobne pri lesných požiaroch. Okrem toho je zaujímavé, že niektoré chlórfenoly sú biologického pôvodu, napríklad 2,6-dichlórfenol je feromónom kliešťov^{9,10}. Chlórfenoly nie sú teda výhradne antropogénneho pôvodu.

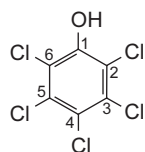
Chlórované aromáty predstavujú nebezpečné kontaminanty pre celý ekosystém. Ich koncentrácia v pôde, morských a sladkých vodách sa monitoruje nielen na území štátov Európskej únie¹¹, ale aj v ázijských krajinách, napr. v Číne¹². O ich závažnom vplyve na zdravie ľudského organizmu, akútnych aj chronických účinkoch, mutagénnych, karcinogénnych a teratogénnych účinkoch¹³ svedčia mnohé práce a štúdie pojednávajúce o prítomnosti týchto polutantov v potravinách¹⁴.

3. Chemická štruktúra a vlastnosti PCP

Pentachlórfenol (PCP) je organická zlúčenina (C_6Cl_5OH) vyrábaná katalytickou chloráciou fenolu, ale aj prírodou produkovaná aromatická zlúčenina (obr. 1). Je stabilný, rozpustný vo väčšine organických rozpúšťadiel, mierne rozpustný vo vode a čiastočne prchavý. Stabilita PCP súvisí s jeho štruktúrou – na aromatické jadro je naviazaných päť atómov chlóru. Jediná hydroxylová skupina sa nachádza v polohe 1 a zodpovedá za účasť pentachlórfenolu v nukleofilných reakciách.

Technická zmes PCP, ako bežná komerčne dostupná forma, je svetlohnedá alebo sivá kryštalická látka. Pozostáva z 85 % z PCP, 4–8 % tvorí tetrachlórfenol, 2–6 % nižšie chlórované fenoly a v stopových množstvách sa vyskytujú chlórované dibenzo-*p*-dioxíny a chlórované dibenzofurány¹⁵, ktoré obsahujú 6–8 atómov chlóru. Komerčne dostupná je aj sodná soľ PCP – pentachlórfenolát sodný (NaPCP), ktorý je vo vode rozpustný. Základné fyzikálne a chemické vlastnosti PCP sú uvedené v tabuľke I.

Pre živočíchy je PCP akútne toxický. Zasahuje do oxidatívnej fosforylácie, ktorej mechanizmom dochádza k prenosu



Obr. 1. Štruktúra pentachlórfenolu (PCP)

Tabuľka I
Základné fyzikálne a chemické vlastnosti pentachlórfenolu (PCP)¹⁶

Parametr	Hodnota ¹⁶
Molekulová hmotnosť, g.mol ⁻¹	266,35
Bod topenia, °C	190,2
Bod varu, °C	300,6
Hustota, g.cm ⁻³	1,85
Rozpustnosť vo vode, g.l ⁻¹	
0 °C	0,005
20 °C	0,014
30 °C	0,020
50 °C	0,035
70 °C	0,085
Rozpustnosť v org. rozpúšťadlách, g.l ⁻¹ , pri 25 °C	
metanol	180
acetón	50
benzén	15
pK _a , pri 25 °C	4,70
log K _{ow} , pri 25 °C	5,01

elektrónu cez dýchací reťazec až na kyslík a zabraňuje tak syntéze ATP. Prístup PCP do tela jedinca nastáva vdychnutím, požitím alebo absorpciou cez pokožku. Medzi symptómy prejavujúce sa v styku s PCP patria dermatitídy, podráždenie očí, nosnej dutiny, hltana, dýchacie problémy, hyperglykémia, zvýšený krvný tlak a iné kardiovaskulárne ťažkosti¹⁶. Dávka PCP nespôsobujúca ťažkosti (udávaná ako NOEL tzn. no-observable-effects level) je množstvo PCP, ktoré je schopné organizmu prijať bez následných symptomatických prejavov. Fetotoxický limit NOEL predstavuje 5,8 mg PCP na 1 kg telesnej hmotnosti za deň. Limit NOEL pre chronickú toxicitu je 3 mg na 1 kg a deň. Hodnota NOEL pre 2,4,5-trichlórfenol je 500 mg na 1 kg a deň¹⁷. Pre porovnanie fetotoxický limit NOEL pre chlórované dioxíny je 1 µg na 1 kg a deň. Mutagenicita PCP zatiaľ nebola preukázaná, ale je známy jeho embryo toxický a embryoleťálny účinok na potkany¹⁶. U väčšiny živočíšnych druhov je PCP metabolizovaný a eliminovaný z tela von.

Pre rôzne rastlinné druhy má PCP fytotoxický účinok. Prítomnosť PCP bola dokázaná v listoch stromov, vyššie koncentrácie PCP boli nájdené v ihličí borovic¹⁸. Tento spôsob zachytávania PCP zo znečisteného ovzdušia by bol zvlášť výhodný pre monitorovanie vzdušnej kontaminácie.

Legislatívna úprava MP SR z roku 1994, určujúca najvyššie prípustné hodnoty škodlivých látok v pôde, stanovuje tri stupne závažnosti znečistenia – A, B, a C (cit.¹⁹). Referenčná hodnota A znamená, že pôda nie je kontaminovaná, ak je koncentrácia látky pod touto hodnotou. Indikačná hodnota B znamená, že kontaminácia bola analyticky preukázaná a je nevyhnutné ďalšie monitorovanie znečisteného miesta. Indikačná hodnota C pre sanáciu znamená, že je nutné okamžite vykonať analytické zmapovanie rozsahu poškodenia príslušného miesta a rozhodnúť o spôsobe nápravného opatrenia. Limitné hodnoty pre PCP sú nasledovné: A = 0,1 mg.kg⁻¹ suchej pôdy; B = 1 mg.kg⁻¹ suchej pôdy; C = 10 mg.kg⁻¹ suchej pôdy.

4. Mikrobiálna degradácia chlórphenolov

Biodegradácia je vo všeobecnosti biologický rozklad organického polutantu účinkom enzýmovej aktivity. Jej koncovými produktami sú oxid uhličitý, voda, prípadne ďalšie anorganické zlúčeniny, napr. amoniak, sírany. Takúto biodegradáciu možno označiť ako úplnú, nazývanú aj mineralizácia. Biodegradácia je súhrnom viacerých reakcií nadväzujúcich na seba alebo vzájomne sa podmieňujúcich. Jednotlivé kroky, spôsobujúce čiastkové zmeny v štruktúre xenobiotika, sa označujú ako biotransformácia.

K odstráneniu PCP môže dôjsť abiotickými procesmi, ako sú prchavosť, fotorozklad a adsorpcia. Biotickú degradáciu môžu uskutočniť rastliny, živočíchy a mikroorganizmy²⁰. Bolo izolovaných niekoľko druhov aeróbných baktérií a húb schopných využívať chlórphenoly ako zdroje uhlíka a energie. Možnosťou biodegradácie PCP kmeňmi *Flavobacterium gleum*, *Agrobacterium radiobacter* a *Pseudomonas* sp. sa zaoberali Yu a Ward²¹.

Aeróbne chlórphenoldegradujúce baktérie možno rozdeliť na základe ich substrátovej špecificity a mechanizmu degradácie do dvoch skupín:

1. kmene degradujúce mono- a dichlórphenoly
2. kmene degradujúce tri-, tetra-, a pentachlórphenoly

Polychlórované phenoly sú vo všeobecnosti degradované v prvom štádiu dechloráciou cestou hydroxylácie (ide o nahradenie substituenta chlóru hydroxyskupinou) a redukčnej dechlorácie. Po odstránení všetkých alebo väčšiny substituentov chlóru dochádza k štiepeniu aromatického kruhu. Centrálnym intermediátom v degradácii tri-, tetra- a pentachlórphenolov sú chlórované hydrochinóny. Na druhej strane mono- a dichlórphenoly sú vo všeobecnosti degradované cez intermediát chlórovaných pyrokatecholov s dechloráciou až po rozštiepenie aromatického jadra. Anaeróbne baktérie dechlórujú chlórphenoly redukčne, ale neatakujú aromatický kruh. V hubách je na degradáciu polychlórovaných phenolov potrebná prítomnosť lignín- a mangán-peroxidázového komplexu, kým monochlórphenoly sú degradované cez chlórpyrokatecholy²².

4.1. Aeróbná degradácia chlórovaných phenolov

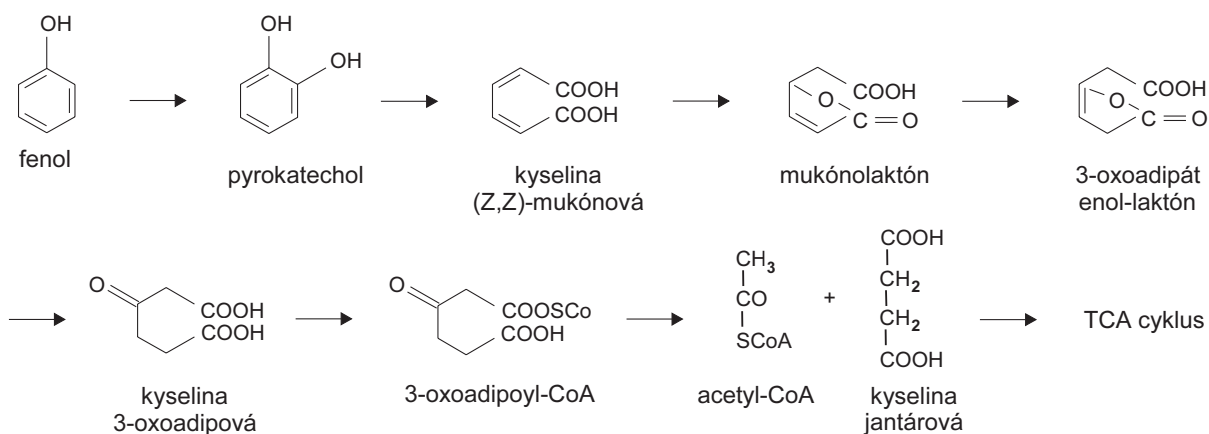
Mnohé štúdie biodegradácie chlórphenolov sa sústreďovali na objasnenie tejto metabolickej dráhy a poukázali na spoloč-

ný metabolický krok aeróbných organizmov. V tomto kroku sa za spotreby kyslíka aduje hydroxyskupina na štruktúru phenolu a dochádza k oxygénácii phenolu phenolhydroxylázovými enzýmami za tvorby pyrokatecholu. Zlúčeniny pyrokatecholuového typu sú všeobecnými intermediátmi biodegradácie fenolických zlúčenín a boli dokázané aj pri biodegradácii benzénových jadier a bifenylov. Substitúcia dvoch hydroxyskupín vo vzájomnom *orto*-postavení umožňuje enzymatické rozštiepenie kruhu za vzniku organických kyselín, ktoré podliehajú ďalším reakciám za vzniku metabolitov, ktoré sa môžu zapojiť do cyklu trikarboxylových kyselín^{13,23} (obr. 2). Dehalogenácia phenolov s nízkym počtom atómov chlóru (mono- a disubstituovaných) nastáva po narušení jadra oxygenázou s následným odstránením chlóru. V prípade phenolov s vyšším stupňom chlorácie, je chlór substituovaný hydroxylom ešte pred rozštiepením kruhu.

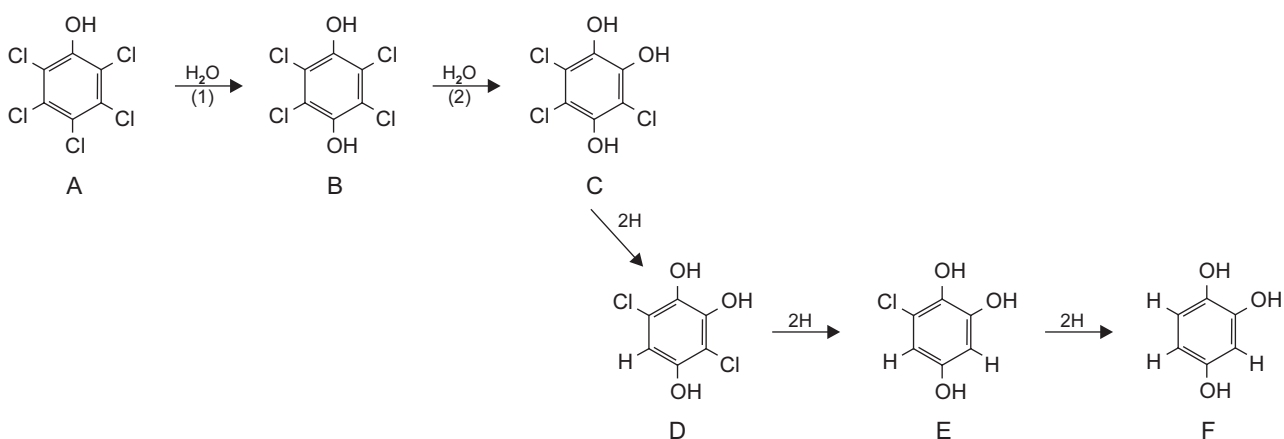
Chlórované pyrokatecholy, ako kľúčové metabolity degradácie chlórovaných phenolov, nemusia vznikáť len hydroxyláciou. Ďalšou možnou reakciou je dioxygenácia, hoci rozlíšenie medzi hydroxyláciou a dioxygenáciou nemusí byť absolútne²⁴. Rovnako môžu existovať drobné rozdiely v metabolickej dráhe – štiepenie jadra môže nastať nielen medzi dvoma kyslíkovými atómami, ale aj medzi C2-hydroxylom a vedľajším atómom uhlíka (tzv. *meta*-štiepenie) (cit.²⁵). Spôsob štiepenia pyrokatecholuového jadra môže byť pre mikroorganizmus rozhodujúci, pretože metabolity *meta*-štiepenia môžu byť toxické a môžu inhibovať ďalšiu degradáciu²⁴.

Spektrum mikroorganizmov schopných využívať fenol a jeho chlórderiváty je pomerne široké a zahŕňa baktérie, kvasinky aj huby. Medzi baktérie využívajúce fenol a jeho deriváty patria: *Alcaligenes* sp.²⁶, *Pseudomonas putida*²⁷, *Arthrobacter* sp., *Flavobacterium* sp.²⁸, *Desulfvibrio* sp., *Rhodopseudomonas palustris*, *Methanospirillum hungatei*²⁹, *Desulfomonile tiep-jei*^{30,31}, *Sphingomonas chlorophenolica*, *Mycobacterium chlorophenolicum*³² (obr. 3) a *Sphingomonas* sp.³³ Medzi kvasinky degradujúce fenol a jeho chlórderiváty patria: *Rhodotorula rubra*^{25,34,35}, *Fusarium flocciferum*³⁶, *Rhizobium* sp.³⁷, *Cryptococcus elinovii*²⁷ a *Candida maltosa*³⁸. Ako drevokazné huby degradujúce pentachlórphenol sú uvádzané *Phanerochaete chrysosporium*³⁹ a *Trametes versicolor*⁴⁰.

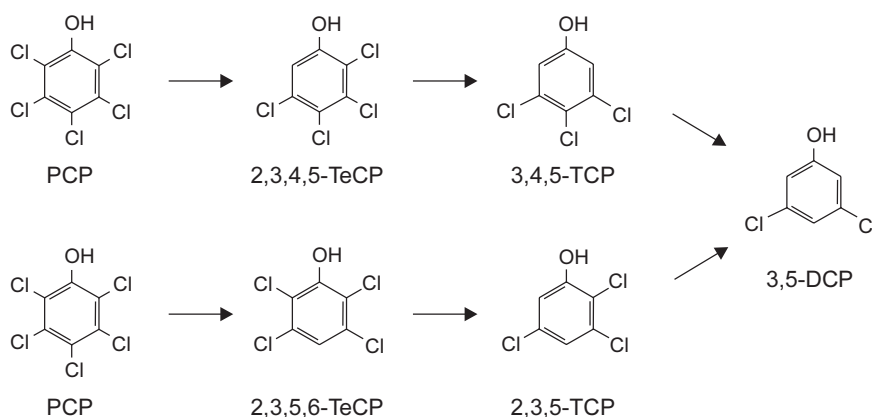
Sphingomonas chlorophenolica, baktérie mineralizujúce PCP, degradujú PCP cestou 2,6-dichlórhydrochinónu (2,6-DCHQ). Spôsob premeny PCP na 2,6-DCHQ je známy, kým



Obr. 2. Dráha *orto*-štiepenia phenolu aeróbnymi baktériami¹³



Obr. 3. Degradácia dráha PCP kmeňom *Mycobacterium chlorophenolicum*²². Zlúčeniny: A – PCP; B – 2,3,5,6-tetrachlorhydrochinón, C – 3,5,6-trichlorbenzén-1,2,4-triol, D – 3,6-dichlorbenzén-1,2,4-triol, E – 6-chlorbenzén-1,2,4-triol, F – benzén-1,2,4-triol



Obr. 4. Degradácia PCP anaeróbnymi mikroorganizmami; TeCP – tetrachlorfenol, TCP – trichlorfenol, DCP – dichlorfenol

spôsob premeny 2,6-DCHQ je nejasný. Pravdepodobne dôležitú úlohu zohráva gén *pcpA*. Predstavuje sekvenciu pre tvorbu kruhovo štiepanej dioxygenázy v spojení s hydrochinónovými derivátmi a premieňa 2,6-DCHQ na 2-chloromaleylacetát^{41,42}. Xu a spol.⁴³ sa zaoberali štúdiom génu, ktorý kóduje 2,6-DCHQ dioxygenázu. Tento enzým katalyzuje aeróbnou Fe^{2+} -dependentnú reakciu 2,6-DCHQ. Jeho prítomnosť sa deteguje kompetitívnou polymerázovou reťazovou reakciou pomocou 16 S rRNA génu⁴⁴. *Orto*-chlórphenoldehalogenáza, purifikovaná z Gram-pozitívnych baktérií *Desulfitobacterium dehalogenans*, katalyzuje redukčné odstraňovanie halogénových atómov z *orto*-pozície 2-chlorfenolu, 2,4-dichlorfenolu, 2,6-dichlorfenolu, pentachlorfenolu a 2-brom-4-chlorfenolu. Z genómu mikroorganizmu *Desulfitobacterium dehalogenans* boli izolované gény, klonované a sekvenované. Týmto postupom sa zistila prítomnosť dvoch uzavretých spojených génov *cprA* a *cprB*, ktoré umožňujú membránové ukotvenie dehalogenázy⁴⁵.

Na degradáciu PCP v odpadových vodách v laboratórnych diskontinuálnych a kontinuálnych reaktoroch boli použité voľné a imobilizované bunky *Flavobacterium* sp. Voľné bunky *Flavobacterium* sp. v diskontinuálnych reaktoroch kompletne degradovali PCP pri koncentrácii 30 a 50 mg.l^{-1} , ale iba čiastočne pri koncentrácii 65 mg.l^{-1} . *Flavobacterium* sp. imo-

bilizovaný v algináte bol schopný v kontinuálnom reaktore degradovať 60 mg.PCP.l^{-1} . Z uvedeného vyplýva, že imobilizované bunky *Flavobacterium* sp. tolerujú vyššie koncentrácie PCP než voľné bunky⁴⁶.

Inou možnosťou rozkladu chlórovaných fenolov ako aj iných chlórovaných arómatov v priemyselných odpadových vodách je použitie Fentonovej reakcie, prípadne ozonizácie^{47,48}. Biodegradáciou nízkych koncentrácií PCP v podzemných vodách autochtónnou mikroflórou sa zaoberá Schmidt a spol.⁴⁹

4.2. Anaeróbná degradácia chlórovaných fenolov

Hoci aeróbná degradácia chlórovaných fenolov je dostatočne opísaná, omnoho menej vieme o ich anaeróbnej degradácii. Aj v tomto prípade je redukčná dechlorácia kľúčovou reakciou. Ide a spol.⁵⁰ boli prví, ktorí navrhli redukčnú dechloráciu chlórphenolov v anaeróbných pôdach. Kuwatsuka a Igarashi⁵¹ a Murthy a spol.⁵² referovali o podobnej dechlorácii PCP, navrhujúc prednostné odstránenie atómov chlóru v *orto*- a *para*-polohách. Anaeróbne dechlorácie chlórphenolov boli najčastejšie študované na metanogénnych kultúrach, využívajúcich odpadové kaly, sedimenty a pôdy ako inokulum. Metanogénne degradácie chlórphenolov začínajú redukčnou

dechloráciou a vo väčšine prípadov uprednostňujú odstránenie *orto*-chlórov^{53–58}, ale dechloračné dráhy u rôznych mikrobiálnych konzorcií sa môžu líšiť. Po počiatkovej *orto*-dechlorácii zvyčajne vzniká 3,4,5-trichlórphenol. Nasleduje *para*-dechlorácia na 3,5-dichlórphenol^{59,60–62}. Dechlorácia často nie je kompletná a hromadia sa di-, tri- a tetrachlórphenoly^{30,31,63–65} (obr. 4).

5. Faktory ovplyvňujúce biodegradáciu PCP

Aby bolo možné úspešne predikovať a čiastočne aj ovplyvňovať potenciál odbúravania chlóraromátov v pôde, je potrebné dôkladne poznať ich chemické a fyzikálno-chemické vlastnosti, ako aj faktory pôdneho prostredia, ktoré môžu osud týchto xenobiotík účinne ovplyvňovať.

Snáď najdôležitejšia vlastnosť chemikálií z hľadiska ich osudu v životnom prostredí je ich rozpustnosť vo vode, pretože na základe tejto hodnoty sa posudzuje ich pohyblivosť, stabilita, rozklad, bioakumulácia a sorpcia. Na rozdiel od polychlorovaných bifenylov (PCB), ktorých rozpustnosť vo vode je veľmi nízka, majú chlórphenoly vyššiu rozpustnosť, ktorá sa znižuje so zvyšovaním počtu atómov chlóru. Hodnota rozpustnosti PCP pri teplote 20 °C a pH 7 predstavuje 14 mg.l⁻¹ (cit. ⁶⁶).

Ďalšia dôležitá vlastnosť je rozdeľovací koeficient oktanol–voda K_{ow} , ktorý indikuje bioakumuláciu a biokoncentraciu chemikálií. Hodnota $\log K_{ow}$ pre PCP 5,05 je podobná nižšie substituovaným PCB a charakterizuje pomerne značnú hydrofóbnosť^{67,68}.

Veľmi dôležitou vlastnosťou organických zlúčenín z hľadiska ich osudu v pôde je hodnota adsorpčného koeficienta K_{oc} , ktorá vyjadruje tendenciu zlúčeniny nachádzať sa v pôdnom prostredí vo vodnej alebo pevnej fáze. Hodnota $\log K_{oc}$ pre PCP 5,7 znamená značnú sorpciu PCP na pôde častice. Aj táto hodnota je ovplyvnená hodnotou pH a so zvyšovaním pH sa hodnota K_{oc} zvyšuje⁶⁶.

Nemenej dôležitá vlastnosť chemických látok z hľadiska ich osudu v životnom prostredí je polčas rozpadu. V prípade PCP sa udávajú hodnoty od 10 do 120 dní, nakoľko polčas rozpadu závisí od podmienok, za akých sa látka v pôde nachádza. Augustijn-Beckers⁶⁶ udáva polčas rozpadu PCP 48 dní.

Biodegradáciu chlóraromátov v pôde môže limitovať aj množstvo environmentálnych faktorov, medzi ktoré patrí nevhodná teplota (obvykle príliš nízka, optimálna teplota pre ich biodegradáciu je 25–35 °C), neprítomnosť kyslíka, príliš vysoké alebo príliš nízke pH, nedostatok základných živín, väzba na ílové minerály a pôdny humus²². Pohyblivosť a biologická prístupnosť chlórphenolov v pôde je v priamom vzťahu k stupňu väzby alebo sorpcie na organické i anorganické pôdne komponenty, pričom mechanizmus sorpcie je značne rozdielny v závislosti od pH pôdy. Choi a Aomine⁶⁹ uvádzajú, že pri pH pôdy menšom ako pK_a hodnota (pK_a pre PCP je 4,75) sa anióny PCP zmenia pripútaním protónu na molekuly. Ak sú tieto molekuly produkované nad hranicu rozpustnosti, v systéme pôda – PCP dôjde k ich vyvráždaniu. Pri pH < 7 sa sorpcia uskutocňuje vo forme neutrálnych častíc, avšak pri pH > 7 je mechanizmus sorpcie PCP úplne odlišný. V alkalickom prostredí je takmer všetok PCP prítomný vo forme pentachlórového aniónu. Z tohto dôvodu pri pôdnej reakcii pH > 7 by mala byť uvažovaná tvorba metal-fenolátového páru, ktorý je ná-

sledne sorbovaný. Lagas⁶⁷ uvádza, že sorpcia fenolátu je pre PCP a TeCP dôležitá už v pôdach s pH > 6 a adsorpcia týchto iónov je slabšia v porovnaní s nedisociovanými fenolmi. Vplyv pH na sorpciu PCP uvádza aj Jacobsen a spol.⁷⁰ Autori zistili, že lineárne sorpčné koeficienty pri sorpcii PCP na pôdu sú primárne ovplyvňované pôdnym pH.

Ďalší výrazný faktor, ktorý ovplyvňuje mobilitu PCP v pôdnom systéme, je množstvo a kvalita pôdnej organickej hmoty (POH). Choi a Aomine⁷¹ uvádzajú, že pôdy bohaté na humus disponujú vyššou sorpciou PCP aj bez vplyvu pH. Aj ďalší autori uvádzajú podstatne vyššiu sorpciu chlóraromátov v pôdach s vysokým obsahom POH^{72,73}. Interakcia chlóraromátov s POH môže byť charakterizovaná aj ako alternatívna metóda odstránenia organických kontaminantov zo životného prostredia. Podtrieda fenolových oxidáz, známych ako katalázy, je schopná viazať xenobiotiká do humínových zlúčenín, prítomných v pôde. Inkorporácia chlórphenolov do polymérov je spôsob analogický procesu syntézy humusových látok z prirodzene sa vyskytujúcich fenolových zlúčenín a teda je možné, že xenobiotické fenoly môžu vytvárať kovalentné väzby s pôdnym humusom. Počas oxidačnej väzby dochádza aj k uvoľneniu chlóru z chlórphenolov⁷⁴ a dehalogenizácia je priamy dôkaz pre tvorbu kovalentných väzieb medzi chlórphenolmi a humínovými kyselinami počas enzymatickej kovalentnej reakcie⁷⁵. Ako kovalentne viazané reziduá sú chlórphenoly silne imobilizované a stabilizované. Túto väzbu uvádzajú Dec a Bollag⁷⁶ pri účinnej detoxifikácii xenobiotík. Zistili, že až 78 % PCP viazaného v humínových kyselinách v ňom ostáva aj po mikrobiálnom ataku. V ďalšej štúdii túto autori uvádzajú, že mikrobiálne uvoľnenie PCP zo štruktúry humínových kyselín je minimálne.

Sorpcia chlóraromátov na ílové minerály je v porovnaní s organickou hmotou minimálna. Galil a Novak⁷² zistili iba 2,6 až 19 %nú sorpciu PCP na ílovú frakciu v závislosti od pôdneho typu.

6. Bioremediačné technológie používané pri dekontaminácii PCP

Degradácia alebo deštrukcia PCP môže nastať spaľovaním, chemickou oxidáciou, fotooxidáciou alebo biologickou oxidáciou. Biologický rozklad PCP spôsobený enzymovou aktivitou mikroorganizmov nazývame biodegradácia. Bioremediačia, ktorá využíva v remediačných postupoch pri odstraňovaní kontaminantov z pôd, vôd a sedimentov mikroorganizmy a mikrobiálne procesy na rozklad kontaminantov, sa javí ako sľubná technológia, ktorá je ekonomickou a ekologickou alternatívou fyzikálno-chemickým procesom.

Biologické čistenie zložiek životného prostredia využíva genetickú diverzitu a metabolickú mnohostrannosť mikroorganizmov na transformáciu kontaminantov na menej škodlivé alebo neškodné produkty, ktoré sú potom integrované do prirodzených biogeochemických cyklov. Pochopenie ekológie, fyziológie a evolúcie degradujúcich mikroorganizmov je základnou podmienkou pre využívanie biologických postupov pri remediácii vôd, pôd a sedimentov.

V súčasnej dobe sú známe tri základné možnosti zvyšovania intenzity degradácie kontaminantov mikroorganizmami. Prvou z nich je biostimulácia prirodzenej pôdnej mikroflóry optimalizáciou podmienok prostredia prídavkom živín nevy-

hnutných pre prežitie (najčastejšie sa jedná o prídavok dusíka a fosforu), vývoj a expresiu degradačnej schopnosti mikroorganizmov. Druhou možnosťou je bioaugmentácia, ktorej cieľom je posilnenie rozkladného potenciálu prostredia inokuláciou vhodnej kultúry degradujúcich mikroorganizmov. Treťou možnosťou je úprava molekuly kontaminantu tak, aby sa zvýšila jeho bioprístupnosť a znížila jeho odolnosť voči mikrobiálnemu ataku, čo je možné dosiahnuť fyzikálno-chemickými postupmi (napr. chemickou oxidáciou). Biologické technológie pre dekontamináciu zložiek životného prostredia sú založené na využívaní schopností mikroorganizmov spotrebúvať kontaminujúce látky ako zdroje uhlíka a energie pre životné funkcie alebo ich transformácii na iné zlúčeniny v prítomnosti kosubstrátu.

Mikroorganizmy atakujú kontaminanty jedným z troch spôsobov: 1. mineralizujú zlúčeninu priamo, čo značí konverziu zlúčeniny na neškodné anorganické zlúčeniny, napr. oxid uhličitý a soli; 2. mineralizujú zlúčeninu len ako kometabolit, čo znamená, že mikroorganizmy vyžadujú ďalšie organické zlúčeniny pre rast alebo indukovanú tvorbu enzýmov potrebných pre degradáciu cieľenej zlúčeniny; a 3. konverziou zlúčeniny na inú zlúčeninu, ktorá však môže byť tiež toxická a rekalcitrantná pre ďalšiu degradáciu.

Bioremediáciu možno definovať ako kontrolované použitie biodegradácie na odstránenie toxických chemikálií z pôdy a spodnej vody. Cieľom vedeckých tímov je nájsť mikroorganizmy, ktoré sú schopné metabolizovať (alebo prinajmenšom oxidovať) cieľový kontaminant priamo na znečistenom mieste alebo v nadzemnom reaktore.

Faktory, ktoré ovplyvňujú úspešnosť bioremediácie možno sumarizovať nasledovne⁷⁷⁻⁸⁰: a) pôdna permeabilita, b) prítomnosť kyslíka, c) koncentrácia a toxicita kontaminantov, d) koncentrácia a typy živín, e) pH, f) ďalšie organické zlúčeniny, g) mikroorganizmy, h) rezistencia k ťažkým kovom, i) teplota.

Pravdepodobné príčiny neúspešnosti bioremediácie možno definovať nasledovne: a) koncentrácia polutantov v prírode môže byť natoľko nízka, že nestačí na rast inokulovaného kmeňa, b) prirodzené prostredie môže obsahovať substancie, ktoré inhibujú rast alebo aktivitu pridávaného mikroorganizmu, c) rastová rýchlosť mikroorganizmu pri nízkych koncentráciách skúmanej látky môže byť nižšia ako rastová rýchlosť jeho prirodzených konkurentov, ktorí môžu znížiť počet buniek inokula, d) pridávané mikroorganizmy môžu využívať prednostne organické substráty nachádzajúce sa v pôde na úkor deštrukcie polutantov, e) mikroorganizmy môžu mať problémy s pohybom cez pôdne póry do miest obsahujúcich polutant.

Výberu bioremediačnej metódy musí predchádzať dôkladné skúmanie distribúcie kontaminantu a jeho koncentrácie v pôde, stanovenie pôdnych fyzikálnych, biologických a geologických parametrov danej lokality. Kľúčovou úlohou je identifikácia prítomných kontaminantov, pretože pôdy kontaminované PCP často obsahujú aj ropné látky a/alebo komponenty kreozotózy. Mnohé z ropných látok sú prístupnejšie remediácii ako PCP, ale niektoré z vysokomolekulových polycyklických aromatických uhľovodíkov z kreozotózy sú značne odolné. Negatívny vplyv na rast a aktivitu bakteriálnych kmeňov a húb majú aj niektoré ťažké kovy. Vysoká koncentrácia kontaminantov (u PCP > 1000 mg.kg⁻¹) je zvyčajne toxická pre väčšinu mikroorganizmov a bioremediácia nie je možná.

Pred začiatkom bioremediácie je potrebné poznať pôdne parametre (obsah ílovitej frakcie, obsah organickej zložky, porozitu, množstvo prítomných živín, kapacitu iónomeničov a pH) a biologické parametre (množstvo a typ prítomných mikroorganizmov, ich metabolickú aktivitu, akceptory vodíka, toxicitu a obsah kyslíka^{81,82}). Ílovité pôdy sú ťažšie prístupné remediácii vzhľadom na sorpciu PCP, znížený prístup vzduchu, vody a vytváranie zhlukov. Pre zlepšenie týchto charakteristík sa do ílovitých pôd pridáva organická hmota v podobe pilín alebo slamy. Odporúčané hodnoty najvýznamnejších environmentálnych parametrov ovplyvňujúcich aeróbnym mikrobiálnym metabolizmus sú uvedené v tabuľke II.

Charakteristika lokality pre bioremediáciu zahŕňa topografiu, hydrogeológiu (sklon svahu, záplavový potenciál, hĺbka spodnej vody a jej prietok, infiltračný rozsah) a popis trojrozmernej distribúcie kontaminantu na danom mieste⁸². Laboratórne alebo pôdne predprípravné experimenty môžu dať odpoveď na otázku, či pôvodná mikroflóra je schopná degradovať PCP s prídavkom alebo bez prídavku živín, určiť polčas degradácie a potrebu bioaugmentácie. Problematike bioremediácie pentachlórfenolu, jeho transformácii v pôde, v podzemných vodách, bioaugmentácii a toxikologickým dopadom sa venujú detailne viaceré práce⁸³⁻⁸⁵. V rámci projektu „Potenciál degradácie organických polutantov“ Barančíková⁸⁶ poukázala na rozdielny osud PCP vo vybraných najdôležitejších poľnohospodársky obrábaných pôdach Slovenska, pričom sa zamerala na sledovanie rýchlosti rozkladu PCP v závislosti od rôznych pôdnych typov a počiatočnej koncentrácie PCP, schopnosti sorpcie PCP na pôdne častice a humínové kyseliny v závislosti od pH, obsahu a kvality humusu a prídavku živín. Účinkom bioaugmentácie mikrobiálnym

Tabuľka II

Odporúčané hodnoty environmentálnych parametrov ovplyvňujúcich aeróbnym mikrobiálnym metabolizmus

Environmentálny parameter	Odporúčané hodnoty pre aeróbnym mikrobiálnym biodegradáciu ^{82,88-90}
Teplota	biodegradácia detegovaná už pri 0–10 °C najčastejšie v mezofilnom rozsahu 15–35 °C v termofilnom rozsahu 40–60 °C
Pôdna vlhkosť	40–70 % MKK ^a
Množstvo rozpusteného kyslíka	>0,2 mg.l ⁻¹ , minimálne 10 % v pôdnych póroch
Živiny (C:N:P)	100–120:10:1
pH	6–8
Množstvo mikroorganizmov	1.10 ³ –1.10 ⁷ kolónií na 1 g pôdy 400 až 800 mV veľmi prevzdušnené pôdy
Redox potenciál	–100 až 100 mV stredne prevzdušnené pôdy –300 až –100 mV redukované anaeróbne pôdy

^a MKK – maximálna kapilárna kapacita – maximálne množstvo vody, ktoré je schopné pôda zadržať na jednotku objemu (%)

konzorcium adaptovaným na PCP a biostimuláciou anaeróbnej degradácie PCP v kontaminovaných pôdach sa zaoberá práca autorov Zou a spol.⁸⁷

Všetky vyššie uvedené fyzikálne, chemické a biologické faktory určujú výber správnej bioremediačnej metódy, ktorý je vo veľkej miere ovplyvnený aj cenou a dosiahnutým stupňom vyčistenia. Odhadované náklady na vyčistenie 1 m³ kontaminovanej pôdy rôznymi bioremediačnými metódami sú uvedené v tabuľke III.

Tabuľka III

Odhadované náklady na vyčistenie 1 m³ kontaminovanej pôdy rôznymi bioremediačnými metódami

Bioremediačná technológia ^{82,91}	Náklady na 1 m ³ pôdy [€]
Spaľovanie a transport	350–1600
Uskladnenie a transport	100–600
<i>In situ</i> landfarming	10–80
<i>Ex situ</i> landfarming	45–130
Kompostovanie	65–90
Pôdna hromada	65–130
Kalové hospodárstvo	104–195
Biovzdušnenie bez odstraňovania emisií	10–20
Biovzdušnenie s odstraňovaním emisií	52–78
Kropenie vzduchom	25–150

6.1. Čistenie pôdy

Jedná sa o modifikáciu fyzikálnych, chemických a biologických pôdných parametrov v záujme rozkladu nebezpečných odpadov na menej toxickú alebo netoxickú formu kontaminantu. Obrábanie pôdy (angl. landfarming) ako najpoužívanejší spôsob čistenia pôdy, predstavuje manipuláciu s pôdou pomocou klasických poľnohospodárskych operácií ako napr. preorávanie pôdy, zavlažovanie a prídavok živín.

Predprípravné fázy pre „landfarming“ zahŕňajú odstránenie vegetácie a kameňov, konštrukciu nepriepustnej bariéry okolo lokality (služi na kontrolu vtoku a výtoky vody) a úpravu sklonu svahu na 1–2 % (stupeň klesania nesmie presiahnuť 5 %). Zachytávaný vodný výluh je zavlažovacím systémom privádzaný späť do kontaminovanej pôdy.

„Landfarming“ sa uskutočňuje *in situ* alebo *ex situ*. Pri *in situ* (priamo na mieste) „landfarming“ je potrebné zabrániť prieniku kontaminovanej pôdy a vody zo znečistenej lokality do príľahlých lokalít a vodných zdrojov. Táto metodika sa využíva v prípade nepriepustného ílovitého podložia kontaminovanej pôdy a nízkeho množstva zrážok. *Ex situ* (mimo kontaminovaného miesta – vyťaženie kontaminovanej zeminy a jej dekontaminácia v uzavretých priestoroch, odizolovaných od podložia) „landfarming“ je preferovanejší, pretože environmentálne parametre ako je vlhkosť a teplota sú ľahšie regulovateľné pre dosiahnutie optimálnej mikrobiálnej aktivity vďaka zastrešeniu čistej lokality. Vo všeobecnosti je potrebné zdôrazniť, že „landfarming“ vyžaduje v porovnaní s ostatnými bioremediačnými metódami nižšie kapitálové náklady, náklady na prevádzku, údržbu a pracovnú silu. Technológia

„landfarming“ bola úspešne odskúšaná na pôdy kontaminované PCP nielen v laboratórnych podmienkach, ale aj v praxi, napr. na vyčistenie územia v okolí Libby v štáte Montana. Hunling a spol.⁹² monitorovali a dekontaminovali dané územie 60 dní. Pôdna vlhkosť bola udržiavaná na 40–70 % MKK, živiny boli pridávané podľa potreby a vzhľadom na poveternostné podmienky boli pokusné políčka aspoň raz do týždňa preorávané. Koncentrácia PCP klesla za 60 dní zo 115 mg.kg⁻¹ na 45,9 mg.kg⁻¹, čo predstavuje 60 %nú redukciu. Počas rozkladu PCP bol 36 dní.

6.2. Kompostovanie

Kompostovanie je termofilný, diskontinuálny proces prebiehajúci *ex situ* za účelom zneškodňovania odpadov s vysokou koncentráciou biodegradovateľného organického uhlíka. Optimálne kompostovacie technológie maximalizujú termofilnú mikrobiálnu aktivitu za súčasného minimalizovania pachov. Pre dekontamináciu pôdy je dôležitý obsah organickej hmoty, dostupný ľahkovyužiteľný zdroj uhlíka a aerácia^{22,80}. Prídavok ľahkovyužiteľného zdroja uhlíka (melasa, živočíšne hnojivo, odpad z rastlinnej a potravinárskej výroby) zvyšuje mikrobiálnu aktivitu, teplotu a kometabolickú degradáciu. Prídavok organickej hmoty, napr. drevných odrezkov, slamy, pilín alebo kôry zase pozitívne ovplyvňuje pôdnu porozitu, prevzdušnenie a znižuje pôdnu vlhkosť. Množstvo pridávanej organickej hmoty závisí od koncentrácie a zloženia prítomných kontaminantov. Degradácia kontaminantov technológiou kompostovania je funkciou vysokej teploty (40–60 °C), ktorá sa dosahuje vysokou mikrobiálnou aktivitou. Kompostovanie nad 60 °C vyústi v nadmerný zápach, redukciu mikrobiálnej diverzity a zníženie biologickej degradácie. Dôležitým parametrom je aj pôdna vlhkosť, ktorá by sa mala pohybovať medzi 50–60 % MKK, nad touto hodnotou sa už znižuje množstvo rozpusteného kyslíka⁹⁰.

Kompostovanie môže prebiehať v rôznych systémoch. Kompostovanie v hromadách (angl. windrow composting) predstavuje otvorený systém, v ktorom je kompost rozložený v podlhovastých hromadách a mechanicky preorávaný kvôli prevzdušňovaniu. Statické alebo vzdušnené hromady sú otvoreným systémom, v ktorom je aerácia dosahovaná umelým vzdušniacim distribučným systémom. V prípade potreby sú nebezpečné emisie zachytávané a prečisťované. Kompostovanie v reaktoroch je prepracovaná inžinierska metóda, ktorá predstavuje uzavretý reaktorový systém. Vzdušnenie je dosahované sofistikovaným zmiešavacím príslušenstvom alebo kompresorovým ventilátorom. Pri použití technológie kompostovania v reaktoroch na zneškodnenie zvlášť nebezpečných odpadov je reaktor vzduchotesne uzavretý a obsahuje kontrolný monitorovací systém emisií.

Všetky tri uvedené druhy kompostovania („windrow composting“, statické alebo vzdušnené hromady a kompostovanie v nádobách) sú v porovnaní s „landfarmingom“ menej náročné na priestor, avšak prevádzkové náklady sú vyššie v dôsledku nutnosti výkopových prác, prevozu a manipulácie s pôdou pri premiešavaní.

Dobrym príkladom použitia technológie kompostovania v hromadách je remediácia pôdy znečistenej chlórorganickými fenolmi vo Fínsku⁹³. Technická zmes pozostávajúca z PCP, 2,4,6-TCP a 2,3,4,6-TeCP obsahovala v stopových množstvách aj izoméry chlórphenolov a polychlórované polyoxyfe-

noly. Z kontaminovanej zeminy boli vytvorené na podloží z plastickej hmoty a vrstve štrku kompostovacie hromady objemu 50 m³ (6 m široké, 3 m vysoké a 50 m dlhé). Pomer pôdy ku pridávanej organickej hmote (drewná kôra a jaseňové piliny) bol 1,8:1 a zemina bola obohatená aj o živiny (16 % dusíka, 7 % fosforu a 3 % draslíka). Kompost bol raz do týždňa zavlažovaný a raz alebo dvakrát do roka preoraný. Počiatočná koncentrácia zmesi chlórphenolov sa pohybovala v rozpätí 200–300 mg.kg⁻¹. Teplota vo vnútri hromady bola 5–15 °C nad teplotou okolia (priemerná teplota okolia v letných mesiacoch bola 32 °C a na jeseň 15 °C). Počas štyroch letných mesiacov prvého roku remediácie koncentrácia chlórphenolov poklesla z 212 mg.kg⁻¹ na 30 mg.kg⁻¹ a počas druhého obdobia sa znížila až na 15 mg.kg⁻¹. Z uvedeného vyplýva 80%né odstránenie znečistenia v priebehu štyroch mesiacov, pričom najrýchlejšie prebiehala degradácia počas prvých dvoch mesiacov.

6.3. Pôdne hromady

Technológia pôdnych hromád je diskontinuálny proces, prebiehajúci *ex situ*, čo znamená, že pôda je vyťažená zo znečistenej lokality, premiešavaná zo živinami a následne vzdušnená umelým aeračným systémom v záujme dosiahnutia biologickej degradácie prítomných kontaminantov⁸². Pôdne hromady sú veľmi podobné technológii vzdušneného kompostovania. Rozdiel spočíva vo vyššom obsahu organickej hmoty a termofilných teplotách využívaných pri metóde vzdušneného kompostovania. Použitie pôdnych hromád je rozšírené pre zneškodňovanie zvlášť prchavých kontaminantov, nakoľko umelý vzdušniaci systém umožňuje zachytávanie a prečisťovanie plyných emisií. Kyslík je dodávaný do pôdnych hromád dvomi spôsobmi: 1. vodou ako nosičom kyslíka, 2. rúrkovým vzdušniacim systémom.

V prvom prípade konštantný tok vody obsahuje živiny alebo inokulum. Výtok vody z ošetrovanej oblasti je cyklicky prečerpávaný vodným systémom späť do pôdnej hromady. Uvedená technológia, ktorá využíva vzdušniaci systém vody ako nosiča kyslíka, je rozmerovo limitovaná vzhľadom na rozpusťnosť kyslíka vo vode a transport vody v systéme.

Pri druhom spôsobe vzdušnenia je pôda najskôr zmiešaná so živinami a inokulom a následne vzdušnená rúrkovým systémom. Rúrky, zabudované v rôznych hĺbkach, v závislosti od permeability pôdy a výšky pôdnej hromady, sú napojené na vákuovú pumpu alebo kompresor, ktoré do nich vŕhajú vzduch. Odpadové plyné emisie sú v prípade potreby zachytávané a prečisťované. Rúrkový vzdušniaci systém je univerzálnejší, možno ho aplikovať na rozsiahlejšie územie a používa sa pri vyšších koncentráciách kontaminantov.

Bioremediačná technológia pôdnych hromád bola realizovaná pri čistení pôdy kontaminovanej KY-5 (surový produkt PCP) vo Fínsku. Pôda bola inokulovaná kmeňom *Phanerochete chrysosporium*, ktorý rástol niekoľko týždňov na zmesi slamy, pilín, drewných odrezkov a stromovej kôry pri 30 °C. Proces prebiehal bez premiešavania zeminy, vzdušnenie bolo zabezpečené maximálne 5 h počas 24 h a to pri prietoku 43 m³.h⁻¹. Koncentrácia znečistenia poklesla v štyroch pokusných políčkach nasledovne: za 18 mesiacov z 203 mg.kg⁻¹ na 28 mg.kg⁻¹; za 18 mesiacov z 173 mg.kg⁻¹ na 12 mg.kg⁻¹; za 9 mesiacov z 84 mg.kg⁻¹ na 10 mg.kg⁻¹; za 9 mesiacov z 38 mg.kg⁻¹ na 9 mg.kg⁻¹ (cit.⁹⁴).

6.4. Kalové hospodárstvo

Technológia kalového hospodárstva (angl. slurry treatment) je diskontinuálny proces prebiehajúci *ex situ*, ktorý zabezpečuje premiešanie vyťaženej pôdy s vodou v nádobe reaktora alebo v murovanom kalojeme za účelom biologickej degradácie kontaminantov. Cieľom kalového hospodárstva je remediácia pôdy a zníženie objemu tuhého odpadu. Daná technológia zahŕňa vyťaženie pôdy zo znečistenej oblasti, odstránenie väčších mechanických nečistôt, tvorbu kalu premiešavaním ošetrovanej pôdy s vodou, aplikáciu biologických postupov a odvodnenie kalu.

Pri kalovom hospodárstve často dochádza k rýchlejšej degradácii v porovnaní s bezvodnými remediáciami. Nevýhodou sú zvýšené prevádzkové náklady spôsobené prídavnými technologickými krokmi, zvýšené náklady na energiu a tvorba sekundárneho odpadu, ktorý vyžaduje ďalšie spracovanie. Vyžaduje sa aj monitorovanie plyných emisií.

V prípade aplikácie danej technológie v podmienkach *in situ* sa častejšie využíva murovaný kalojem, ktorý však nezabezpečuje rovnomerné premiešavanie a vzdušnenie. Tieto nevýhody sa minimalizujú pri použití kontajnerového reaktora v *ex situ* podmienkach. Komponenty kontajnerového reaktora (zmiešavací tank, fluidizovaná vrstva a vzdúvadlo) umožňujú ľahšiu kontrolu dôležitých biologických parametrov^{95,96}.

Viacere vedecké pracoviská venujú pozornosť bioremediačnej technológii kalového hospodárstva. Mueller a spol.⁹⁷ zrealizovali 30-dňový experiment s pôdou kontaminovanou PCP v 1,5 l bioreaktore. Teplota sa udržiavala na 28,5 °C, množstvo rozpusteného kyslíka na 90 % a pH na hodnote 7. Autori zaznamenali len mierny pokles koncentrácie PCP z 821 mg.kg⁻¹ na 734 mg.kg⁻¹. Kvôli akcelerácii biologického rozkladu bola následne študovaná inokulácia mikroorganizmov *Flavobacterium* ATCC 53874 a *Rhodococcus chlorophenolicus* DSM 43826 do kalu⁹⁸.

6.5. Biovzdušnenie a kropenie vzduchom

Bioremediačné technológie biovzdušnenia a kropenia vzduchom využívajú umelé vzdušnenie na zvýšenie koncentrácie kyslíka v pôde pre stimuláciu mikrobiálnej degradácie kontaminantov pôvodnou pôdnou mikroflórou. Keďže vo vzduchu je vyšší obsah kyslíka v porovnaní s množstvom kyslíka rozpusteným vo vode, aj mierne vstrekovanie vzduchu je efektívnejšie než vŕhanie vody ako nosiča kyslíka.

Cieľom biovzdušnenia je zvýšiť biodegradáciu s využitím nižšieho prietoku vzduchu v nesaturovanej pôde, aby nedochádzalo k úniku prchavých zložiek kontaminantu. Kropenie vzduchom sa používa na presun prchavých kontaminantov zo saturovanej zóny do nesaturovanej a na zvýšenie biodegradácie zvýšenou hladinou rozpusteného kyslíka. V porovnaní s metódou biovzdušnenia si kropenie vzduchom vyžaduje zvýšený prietok vzduchu⁸².

6.6. Bioaugmentácia

Bioaugmentácia je pridávanie, teda inokulácia allochtónnych mikroorganizmov (laboratórne selektovaných), alebo autochtónnych mikroorganizmov (pôvodné mikrobiálne kon-

zorcium) pomnožených v laboratórnom reaktore, do znečistenej pôdy v snahe zrýchliť a zvýšiť efektivitu bioremediačného procesu.

Vo väčšine prípadov je koncentrácia autochtónnej mikroflóry na mieste znečistenia dostatočná pre kompletnú biodegradáciu. V prípadoch, kedy bola pôda dlhodobo znečistená, ako je to u väčšiny pôd kontaminovaných PCP, sa pôvodná mikroflóra dokáže adaptovať na prítomnosť daného kontaminantu a možno predpokladať výskyt mikrobiálnych druhov s degradačnou schopnosťou. Mnohé zo znečistených lokalít vyžadujú len optimalizáciu fyzikálnych a chemických parametrov (napr. prídavok živín, organickej hmoty, kyselika, úpravu pH) na stimuláciu a zvýšenie intenzity degradácie pôvodnou mikrobiálnou populáciou⁹⁹. V prípade piesčitých pôd s nízkou koncentráciou prirodzených pôdných mikroorganizmov je pravdepodobné, že degradačná schopnosť bude nedostatočná. Efektívnu bioaugmentáciu je možné očakávať a odporúča sa predovšetkým v týchto prípadoch: 1. ak koncentrácia pôvodnej mikrobiálnej populácie je extrémne nízka, 2. ak čas aklimatizácie pôvodnej mikroflóry po prídavku živín je extrémne dlhý, 3. v prítomnosti extrémne odolného – ťažko-rozložiteľného polutantu, 4. ak pôdny systém neobsahuje dostatočnú koncentráciu pôvodnej mikroflóry, 5. pri kontrolovateľných *ex situ* bioremediačných metódach¹⁰⁰.

Najväčším problémom bioaugmentácie je prežívanie inokulovanej mikroflóry, nakoľko pridávané mikroorganizmy musia súťažiť s prirodzenou populáciou o živiny, priestor a kyslík v neznámom prostredí, čo je pre vnesené mikroorganizmy často stresujúce. Nevyhnutnými podmienkami úspešnej bioaugmentácie je transport inokulovaných mikroorganizmov na kontaminované miesto, ich prežitie, kolonizácia v danom prostredí, prípadne ich pomnoženie, expresia génov kódujúcich degradačné enzýmy a udržanie si degradačnej aktivity. Schopnosť mikroorganizmov metabolizovať danú látku je síce nevyhnutná, nie však postačujúca podmienka pre jej účinné odstránenie z nesterilného prostredia. Selektia mikroorganizmov by mala byť zameraná v prvom rade na schopnosť prežiť v danom prostredí, a až sekundárne na jeho degradačnú schopnosť. Mikroorganizmus by sa mal izolovať pri nízkej koncentrácii substrátu a anorganických živín. Takto získaný kmeň by mohol mať väčšiu šancu na úspech ako mikroorganizmus so síce veľkou degradačnou schopnosťou, no neschopný prispôbiť sa náročným podmienkam v pôde¹⁰¹.

Prvýkrát použili technológiu bioaugmentácie na dekontamináciu PCP Edgehill a Finn^{102,103}. Pomocou bakteriálneho kmeňa *Arthrobacter* sp. ($1 \cdot 10^6$ kolónií na 1 g pôdy) znížili počas rozkladu PCP z dvoch týždňov na menej ako 1 deň. Neskoršie štúdie ukázali, že *Arthrobacter* sp. degraduje PCP v kvapalných médiách až do koncentrácie $350 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, ale pri vyšších koncentráciách dochádza už len k parciálnej degradácii. Inokulácia buniek *Arthrobacter* sp. ($4 \cdot 10^7$ na 1 g pôdy) vyústila za jeden mesiac do kompletnej mineralizácie PCP.

7. Génové inžinierstvo

Génové inžinierstvo, modifikácia genetických vlastností organizmov pomocou rekombinantnej DNA technológie, sa javí ako určitá možnosť pre vývoj výnimočných mikroorganizmov so zvýšenými biodegradačnými schopnosťami. Kľúčové enzýmy zodpovedné za počiatočnú degradáciu PCP (ako

sú LiP, MnP a PCP-4-monooxygenáza) sú intenzívne študované na molekulárnej úrovni. Genetické zmeny týchto enzýmov umožňujú produkovať mikroorganizmy s vyššou hladinou enzýmových aktivít, so širšou substrátovou špecifitou, vyššou toleranciou na environmentálny stres a prítomnosť ťažkých kovov. Monooxygenázový gén, *pcpB* z *Flavobacterium* sp. ATCC 39723, bol klonovaný a exprimovaný do *Escherichia coli*¹⁰⁴. Tento gén kóduje PCP-4-monooxygenázu, ktorá katalyzuje konverziu PCP na 2,3,5,6-TeCHQ (tetrachlórhydrochinón). V dôsledku širokej substrátovej špecificity môže byť tento gén dobrým kandidátom pre geneticky zvýšenú biodegradáciu v kontaminovanom prostredí.

Génové modifikácie sa používajú aj na tvorbu bioluminescentných reportérových génov. Inkorporácia bakteriálneho luciferázového génu (*lux*) spôsobuje svetielkovanie baktérií v prítomnosti bioprístupných kontaminantov¹⁰⁵. Tieto reportérové gény sa používajú na dôkaz indukcie a potenciálu biodegradácie kontaminantov a na určenie prítomnosti a počtu degradujúcich mikroorganizmov v danom systéme.

Vývoj tzv. „super“ mikroorganizmov je síce možný, ale aplikovateľnosť týchto organizmov je ešte stále otázná. Jednak z hľadiska legislatívy, jednak ohľadne verejnej mienky na účinok týchto mikroorganizmov na prirodzenú mikrobiálnu ekológiu. Je známe, že po ich pridaní do pôdy môže dôjsť k potlačeniu pôvodnej pôdnej mikroflóry a to má ďalší dopad na prirodzenú rovnováhu daného pôdneho ekosystému. Je preto potrebné posúdiť úžitok, ktorý tieto vnesené organizmy prinesú. Na druhej strane, odstraňovanie kontaminantov má tiež pozitívny efekt pre daný ekosystém. V súčasnosti je použitie geneticky modifikovaných mikroorganizmov limitované do laboratórií a uzatvorených systémov. Pri pôdných aplikáciách týchto mikroorganizmov bude potrebné v budúcnosti zvažovať riziko ich uvoľnenia do prostredia oproti účelnosti a potrebnosti odstránenia kontaminantov^{105,106}.

8. Limitácie a možnosti bioremediačných technológií

Aj keď bioremediačné technológie predstavujú sľubnú variantu znižovania koncentrácie resp. odstraňovania kontaminantov, predovšetkým v kombinácii s inými technológiami, je potrebné spomenúť aj faktory, ktoré ich efektívnosť a úspešnosť znižujú. Faktory limitujúce remediačné technológie možno stručne zosumarizovať nasledovne: mikrobiálne (rast, mutácia a horizontálny génový transfer, enzýmová indukcia, vnesenie vhodnej mikrobiálnej populácie), environmentálne (vyčerpanie preferenčných substrátov, nedostatok živín, inhibičné environmentálne podmienky), substrát (príliš nízka koncentrácia, chemická štruktúra, toxicita kontaminantov a rozpustnosť kontaminantov), biologické aeróbne vs. anaeróbne procesy (oxidačný/redukčný potenciál, dostupnosť elektrónových akceptorov, prítomnosť mikrobiálnej populácie), rastový substrát vs. kometabolizmus (typ kontaminantu, koncentrácia, prítomnosť alternatívneho zdroja uhlíka mikrobiálne interakcie), fyzikálno-chemická bioprístupnosť polutantov (sorpčná rovnováha, ireverzibilná sorpcia, inkorporácia do humínovej hmoty) a limitácie transferu hmoty (difúzia a rozpustnosť kyselika, difúzia živín, rozpustnosť/miešateľnosť vo vode/s vodou). Detailnejšie sa o limitáciách bioremediačných zaoberá viacero prác^{107,108}.

9. Záver

Pri remediácii hydrofóbných kontaminantov z pôd, spodných vôd a bioodpadov je možné uvažovať aj s niektorými ďalšími novelizovanými prístupmi v environmentálnom remediálnom výskume, a to s využitím i iných organizmov ako baktérií. Jedná sa o fytoremediáciu (použitie rastlín), rhizoremediáciu (využitie koreňových systémov rastlín s bakteriálnou mikrofórou) a použitie vyšších húb (mycélií). Tieto systémy umožňujú akumuláciu kontaminantov v tele rastliny alebo ich zabudovanie do rastlinných štruktúr vo forme nefytotoxických metabolitov (čo však nemusí vždy znamenať netoxické pre človeka), prípadne do mycélia húb, ale aj transformáciu organických zlúčenín pomocou koreňového systému (angl. hairy roots) alebo lignín- a mangánperoxidázového enzýmového systému mycélia vyšších húb^{109–111}. Fytoremediácia sa najlepšie uplatňuje v miestach s povrchovým znečistením a bolo zistené, že je účinná predovšetkým pre hydrofóbné polutanty ako sú benzén, toluén, etylbenzén, xylén, chlórované xenobiotiká typu chlórovaných bifenylov i fenolov, nitrozlučieniny alebo nitrotoluénové škodliviny. Pri fytodekontaminácii, keď rastliny akumulujú kontaminanty v tkanivách, sú tieto po zbere uložené na skládkach, spracované chemicky a termálne. Fytostabilizácia je postup, ktorý je možné využiť pri zaistení a príprave kontaminovanej oblasti pred dekontamináciou alebo pri regulácii prietoku kontaminovanej podzemnej vody pôdnym sedimentom a pri jej zadržovaní v problémovej oblasti. Pozornosť sa teda obracia pri dekontaminačných technológiách (predovšetkým pri *in situ* postupoch) viac na prirodzené procesy, ktoré rešpektujú prírodnú rovnováhu a najmenej ju nerušajú.

LITERATÚRA

- Cirelli D. P., v knihe: *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicology* (Rao K. R., ed.), str. 13. Plenum Press, New York 1978.
- Kobayashi K., v knihe: *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicology* (Rao K. R., ed.), str. 89. Plenum Press, New York 1978.
- Nilsson C. A., Norstrom A., Andersson K., Rappe C., v knihe: *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicology* (Rao K. R., ed.), str. 313. Plenum Press, New York 1978.
- Jokela J. K., Laine M., Salkinoja-Salonen M.: *Environ. Sci. Technol.* 27, 5478 (1993).
- Detrick R. S.: *For. Prod. J.* 27, 13 (1977).
- Ahling B., Lindskog A., v knihe: *Chlorinated Dioxins and Related Compounds* (Hutzinger O., Frei R. W., Merian E., Pocchiari F., ed.), str. 215. Pergamon Press, Oxford 1982.
- Paasivirta J., Heinola K., Humpi T., Karjalainen K., Knuutinen J., Mäntykoski K., Pauku R., Piilola T., Surma-Aho K., Tarhanen J., Welling L., Vihonen H., Särkkä J.: *Chemosphere* 14, 469 (1985).
- Salkinija-Salonen M. S., Valo R., Apajalahti J., Hakulinen R., Silakoski L., Jaakkola T.: *3rd International Symposium on Microbial Ecology: Current Perspectives in Microbial Ecology, American Society for Microbiology, Washington D.C. 1983*. Proceedings (Klug M. J., Reddy C. A., ed.), str. 668.
- Berger R. S.: *Science* 177, 704 (1972).
- McDowell P. G., Waladde S. M.: *J. Chem. Ecol.* 12, 69 (1986).
- Muir J., Eduljee G.: *Sci. Total Environ.* 236, 41 (1999).
- Zheng M., Zheng B., Bao Z., Yang H., Xu X.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64, 16 (2000).
- Autenrieth R. L., Bonner J. S.: *J. Hazard. Mater.* 28, 29 (1991).
- Goldman L. R., Harnly M., Flattery J., Patterson D. G. Jr., Needham L. L.: *Environ. Health Perspect.* 108, 13 (2000).
- U.S. EPA, *Report of the Ad Hoc Study Group on Pentachlorophenol Contaminants*, Environmental Health Advisory Committee, Science Advisory Board, Washington D.C. 1978.
- Crosby D. G.: *Pure Appl. Chem.* 53, 1051 (1981).
- Verschueren K., v knihe: *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. Van Nostrand Reinhold, New York 1983.
- Simonich S. L., Hites R. A.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 2905 (1995).
- Vestník Ministerstva Pôdohospodárstva Slovenskej republiky, *Rozhodnutie o najvyšších prípustných hodnotách škodlivých látok v pôde a o určení organizácii oprávnených zisťovať skutočné hodnoty týchto látok*, 531/1994-540, str. 3, 1994.
- McAllister K. A., Lee Hung, Trevors J. T.: *Biodegradation* 7, 1 (1996).
- Yu J., Ward O. P.: *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 1996, 181.
- Hägglom M., Valo R. J., v knihe: *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals* (Young L., Cerniglia C., ed.), str. 389. Wiley-Liss, Inc., New York 1995.
- van Schie P. M., Young L. Y.: *Bioremed. J.* 4, 1 (2000).
- Neilson A. H.: *J. Appl. Bacteriol.* 69, 445 (1990).
- Katayama-Hirama K., Tobita S., Hirayama K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 38, 497 (1992).
- Londry K. L., Fedorak P. M.: *Can. J. Microbiol.* 38, 1 (1992).
- Ambujon S., Manillan V. B.: *Biotechnol. Lett.* 17, 443 (1995).
- Kramer C. M., Kory M. M.: *Can. J. Microbiol.* 38, 34 (1992).
- Knoll G., Winter J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30, 318 (1989).
- Mohn W. W., Kennedy K. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2131 (1992).
- Mohn W. W., Kennedy K. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1367 (1992).
- Wittmann C., Zeng A. P., Deckwer W. D.: *J. Ind. Microbiol. Technol.* 21, 315 (1998).
- Männistö M. K., Tirola M. S., Puhakka J. A.: *4th International Symposium on Environmental Biotechnology, Noordwijkerhout 2000*. Proceedings (Hartmans S., Lens P., ed.), str. 174.
- Katayama-Hirama K., Tobita S., Hirayama K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37, 147 (1991).
- Katayama-Hirama K., Tobita S., Hirayama K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37, 379 (1991).
- Anselmo A. M., Cabral J. M. S., Novais J. M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31, 200 (1989).

37. Gajendiran N., Mahadevan M.: *Indian J. Exp. Biol.* 28, 1136 (1990).
38. Čejková A., Masák J., Jirků V., Strnad R., Siglová M., Fialová A.: *4th International Symposium on Environmental Biotechnology, Noordwijkerhout 2000*. Proceedings (Hartmans S., Lens P., ed.), str. 504.
39. Aiken B. S., Logan B. E.: *Biodegradation* 7, 175 (1996).
40. Tuomela M., Lyytikäinen M., Oivanen P., Hataka A.: *Soil Biol. Biochem.* 31, 65 (1999).
41. Ohtsubo Y., Miyauchi K., Kanda K., Hatta T., Kiyohara H., Senda T., Nagata Y., Mitsui Y., Takagi M.: *FEBS Lett.* 459, 395 (1999).
42. Xun L., Bohuslavek J., Cai M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266, 322 (1999).
43. Xu L., Resing K., Lawson S. L., Babbitt P. C., Copley S. D.: *Biochemistry* 38, 7659 (1999).
44. Saboo V. M., Gealt M. A.: *Can. J. Microbiol.* 44, 667 (1998).
45. van de Pas B. A., Smidt H., Hagen W. R., van der Ost J., Schraa G., Stams A. J., de Vos W. M.: *J. Biol. Chem.* 274, 20287 (1999).
46. Lo K. V., Zhu C. M., Cheuk W.: *Environ. Technol.* 19, 91 (1998).
47. Lücking F., Köser H., Jank M., Ritter A.: *Water Res.* 32, 2607 (1998).
48. Derco J., Gulyášová A., Horňák M.: *Chem. Pap.* 56, 41 (2002).
49. Schmidt L., Delfino J. J., Preston J. F., St. Lauren J. III.: *Chemosphere* 38, 2897 (1999).
50. Ide A., Niki Y., Sakamoto F., Watanabe I., Watanabe H.: *Agric. Biol. Chem.* 36, 1937 (1972).
51. Kuwatsuka S., Igarashi M.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 21, 405 (1975).
52. Murthy N. B. K., Kaufmann D. D., Fries G. F.: *J. Environ. Sci. Health* 14, 1 (1979).
53. Boyd S. A., Shelton D. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 272 (1984).
54. Hale D. D., Rogers J. E., Wiegel J.: *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 1255 (1991).
55. Hrudey S. E., Knetting E., Fedorak P. M., Daignault S. A.: *Water Pollut. Res. J. Can.* 22, 427 (1987).
56. Kohring G.W., Zhang X., Wiegel J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2735 (1989).
57. Suflita J. M., Miller G. D.: *Environ. Toxicol. Chem.* 4, 751 (1985).
58. Zhang X., Wiegel J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1119 (1990).
59. Abrahamsson K., Klick S.: *Mar. Pollut. Bull.* 22, 227 (1991).
60. Mikesell M. D., Boyd S.: *J. Environ. Q.* 14, 337 (1985).
61. Mikesell M. D., Boyd S.: *Environ. Sci. Technol.* 22, 1411 (1988).
62. Nicholson D. K., Woods S. L., Istok J.D., Peek D. C.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2280 (1992).
63. Armenante P. M., Kafkewitz D., Lewandowski G., Kung C. M.: *Environ. Prog.* 11, 113 (1992).
64. Larsen S., Hendriksen H. V., Ahring B. K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2085 (1991).
65. Madsen T., Aamand J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2453 (1991).
66. Augustijn-Beckers P. E. M., Hornsky A. G., Wau-Choje R. D., v knihe: *Review of Environmental Contamination and Toxicology* (Ware G. W., ed.), str. 144. Springer-Verlag, New York 1994.
67. Lagas P.: *Chemosphere* 17, 205 (1988).
68. Rapaport R. A., Eisenreich S. J.: *Environ. Sci. Technol.* 18, 163 (1984).
69. Choi J., Aomine S.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 135 (1974).
70. Jacobsen B. N., Arain E., Reiders M.: *Water Res.* 39, 13 (1996).
71. Choi J., Aomine S.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 18, 255 (1972).
72. Gestel van C. A. M., Adema D. M. M., Dirven-van Breemen E. M.: *Water, Air, Soil Pollut.* 88, 119 (1997).
73. Galil M. I., Novak J. T.: *Water Res.* 29, 1553 (1995).
74. Dec J., Bollag J. M., v knihe: *Bioremediation through Rhizosphere Technology* (Anderson T. A., Coats J. R., ed.), ACS Symposium Series 563, str. 102. Americal Chemical Society, Washington 1994.
75. Dec J., Bolag J. M.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 484 (1994).
76. Dec J., Bollag J. M.: *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 1366 (1988).
77. Bennet G. F., Olmstead K. P.: *Chem. Br.* 2, 133 (1992).
78. Mueller J., Pritchard H., Tischuk M., Brouman M., Swallow P., Tabe M., Smith J., v knihe: *Novel Approaches for Bioremediation of Organic Pollution*, str. 1. Eilat 1998.
79. Laine M. M., Jorgensen, K. S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1507 (1996).
80. Laine M. M., Jorgensen, K. S.: *Environ. Sci. Technol.* 31, 371 (1997).
81. Sims J. L., Sims R. C., Matthews J. E.: *Bioremediation of Contaminated Surface Soils, EPA/600/9-89/073*. Ada 1989.
82. Anderson W. C.: *Innovative Site Remediation Technology, Vol. 1, Bioremediation*. American Academy of Environmental Engineers, Annapolis 1995.
83. Otte M. P., Gagnon J., Comeau Y., Matte N., Greer Ch.W., Samson R.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40, 926 (1994).
84. Barbeau C., Deschenes L., Karamanev D., Comeau Y., Samson R.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 745 (1997).
85. McGrath R., Singleton I.: *Soil Biol. Biochem.* 32, 1311 (2000).
86. Barančíková G.: *Novel Approaches for Bioremediation of Organic Pollution, Izrael 1998*. Zborník abstraktov, str. 4P.
87. Zou S., Anders K. M., Ferguson J. F.: *Bioremed. J.* 4, 19 (2000).
88. Jahan K., Maier W. J.: *47th Purdue Industrial Waste Conference Proceeding, Chelsea, Mass 1992*. Zborník abstraktov, str. 177.
89. Pope D. F., Matthews J. E., v správě: *Bioremediation Using the Land Treatment Concept, EPA/600/R-93/164*, str. 1. Ada 1993.
90. Cookson Jr., J. T., v knihe: *Bioremediation Engineering Design and Application*, str. 18. McGraw-Hill, New York 1995.
91. Leahy M., Brown R.: *Chem. Eng.* 101, 108 (1994).
92. Hunling S. G., Pope D. F., Matthews J. E., Sims J. L., Sims R. C., Sorenson D. L., v knihe: *Wood Bioremediation of Recalcitrant Organics* (Hinchee R. E., Anderson D. B., Hoeppe R. E., ed.), str. 101. Battelle Press, Columbus 1995.

93. Valo R., Salkinoja-Salonen M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25, 68 (1986).
94. Holroyd M. L., Caunt P., v knihe: *Bioaugmentation for Site Remediation* (Hinchee R. E., Fredrickson J., Alleman B. C., ed.), str. 181. Battelle Press, Columbus 1995.
95. Glaser J. A., Tzeng J. J.-W., McCauley P. T., v knihe: *Biological Processes for Hazardous Waste Treatment* (Hinchee R. E., Skeen R. S., Sayles G. D., ed.), str. 145. Battelle Press, Columbus 1995.
96. U.S. EPA, *Slurry Biodegradation*, EPA/540/2-90/016, str. 1. Cincinnati 1990.
97. Mueller J. G., Lantz S. E., Blattmann B. O., Chapman P. J.: *Environ. Sci. Technol.* 25, 1055 (1991).
98. McBain A., Cui F., Herbert L., Ruddick J. N. R.: *Biodegradation* 6, 46 (1995).
99. Baker K. H., Herson D. S.: *Bioremediation*. McGraw-Hill, New York (1994).
100. Alexander M., v knihe: *Biodegradation and Bioremediation*, str. 226. Academic Press, San Diego 1994.
101. Pritchard P.H.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 3, 232 (1992).
102. Edgehill R. U., Finn R. K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 1122 (1983).
103. Edgehill R. U., v knihe: *Bioaugmentation for Site Remediation* (Hinchee R. E., Fredrickson J., Alleman B. C., ed.), str. 85. Battelle Press, Columbus 1995.
104. Orser C. S., Lange C. C., Xun L., Zahrt T. C., Schneider B. J.: *J. Bacteriol.* 175, 5487 (1993).
105. Ensley B. D., DeFlaun M. F., v knihe: *The Microbial Ecology and Physiology of Aryl Dehalogenation Reactions and Implications for Bioremediation* (Young L. Y., Cerniglia C. E., ed.), str. 603. Wiley-Liss, New York 1995.
106. Menn F. M., Easter J. P., Sayler G. S., v knihe: *Biotechnology, Vol. 11b Environmental Processes* (Klein J., ed.), str. 441. Wiley-Verlag, Weinheim 2000.
107. Boopathy R.: *Bioresour. Technol.* 74, 63 (2000).
108. Klein J., v knihe: *Biotechnology, Vol. 11b Environmental Processes* (Klein J., ed.), str. 465. Wiley-Verlag, Weinheim 2000.
109. Pletsch M., de Araujo S., Charlwood B. V.: *Biotechnol. Adv.* 17, 679 (1999).
110. Schnoor J. L., v knihe: *Biotechnology, Vol. 11b Environmental Processes* (Klein J., ed.), str. 371. Wiley-Verlag, Weinheim 2000.
111. Wenzel W. W., Adriano D. C., Salt D., Smith R., v knihe: *Bioremediation of Contaminated Soil* (Kral D. M., ed.), str. 457. American Society of Agronomy, Wisconsin 1999.

K. Dercová^a, Z. Kyseľová^a, G. Barančíková^b, Z. Sejáková^a, and A. Maľová^a (^a*Department of Biochemical Technology, Slovak University of Technology, Bratislava*, ^b*Research Institute for Soil Science and Conservation, Prešov, Slovak Republic*): **Biodegradation and Bioremediation of Pentachlorophenol**

Pentachlorophenol (PCP) has been widely used in a number of industrial applications. As a consequence and due to its stability, it has become a widespread contaminant in soil, sediments and landfills. Because classic remediation technologies (such as incineration) are generally non-ecological and uneconomical, alternative methods involving biodegradation by microbial populations have been developed. The two known pathways of biodegradation (oxidative and reductive) as well as factors affecting PCP degradation by microbial strains are reviewed here. The proposed bioremediation strategies and those recently developed are outlined.