

Ksenobiotici - utjecaj na okoliš i metode analize

Sabati, Eugen

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:879245>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Eugen Sabati
0058218271

KSENOBIOTICI – UTJECAJ NA OKOLIŠ I METODE ANALIZE

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biotehnologija u zaštiti okolišta

Mentor: prof. dr. sc. Tabela Landeka Dragičević

Zagreb, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Ksenobiotici – utjecaj na okoliš i metode analize

Eugen Sabati, 0058218271

Sažetak:

Razvojem širokog spektra proizvoda tijekom 20-og stoljeća kojima je cilj bio olakšanje i poboljšanje svakodnevnog života, uz mnoge pogodnosti došlo je i do negativnog utjecaja na okoliš. Proizvodi poput pesticida, proizvoda za osobnu njegu, lijekova, aditiva i bojila sadrže mnoge, prirodi nepoznate spojeve – ksenobiotike, koji na razne načine mogu dospjeti u okoliš, a uzrokuju posljedice štetne po zdravlje ljudi, biljaka, kopnenih i morskih životinja te zagađuju zrak, tlo i vodu. S obzirom na njihove specifične strukture i svojstva, teško su razgradivi. Često su prisutni u niskim koncentracijama stoga metode njihove detekcije i analize moraju biti brze, točne i što jeftinije. Budući da su ti spojevi teško razgradivi, primjenjuju se metode poput bioremedijacije, biostimulacije i bioaugmentacije kako bi se uspješno uklonili iz okoliša te kako bi se zaustavilo oštećenje okoliša.

Ključne riječi: ksenobiotici, bioremedijacija, biostimulacija, bioaugmentacija, fitoremedijacija, fotorazgradnja

Rad sadrži: 29 stranica, 8 slika, 2 tablice, 50 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević

Pomoć pri izradi: prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević

Datum obrane: 15. lipnja 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food technology

Department of food engineering
Laboratory for biological treatment of wastewater

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food technology

Xenobiotics –environmental impacts and methods of analysis

Eugen Sabati, 0058218271

Abstract:

With the development of a large variety of products during the 20th century, whose goal was to relief and improve the everyday life, with lots of benefits also came the negative effects on the environment. Products such as pesticides, personal care products, medications, aditives and dyes all contain lots of compounds unknown to nature – xenobiotics, which can reach the environment in various ways, and cause consequences harmful to health of humans, plants, terrestrial and marine animals and pollute the air, soil and water. Due to their specific structures and properties, they are difficult to degrade. They are often present in small quantities so the methods of their detection and analysis must be quick, precise, and as cheap as possible. Given that these compounds are difficult to degrade, methods such as bioremediation, biostimulation and bioaugmentation are applied to successfully remove them from the environment and to stop its pollution.

Keywords: xenobiotics, bioremediation, biostimulation, bioaugmentation, phytoremediation, photodegradation

Thesis contains: 29 pages, 8 figures, 2 tables, 50 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Tibela Landeka Dragičević, PhD, Full Professor

Technical support and assistance: Tibela Landeka Dragičević, PhD, Full Professor

Thesis defended: June 15th, 2023

Tablica sadržaja

| | |
|--|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 2. Ksenobiotici – pojam..... | 2 |
| 3. Izvori ksenobiotika u okolišu..... | 2 |
| 4. Učinak ksenobiotika na okoliš..... | 4 |
| 4.1. Učinak ksenobiotika na tlo..... | 5 |
| 4.2. Učinak ksenobiotika na vodu..... | 6 |
| 4.3. Učinak ksenobiotika na biljke..... | 7 |
| 4.4. Učinak ksenobiotika na morski život..... | 8 |
| 4.5. Učinak ksenobiotika na kopnene životinje..... | 9 |
| 4.6. Učinak ksenobiotika na zdravlje ljudi..... | 9 |
| 5. Metode određivanja ksenobiotika..... | 10 |
| 6. Bioremedijacija ksenobiotika..... | 12 |
| 7. Zakonodavstvo..... | 21 |
| 8. Zaključci..... | 23 |
| 9. Literatura..... | 24 |

1. Uvod

Ksenobiotici (engl. *Xenobiotics*) su spojevi strani prirodi, sintetskog su podrijetla, obično se upotrebljavaju u kućanstvu, poljoprivredi i industriji, negativnog su učinka na okoliš. Pojam ksenobiotik dolazi od grčkih riječi *xenos* (strano) i *bios* (život). U okolišu su prisutni u koncentracijama u rasponu od ng/L do µg/L. Pri izravnoj ili neizravnoj izloženosti ksenobioticima, ksenobiotici u vodenim sustavima izazivaju eutrofikaciju i ozbiljne prijetnje raznolikosti faune, bioakumuliraju se u prehrambenom lancu, imaju ekotoksikološke učinke na organizme u tlu, smanjuju mikrobnu aktivnost i mijenjaju fizikalno-kemijska svojstva tla, dok stalna izloženost ksenobioticima nepovoljno utječe na imunološki, reproduktivni i živčani sustav u ljudi (Miglani i sur., 2022; Embrandiri i sur., 2016).

U ksenobiotike se svrstavaju poliklorirani bifenili (PCBs, engl. *Polychlorinated biphenyls*), halogenirani ugljikovodici (engl. *Halocarbons*), sintetski polimeri (engl. *Synthetic polymers*), farmaceutici (engl. *Pharmaceuticals*), proizvodi za osobnu njegu (PCPs, engl. *Personal care products*), policiklički aromatski ugljikovodici (PAHs, engl. *Polycyclic aromatic hydrocarbons*), polibromidni bifenili (PBBs, engl. *Polybrominated biphenyls*), pesticidi (engl. *Pesticides*), teški metali (engl. *Heavy metals*), nuklearni otpad (engl. *Nuclear waste*) i drugo, u okolišu su postojani i sporo ili ne biorazgradivi (Miglani i sur., 2022; Štefanac i sur., 2021; Embrandiri i sur., 2016). U zemljama članicama EU i diljem svijeta, izazovi i potencijalne mogućnosti u iznalaženju rješenja problema izazvanih ksenobioticima usmjereni su na smanjenje ksenobiotika u okolišu na ekonomičan, ekološki i društveno prihvatljiv i održiv način za smanjenjem nakupljanja ili stvaranja toksičnih tvari u prirodi.

Ovaj pregledni rad daje spoznaje o učinku ksenobiotika na okoliš, dospijevanju ksenobiotika u okolišu, metodama obrade ksenobiotika s posebnom pažnjom na biostimulaciju i bioaugmentaciju kao i zakonodavstvo iz područja zaštite okoliša.

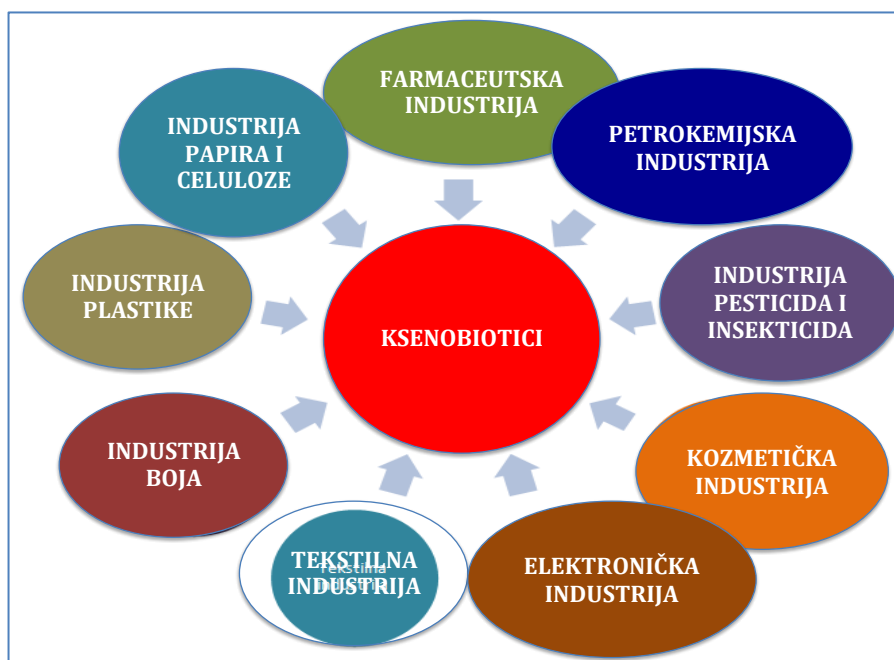
2. Ksenobiotici – pojam

Tijekom 20-og stoljeća postignut je značajan tehnološki napredak čime se omogućio razvoj velikog broja proizvoda kojima je cilj olakšanje i poboljšanje svakodnevnog života, poput antibiotika, proizvoda za osobu njegu, pesticida, aditiva i bojila. Napredak u razvoju tih proizvoda uz benefite ima i negativan utjecaj na okoliš, budući da ti proizvodi sadrže mnoge sastojke koji se u okolišu ne pojavljuju ili se pojavljuju u značajno manjim koncentracijama (Singh i sur., 2022; Štefanac i sur., 2021; de Oliveira i sur., 2020). Ti kemijski spojevi – biološki aktivne tvari, koji su prirodi uglavnom nepoznati, a koje antropogenim putem dospijevaju u ekološke sustave, odnosno ne sintetiziraju se u okolišu prirodnim putem, nazivaju se ksenobiotici. Pojam "ksenobiotik" dolazi od grčkih riječi "xenos" što znači nepoznato ili strano, i "bios" što znači život. Druga, također valjana definicija ksenobiotika podrazumijeva njihovu prisutnost u živim organizmima, iako ih ti organizmi ne mogu sami metaboličkim putem sintetizirati. Pojam ksenobiotik prvi je predložio znanstvenik Banjoko na temelju bioloških i fizioloških učinaka tih prirodnih ili sintetskih spojeva na stanice, tkiva i organe organizama (Embrandiri i sur., 2016; Banjoko, 2014). Fizikalno-kemijska struktura ksenobiotika, odnosno molekularna veličina, sposobnost ionizacije, topljivost u vodi i polarnost predstavljaju glavni problem pri detekciji, kvantifikaciji i uklanjanju tih spojeva (Singh i sur., 2022; Štefanac i sur., 2021; de Oliveira i sur., 2020). Ksenobiotici na mnoštvo načina mogu dospjeti u okoliš, primjerice konzumacijom i zatim ekskrecijom od strane ljudi i životinja, putem otpadnih voda i postrojenja za obradu otpadnih voda, korištenjem pesticida u agrarstvu ili iz industrijskih pogona (Singh i sur., 2022; Štefanac i sur., 2021; Embrandiri i sur., 2016).

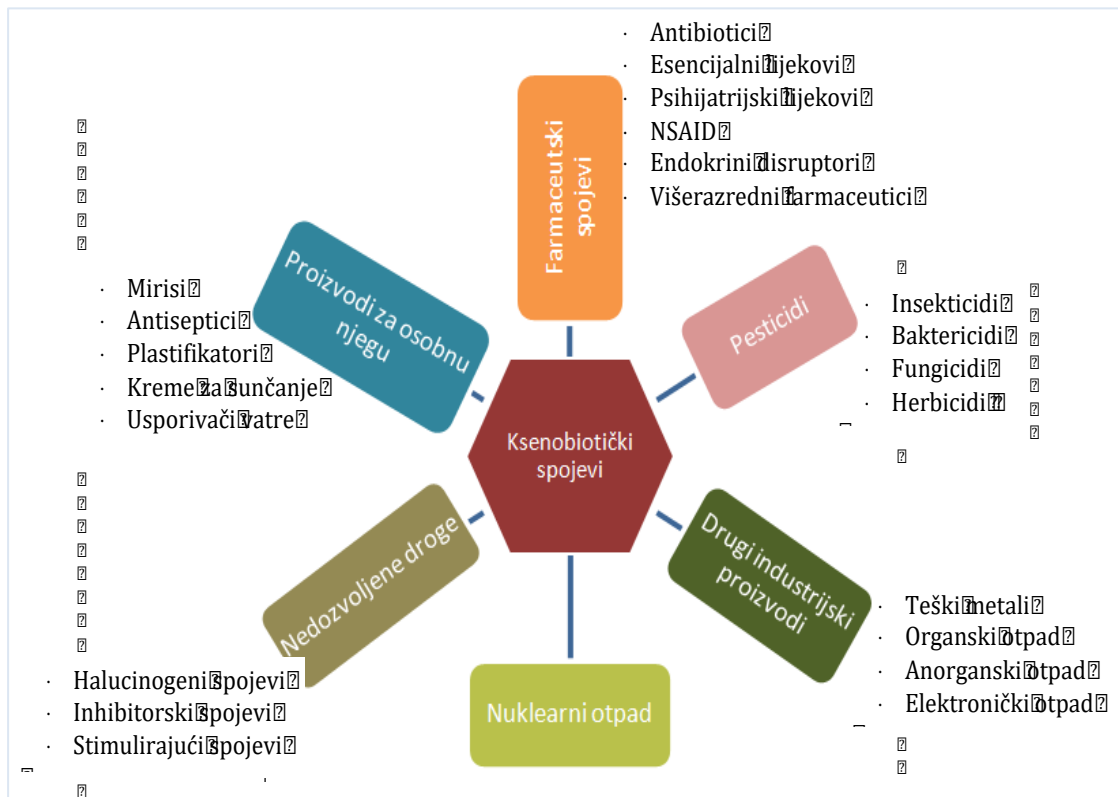
3. Izvori ksenobiotika u okolišu

Ksenobiotici su zbog složene kemijske strukture teško razgradivi spojevi, akumuliraju se u organizmima, a njihova djelomična razgradnja može prouzročiti još veću opasnost. U okoliš mogu dospjeti izravno ili neizravno te je od velike važnosti poznavanje izvora ksenobiotika (Slike 1 i 2) kako bi se mogli učinkovito ukloniti iz okoliša (Singh i sur., 2022; Štefanac i sur., 2021; Embrandiri i sur., 2016). Tako primjerice, farmaceutici i proizvodi za osobnu njegu u okoliš dospijevaju neizravno nakon ljudske konzumacije/uporabe te ekskrecije pri čemu dospijevaju u otpadne vode, na sustave za

obradu otpadnih vode, kao i u jezera, rijeke, podzemne vode i tlo, a iz organizma se izlučuju u obliku raznih metabolita koji u nekim slučajevima mogu biti opasniji od izvorne komponente. Za razliku od tih proizvoda, pesticidi u okoliš dospjevaju izravno te utjecajima okoliša poput vjetra ili kiše migriraju dalje i dospjevaju do vodenih površina, podzemnih voda i sl. Njihovim daljnjim unosom u biljke i životinje farmaceutici, proizvodi za osobnu njegu i pesticidi ulaze u prehrambeni lanac (Mathew i sur., 2017).



Slika 1. Izvori ksenobiotika u okolišu (preuzeto i prilagođeno iz Singh i sur., 2022)

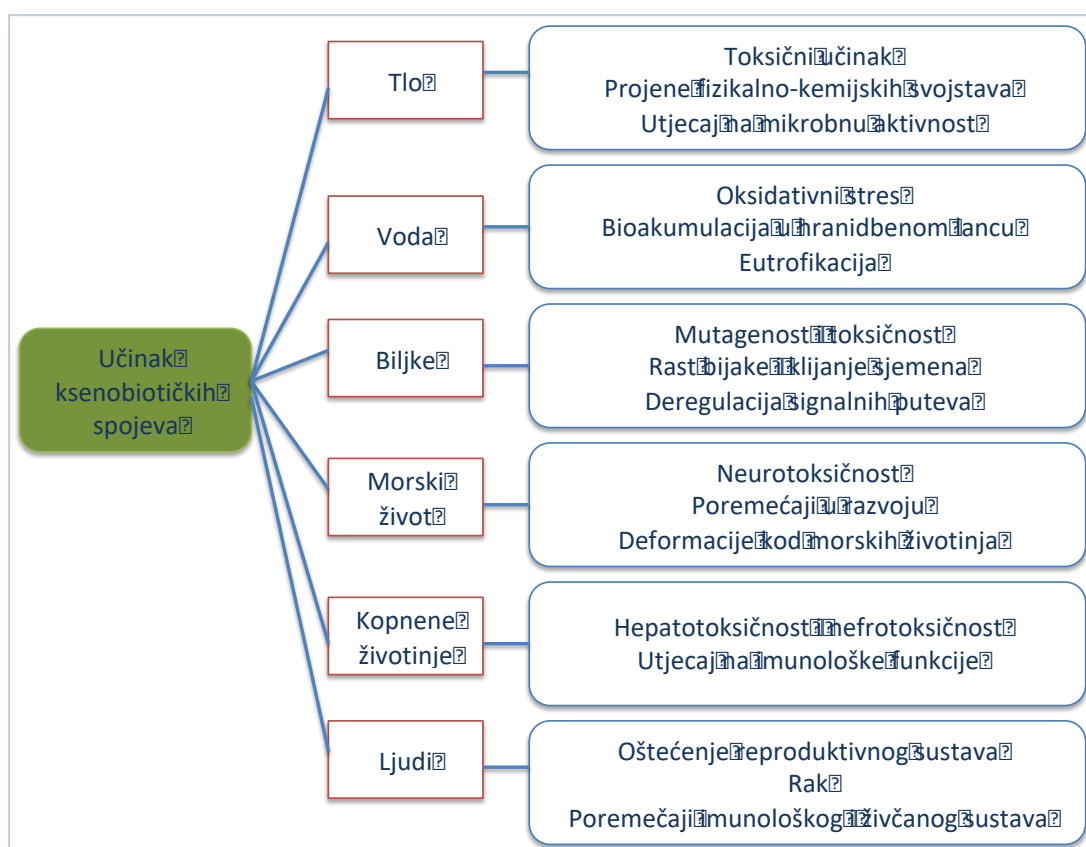


Slika 2. Ksenobiotički spojevi i izvori nastanka (preuzeto i prilagođeno iz Štefanac i sur., 2021)

4. Učinak ksenobiotika na okoliš

Onečišćenje okoliša ksenobiotičkim uzrokovano raznim antropogenim aktivnostima, poput globalizacije i porasta broja stanovnika, predstavlja globalnu brigu. Kao posljedica ispuštanja golemih količina štetnih spojeva u okoliš javljaju se rasprostranjene kontaminacije ekosustava, pri čemu se štetne supstance poput policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAHs; engl. *Polycyclic aromatic hydrocarbons*), pesticida, naftnih derivata te gnojiva i iona teških metala mogu pronaći u tlu i vodi, pri čemu predstavljaju opasnost biljkama, kopnenim i morskim životinjama te naposljetku i ljudima (Slika 3) (Miglani i sur., 2022; Embrandiri i sur., 2016). Izlaganje okolišnim onečištilima poput ksenobiotika godišnje rezultira smrću više od 14 milijuna ljudi diljem svijeta. Današnja zdravstvena industrija predstavlja značajan izvor aktivnih farmaceutskih spojeva (APIs, engl. *Active pharmaceutical ingredients*) čiji ostaci mogu uzrokovati onečišćenje okoliša, a posljedice proizvodnje i uzimanja

lijekova u humanoj i veterinarskoj medicini mogu imati posljedice koje se značajno razlikuju od glavnih ciljeva konvencionalne zdravstvene zaštite (Embrandiri i sur., 2016). Ksenobiotici imaju ekotoksikološke učinke na organizme u tlu, smanjuju aktivnost mikroorganizama i mijenjaju fizikalno-kemijska svojstva tla. U vodenim sustavima (slatka i morska voda) ksenobiotički spojevi uzrokuju eutrofikaciju i ozbiljne prijetnje raznolikosti faune, uzrokuju razvojne poremećaje i deformitete, a stalna izloženost ksenobioticima nepovoljno utječe na imunološki, reproduktivni i živčani sustav te ponekad uzrokuje razne vrste raka. Ksenobiotici utječu na zdravlje i kopnenih i morskih životinja oštećenjima njihovih reproduktivnih i imunoloških sustava (Slika 3) (Miglani i sur., 2022).



Slika 3. Štetni učinci na okoliš, biljke, životinje i zdravlje ljudi uzrokovani izravnom ili neizravnom izloženosti ksenobiotičkim spojevima (preuzeto i prilagođeno iz Miglani i sur., 2022).

4.1. Učinak ksenobiotika na tlo

Najveću prijetnju tlu u oklišu razvijenih zemalja predstavljaju ksenobiotici poput dioksina, kloridana, policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAHs), nitroaromatika,

polikloriranih bifenila (PCBs) i 1,1,1-trikloro-2,2-bis (4-klorofenil) etana (DDT). Uz te navedene kemijske spojeve, postoje i indikacije popraćene izvješćima kako bi i druge komponente poput benzena, toluena, ksilena, nitrobenzena, anilina, trinitrotoulena, etilbenzena i kloriranih otapala mogli biti ksenobiotički zagađivači, posebice u tlu (Miglani i sur., 2022; Salem i sur., 2017). Kao ksenobiotički zagađivači mogli bi sudjelovati i proizvodi za osobnu njegu (PCP) i kozmetički proizvodi, posebice parabeni u tlu i zraku (Miglani i sur., 2022; Juliano i Magrini, 2017) i azo-bojila u tlu, ponajprije zbog sadržaja azo veza i jednog ili više aromatskih prstenova (Miglani i sur., 2022; Priyanka i sur., 2022).

Antropogene aktivnosti koje stimuliraju te kemijske spojeve u tlu uključuju industrijske aktivnosti, sagorijevanje goriva, upotrebu pesticida i gnojiva, te modifikacije tla u visokoproduktivnim poljoprivrednim praksama koje izazivaju štetne posljedice (Miglani i sur., 2022; Alkorta i Gabrisu, 2001). Kemijska svojstva ksenobiotika i uvjeti uvjeti nalazišta utječu na njihovu bioraspoloživost i raspodjelu u tlu, pri čemu organska tvar tla (SOM. Engl. *Soil organic matter*) ima značajnu ulogu (Miglani i sur., 2022; Borpatragohain i sur., 2019). Pesticidi (herbicidi, insekticidi, fungicidi, algicidi, baktericidi itd.) su kemikalije koje se koriste za zaštitu i upravljanje usjeva te su najrašireniji toksini u okolišu u posljednjem stoljeću. Milijuni tona pesticida se godišnje proizvode i koriste diljem svijeta (Miglani i sur., 2022; Schwitzguébel i sur., 2006). Okolišni čimbenici poput temperature, pH vrijednosti tla i vlažnosti značajno utječu na ponašanje postojećih organskih zagađivača (POPs, engl. *Persistent organic pollutants*) u tlu. Jedna od mogućih strategija je povezivanje ksenobiotičkih spojeva s organskom tvari tla (SOM). Mnogi ksenobiotici i produkti njihove razgradnje nalikuju na prekursoru humusa te se često koriste pri humifikaciji. Sugerira se kako se ovaj prirodni proces odvija zbog neutralizacije okolišnih kontaminanata prisutnih u tlu. Anorganski minerali dobro komuniciraju s ksenobiotcima i imaju presudnu ulogu u transformaciji ksenobiotika (Miglani i sur., 2022; Hayat i sur., 2010).

4.2. Učinak ksenobiotika na vodu

Indikatori ljudske aktivnosti i prisutnosti kemijskih spojeva u urbanim vodoopskrbnim sustavima predmet su brojnih istraživanja, budući da su antropogene aktivnosti poput transporta, proizvodnje, stanovanja i izgradnje doprinjele difuzivnom zagađenju podzemnih voda u urbanim naseljima (Miglani i sur., 2022). U različitim vodenim površinama primjećeni su razni ksenobiotički zagađivači poput policikličkih

aromatskih ugljikovodika (PAHs), ftalata i pesticida. Razni su načini dolaska ksenobiotičkih sastojaka do vodenih površina, a uključuju zračno taloženje čestica, površinsku vodu koja teče kroz ceste i površinu tla, neprekidnog dotoka komercijalnih i kanalizacijskih otpadnih voda te spaljivanja otpada (Miglani i sur., 2022). Utjecaj prisutnosti ksenobiotika u vodi može uzrokovati oksidativni stres kod vodenih životinja, o čemu govori istraživanje koje su proveli Ibor i sur. (2019), pri čemu je proučavan značajan rast oksidativnog stresa među ribama u jezeru Eleye u Nigeriji. Također je važno napomenuti i istraživanje u kojem je otkriveno kako ksenobiotički spojevi uzrokuju oksidativni stres i mijenjaju homeostazu riba, na način da potiskuju antioksidativni sustav i stvaraju velik broj reaktivnih vrsta kisika (Miglani i sur., 2022; Burgos-Aceves i sur., 2018).

4.3. Učinak ksenobiotika na biljke

Utjecaj ksenobiotika na fiziološke i morfološke osobine biljaka je značajan, a kao primjer može se dati utjecaj određenih tvari iz sektora autoindustrije koji mijenjaju područje lista, folijarne površine biljaka, proteine, sadržaj cisteina i fotosintetske pigmente (Miglani i sur., 2022; Verma i Singh, 2006). Širok spektar ksenobiotika raznolikih struktura i oblika uzrokuje promjene u ekspresiji gena, regulaciji i transdukciji signala kod viših biljaka. Ksenobiotici, poput fitohormonskih analoga, imaju intrinzične interakcije s hormonskim receptorima i signalnim putevima biljaka (Miglani i sur., 2022; Ramel i sur., 2012). Metali potrebni za rast biljke, poput bakra, cinka, željeza i molibdena imaju štetan učinak pri visokim koncentracijama, dok metali koji su neesencijalni za rast biljke, poput olova, kadmija, žive i arsena imaju nepovoljan učinak čak i pri niskim koncentracijama pri rastu biljke (Miglani i sur., 2022; Kumar i Aery, 2016). Ksenobiotici izazivaju oštećenje DNA kod biljaka zbog stvaranja reaktivnih vrsta kisika i oksidativnog stresa. Signalni putevi bivaju deregulirani zbog ksenobiotičke toksičnosti u biljkama koja utječe na razne signalne receptore poput receptora spregnutih s G-proteinom i receptora za tirozin kinazu (Miglani i sur., 2022; Pande i sur., 2022).

Iako su u zadnjih 20-ak godina postojali pokušaji razvoja sigurnih pesticida koji nemaju negativan utjecaj na okoliš, danas gotovo 90% pesticida u upotrebi su sintetski pesticidi. Iako su korisni na način da štite zdravlje konzumenata uništavajući nametnike, brojni pesticidi su štetni za zdravlje ljudi i životinja, te je za zaštitu okoliša važno njihovo pravilno odlaganje. Primjetan je porast popularnosti biološki utemeljenih pesticida

budući da su manje štetni za okoliš, a dolaze u obliku feromona i mikrobnih pesticida. Sintetski pesticidi sadrže kemijske spojeve koji uzrokuju značajnu štetu ljudskom zdravlju, poput kloriranih ugljikovodika poput metoksiklora, kaptana i endosulfana koji se nakupljaju u masnim naslagama te organofosfata i organoklorina koji su kancerogeni, uzrokuju neurološke smetnje i iritiraju pluća. S obzirom na rast popularnosti i korištenja raznog ljekovitog bilja, bitno je napomenuti kako bi se s tim biljkama trebalo postupati vrlo oprezno kako ne bi došlo do kontaminacije drugih biljaka ili površinskih voda. Jedna od biljaka čija ljekovita svojstva dobivaju sve veću pažnju je marihuana, te se s njom treba opretno postupati jer može kontaminirati okoliš na način da se miješa u biološke sustave morskih organizama (Embrandiri i sur., 2016).

4.4. Učinak ksenobiotika na morski život

Utjecaj ksenobiotika na metaboličke procese morskih životinja je negativan, posebice u razvoju embrija riba pri čemu dolazi do funkcionalnih i morfoloških defekata te usporenog rasta koji vodi prema smrti. Također, kod riba su zabilježene i promjene u veličini trupa, razne nepravilnosti u tijelu te kašnjenje izlijeganja (Miglani i sur., 2022). Farmaceutici su jedan od značajnijih ksenobiotika koji utječu na zdravlje morskog života. Oni dolaze u okoliš ili u svojem originalnom obliku ili u obliku produkata metabolizma. Najznačajnijim izvorom farmaceutika smatraju se komunalne otpadne vode, a otpadne vode bolnica, procjedne vode odlagališta otpada i otpadne voda iz tvornica također mogu sadržavati značajne količine farmaceutika. U pročišćenim otpadnim vodama često se nalaze farmaceutici koji se ne mogu razgraditi u postrojenjima za obradu otpadnih voda te na taj način dospijevaju u okoliš, kontaminirajući rijeke i jezera te podzemne vode. U istraživanju provedenom u Indiji pri kojem je prikupljeno 27 uzoraka površinskih voda rijeka Tami i Karpani u južnom dijelu Indije otkriveno je prisutstvo velikog broja nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID, engl. *Non-steroidal anti-inflammatory drugs*) poput ibuprofena, naproksena, acetilsalicilne kiseline i diklofenaka, što predstavlja izravan rizik korisnicima tih izvora vode (Embrandiri i sur., 2016; Shanmugan i sur., 2013).

Ksenobioticima se smatraju i boje i bojila zato što otežavaju prodor sunčeve svjetlosti te i pri prisutnosti u tragovima otežavaju izmjenu plinova (Miglani i sur., 2022). Značajnim izvorom ksenobiotičkog onečišćenja također se smatraju pesticidi i herbicidi budući da sadrže kemijske spojeve poput nitrofenola, karbamata, sintetskih piretroida, morfolina te organofosfornih spojeva. Ti pesticidi i herbicidi koji sadrže navedene

kemijske spojeve koriste se na dnevnoj bazi u agrikulturama, a zatim ti kemijski spojevi dolaze do različitih voda, uključujući i mora te naposljetku oceane. Uz prethodno navedene kemijske spojeve veliku opasnost prema morskim životinjama i beskraljžnjacima predstavljaju i insekticidi poput β -cipermetrina (Miglani i sur., 2022).

4.5. Učinak ksenobiotika na kopnene životinje

Kopnene životinje mogu doći u doticaj s ksenobioticima zbog primjene farmaceutika ili drugih kemijskih spojeva prilikom eksperimenata, a na razinu njihove štetnosti utječe obrazac potrošnje i dispozicija ksenobiotika. Uz to, ključan utjecaj pri određivanju otrovnosti ksenobiotičkih sastojaka imaju i njihova kemijska i mehanička svojstva. Izlaganje ksenobioticima kao posljedice može imati fiziološke promjene poput promjena u organskim sustavima, kardiovaskularnim indeksima te funkcijama imunološkim sustavima, a kao primjer se može uzeti utjecaj ivermektina, antiparazitskog i akaricidnog lijeka koji je štetan za određene pseće pasmine i vrste miševa zbog nedostatka p-glikoproteina (Miglani i sur., 2022).

Što se tiče sisavaca, provedena su istraživanja na baltičkim sivim tuljanima i prstenastim tuljanima koja su pokazala kako su im imunološki i reproduktivni sustavi oštećeni utjecajem polikloriranih bifenila (PCB), a sisavci koji bi također mogli biti pogođeni sličnim promjenama su polarni medvjedi, zečevi i zamorci (Embrandiri i sur., 2016).

4.6. Učinak ksenobiotika na zdravlje ljudi

U posljednjim je desetljećima drastično povećana asimilacija ksenobiotika od strane živih bića. Ispuštanjem tih spojeva u ekosustav može doći do razvoja alergijskih reakcija, genetičkih promjena i promjena u metabolizmu. Ksenobiotici mogu imati poprilično štetan utjecaj na zdravlje ljudi, pri čemu se najviše ističe razvoj autoimunih bolesti. Čovjek može doći u doticaj s ksenobiotičkim spojevima prilikom obavljanja posla ili putem potrošačkih proizvoda kao što su hrana, boje, deterdženti, kozmetika i određena plastika, ali i indirektnim izlaganjem u okolišu. Od ksenobiotičkih kontaminanata koji narušavaju zdravlje ljudi važno je napomenuti metale olovo i kadmij te pesticide. Olovo je hepatotoksično, kadmij je nefrotoksičan, a pesticidi uzrokuju iritacije očiju, grla i nosa, a mogu i uzrokovati rak te oštetiti središnji živčani sustav i bubrege (Miglani i sur., 2022; Embrandiri i sur., 2016). Razvoj i pogoršanje autoimunih bolesti povezano je s indirektnim izlaganjem ksenobiotičkim spojevima u

okolišu. Autoimune bolesti poput reumatidnog artritisa (RA, engl. *Rheumatoid arthritis*), eritematoznog lupusa (SLE, engl. *Systematic lupus erythematosus*) i skleroze (SSc, engl. *Systemic sclerosis*) ukupno pogađaju oko 24.5 milijuna stanovnika SAD-a. Načini na koji okolišni faktori utječu na mijenjanje osnovnih bioloških faktora nisu još u potpunosti istraženi, ali postoje istraživanja koja pokazuju kako su mnogi mehanizmi vjerojatno uključeni u autoimunost koja je temeljena na izlaganju okolišu te sadrže ulogu ksenobiotika u aktivaciji Toll-like receptora (TLR, engl. *Toll-like receptors*) i B staničnog receptora, oštećenja imunološke funkcije Th17 pomagačke T-stanice i T-regulatorne stanice (Embrandiri i sur., 2016).

5. Metode određivanja ksenobiotika

Određivanje prisutnosti ksenobiotika u uzorcima iz okoliša može predstavljati izazov budući su često prisutni u vrlo niskim koncentracijama koje je teško otkriti/detektirati i prisutni su u velikom broju u različitim uzorcima (González-Gaya i sur., 2021; Tuzimski i Sherma, 2019). Prikladne metode ekstrakcije i analize za odvajanje i određivanje smjesa ksenobiotika i derivata su od velike važnosti te moraju biti brze, točne i prihvatljive cijene (Štefanac i sur., 2021; Tuzimski i Sherma, 2019). Česti koraci pri rukovanju uzorkom pri većini analitičkih metoda uključuju: (i) predtretiranje uzorka, (ii) ekstrakciju analita, (iii) pročišćavanje ekstrakta s ciljem uklanjanja smetnji, te (iv) koncentriranje radi postizanja željene osjetljivosti. Posljednjih je godina postignut neosporiv napredak razvoja tehnika pripreme uzorka za analizu, poput: brze, jeftine i jednostavne metode QuEChERS (engl. *Quick, easy, cheap, effective, rugged, safe*); ekstrakcije čvrste faze, SPE (engl. *Solid phase extraction*); mikroekstrakcija čvrste faze, SPME (engl. *Solid phase microextraction*); mikroekstrakcije u tekućoj fazi sa šupljim vlaknima, HFLPME (engl. *Hollow-fiber liquid phase microextraction*); ekstrakcije mješačem, SBSE (engl. *Stir bar sorptive extraction*) (Štefanac i sur., 2021; Tuzimski i Sherma, 2019).

QuEChERS metoda koristi se u analizi pesticida s višestrukim ostatkom, analizi antibiotika, hormona, mikotoksina, policikličkih aromatskih ugljikovodika te izdržljivih organskih zagađenja, poput dioksina i polikloriranih bifenila u hrani i okolišu (Miglani i sur., 2022). QuEChERS metoda se obično kombinira s metodama poput plinske kromatografije sa masenom spektrometrijom, GC-MS (engl. *Gas chromatography – mass spectrometry*) ili tekućinske kromatografije sa masenom

spektrometrijom, LC-MS (engl. *Liquid chromatography – mass spectrometry*) što omogućava visoku razinu selektivnosti, osjetljivosti i specifičnosti (Miglani i sur., 2021; Kim i sur., 2018).

SPME omogućuje simultano uzorkovanje i pripremu uzoraka te se koristi za analiziranje pesticida, policikličkih aromatskih ugljikovodika, fenola, amina i polikloriranih bifenola u uzorcima hrane i okoliša (Lashgari i sur., 2019).

HFLPME metoda sa poroznom membranom od šupljih vlakana se koristi za detekciju tragova teških metala poput olova ili arsena, lijekova i drugih organskih spojeva u uzorcima okoliša, nafte, hrane i lijekova, te u kliničkim i biološkim uzorcima (Khan i sur., 2020).

DLLME metoda se upotrebljava za analizu organskih spojeva poput ftalata ili parabena te iona metala poput kadmija, selen, i olova. Analiza pesticida se koristi za traženje klorofenola, medikamena te fenola koji mogu uzrokovati endokrine poremećaje (Zgoła-Grzeškowiak i Kaczorek, 2011).

SBSE metoda se koristi za određivanje prisutnosti pesticida, lijekova, policikličkih aromatskih ugljikovodika, fenola, alkilfenola, klorofenola, bisfenola A i mikotoksina u uzorcima okoliša i hrane (David i Sandra, 2007).

Analiza ksenobiotika podrazumijeva primjenu vrlo osjetljivih i selektivnih analitičkih tehnika kao što su kromatografske metode – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC, engl. *High-performance liquid chromatography*), tekućinska kromatografija ultravisoke djelotvornosti (UPLC, engl. *Ultra-performance liquid chromatography*), plinska kromatografija (GC, engl. *Gas chromatography*) te višedimenzionalne kromatografske tehnike, često spojene s modernim detekcijskim tehnikama poput masene spektrometrije visoke rezolucije (HRMS, engl. *High-resolution mass spectrometry*) (Štefanac i sur., 2021; de Oliveira i sur., 2020). Kromatografska analiza ksenobiotika se koristi za odvajanje i određivanje sastojaka sličnih kemijskih struktura u zraku, tlu površinskim vodama, mulju, matricama tla i hrani. Za metode plinske kromatografije potrebni su hlapljivi i djelomično hlapljivi sastojci, poput toluena, ksilena i acetaldehida. HPLC se koristi za određivanje fenola i policikličkih aromatskih ugljikovodika poput acenaftena, fluorena, pirena, krizena i flourantena koji su prisutni u vodi i tlu, te polikloriranih bifenila (Oros i sur., 2012). UPLC skraćuje vrijeme analize te se koristi za detekciju farmaceutika, mikotoksina i pesticida (Narváez i sur., 2020). HPLC i UPLC se često primjenjuju s masenom spektrometrijom (MS, engl. *Mass spectrometry*) i/ili tandemskom spektrometrijom

(MS/MS). Višedimenzionalna kromatografija unaprijeđuje rezoluciju i moć razdvajanja. Pomoću masene spektrometrije visoke rezolucije (HRMS) moguća je simultana analiza neograničenog broja ksenobiotika budući da se prikupljaju podaci cjelovitog skeniranja, a ne prethodno odabrane tranzicije iona koje odgovaraju specifičnim sastojcima (Tuzimski i Sherma, 2019).

Još jedna odgovarajuća metoda je enzimski povezani imunosorbentni test (ELISA, engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*) koji nudi novi pristup pri detekciji komponenti farmaceutika u površinskim vodama (Jaria i sur., 2020). ELISA metoda je prikladna za kvantitativne analize kemikalija poput bisfenola A, dietilheksil ftalata, dibutil ftalata, alkilfenola, alkilfenol etoksilata te klorofenola, pesticida, karbamata, organoklorina i organofosfornih sastojaka. Omogućava simultanu analizu velikog broja uzoraka (Estévez-Alberola i Marco, 2004).

6. Bioremedijacija ksenobiotika

Tijekom evolucije kataboličkih enzima i puteva mikroorganizmi nisu bili izloženi ksenobiotičkim te nisu razvili sposobnost razgradnje i korištenja ksenobiotika kao izvora energije i ugljika (Rieger i sur., 2002).

Za razgradnju/transformaciju/detoksifikaciju ksenobiotika koriste se (Varsha i sur., 2011):

- (i) fizikalno-kemijske metode koje su često skupe te mogu proizvesti razne neželjene produkte koji su štetni i zahtijevaju daljnju obradu, i
- (ii) biološke metode poput mikrobne bioremedijacije, fitoremedijacije i fotorazgradnje, koje nisu štetne za okoliš

Mogućnost mikroorganizama da metaboliziraju ksenobiotičke spojeve predstavlja učinkovit način uklanjanja opasnog otpada, stoga se mikrobna razgradnja ksenobiotika smatra jednim od najvažnijih načina uklanjanja štetnih sastojaka.

Bioremedijacija – biološko obnavljanje okoliša, se opisuje kao proces u kojemu se koriste mikroorganizmi ili enzimi u svrhu vraćanja okoliša promijenjenog kontaminacijom u njegovo početno stanje (Varsha i sur., 2011; Boopathy, 2000). Bioremedijacija podrazumijeva korištenje metaboličkog potencijala mikroorganizama s ciljem razgradnje ili detoksikacije otpadnih materijala (Sinha i sur., 2010; Dua i sur., 2002). Biološki pristup uklanjanju onečišćenja tla uključuje široku lepezu

mikroorganizama a razlog tome je njihova bioraznolikost i golemi katabolički potencijal (Kumar i Gopal, 2015).

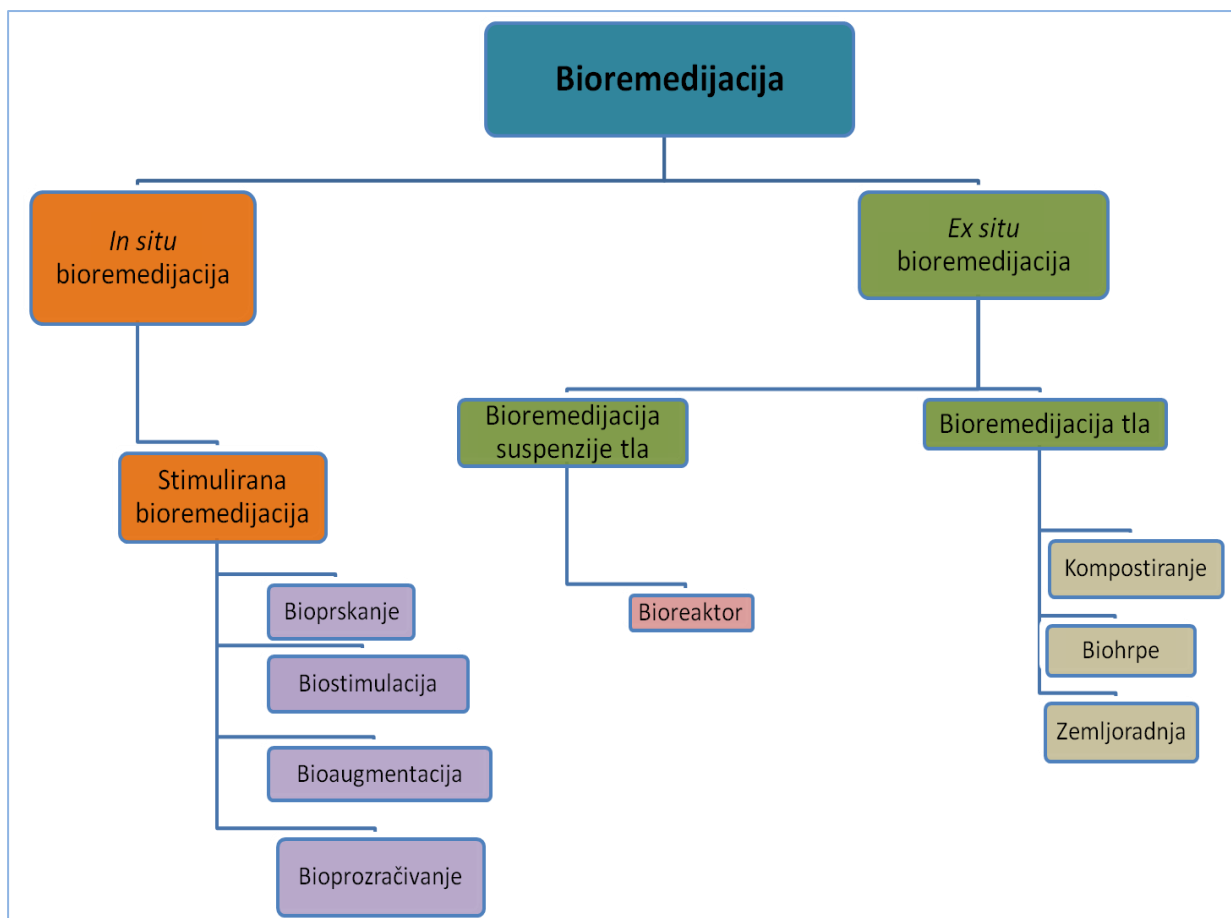
To je postupak koji uključuje procese mineralizacije i detoksifikacije, koriste se autohtoni mikroorganizmi izdvojeni – izolirani iz onečišćenog područja za koje se pretpostavlja da su prilagođeni na raspoloživi supstrat. U većini slučajeva moguća je mineralizacija ksenobiotika, a složenije tvari se biotransformacijom prevode u netoksične produkte. Bioremedijacija se koristi za tretman kontaminirane zemlje, zraka, otpadnih voda i vodenih površina u kojima je došlo do namjernog ili nenamjernog onečišćenja, a uključuje razne enzimske sustave i mikrobne skupine pomoću kojih se odvija razgradnja kroz nekoliko koraka. Mikrobna bioremedijacija je proces u kojemu se kao hranjiva tvar za daljnje procese koriste nusprodukti prijašnjih procesa, pri čemu mikrobne skupine za rast koriste zaostale komponente koje fragmentiraju i razgrađuju što doprinosi bioremedijaciji (Varsha i sur., 2011).

Bioremedijacija se s obzirom na mjesto obrade dijeli na (Tyagi i sur., 2011):

- ✓ *in situ* bioremedijacija – provodi se na mjestu onečišćenja
- ✓ *ex situ* bioremedijacija – provodi se izvan onečišćenog područja

Odabir metode, *ex-* ili *in situ* bioremedijacije (Slika 4), ovisi o onečišćenom području kao i financijama (Singh i sur, 2022).

Najboljim biološkim pristupom za učinkovito uklanjanje onečišćujućih spojeva iz tla smatra se "in situ bioremedijacija". Ovaj proces detoksikacije cilja na štetne kemikalije mineralizacijom, transformacijom ili alteracijom (Dejonghe i sur., 2001).



Slika 4. Metode bioremedijacije (preuzeto i prilagođeno iz Nyika i Dinka, 2022).

Čimbenici bioremedijacije (Slika 5, Tablica 1) uključuju (Nyika i Dinka, 2022; Phulpoto i sur., 2020):

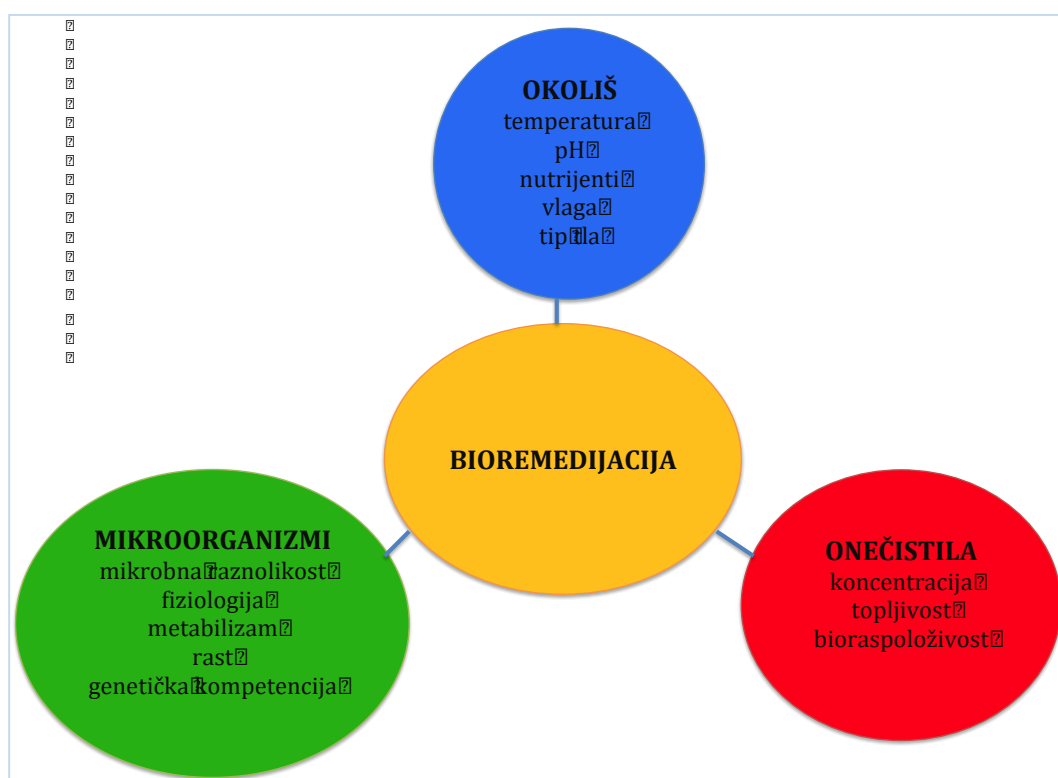
- (i) onečišćivače (priroda, stanje, koncentracija, topljivost i bioraspoloživost)
- (ii) okoliš (pH, temperatura, tip tla, hranjive tvari i vlaga te redoks potencijal) i
- (iii) mikroorganizme (bioraznolikost na mjestu, genetska kompetencija, rast, metabolizam i fiziologija)

Nyika i Dinka (2022) su dali pregled korištenja mikroorganizama za bioremedijaciju otpadnih voda s ciljem osiguranja poboljšanog prijenosa rezultata i spoznaja iz pokusa bioremedijacije na laboratorijskoj razini za primjenu na terenu – u većem mjerilu i na realnim sustavima, a koja je trenutno ograničena.

Korištenjem empirijskih studija i specifičnih mikroba, bioremedijacija je pokazala da se razgradnja ili smanjenje koncentracije mnogih onečišćujućih tvari koji se nalaze u

industrijskim i komunalnim otpadnim vodama postiže uz visoku učinkovitost. Isto tako, istraživanje je pokazalo kako se učinkovitost bioremedijacije razlikuje ovisno o korištenim mikroorganizmima, karakteristikama ciljne otpadne vode za obradu kao i o fizikalno-kemijskim i biološkim karakteristikama onečišćenog okoliša. Istaknuli su kako je bioremedijacija ponekad ograničena zbog nekompatibilnosti mikroba s onečišćivačem što rezultira inhibicijom enzima, stvaranjem toksičnih tvari i sporim kapacitetom metabolizma mikroba, što bi moglo produžiti procese bioremedijacije i smanjiti rezultirajuću učinkovitost dekontaminacije. Za prevladavanje ovakvih izazova preporučuje se primjena metoda poboljšanja kao što su biostimulacija i bioaugmentacija. Utvrđeno je da upotreba genetski modificiranih organizama kao i konzorcija mikroorganizama poboljšava učinkovitost remedijacije.

Istaknuli su kako bioremedijacija ima veliki potencijal u uklanjanju/razgradnji onečišćenja pri obradi otpadnih voda i da bi biotehnološki napredak mogao dodatno poboljšati rezultate primjene bioremedijacije na terenu (Nyika i Dinka, 2022).



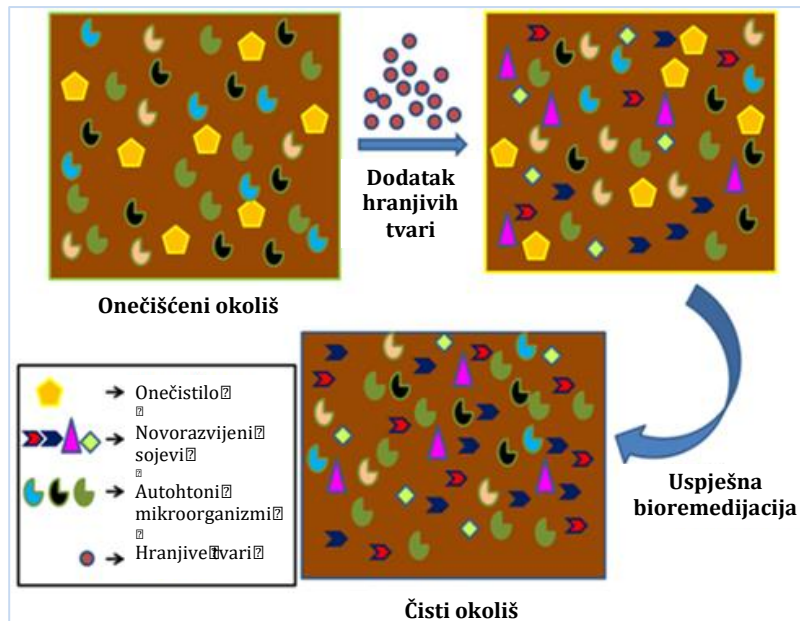
Slika 5. Čimbenici koji doprinose bioremedijaciji (preuzeto i prilagođeno iz Phulpoto i sur., 2020)

Tablica 1. Čimbenici bioremedijacije (preuzeto i prilagođeno iz Adams i sur., 2015)

| ČIMBENICI | SVOJSTVA |
|--|---|
| Bioraspoloživost | <ul style="list-style-type: none"> ○ u vodi slaba topljivost ○ u tlu i sedimentu sklonost sorpciji |
| Struktura onečišćujuće tvari | <ul style="list-style-type: none"> ○ sferički učinak ○ elektronski učinak |
| Toksičnost | <ul style="list-style-type: none"> ○ inhibitorno djelovanje onečišćujućih tvari na metabolizam stanice |
| Genetski potencijal mikroorganizama | <ul style="list-style-type: none"> ○ prisustvo specifičnih gena za razgradnju ciljanih/određenih spojeva |
| pH vrijednost | <ul style="list-style-type: none"> ○ pH 5-9 povoljno za bakterije ○ pH ≤ 5 povoljno za gljive |
| Temperatura | <ul style="list-style-type: none"> ○ razgradnja moguća pri 0-50 °C ○ pri 20-30 °C učinkovita razgradnja; optimalna aktivnost enzima |

Bioremedijacija svojim prirodnim tempom nije u stanju značajno eliminirati toksični i opasni otpad iz okoliša, a kako bi se povećao učinak razgradnje otpada kroz bioremedijaciju, bioremedijacija se provodi uz **bioaugmentaciju** i **biostimulaciju** (Goswami i sur., 2018; Adams i sur., 2015; Shukla i sur., 2010; Tyagi i sur., 2010).

Biostimulacija je vrlo učinkovita, isplativa i ekološki prihvatljiva tehnika sanacije. Biostimulacija (Slika 6) se odnosi na dodavanje hranjivih tvari koje ograničavaju brzinu procesa, poput: fosfora, dušika, kisika, donora elektrona, na jako onečišćena mjesta kako bi se postojeće bakterije potaknule na razgradnju opasnih i toksičnih kontaminanata (Tyagi i sur., 2010). Stimulacija rasta mikroorganizama može se postići dodavanjem hranjivih tvari, kisika, minerala i/ili promjenom pH i temperature. Onečišćujuću tvar razgrađuju enzimi mikroorganizama ili indirektno kometaboličkim procesima u kojima enzimi nastali za primarni supstrat razgrađuju i ostale supstrate. Dodavanjem hranjivih tvari učinkovito se poboljšava potencijal razgradnje mikroorganizama iz okruženja i značajno ubrzava dekontaminacija. Među svim tehnikama bioremedijacije, biostimulacija se smatra najučinkovitijom metodom za remedijaciju ugljikovodika (Adams i sur., 2015).



Slika 6. Shematski dijagram biostimulacije (preuzeto i prilagođeno iz Goswami i sur., 2018)

Na bioremedijaciju onečišćenog mjesta biostimulacijom utječe nekoliko parametara okoliša, poput pH, sadržaj vlage, temperatura i drugo (Adams i sur., 2015), a na brzinu biostimulacije utječe i prevladavajuća fiziologija okoliša.

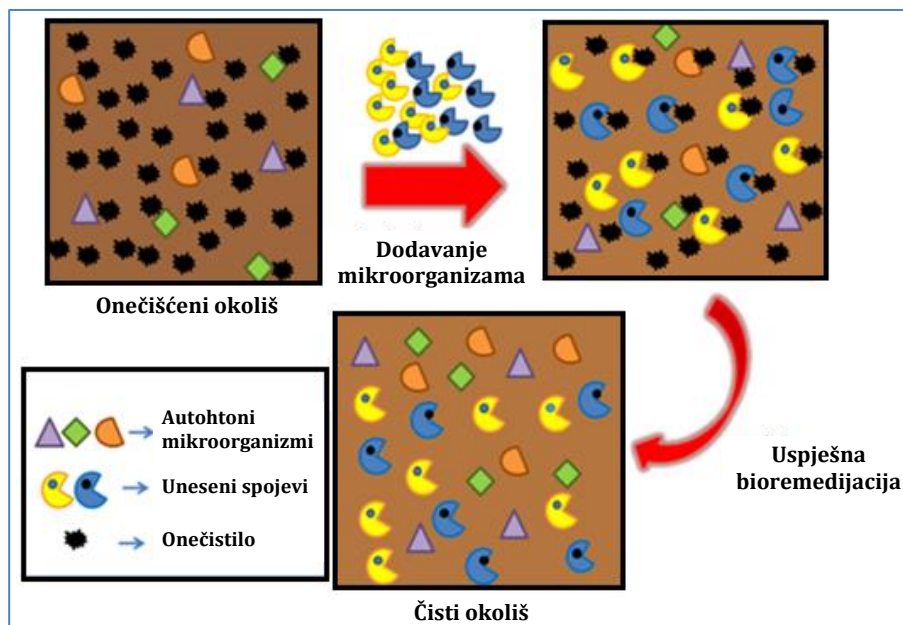
Nije uvijek nužno da će dodavanje hranjivih tvari u tlo poboljšati proces remedijacije, postoje primjeri koji odražavaju štetne učinke prekomjernog dodavanja hranjivih tvari u tlo. Istraživanje koje su proveli Nikolopoulou i Kalogerakis (2009) pokazalo je da veće koncentracije izvora N i P mogu uzrokovati eutrofikaciju, koja pospešuje rast algi i u konačnici smanjuje koncentraciju otopljenog kisika u vodi što rezultira smrću nekoliko vodenih života. Biostimulacija učinkovito djeluje na eliminaciju složenih kontaminanata iz ekosustava održavanjem odgovarajuće ravnoteže između poželjnog i nepoželjnog dodavanja hranjivih tvari koji ograničavaju brzinu procesa u tlo.

Neke od prednosti primjene procesa biostimulacije su: (i) izvode je izvorni/nativni mikroorganizmi koji su dobro prilagođeni okolišu i već su dobro prostorno raspoređeni (Adams i sur., 2015); (ii) biostimulacija je ekološki prihvatljiva i isplativa tehnika koja se može izvesti bilo gdje (Mohee i Mudhoo, 2012) i, (iii) biostimulacija pomaže u internoj razgradnji zagađivača čime se sprječavaju bilo kakve smetnje u okolišu.

Nedostaci biostimulacije su: (i) ovisnost o okolišnim čimbenicima koji kontroliraju njezin potencijal, (ii) kada su kontaminanti čvrsto utopljeni u čestice tla ili kontaminant nije biorazgradiv, tada se biostimulacija ne može izvršiti, i (iii) biostimulacija je izrazito

specifična za mjesto i zahtijeva ogromno znanstveno promatranje (Mohee i Mudhoo, 2012).

Postupkom **bioaugmentacije** – biološkog obogaćivanja mikrobne biomase dodavanjem ciljanih mikroorganizama može se poboljšati proces bioremedijacije (Adams i sur., 2015). **Bioaugmentacija** je metoda primjene autohtonog ili alohtonog divljeg tipa ili genetski modificiranih mikroorganizama na onečišćena odlagališta opasnog otpada s ciljem ubrzanja uklanjanja nepoželjnih spojeva (Slika 7). Bioaugmentacija se uglavnom provodi u okolišima zagađenim naftom kao alternativna strategija za bioremedijaciju. Bioaugmentacijom se povećava stupanj ili brzina razgradnje složenih onečišćivača dodavanjem mikroorganizama koji ih razgrađuju (Adams i sur., 2015). Provođenjem bioaugmentacije postiže se poboljšanje mikrobiote kontaminiranog mjesta čime se postiže poboljšanje eliminacije onečišćujućih tvari s određenog mjesta, kao i povećanje genetskog kapaciteta željenog/ciljanog mjesta. Dakle, bioaugmentacija odgovara povećanju genskog fonda, a time i genetske raznolikosti mjesta. Genetska raznolikost bi se u načelu mogla povećati povećanjem mikrobne raznolikosti (Shukla i sur., 2010).



Slika 7. Shematski prikaz bioaugmentacije (preuzeto i prilagođeno iz Goswami i sur., 2018)

Bioaugmentacija se dijeli na (Herrero i Stuckey, 2014)

- (i) nespecifičnu bioaugmentaciju – mikroorganizmi (nisu određene mikrobiološke karakteristike) dodani u obliku aktivnog mulja, komposta ili tla
- (ii) visoko specifičnu bioaugmentaciju – dodaju se mikroorganizmi kao čiste mikrobne kulture – sojevi ili mikrobna zajednica definirane mikrobiološke aktivnosti, a prema podrijetlu mikrobnih vrsta visoko specifična bioaugmentacija se dijeli na:
 - autohtonu – mikroorganizmi izdvojeni iz onečišćenog tla ili vode, uzgojeni u kontroliranim uvjetima, vraćeni u onečišćeno područje
 - alohtonu – mikroorganizmi izdvojeni iz drugih izvora i dodani u onečišćeno područje
 - GMO – dodani ciljano genetički modificirani mikroorganizmi

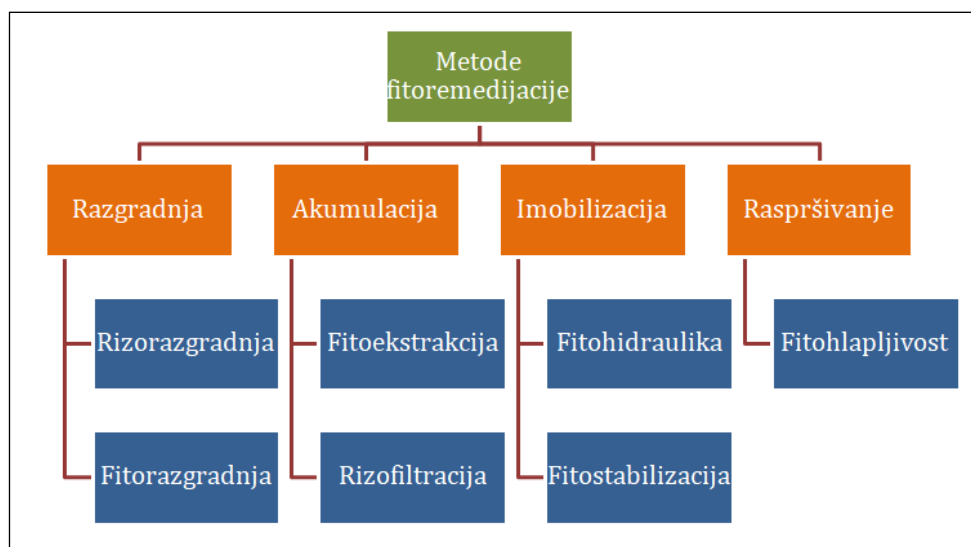
U svrhu bioaugmentacije za uklanjanje različitih onečišćujućih tvari često korištene bakterijske kulture pripadaju rodovima *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, i *Acinetobacter*. Uspjeh procesa bioaugmentacije uglavnom ovisi o prilagodbi konzorcija mikroba na mjesto koje je potrebno dekontaminirati kao i o sposobnosti novouvedenih mikrobnih konzorcija da se natječu s domaćim mikroorganizmima, predatorima i raznim abiotičkim čimbenicima (Herrero i Stuckey, 2014).

Fitoremedijacija je metoda korištenja biljaka u svrhu tretiranja kontaminirane zemlje pri čemu dolazi do smanjenja koncentracije kontaminanata. Ta metoda se smatra jednom od ekološki najprihvatljivijih metoda rješavanja problema organskih i anorganskih kontaminanata prisutnih u zemlji, zraku i vodi u isto vrijeme, a temelji se na otpornosti biljaka na relativno visoke koncentracije ksenobiotičkih spojeva bez opasnosti od štetnih učinaka te na mogućnosti pretvaranja kemijskih spojeva u manje štetne spojeve u kratkom vremenu (Varsha i sur., 2011).

S obzirom na način interakcije s ksenobiotičkim spojevima, fitoremedijacija se može podijeliti u 7 podskupina (Slika 8) (Varsha i sur., 2011):

- a) Fitorazgradnja (engl. *Phytodegradation*) je proces u kojemu dolazi do razgradnje kontaminanata u tlu, površinskim vodama ili mulju pomoću enzima koje biljke stvaraju i ispuštaju, a tom metodom se može postići razgradnja trinitrotoulena, nekih organskih herbicida i kloriranih otapala poput trikloretilena (Varsha i sur., 2011; Shukla i sur., 2010)

- b) Rizorazgradnja (engl. *Rhizodegradation*) je proces u kojem idealno dolazi do detoksifikacije ili uništavanja kontaminanata u zemlji pomoću korijena biljke, a koristan je za mnoštvo spojeva, poput policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAHs), polikloriranih bifenila (PCBs) i kloriranih otapala (Varsha i sur., 2011)
- c) Fitoekstrakcija (engl. *Phytoextraction*) predstavlja korištenje biljaka u svrhu dobivanja dobivanja metala koji su se akumulirali u biljci putem kontaminirane biljke. U tom se procesu koriste biljke poput *Thalasspi goesingense*, *Brassica juncea*, *Allysum bertolonii*, a koristan je prvenstveno za uklanjanje metala iz zemlje, a nedostatak je dulje trajanje u odnosu na druge metode uklanjanja metala (Varsha i sur., 2011; Shukla i sur., 2010)
- d) U procesu fitostabilizacije (engl. *Phytostabilization*) biljke se koriste u svrhu imobilizacije kontaminanata prisutnih u vodi i zemlji, a biljka koja je pokazala značajan potencijal pri tom procesu je smeđa gorušica (*Brassica juncea*) (Saharan i Nehra, 2011; Varsha i sur., 2011)
- e) Metoda fitohidraulike (engl. *Phytohydraulic*) je korisna kod uklanjanja metil-tert-butil-etera, a temelji se na razgradnji kontaminanata koji dolaze u doticaj s korjenjem biljaka s dugim korijenjem (Varsha i sur., 2011)
- f) Rizofiltracija (engl. *Rhizofiltration*) se temelji na principu sličnom kao i kod fitoekstrakcije, no ovdje dolazi do akumulacije kontaminanata u korijenu biljke putem adsorpcije ili percipitacije otpadnih i površinskih voda (Varsha i sur., 2011)
- g) Kod fitohlapljivosti (engl. *Phytovolatilization*) biljka uz vodu upija i kontaminante topljive u vodi te naknadnog ispuštanja hlapljivih kontaminanata (Varsha i sur., 2011)



Slika 8. Metode fitoremedijacije (preuzeto i prilagođeno iz Varsha i sur., 2011)

Fotorazgradnja (engl. *Photodegradation*) predstavlja proces razgradnje spoja koji ima sposobnost apsorpcije fotona, pogotovo onih valnih duljina koje se nalaze u Sunčevoj svjetlosti. Taj proces predstavlja djelomično rješenje ekološkog problema s plastikom s obzirom na razvoj polimernih materijala koji su biorazgradivi i kontroliranog su vijeka. Razvijeno je mnoštvo novih strategija koje omogućuju upotrebu ovog procesa pri uklanjanju velikog broja ksenobiotičkih spojeva pri čemu se prijelazni materijali poput mangana, željeza, kobalta, mangana i kroma koriste kao antioksidacijski elementi u fotodegradaciji polimera (Varsha i sur., 2011).

7. Zakonodavstvo

S ciljem spriječavanja ili minimiziranja negativnih učinaka ksenobiotika na okoliš brojne europske i svjetske organizacije poput Europske agencije za okoliš (EEA, engl. *European environmental agency*), Agencije za zaštitu okoliša Sjedinjenih Država (US EPA, engl. *The United States Environmental protection agency*) i Europske agencije za lijekove (EMA, engl. *European Medical Agency*) provele su istraživanje o utjecaju ksenobiotika na okoliš, ljude, životinje, koncentraciji kontaminanata prisutnih u okolišu i metodama otkrivanja/detektiranja štetnih spojeva.

Zakoni valjani u Republici Hrvatskoj usklađeni su s direktivama Europske unije, poput Okvirne direktive o vodama (WFD, engl. *Water framework directive*) u kojoj su opisane i navedene prioritetne tvari a koje predstavljaju značajnu opasnost za vodni okoliš i opasnost koja se putem vodnog okoliša prenosi. U Direktivi 2000/60/EC

ustanovljen je popis prva 33 prioritetna onečištila, a taj se popis redovito ažurira prema podacima monitoringa i toksikoloških i ekotoksikoloških analiza. Tako je u Direktivi 2013/39/EC navedeno 45 prioritetnih tvari (Tablica 2), među kojima su označene tvari koje se smatraju prioritetnim opasnim tvarima. Komisija uzima u obzir preporuke država članica EU, Europske agencije za okoliš, Europskog parlamenta i drugih međunarodnih zajednica te predlaže mjere kojima je cilj postupno smanjenje ispuštanja, emisije i gubitaka tih tvari.

U članku 6 hrvatskog Zakona o vodama (NN 47/23) navedeni su ciljevi zaštite voda, poput osiguravanja postupnog smanjivanja onečišćenja podzemnih voda i sprječavanje njihovog daljnjeg onečišćenja, te bolja zaštita i poboljšanje vodnog okoliša, a ostvarivanjem tih ciljeva pridonosi se očuvanju života i zdravlja ljudi, zaštiti morskih i kopnenih površinskih voda i znatnom smanjenju onečišćenja podzemnih voda. Zakon o zaštiti okoliša (NN118/18) obuhvaća standarde kakvoće okoliša i definira ciljeve zaštite okoliša, kao što su zaštita života i zdravlja ljudi, sprječavanje i smanjenje onečišćenja okoliša, uklanjanje posljedica onečišćenja okoliša te zaštita i poboljšanje kakvoće pojedinih sastavnica okoliša.

Tablica 2. Popis prioritetnih tvari prema WFD, 2013)

| Redni broj | EU broj | Naziv | Prioritetna opasna tvar |
|------------|-----------|--------------------------|-------------------------|
| 1. | 240-110-8 | Alaklor | |
| 2. | 204-371-1 | Antracen | Da |
| 3. | 217-617-8 | Atrazin | |
| 4. | 200-753-7 | Benzen | |
| 5. | X | Bromirani difenileteri | Da |
| 6. | 231-152-8 | Kadmij i spojevi kadmija | Da |
| 7. | 287-476-5 | Kloroalkani | Da |
| 8. | 207-432-0 | Klorfenvinfos | |
| 9. | 220-864-4 | Klorpirifor | |
| 10. | 203-458-1 | Dikloretnan | |
| 11. | 200-838-9 | Diklormetan | |
| 12. | 204-211-0 | Bis(2-etilheksil)-ftalat | Da |
| 13. | 206-354-4 | Diuron | |
| 14. | 204-079-4 | Endosulfan | Da |
| 15. | 205-912-4 | Fluoranten | |
| 16. | 204-273-9 | Heksaklorobenzen | Da |
| 17. | 201-765-5 | Heksaklorobutadien | Da |
| 18. | 210-168-9 | Heksaklorocikloheksan | Da |
| 19. | 251-835-4 | Izoproturon | |
| 20. | 231-100-4 | Olovo i olovni spojevi | |
| 21. | 231-106-7 | Živa i živni spojevi | Da |
| 22. | 202-049-5 | Naftalen | |
| 23. | 231-111-4 | Nikal i spojevi s niklom | |

| | | | |
|-----|-------------------------|--|----|
| 24. | X | Nonilfenoli | Da |
| 25. | X | Oktilfenoli | |
| 26. | 210-172-0 | Pentaklorobenzen | Da |
| 27. | 201-778-6 | Pentaklorofenol | |
| 28. | X | Policiklički aromatski ugljikovodici (PAHs) | Da |
| 29. | 204-535-2 | Simazin | |
| 30. | X | Spojevi s tributilinom | Da |
| 31. | 234-413-4 | Triklorbenzeni | |
| 32. | 200-663-8 | Triklormetan (kloroform) | |
| 33. | 216-428-8 | Trifluralin | Da |
| 34. | 204-082-0 | Dikofol | Da |
| 35. | 217-179-8 | Perfluorooktanska sulfonska kiselina i spojevi | Da |
| 36. | X | Kvinoksifen | Da |
| 37. | X | Dioksini i spojevi slični dioksinu | Da |
| 38. | 277-704-1 | Aklonifen | |
| 39. | 255-894-7 | Bifenoks | |
| 40. | 248-872-3 | Cibutrin | |
| 41. | 257-842-9 | Cipermetrin | |
| 42. | 200-547-7 | Diklorvos | |
| 43. | X | Heksabromociklododekan | Da |
| 44. | 200-962-3/ 213-831-0 | Heptaklor i heptaklor epoksid | Da |
| 45. | 212-950-5 | Terbutrin | |

8. Zaključci

Svakodnevnom uporabom širokog spektra ksenobiotika – proizvoda za osobnu njegu, lijekova i pesticida, s ciljem poboljšanja kvalitete života, ljudska populacija izlaže se štetnim spojevima koji mogu uzokovati znatne zdravstvene komplikacije poput neplodnosti, autoimunog poremećaja, oštećenja jetara i bubrega, te rak.

Vjerojatnost kontaminacije tla, zraka, vode i hrane sa ksenobioticima povećava se uz sve veći porast broja stanovnika te urbanizaciju diljem svijeta.

Značajan iskorak pri detekciji i identifikaciji ksenobiotičkih spojeva postignut je zadnjeg desetljeća razvojem tehnologija koje omogućavaju precizno i brzo djelovanje, što u velikoj mjeri olakšava poteškoće koje su rezultat malih koncentracija i velikog broja ksenobiotičkih spojeva u uzorcima iz okoliša. Ističe se QuEChERS metoda koja u kombinaciji s GC-MS ili LC-MS metodama pokazuje visoku razinu selektivnosti, osjetljivosti i specifičnosti, a najčešće se koristi pri analizi pesticida, antibiotika, policikličkih aromatskih ugljikovodika, hormona, dioksina i polikloriranih bifenila u uzorcima hrane i okoliša.

Razgradnja ksenobiotika predstavlja izazov budući da se radi o spojevima koji se uglavnom u prirodi ne pojavljuju, a ukoliko se pojavljuju, to je u znatno manjim

količinama, a njihovi razgradni produkti ponekad mogu biti i štetniji od izvornog spoja. U svrhu ekološki povoljne razgradnje, danas se koriste tehnike poput bioremedijacije, fitoremedijacije i fotorazgradnje te njihovih podvrsta, a svaka od tih tehnika razgrađuje kseniobiotske spojeve na svojstven način.

U zemljama EU redovito se poduzimaju nove mjere s ciljem zaštite okoliša, poput Okvirne direktive o vodama (WFD) koja je usredotočena na osiguravanje dobre kvalitete vodnih površina, odnosno smanjenju i uklanjanju onečišćenja te osiguravanju potrebne količine vode za uporabu u ljudi i životinja.

9. Literatura

Adams GO, Fufeyin PT, Okoro SE, Ehinomen I (2015) Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *Int J Environ Bioremediat Biodegrad* **3**, 28-39. <https://doi.org/10.12691/ijebb-3-1-5>

Alkorta I, Gabrisu C (2001) Phytoremediation of organic contaminants in soils. *Bioresour Technol* **79**, 273-276. [https://10.1016/S0960-8524\(01\)00016-5](https://10.1016/S0960-8524(01)00016-5)

Banjoko B (2014) Environmental pharmacology – an overview. <http://doi.org/10.5772/57473>

Boopathy R (2000) Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresour Technol* **74**, 63-67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)

Borpatragohain B, Sahoo S, Rai A, (2019) An overview of the impact, interaction and fate of xenobiotic-soil organic matter complexes. *Int J Chem Stud* **7**, 4935-4941.

Burgos-Aceves MA, Cohen A, Smith Y, Faggio C (2018) MicroRNAs and their role on fish oxidative stress during xenobiotic environmental exposures. *Ecotoxicol Environ Saf* **148**, 995-1000. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.001>

David F, Sandra P (2007) Stir bar sorptive extraction for trace analysis. *J Chromatogr A* **1152**, 54-69. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.032>

de Oliviera M, Frihling BEF, Velasques J, Filho F, Cavalheri PS, Migliolo L (2020) Pharmaceuticals residues and xenobiotics contaminants: occurrence, analytical techniques and sustainable alternatives for wastewater treatment. *STOTEN* **705**, 135568 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135568>

- Dejonghe W, Boon N, Seghers D, Top EM, Verstraete W (2001) Bioaugmentation of soils by increasing microbial richness: missing links. *Environ Microbiol* **3**, 649-657. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00236.x>
- Dua M, Singh A, Sethunathan N, Johri AK (2002) Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Appl Microbiol Biotechnol* **59**, 143-152. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1024-6>
- Embrandiri A, Kiyasudeen SK, Rupani PF, Ibrahim MH (2016) Environmental xenobiotics and its effect on natural ecosystem. U: Singh A, Prasad SM, Singh RP (ured.) *Plant response to xenobiotic*. Springer; Singapur, str. 1–18. https://doi.org/10.1007/978-981-10-2860-1_1
- Estévez-Alberola MC, Marco M-P (2004) Immunochemical determination of xenobiotics with endocrine disrupting effects. *Anal Bioanal Chem* **378**, 563-575. <https://doi.org/10.1007/s00216-003-2228-z>
- González-Gaya B, Lopez-Herguedas N, Santamaria A, Mijangos F, Etxebarria N, Olivares M, Prieto A, Zuloaga O (2021) Suspect screening workflow comparison for the analysis of organic xenobiotics in environmental watersamples. *Chemosphere* **274**, 129964. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129964>
- Goswami M, Chakraborty P, Mukherjee K, Mitra G, Bhattacharyya P, Dey S, Tribedi P (2018) Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *J Microbiol Exp* **6**, 223-231. <https://doi.org/10.15406/jmen.2018.06.00219>
- Hayat MT, Xu J, Ding N, Mahmood T (2010) Dynamic behaviour of persistent organic pollutants in soil and their interaction with organic matter. U: *Molecular environmental soil science at the interfaces in the earth's critical zone.*, Springer, Berlin, str. 217-222.
- Herrero M, Stuckey DC (2014) Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: a review. *Chemosphere* **140**, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.033>
- Ibor OR, Adeogun AO, Regoli F, Arukwe A (2019) Xenobiotic biotransformation, oxidative stress and obesogenic molecular biomarker responses in *Tilapia guineensis*

- from Eleyele Lake, Nigeria. *Ecotoxicol Environ Saf* **169**, 255-265. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.021>
- Jaria G, Calisto V, Otero M, Esteves VI (2020) Monitoring pharmaceuticals in the aquatic environment using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) – a practical overview. *ABC* **412**, 3983-4008. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02509-8>
- Juliano C, Magrini GA (2017) Cosmetic ingredients as emerging pollutants of environmental and health concern. A mini – review. *Cosmetics* **4**, 11. <https://doi.org/10.3390/cosmetics4020011>
- Khan WA, Arain MB, Yamini Y, Shah N, Kazi TG, Pedersen-Bjergaard S, Tajik M (2020) Hollow fiber-based liquid phase microextraction followed by analytical instrumental techniques for quantitative analysis of heavy metal ions and pharmaceuticals. *J Pharm Anal* **10**, 109-122. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.12.003>
- Kim L, Lee D, Cho H-K, Choi S-D (2018) Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. *Trends Environ Anal Chem* **22**. e00063. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00063>
- Kumar A, Aery NC (2016) Impact, metabolism and toxicity of heavy metals in plants. U: *Plant responses to xenobiotics*. Springer, Singapur 141-176. https://doi.org/10.1007/978-981-10-2860-1_7
- Kumar BL, Gopal DVRS (2015) Effective role of indigenous microorganisms for sustainable environment. *3 Biotech* **5**, 867-876. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0293-6>
- Lashgari M, Singh V, Pawliszyn J (2019) A critical review on regulatory sample preparation methods: validating solid-phase microextraction techniques. *Trends Analyt Chem* **119**, 115618. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.029>
- Mathew BB, Singh H, Biju VG, Krishnamurthy NB (2017) Classification, source, and effect of environmental pollutants and their biodegradation. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* **36**, 55-71. <https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2017015804>

- Miglani R, Parveen N, Kumar A, Ansari MA, Khanna S, Rawat G, Panda AK, Bisht SS, Upadhyay J, Ansari MN (2022) Degradation of xenobiotic pollutants: an environmentally sustainable approach. *Metabolites* **12**, 818. <https://doi.org/10.3390/metabo12090818>
- Mohee R, Mudhoo A (2012) Research and applications. U: *Bioremediation and sustainability*, Scrivener Publishing, 1-41. <https://doi.org/10.1002/9781118371220>
- Narváez A, Rodríguez-Carrasco Y, Castaldo L, Izzo L, Ritieni A (2020) Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry for multi-residue analysis of mycotoxins and pesticides in botanical nutraceuticals. *Toxins* **12**, 114. <https://doi.org/10.3390/toxins12020114>
- Nikolopoulou M, Kalogerakis N (2009) Biostimulation strategies for fresh and chronically polluted marine environments with petroleum hydrocarbons. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **84**, 802-807. <https://doi.org/10.1002/jctb.2182>
- Nyika J, Dinka MO (2022) A mini-review on wastewater treatment through bioremediation towards enhanced field applications of the technology. *AIMS Environ Sci* **9**, 403-431. <https://doi.org/10.3934/environsci.2022025>
- Oros G, Cserhádi T, Szőgyi M (2012) Chromatography of xenobiotics in biological and environmental matrices. *Eur Chem Bull* **1**, 81-93. <https://doi.org/10.17628/ecb.2012.1.81-93>
- Pande V, Pandey SC, Sati D, Bhatt P, Samant M (2022) Microbial interventions in bioremediation of heavy metal contaminants in agroecosystem. *Front Microbiol* **13**, 824084. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.824084>
- Phulpoto H, Maltlo MA, Kanhar NA (2020) Culture-dependant to culture-independent approaches for the bioremediation of paints: a review. *Int J Environ Sci Technol* **18**, 241-262. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02801-1>
- Priyanka JV, Rajalakshmi S, Kumar PS, Krishnaswamy VG, Al Farraj DA, Elshikh MS, Gawwad MRA (2022) Bioremediation of soil contaminated with toxic mixed reactive azo dyes by co-cultured cells of *Enterobacter cloacae* and *Bacillus subtilis*. *Environ Res* **204**, 1000110. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112136>

- Ramel F, Sulmon C, Serr A-A, Gouesbet G, Couée I (2012) Xenobiotic sensing and signalling in higher plants. *J Exp Bot* **63**, 3999-4014. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers102>
- Rieger P-G, Meier HM, Gerle M, Vogt U, Groth T, Knackmuss H-J (2002) Xenobiotics in the environment: present and future strategies to obviate the problem of biological persistence. *J Biotechnol* **94**, 101-123. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00422-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00422-9)
- Saharan BS, Nehra V (2011) Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, vol:2011, LSMR-21
- Salem HM, Abdel-Salam A, Abdel-Salam MA, Seleiman MF (2017) Soil xenobiotics and their phyto-chemical remediation. U: *Xenobiotics in the soil environment*, Springer, Cham, str. 267-280. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47744-2_18
- Schwitzguébel J-P, Meyer J, Kidd P (2006) Pesticides removal using plants: phytodegradation versus phytostimulation. U: Mackova M, Dowling D, Macek T (ured.) (2006) *Phytoremediation Rhizoremediation*, 9.izd., Springer, Dordrecht, str. 179-198. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4999-4_13
- Shanmugan G, Sampath S, Selvaraj KK, Larsson DGJ, Ramaswamy BR (2013) Non-steroidal anti-inflammatory drugs in Indian rivers. *Environ Sci Pollut Res* **21**, 921-931. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1957-6>
- Shukla KP, Singh NK, Sharma S. (2010) Bioremediation: developments, current practices and perspectives. *J Genet Eng Biotechnol* **3**, 1-20
- Singh A, Dwivedi M, Yadav H, Garima (2022) Chapter 6 – Potential of microbes for degradation of xenobiotics: with special focus on petroleum hydrocarbons. U: Samuel J, Kumar A, Singh J (ured.) *Relationship between microbes and the environmental for sustainable ecosystem services*, 2.izd., Elsevier Inc., str. 95-118. <https://doi.org/10.1016/C2020-0-02874-4>
- Sinha RK, Valani D, Sinha S, Singh S, Heart S (2010) Chapter 1 - Bioremediation of contaminated sites: a low-cost nature's biotechnology for environmental clean up by versatile microbes, plants & earthworms. U: Faerber T, Herzog J (ured.) (2009) *Solid waste management and environmental remediation*, NovaScience Publishers Inc., str. 1-72.

- Štefanac T, Grgas D, Landeka Dragičević T (2021) Xenobiotics-division and methods of detection: a review. *J Xenobiot* **11**, 130–141. <https://doi.org/10.3390/jox11040009>
- Tuzimski T, Sherma J (2019) Determination of target xenobiotics and unknown compound residues in food, environmental, and biological samples. Taylor & Francis Group, SAD. <https://doi.org/10.1201/9780429446900>
- Tyagi M, da Fronseca MM, de Carvalho CC (2010) Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation* **22**, 231-241. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>
- Varsha YM, Naga Deepthi CH, Chenna S (2011) An emphasis on xenobiotic degradation in environmental clean up. *J Bioremed Biodegrad* **11**, 1-10. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.S11-001>
- Verma A, Singh SN (2006) Biochemical and ultrastructural changes in plant foliage exposed to auto-pollution. *Environ Monit Assess* **120**, 585-602. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-9105-5>
- Zakon o zaštiti okoliša NN 118/18 (Pristupljeno 21.5.2023.) <https://www.zakon.hr/z/194/Zakon-o-za%C5%A1titi-okoli%C5%A1a>
- Zakon o vodama NN 47/23 (Pristupljeno 21.5.2023.) <https://www.zakon.hr/z/124/Zakon-o-vodama>
- Zgoła-Grześkowiak A, Kaczorek T, (2011) Dispersive liquid-liquid microextraction. *Trends Analyt Chem* **3**, 1382-1399. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.04.014>

Izjava o izvornosti

Ja, Eugen Sabati, izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

(vlastoručni potpis)