

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA BIOLOGIJU

Preddiplomski studij biologije

Magdalena Vincetić

MIKROBNE ZAJEDNICE RADIOAKTIVNOG OTPADA
Završni rad

Mentor: Dr. sc. Goran Palijan, doc.

Osijek, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Završni rad

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

MIKROBNE ZAJEDNICE RADIOAKTIVNOG OTPADA

Magdalena Vincetić

Rad je izrađen na Zavodu za kvantitativnu ekologiju, Odjel za biologiju

Mentor: Dr.sc. Goran Palijan, doc.

Kratak sažetak završnog rada

Opće je poznata činjenica da su mikroorganizmi sveprisutni u biosferi, a istraživanjima je potvrđena njihova prisutnost i u blizini radioaktivnog otpada. Uočena je važnost interakcija mikroorganizama s radioaktivnim otpadom i zaključeno je da su mikrobiološke transformacije radionuklida, teških metala i minerala vitalni dio prirodnih procesa biosfere te da mogu imati pozitivne posljedice za čovjeka i okoliš koji ga okružuje.

Broj stranica: 25

Broj slika: 7

Broj literaturnih navoda: 50

Web izvor: 3

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: mikroorganizmi, radioaktivni otpad, radionuklidi, egzoelektrogen, nano-žice, mikrobní električni članci (MFC), bioremedijacija

Rad je pohranjen u knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Department of Biology

Bachelor's thesis

Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural science

Scientific Field: Biology

MICROBIAL ASSOCIATIONS OF RADIOACTIVE WASTE

Magdalena Vincetić

Thesis performed at the Subdepartment of Quantitative Ecology, Department of Biology

Supervisor: Dr.sc. Goran Palijan, Assist. Prof.

Short abstract

It is widely known that microorganisms are ubiquitous in the biosphere and conducted investigations have confirmed their presence in the vicinity of radioactive waste. The importance of the interaction of microorganisms with radioactive waste was noted and it was concluded that the microbial transformations of radionuclides, heavy metals and minerals are a vital part of the natural process of the biosphere and that they can have positive consequences for human and its environment.

Number of pages: 25

Number of figures: 7

Number of references: 50

Web source: 3

Original in: Croatian

Key words: microorganisms, radioactive waste, radionuclides, exoelectrogen, nanowire, microbial fuel cells (MFC), bioremediation

Thesis deposited in the Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in the National university library in Zagreb in electronic form. It is also disposable on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek.

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. OSNOVNI DIO	5
2.1. Interakcije mikroorganizama i radioaktivnog otpada	5
2.2. Bioremedijacija.....	12
3. ZAKLJUČAK.....	19
4. LITERATURA	19

1. UVOD

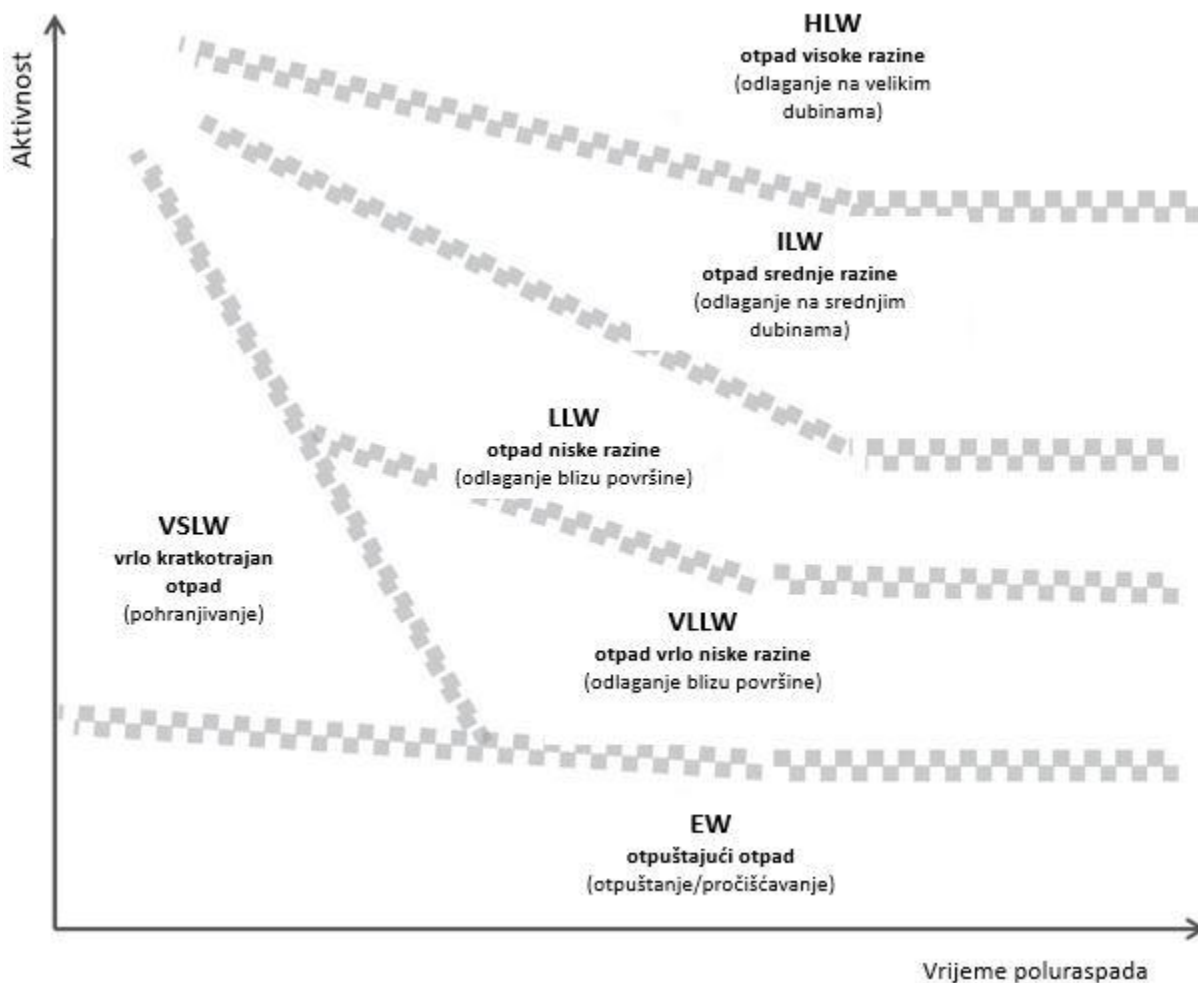
Mikrobi ili mikroorganizmi su velika i raznolika skupina mikroskopskih organizama koji postoje kao pojedinačne stanice ili nakupine stanica. Ova skupina također uključuje i viruse koji nemaju staničnu građu (Madigan i sur., 2000). Mikroorganizmi su obično podijeljeni u pet različitih skupina uglavnom s obzirom na mješavinu morfoloških, biokemijskih i molekularnih kriterija (Pedersen, 2000). Tih pet skupina predstavljaju bakterije, arhebakterije, jednostanične gljivice, jednostanične životinje (praživotinje) te jednostanični fotosintetski mikrobi koji uključuju alge kao i neke fotosintetske bakterije. Tipična bakterija je vrlo robusno stvorenje koje uglavnom preživljava iznimno dobro u niši kojoj je prilagođena. Različite bakterije su prilagođene različitim uvjetima i kao grupa, bakterije pokrivaju sve moguće kombinacije okolišnih prilika. Gotovo su sve bakterije nevidljive golim okom, s nekoliko iznimno rijetkih izuzetaka, kao što je *Thiomargarita namibiensis* (promjer i do 0,75 mm) (Pommerville, 2011). Nedostaje im jezgra te mogu funkcionirati i reproducirati se kao pojedinačne stanice, ali često se nakupljaju u višestaničnim kolonijama. Mikroorganizmi iz domene arhebakterija smatrani su bakterijama sve dok molekularni podaci nisu pokazali da pripadaju domeni koja je potpuno drugačija od svih bakterija, kao i svih biljaka, životinja i gljiva. One su također jednostanični organizmi koji nemaju jezgru te imaju sposobnost prilagodbe na ekstremne uvjete, no razlikuju se od bakterija u njihovoj genetici i biokemiji. Na primjer, dok su bakterijske stanične membrane izrađene od fosfoglicerida sa esterskim vezama, arhebakterijske membrane su napravljene od lipidnih etera (De Rosa i sur., 1986). Ove dvije domene, bakterije i arhebakterije, zajedno čine skupinu prokariota dok svi ostali mikroorganizmi spadaju u domenu eukariota. Za razliku od bakterija i arhebakterija, eukarioti u stanicama sadrže organele kao što su stanična jezgra i mitohondriji. Jednostanične gljivice spadaju u domenu eukariota i predstavljaju veliku morfološku i biokemijsku raznolikost te uključuju kvasce. Kvasci se reproduciraju kroz mitozu, a mnogi koriste proces nazvan pupanje. Vrsta *Saccharomyces cerevisiae* fermentira ugljikohidrate u ugljikov dioksid i alkohol, a koristi se u izradi piva i kruha. Također je važan i kao modelni organizam jer je to eukariotski organizam kojega je lako uzgajati. S druge strane, druge vrste kvasaca, poput *Candida albicans*, su oportunistički patogeni i mogu uzrokovati infekcije kod ljudi. Jednostanične životinje, koje su također u domeni eukariota, pripadaju carstvu protista te se trenutno dijele na 7 koljena: Euglenozoa, Amoebozoa, Choanozoa, Loukoozoa, Percolozoa, Microsporidia i Sulcozoa (Ruggiero

i sur., 2015). Slobodni životni oblici ograničeni su na vlažna okruženja, kao što su tla, mahovine i vodena staništa, iako mnogi oblikuju ciste koje im omogućavaju preživljavanje suše. Mnoge vrste praživotinja su simbionti, neki su paraziti, a neki su predatori bakterija, algi i drugih protista. Jednostanični fotosintetski mikroorganizmi nalaze se u nekoliko grana u domeni bakterija i također u biljnoj grani domene eukariota (Pedersen, 2000). Jednostanične alge su fotosintetski mikroorganizmi koji su prema tome autotrofi te sadrže klorofil kao primarni fotosintetski pigment. Ove fotosintetske mikroalge su važne za život na zemlji jer proizvode približno polovicu atmosferskoga kisika i istovremeno koriste ugljikov dioksid, čime smanjuju staklenički efekt, za fotoautotrofni rast. One, zajedno s bakterijama, tvore bazu hranidbene piramide i pružaju energiju za sve trofičke razine iznad njih. Predstavnici jednostaničnih algi su iz skupina: Euglenophyta, Chlorophyta, Bacillariophyceae i Dinophyta. Mikroorganizmi su nađeni od polova do ekvatorijalnih područja te od pustinja do slatkovodnih i morskih područja (Watling, 1997). Oni igraju ključne uloge u biosferi, osobito u područjima biotransformacije elemenata i biogeokemijskom kruženju tvari, transformacijama metala i minerala, raspadanju, biološkom trošenju te formiranju tala i sedimenata. Sve vrste mikroorganizama, uključujući prokariote i eukariote te njihove međusobne zajednice i zajednice s višim organizmima, mogu doprinijeti geološkim pojavama i biti središte mnogih geomikrobioloških procesa te transformacije metala i minerala. Mikroorganizmi imaju različita svojstva koja mogu utjecati na promjene toksičnosti metala i njihovu mobilnost kao i na formiranje minerala ili njihovo otapanje. Takvi mehanizmi su važne komponente prirodnih biogeokemijskih ciklusa za metale kao i pripadajuće elemente u biomasi, tlu, stijinama i mineralima kao na primjer sumpor i fosfor te nemetale, aktinide i metalne radionuklide (Gadd, 2010).

Ovaj rad se bavi proučavanjem utjecaja mikroorganizama na metalne radionuklide koji su dio radioaktivnoga otpada. Mikroorganizmi prisutni u prirodi igraju posebno važnu ulogu u mobilizaciji i imobilizaciji radionuklida i toksičnih metala izravnim enzimskim ili neizravnim neenzimskim djelovanjem te mogu utjecati na kemijsku prirodu radionuklida mijenjanjem svojstava specijacije (identifikacija i kvantifikacija različitih, definiranih vrsta, oblika ili faza u kojima se pojavljuje jedan element i u biti je funkcija minerala i kemije ispitivanog uzorka), topljivosti i apsorpcije, a time se mogu povećati ili smanjiti koncentracije radionuklida u otopini (Francis, 2006). Oslobođanje radionuklida iz nuklearnih elektrana i njihova naknadna pokretljivost u okolišu predmet je intenzivne zabrinutosti javnosti i potaknulo je mnoga novija istraživanja o

okolišnoj sudbini ključnih radionuklida (Lloyd i Renshaw, 2005). Glavni teret antropogene okolišne radioaktivnosti je iz kontroliranog ispuštanja otpadnih voda proizvedenih industrijskim aktivnostima povezanim s proizvodnjom nuklearne energije, iako značajne količine prirodnih i umjetnih radionuklida također su bile ispuštene kao posljedica testiranja nuklearnih oružja 1950-ih i 1960-ih godina, kroz slučajno ispuštanje (npr. kod Černobila 1986.) i iz trajnog skladištenja nuklearnih materijala skupljenih u proteklih šezdeset godina nuklearnih aktivnosti (Lloyd i Renshaw, 2005). Radioaktivni otpad stvara se u nekoliko različitih vrsta objekata, a može nastati u širokom rasponu radionuklida te u raznim fizičkim i kemijskim oblicima. Te razlike rezultiraju jednako širokim izborom mogućnosti za upravljanje otpadom. Postoji niz alternativa za obradu otpada i za kratkoročno ili dugoročno skladištenje prije odlaganja. Isto tako, postoje razne alternative za sigurno odlaganje otpada u rasponu od površinskog do geološkog odlaganja. Razvili su se različiti načini za podjelu radioaktivnog otpada u skladu s fizikalnim, kemijskim i radiološkim svojstvima koji su od značaja za pojedini objekt ili okolnosti u kojim se upravlja radioaktivnim otpadom (Web 1). Najčešća je podjela na šest razreda, a to su otpuštajući otpad (EW), vrlo kratkotrajan otpad (VSLW), otpad vrlo niske razine (VLLW), otpad niske razine (LLW), otpad srednje razine (ILW) i otpad visoke razine (HLW) (Slika 1). Otpuštajući otpad (EW) je otpad koji sadrži tako male koncentracije radionuklida da ne zahtijeva odredbe za zaštitu od radioaktivnog zračenja bez obzira na to odlaže li se na uobičajena odlagališta ili se reciklira. Vrlo kratkotrajan otpad (VSLW) uključuje otpad koji sadrži prvenstveno radionuklide s vrlo kratkim vremenom poluraspada koji se često koriste u istraživanjima te za medicinske svrhe. Takav otpad može biti pohranjen sve dok se radioaktivnost ne spusti ispod razine za odlaganje, omogućujući da se takvim pročišćenim otpadom upravlja kao i konvencionalnim otpadom. Otpad vrlo niske razine (VLLW) ne treba visok stupanj izolacije i stoga je pogodno odlaganje u objektu s tipom odlagališta blizu površine s ograničenom regulatornom kontrolom. Otpad niske razine (LLW) je otpad s ograničenim količinama dugoživućih radionuklida. Takav otpad zahtijeva snažnu izolaciju i zatvorenost u razdoblju od nekoliko stotina godina. Pogodan je za odlaganje blizu površine ili na srednjim dubinama (do trideset metara). Otpad srednje razine (ILW) sadrži pretežno dugoživuće radionuklide te zahtijeva odlaganje na većim dubinama, od nekoliko desetaka metara do nekoliko stotina metara. Otpad visoke razine (HLW) je otpad s razinama koncentracije aktivnosti dovoljno visokima da generiraju značajne količine topline ili otpad s velikim količinama

dugoživućih radionuklida. Zbrinjava se u dubokim i stabilnim geološkim formacijama obično nekoliko stotina metara ili više ispod površine (Web 1).



Slika 1. Klasifikacija radioaktivnog otpada (Web 1)

Generiranje radioaktivnog otpada varira od zemlje do zemlje ovisno o mjeri korištenja i rasponu aktivnosti povezanih s nuklearnim i radioaktivnim iskorištavanjem u toj zemlji. Ovaj otpad može utjecati na ljudsko zdravlje i okoliš stoga je njegovo sigurno zbrinjavanje dobilo znatnu pažnju u cijelome svijetu (Rahman i sur., 2011). Sadašnji koncept geološkog zbrinjavanja otpada srednje razine (ILW), vrlo važnog oblika radioaktivnog otpada, zasniva se na punjenju spremnika od nehrđajućeg čelika ovim otpadom, a zatim se spremnici još ispune i cementom kako bi se dobila visoka pH vrijednost te se tako smanjuje mobilnost radionuklida. Nastali oblik otpada vrlo je složen i uključuje visok sadržaj celuloze što dovodi do mogućeg stvaranja organske tvari (i

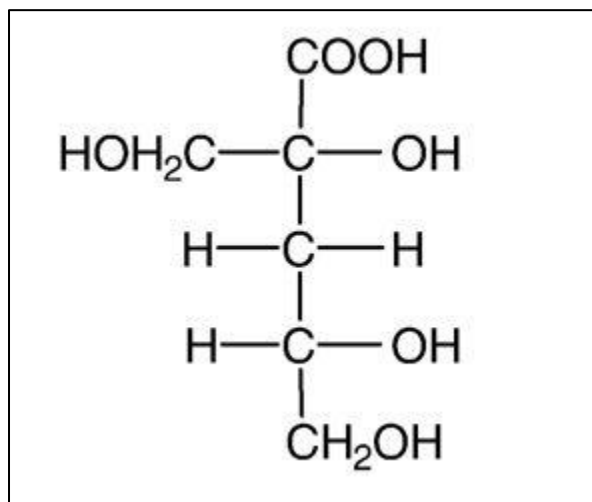
potencijalno kompleksa s radionuklidima), CO₂ i CH₄. Visoki sadržaj metala ILW uključujući čelični otpad, također će voditi do nakupljanja H₂ uslijed anaerobne korozije. Ova komplicirana mješavina supstrata za potencijalni rast mikroorganizama, u kombinaciji s prisutnošću lokalnih polja zračenja koja bi mogla predstavljati samo subletalnu dozu za najotpornije mikroorganizme, će tijekom dugog vremena potrebnog za skladištenje i odlaganje najvjerojatnije rezultirati razvojem mikrobnih zajednica na području vrlo heterogenog otpada. To bi moglo biti značajno za promjenu biogeokemijskih uvjeta unutar geološki odloženih materijala, cjelovitosti otpada te mobilnosti radionuklida unutar i oko geoloških odlagališta (Rizoulis i sur., 2012).

2. OSNOVNI DIO

2.1. Interakcije mikroorganizama i radioaktivnog otpada

Sveprisutna distribucija mikrobnog života u biosferi je dobro poznata, ali tek je nedavno omogućeno da se dobiju pokazatelji razine mikrobne kolonizacije radioaktivnog okruženja (Lloyd i Renshaw, 2005). Mikrobni metabolizam ima potencijal za kontrolu biogeokemije redoks-aktivnih radionuklida u nizu scenarija geološkog odlaganja (Rizoulis i sur., 2012). Anaerobni mikroorganizmi imaju potencijal za degradaciju organske tvari kroz fermentativne procese (uključujući kompleksante kao što je izosaharinska kiselina (ISA) nastala alkalnom hidrolizom celuloze) (Glaus i Van Loon, 2008). To ima značajne implikacije za geološko odlaganje jer korištenje elektron donorima u mikrobnom metabolizmu može dovesti do enzimske redukcije radionuklida i rezultirati reduktivnom imobilizacijom U(VI), Tc(VII) ili Np(V) (Lloyd, 2003). Mnogi radionuklidi su redoks-aktivni i manje topljivi kada su reducirani te bioredukcija nudi mnogo obećanja za kontrolu topljivosti i pokretljivosti ciljnih radionuklida, kao na primjer redukcija U(VI) (uranil ion UO²⁺) u U(IV) (uranil (IV) oksid UO₂) ili redukcija fizijskog produkta Tc (VII) (TcO⁴⁻) u Tc(IV) (TcO₂) (Lloyd i sur., 2000). Otpad srednje razine (ILW) sadrži znatne količine celuloznog materijala (Nuclear Decommissioning Authority, 2014), okružen hiperalkalnom cementnom kapilarnom vodom (Berner, 1992), a tijekom odlaganja pod ovim uvjetima celuloza je nestabilna (Van Loon and Glaus, 1997) i kemijski se raspada na kratkolančane organske kiseline (Glaus i sur., 1999), posebno u prisutnosti radijacije (Bouchard i sur., 2006). Iako su priroda i koncentracije različitih produkata pod utjecajem temperature i prirode prisutne celuloze, jedan od glavnih produkata tih reakcija razgradnje je izosaharinska kiselina (ISA) (Slika

2) (Glaus i sur., 1999). Pri visokoj pH vrijednosti uočeno je da se ova molekula adsorbira na cement u malim količinama (Van Loon i sur., 1997) i u mogućnosti je tvoriti komplekse s brojnim metalima i radionuklidima, posebice s Ni(II), Ca(II), Eu(III), Th(IV), Am(III), Np(IV) i U(IV), čineći ih potencijalno više pokretljivima (Wieland i sur., 2002) i s većom mogućnošću da dospiju u biosferu.



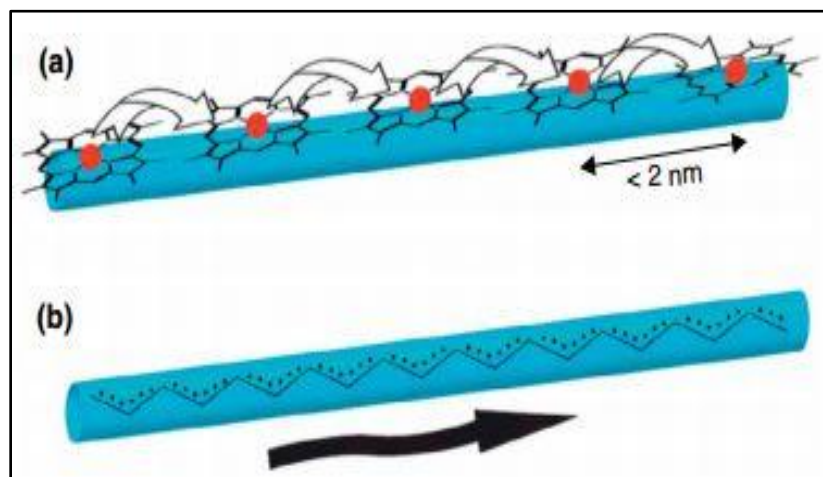
Slika 2. Strukturna formula izosaharinske kiseline (ISA) (Web 2)

Prethodno je smatrano da ekstremna okruženja koja uključuju hiperalkalnost, radioaktivno zračenje i toksičnost radionuklida mogu igrati ulogu u ograničavanju mikrobiološke kolonizacije. Međutim, postaje jasno da mikroorganizmi mogu tolerirati takve ekstremne uvjete (Rizoulis i sur., 2012), a kako ILW sadrži znatne količine organskih molekula uključujući i celulozu i produkte njene razgradnje te druge organske kelatirajuće tvari poput EDTA (etilendiamintetraoctena kiselina) i NTA (nitrilo-octena kiselina), koje se koriste u procesima bioremedijacije i dekontaminacije, mikrobna kolonizacija ne bi trebala biti diskontinuirana odnosno bakterije će u velikom broju nastaniti ovakva područja bez obzira koliko su okolni uvjeti ekstremni. Ove organske molekule mogu biti korištene kao elektron donori mikroorganizama koji dišu širok raspon elektron akceptora uključujući kisik, nitrat, Fe(III) i sulfat. S obzirom da su prirodno alkalna okruženja bogata raznolikim mikroorganizmima, sigurno je pretpostaviti da geološka odlagališta radioaktivnog otpada zasićena podzemnom vodom mogu biti potencijalna niša za razne specijalizirane mikroorganizme uključujući organizme koji razgrađuju izosaharinsku kiselinu

(ISA) te time pomažu u smanjenju transporta radionuklida iz odlagališta (Bassil i sur., 2015). Eksperimenti su provedeni kako bi se utvrdio utjecaj niza krajnjih elektron akceptorskih procesa pri biorazgradnji izosaharinske kiseline pri pH kakav se očekuje u geološkom odlagalištu. Razgradnja je zabilježena pri svim testiranim uvjetima, u rasponu od aerobne inkubacije do anaerobnih inkubacija bilo s nitratom, Fe(III) ili sulfatom kao elektron akceptorima ili bez dodanih elektron akceptora gdje je došlo do fermentacije što u ovom slučaju dovodi do proizvodnje acetata, n-butirata i manje razine propionata i metanoata. U svim slučajevima, izosaharinska kiselina nije razgrađena u sterilnim kontrolama, što potvrđuje mikrobiološki mehanizam (Kuippers i sur., 2015). Brojne studije pokazale su enzimski katalizirano taloženje netopivih faza U, Tc, Cr i Se procesima mikrobne redukcije. Osim navedenih reduktivnih bioprecipitacijskih procesa, netopivi mineralni oblici radionuklida i metala mogu biti imobilizirani i putem interakcija između mikrobno proizvedenih sulfida i fosfata ili preko bakterijske oksidacije željeza u procesu nazvanom biomineralizacija. Za razliku od mikrobnog reduktivnog taloženja, koje zahtijeva anaerobne uvjete, biomineralizacija se može dogoditi aerobno, čineći ovaj process potencijalnom bioremedijacijskom strategijom za radionuklide u zagađenim podzemnim vodama i oksigeniranim zonama ispod površine (Martinez i sur., 2007). Osim izravnih enzimskih redukcija zagađivačkih metala, Fe(III)-reducirajuće bakterije mogu također utjecati na topljivost toksičnih metala neizravnim mehanizmima. Na primjer, Tc(VII) je reduciran abiotičkim nanokristalima biogenog magnetita (mješavina Fe(III)/Fe(II) oksida nastalih djelovanjem disimilirajućih bakterija koje reduciraju željezo) rezultirajući taloženjem TcO₂ na površini minerala (Lloyd i sur., 2000). Distribucija i aktivnost disimilirajućih Fe(III)-reducirajućih bakterija su od posebnog značaja jer one mijenjaju topljivost radionuklida putem izravne enzimske redukcije ili indirektnih mehanizama kataliziranih spojevima bogatim elektronima. Disimilatorna redukcija metala je proces koji mikroorganizmi koriste za očuvanje energije kroz oksidirajuće organske ili anorganske elektron donore i redukciju metala ili metaloida. Mikrobiološka redukcija metala omogućuje organizmima stvaranje elektrokemijskih gradijenata koji osiguravaju kemijsku energiju potrebnu za njihov rast. Mikroorganizmi koji reduciraju metal postaju fokus istraživanja zbog njihovog potencijala za olakšavanje bioremedijacije u područjima koja su kontaminirana teškim metalima ili radionuklidima. Nadalje, ti su organizmi ključni za razvoj mikrobnih električnih članaka. Mehanizmi disimilatorne redukcije metala su značajni kako bi se iskoristila njihova detoksikacijska mogućnost te mogućnost proizvodnje elektriciteta. Mehanizmi kojima Fe(III)-

reducirajuće bakterije prenose elektrone na netopljive Fe(III) okside tijekom anaerobnog rasta proučavani su intenzivno kod roda *Geobacter* koji sadrži obligatne anaerobe te roda *Shewanella* koji sadrži fakultativne aerobe (Lloyd i sur., 2002). Ti su rodovi od iznimnog značaja za biogeokemiju metala, tim više što su kozmopolitski rasprostranjeni, te vrste iz tih rodova nazivamo egzoelektrogene bakterije. Općenito, egzoelektrogeni mikroorganizmi pretvaraju organsku tvar u električnu struju prijenosom elektrona, dobivenih kroz oksidaciju organske tvari, u ekstracelularni okoliš. Elektroni egzocitozirani na ovaj način nastaju nakon proizvodnje ATP-a pomoću elektron transportnog lanca (ETC) tijekom oksidacijske fosforilacije. Elektron donori su tipično organski spojevi kao što su masne kiseline, alkoholi, šećeri i, u određenim slučajevima, čak i aromatski spojevi. Mnoge vrste također mogu upotrijebiti H₂ kao donor elektrona, ali općenito nisu u mogućnosti da rastu automatski, već zahtijevaju izvor organskog ugljika koji podupire rast (Madigan i sur., 2015). Konvencionalno stanično disanje zahtijeva konačni akceptor elektrona za primanje tih dobivenih elektrona. Stanice koje koriste molekularni kisik (O₂) kao svoj konačni akceptor elektrona kažemo da provode aerobno disanje, dok stanice koje koriste druge topive spojeve kao konačni akceptor elektrona provode anaerobno disanje (Willey i sur., 2011). Međutim, konačni akceptor elektrona egzoelektrogena nalazi se ekstracelularno i može biti jako oksidacijsko sredstvo u vodenoj otopini ili čvrsti vodič. Dva uobičajena akceptora elektrona su spojevi željeza (posebno Fe(III) oksidi) i spojevi mangana (posebno Mn (III/IV) oksidi) (Hartshorne i sur., 2009). Budući da je kisik jako oksidacijsko sredstvo, stanice mogu predati elektrone ekstracelularnom okolišu strogo u odsustvu kisika. Većina elektronskih akceptora koje prokarioti obično koriste (O₂, nitrat, sulfat i CO₂) slobodno su topljivi i prije i poslije redukcije, dok Fe (III) i Mn (IV) u okolišu postoje uglavnom kao oksihidroksidni minerali koji su slabo topljivi. U anoksičnim okruženjima, bakterije koje reduciraju metale moraju prevladati temeljni problem angažiranja stanica elektronskog transportnog sustava (ETS) sa slabo topljivim mineralima. One su očigledno razvile nekoliko strategija, uključujući kretanje elektrona naprijed i nazad korištenjem humusnih kiselina ili staničnih metabolita iz terminalnih točaka ETS-a na mineralne površine, zatim prijenos elektrona na Fe(III) ili Mn(IV), izravno preko citokroma povezanih s vanjskom membranom ili preko električki vodljivih pilusa odnosno takozvanih bakterijskih nano-žica (Gorby i sur., 2006). Bakterijske nano-žice su električki vodljive niti koje olakšavaju izvanstanični prijenos elektrona (Malvankar i Lovley, 2014). Mikrobi koji mogu prenijeti elektrone na ekstracelularne akceptore elektrona, kao što su Fe(III) oksidi, važni su za degradaciju organske tvari i kruženje hranjivih

tvori u tlima i sedimentima. Većina vrsta roda *Geobacter*, koje su dominantni Fe(III) reducensi u mnogim okolinama, moraju biti u neposrednom kontaktu s Fe(III) oksidima kako bi ih reducirali te zato proizvode monolateralne piluse kako bi pomogli uspostavljanju kontakta sa Fe(III) oksidima. Ti pilusi sadrže citokrome te olakšavaju prijenos elektrona na površinu minerala Fe(III) oksida (Madigan i sur., 2015). Ovo upućuje na to da pilusi vrsta roda *Geobacter* mogu poslužiti kao biološke nano-žice, prenoseći elektrone od površine stanice do površine Fe(III) oksida. Prijenos elektrona kroz pilus pokazuje mogućnosti za druge jedinstvene interakcije stanica-površina i stanica-stanica, te za bioinženjering novih vodljivih materijala (Reguera i sur., 2005). U rodu *Geobacter*, ciklus limunske kiseline dovodi do potpune oksidacije acetata ili drugih elektronskih donora, a ATP se generira prvenstveno kroz oksidativnu fosforilaciju te nastaju i elektroni. Za prijenos elektrona na Fe(III), vrsta *Geobacter metallireducens* posjeduje Fe(III)-reduktazu vezanu na membranu. Također, posjeduje topljive i na membranu vezane citokrome c (Lovley, 1993). Drugi način prijenosa elektrona na Fe(III) je, već spomenuti, ekstracelularni prijenos elektrona na Fe(III) kroz bakterijske nano-žice (Reguera i sur., 2005). Nano-žice vrste *Geobacter sulfurreducens* se sastoje od pili koji imaju vodljivost poput metala (Slika 3.b) koja se pripisuje delokalizaciji elektrona zbog preklapanja pi-pi orbitala aromatičnih aminokiselina (Malvankar i Lovley, 2014).

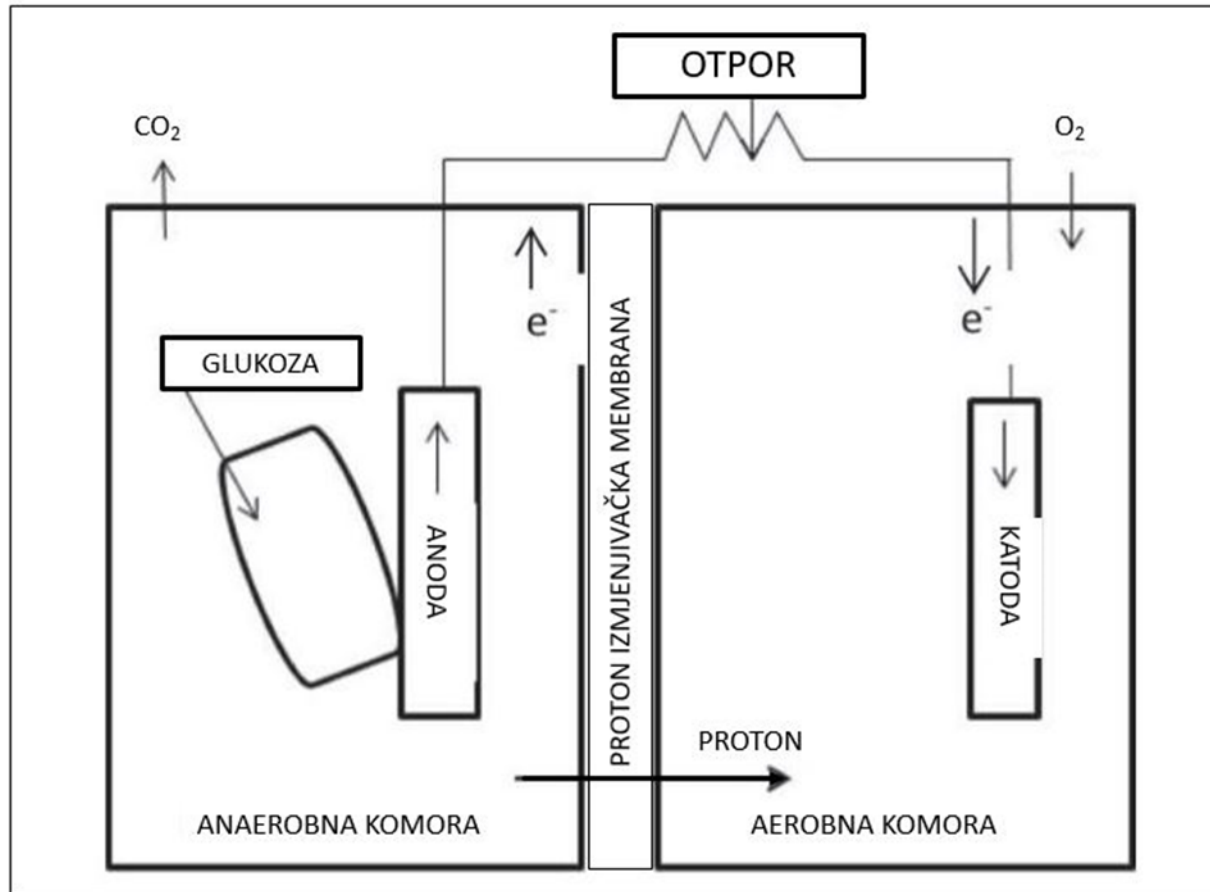


Slika 3. Dva kontrastna modela protoka elektrona kroz bakterijske nano-žice.

Model za skakanje elektrona za vlakna *Shewanella oneidensis* (a) i provođenje nalik metalima za piluse *Geobacter sulfurreducens* (b).

(Preuzeto: Malvankar i Lovley, 2014)

Prema jednom knock-out mutacijskom eksperimentu s *G. sulfurreducens*, rezultati pokazuju da mutanti koji nemaju vodljive piluse ne mogu rasti jer ne mogu reducirati Fe(III) okside, ali pili nisu neophodni za vezivanje Fe(III) oksida za stanicu (Reguera i sur., 2005). *Shewanella putrefaciens* je još jedna bakterijska vrsta koja je sposobna za redukciju Fe(III). Za razliku od roda *Geobacter*, rod *Shewanella*, dišući anaerobno, koristi fosforilaciju na razini supstrata kao primarni mehanizam očuvanja energije za održavanje rasta. Glavni donori organskih elektrona za ovu bakteriju su metanoat, laktat i piruvat (Lovley, 1993). U anaerobnom okruženju, produkcija citokroma c stimulirana je u vanjskoj membrani. Ako citokromi c služe kao posrednici za prijenos elektrona kako bi se reducirali netopljivi Fe(III) oksidi, to pretpostavlja mogući mehanizam redukcije Fe(III) u odsustvu Fe(III)-reduktaze (Lovley, 1993). Također, i vrste roda *Shewanella* proizvode bakterijske nano-žice koje su bitne za posredovanje prijenosa elektrona od bakterijskih stanica do čvrstih udaljenih faza (Gorby i sur., 2006). Međutim, njihove nano-žice nisu pili, već ekstenzije vanjske membrane koja sadrži citokrome MtrC i OmcA (Pirbadian i sur., 2014). To je dokazano na vrsti *Shewanella oneidensis* koja se smatra modelom mikroba za egzoelektrogene studije i rutinski je uzgajana uz upotrebu mliječne kiseline kao izvora ugljika (Kiely i sur., 2011). Trenutni model za provođenje elektrona uzduž nano-žica *S. oneidensis* je skakanje elektrona/tuneliranje između citokroma duž filamenata (Slika 3.a) (Malvankar i Lovley, 2014). Korištenje egzoelektrogena trenutno se istražuje u razvoju mikrobnih električnih članaka (MFC), koji imaju potencijal pretvoriti organski materijal kao što je aktivni mulj iz obrade otpadnih voda u etanol, vodik i električnu struju. Mikrobni električni članak je uređaj koji pretvara kemijsku energiju oslobođenu kao rezultat oksidacije kompleksnih organskih izvora ugljika koje mikroorganizmi koriste kao supstrate za proizvodnju električne energije te se time dokazuje kao učinkovito sredstvo za održivu proizvodnju energije. Primjena mikroba prema bioremedijaciji koja istodobno rezultira proizvodnjom električne energije čini MFC tehnologiju vrlo povoljnim prijedlogom koji se može primijeniti u različitim sektorima gospodarenja industrijskim, komunalnim i poljoprivrednim otpadom. MFC se tipično sastoji od nekoliko komponenti prvenstveno podijeljenih u dvije komore, tj. anodnu i katodnu komoru koja sadrži anodu i katodu. Ove komore se odvajaju pomoću membrane za razmjenu protona (PEM) (Slika 3).



Slika 4. Shematski prikaz dvostrukih komora MFC

(Preuzeto: Tharali i sur., 2016)

Mikrobi prisutni u anodnoj komori obezbijeđeni su povoljnim supstratom koji je anaerobno degradiran da bi se oslobodili elektroni koji se transportiraju od anode do katode preko vanjskog kruga, a proizvedeni protoni selektivno prolaze kroz proton izmjenjivačku membranu. Oba produkta proizvedena zbog djelovanja mikroba u anodnom odjeljku kreću se do katode i reagiraju s kisikom za proizvodnju vode (Sharma i Li, 2010). Postoje četiri tipa mikrobnih električnih članaka, a to su: MFC bez medijatora, MFC bez membrane, MFC kod kojeg su elektrode presvučene katalizatorom te MFC sedimentnog tipa. Neki medijatori su po prirodi anorganski i predstavljaju potencijalno štetnu prirodu za mikrobnu floru koja se koristi u MFC sustavu. Stoga su MFC bez medijatora razvijeni da eliminiraju upotrebu medijatorskih spojeva (npr. tionin). Dakle, kod ove vrste formiranja biofilmova MFC na anodi elektrokemijski aktivnim mikroorganizmima dovodi do korištenja supstrata (npr. otpadna voda) koji proizvode električnu

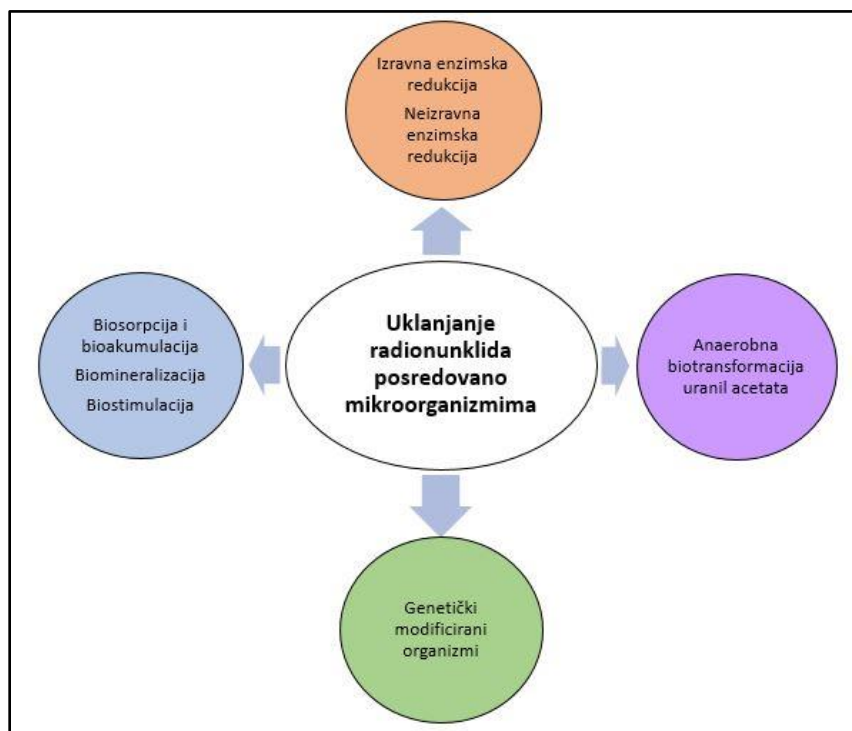
energiju. Ova vrsta MFC-a uključuje klasu mikroba, elektrokemijski aktivne bakterije (EAB), koje posreduju prijenos elektrona iz supstrata (elektron donor) na elektrodu. Drugi tip mikrobnog električnog članka, MFC bez membrane, uklanja korištenje proton izmjenjivačke membrane, koja služi kao sredstvo za transport protona proizvedenih kao rezultat mikrobne razgradnje u anodnoj (anaerobnoj) komori do katodne (aerobne) komore. To stvara razliku transmembranskog potencijala i zauzvrat dovodi do otpornosti na protok iona u elektrolitima. Ovi članci se uglavnom koriste u slučaju tretiranja otpadnih voda jer membrana djeluje kao električni izolator i neizbježno će rezultirati nečistoćama zbog suspendiranih krutina i topivih onečišćenja. Sljedeći tip MFC je tip kod kojeg su elektrode presvučene katalizatorom. Postoje određene kemikalije kojima su obložene površine elektroda kako bi se povećala njihova učinkovitost. Ove kemikalije uglavnom uključuju vodljive polimere kao što je polianilin koji bi mogao pomoći pri prijenosu elektrona na elektrodu, a često se koristi i platina. Zatim četvrti, a ujedno i zadnji, je sedimentni tip MFC-a čiji koncept uključuje umetanje jedne od elektroda (anode) u anaerobni sediment koja se sastoji i od organskih supstrata i mikrobiološke zajednice. Ova elektroda je spojena na katodu koja se nalazi u aerobnoj vodi. Ovaj tip članka se nadalje može povezati s različitim modifikacijama koje uključuju različite tipove mikrobnog katalizatora kao i proces proizvodnje i prijenosa elektrona. Iako je učinkovitost MFC-a u proizvodnji električne energije u početku bila niska, nedavne izmjene u dizajnu, sastavnim dijelovima i samome radu povećale su izlaznu energiju na značajnu razinu čime je omogućena primjena mikrobnih električnih članaka u raznim područjima uključujući tretiranje otpadnih voda, biosenzore i bioremedijaciju (Tharali i sur., 2016). No, treba napomenuti da sposobnost enzimske redukcije nije ograničena na Fe(III)-reducirajuće bakterije. Drugi mikroorganizmi, uključujući *Clostridium sp.* te sulfat-reducirajuće bakterije *Desulfovibrio desulfuricans* i *Desulfovibrio vulgaris*, također reduciraju radionuklide, ali ne mogu očuvati energiju za rast kroz njihovu transformaciju (Lloyd, 2003). Postoji povećano zanimanje u iskorištavanju ovih procesa, uz još mnoge slične, za *in situ* i *ex situ* bioremedijaciju odnosno za biološko obnavljanje okoliša onečišćenoga raznim štetnim tvarima.

2.2. Bioremedijacija

Bioremedijacija je proces u kojem se koriste mikroorganizmi za uklanjanje ili degradaciju toksičnih tvari do manje toksičnih ili netoksičnih tvari iz okoliša (Web 3). Onečišćenje okoliša

radionuklidima, toksičnim metalima, metaloidima i organo-metalima je od velike ekonomske i ekološke važnosti. Tu je, dakle, veliko zanimanje za načine na koje mikrobiološki procesi mogu utjecati na ponašanje zagađivača u prirodnim i projektiranim sredinama te njihov potencijal da biološki obnove okoliš od zagađivača. Mjera u kojoj ovi procesi mogu utjecati na štetne tvari ovisi o vrsti i kemijskom obliku oslobođenih radionuklida te fizikalnoj i kemijskoj prirodi zagađenog okoliša ili tvari. Na primjer, mineralne komponente mogu sadržavati znatne količine zagađivača koji su biološki nedostupni. Mikrobiološki procesi koji otapaju radionuklide povećavaju njihovu biološku dostupnost i potencijalnu toksičnost, dok oni koji ih imobiliziraju, smanjuju bioraspoloživost. Relativna ravnoteža između mobilizacije i imobilizacije varira ovisno o radionuklidu/metalu, organizmima, njihovom okolišu te fizikalnim i kemijskim uvjetima. Mikroorganizmi mogu mobilizirati radionuklide/metale kroz autotrofno i heterotrofno ispiranje, kelaciju pomoću metabolita i siderofora te kroz metilaciju, što može dovesti do isparavanja. S druge strane, imobilizacija može rezultirati adsorpcijom na stanične komponente ili egzopolimere, prijenosom u stanice i unutarstaničnom sekvencijom ili taloženjem u obliku netopljivih organskih i anorganskih spojeva, npr. oksalata, sulfida ili fosfata. Osim toga, neki mikroorganizmi mogu posredovati redukciju nekih redoks-osjetljivih radionuklida/metala na nižu valenciju što također može pomoći pri mobilizaciji, npr. redukcija Mn(IV) u više topljivi Mn(II) ili pri imobilizaciji, npr. Tc(VII) u manje topljivi Tc(IV) ili U(VI) u U(IV) (Keit-Roach i Livens, 2002). Bioremedijacija je proces koji se može obavljati u aerobnim i anaerobnim uvjetima. U aerobnim uvjetima mikroorganizmi koriste kisik i transformiraju mnoge zagađivače do ugljikovog dioksida (CO₂) i vode (H₂O), stvarajući pri tome vlastitu staničnu masu. U anaerobnim uvjetima se, ovisno o vrsti mikroorganizama i uvjeta, stvaraju različiti produkti razgradnje zagađivača. U općem slučaju, zagađivači se transformiraju do metana, malih količina CO₂ i plinovitog vodika. Pri sulforeducirajućim uvjetima nastaje elementarni sumpor dok nitratreducirajući uvjeti favoriziraju nastanak plinovitih oblika dušika. U nekim slučajevima neki zagađivači se mogu razgraditi do intermedijera ili krajnjih proizvoda koji su manje, podjednako ili više toksični od početnog zagađivača. Primjer za to je trikloretilen (TCE) koji se, u anaerobnim uvjetima pomoću mikroorganizama, razgrađuje do vrlo otpornog i toksičnijeg vinil-klorida. Vinil-klorid se, međutim, vrlo lako može razgraditi u aerobnim uvjetima. Bioremedijacija se može obavljati na dva načina: *in situ* i *ex situ*. *In situ* bioremedijacija zasniva se na tretiranju zagađenog zemljišta ili voda na istoj lokaciji gdje je utvrđeno prisustvo zagađivača. *Ex situ* bioremedijacija zahtjeva

iskopavanje zagađenog zemljišta ili ispumpavanje zagađenih voda prije bioremedijacijskog tretmana. Osnovni cilj aerobne bioremedijacije je osiguravanje kisika i hranjivih elemenata neophodnih za razvoj mikroorganizama u cilju što učinkovitije degradacije zagađivača. Ex situ tehnike bioremedijacije su brže, bolje se kontroliraju i omogućuju razgradnju šireg spektra zagađivača nego pri bioremedijaciji in situ. Najčešći način bioremedijacije ex situ je miješanje zagađenog zemljišta s odgovarajućim količinama vode u posebnom bioreaktoru uz dodatak mikroorganizama. Bioremedijacijske tehnike se uspješno mogu koristiti za remedijaciju zemljišta, mulja i podzemnih voda zagađenih ugljikovodicima porijeklom iz naftne industrije, organskim otapalima, pesticidima, drugim organskim tvarima te radioaktivnim otpadom (Web 3). Bioremedijacijske strategije za radionuklide (Slika 3) ovise o aktivnim metaboličkim sposobnostima mikroorganizama. Radionuklidi se mogu otopiti izravnim i neizravnim enzimskim redukcijama kroz oksidacijsko-redukcijske reakcije, promjene pH vrijednosti i Eh (aktivnost elektrona), biološku razgradnju radionuklid-organskih spojeva ili biosorpcijom na biomasu.



Slika 5. Prikaz raznih biotehnoloških pristupa za bioremedijaciju radionuklida (Preuzeto: Prakash i sur., 2013)

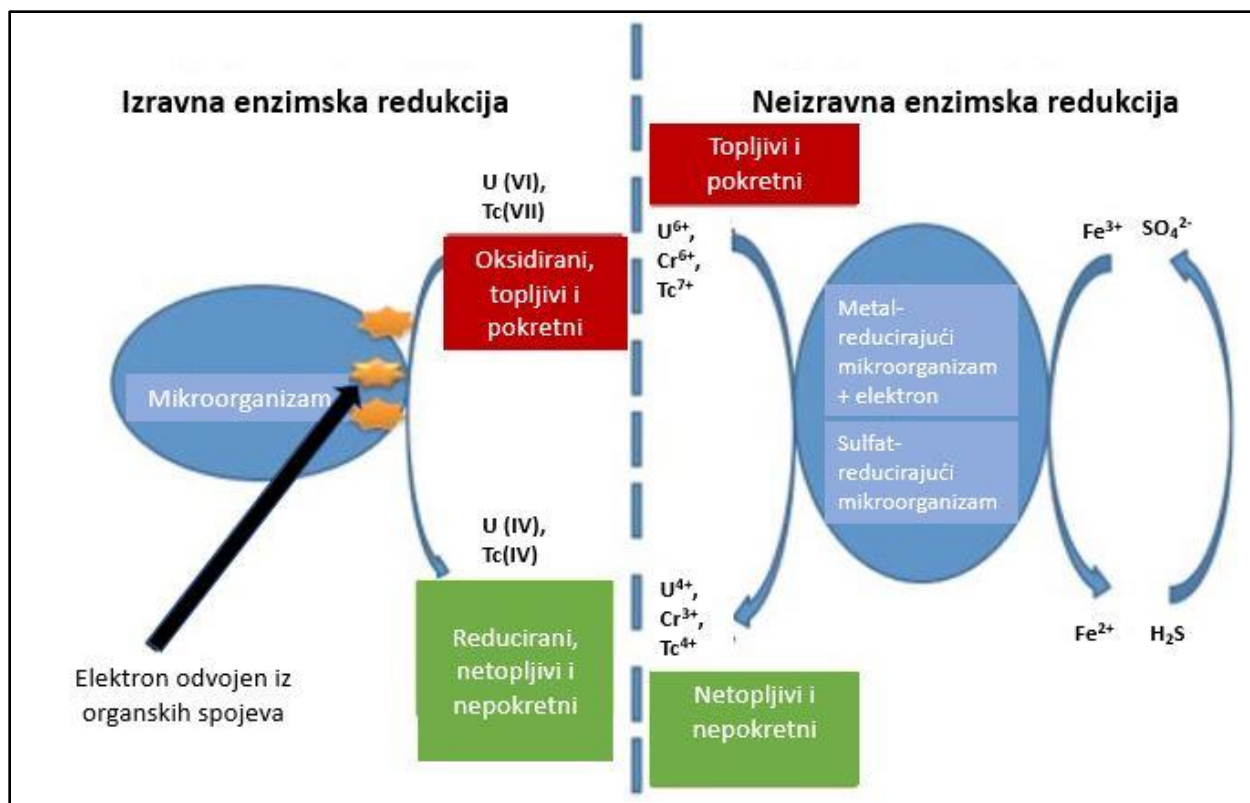
Mikrobiološka aktivnost tijekom biotransformacije radionuklida je uvelike pod utjecajem elektron donora i elektron akceptora, nutrijenata i okolišnih čimbenika. Slika 4 prikazuje moguće mehanističke poveznice metala s mikroorganizmima: ključne interakcije za bioremedijaciju.



Slika 6. Ključne interakcije bioremedijacije

(Preuzeto: Prakash i sur., 2013)

Prvi značajan proces za bioremedijaciju je izravna enzimaska redukcija radionuklida. Oksidirani oblici radionuklida su dobro topljivi u vodenom mediju što ih čini mobilnima u podzemnim vodama, dok su reducirani oblici vrlo netopljivi i često se istalože iz otopine. Izravna enzimaska redukcija topljivog U(VI) u netopljivi oblik prikazana je na slici 5 (Prakash i sur., 2013).



Slika 7. Prikaz izravne enzimске redukcije i neizravne mobilizacije radionuklida metal-reducirajućim mikroorganizmima putem hvatanja elektrona izvedenih iz organskih spojeva (laktat ili acetat) (Preuzeto: Prakash i sur., 2013)

Wildung i suradnici (2000) su izvijestili o enzimskoj redukciji U(VI) na površini mikroorganizma *Shewanella putrefaciens*. Izravnu mikrobnu enzimsku redukciju Tc(VII) prvi su primijetili Lloyd i Macaskie (1996) pomoću *Shewanella putrefaciens* i *Geobacter metallireducens*. Iako su U i Tc i dalje najprioritetniji radionuklidi u većini radioaktivnog otpada niske i srednje razine, drugi aktinidi uključujući Th, Np, Pu i Am se također nalaze u onečišćenim područjima. Enzimaska bioredukcija radionuklida može se pokrenuti kroz neizravnu redukciju topljivih onečišćenja u sedimentnim i podzemnim okruženjima metal-reducirajućim i sulfat-reducirajućim mikroorganizmima. Jedan od pristupa je uparivanje oksidacije organskih spojeva ili vodika s redukcijom Fe(III) ili S(IV) u obliku sulfata. Fe(III) može biti reduciran u Fe(II) i S(IV) u S(II) (sumporovodik, H₂S). Takvi reducirani oblici su netopljivi i mogu se istaložiti. Nekoliko mikroorganizama, kao što je *Microbacterium flavescens*, rastu u prisutnosti drugih radionuklida (U, Th, Am, Pu) i proizvode spojeve kao što su organske kiseline, siderofori i izvanstanični

metabolite koji su sposobni otopiti i mobilizirati radionuklide u tlu. Ovi spojevi mogu također pomoći u prijenosu radionuklida unutar stanica (John i sur., 2001). Sljedeći process bioremedijacije, biosorpcija, je sekvestracija pozitivno nabijenih metalnih iona na negativno nabijene stanične membrane i polisaharide izlučene na vanjskim površinama bakterije kroz sluz i kapsulu. Biosorpcija metala na intaktne stanice događa se mnoštvom mehanizama koji još nisu u potpunosti jasni (Prakash i sur., 2013). Langley i Beveridge (1999) su opisali ulogu karboksilata u vezanju metalnih kationa za O-lance lipopolisaharida (LPS) te su zaključili da se metal najvjerojatnije veže za fosforilirane grupe u jezgri lipida u LPS i negativno nabijene bočne lance pogođene staničnom hidrofobnošću kod gram-negativnih bakterija. Slično tome, Khani i suradnici (2005) su opisali učinkovitu adsorpciju radionuklida U(VI) kod smeđe alge *Cystoseira indica* i primijetili su da bi predtretman s kalcijem mogao poboljšati učinkovitost adsorpcije nekoliko radionuklida. Međutim, tlo zagađeno radionuklidima je općenito siromašno biomasom zbog veće toksičnosti radionuklida. Dakle, biosorpcija sama ne može biti dovoljna za bioremedijaciju radionuklida osim ako se sadržaj biomase u tlu poveća. Kako bi se poboljšala učinkovitost biosorpcije, strategije kao što su tehnologija rekombinantne DNA i stimulirani rast mikroorganizama u zagađenom tlu mogu poboljšati remedijaciju radionuklida. Genetičko inženjerstvo i tehnologija rekombinantne DNA su zaduženi za izradu karakterno specifičnih mikroorganizama za učinkovito uklanjanje metala pomoću biosorpcije. Izrađeni su različiti proteinski konstrukti u kojima je bakterijska površina opremljena polipeptidima za vezanje metala pomoću fuzijskih domena te proteinima usidrenim na vanjskoj membrane bakterije koji uključuju metalotioneine, nasumične polypeptide, polihistidine i sintetske fitokelatine. Ovi proteinski konstrukti su pokazali poboljšanje u vezanju metala (Prakash i sur., 2013). Mikroorganizam *Deinococcus radiodurans* je proučavan za detoksikaciju Cr(VI), U(VI) i Tc(VII) iz tla. Genetički modificirani soj *D. radiodurans* je izrađen kloniranjem gena *E. coli* (*merA*) koji pruža mogućnost korištenja ugljena i energije iz katabolizma toluene i žive (radioaktivni zagađivači) (Brim i sur., 2013). Ostvaren je napredak u izradi sojeva *D. radiodurans* za remedijaciju radionuklida, no strategija in situ bioremedijacije se još mora istražiti. Mikroorganizmi *Deinococcus murrayi* i *Deinococcus geothermalis* rastu pri višoj temperaturi (55°C) i pokazuju izuzetnu otpornost na radioaktivno zračenje (50 Gy/h) (Brim i sur., 2003). Bez sumnje, genetički modificirani mikroorganizmi izgledaju obećavajuće, ali njihova upotreba za in situ bioremedijaciju će zahtijevati dodatne korake kako bi se razvili sigurni putevi za čišćenje okoliša. Biostimulacija

korištenjem specifičnih zajednica mikroorganizama je još jedan mehanizam za bioremedijaciju radionuklida. U biostimulaciji, nitrat služi kao energetski povoljan electron acceptor za metal-reducirajuće bakterije u ko-kontamiranom okolišu s dušičnom kiselinom. Nedostatak mikrobne redukcije U(VI) je zabilježen ukoliko je sediment ko-kontamiran s nitratom (Finneran i sur., 2002). Nitratna redukcija je bila inhibirana prisutnošću nekoliko teških metala, stoga se pokušalo riješiti ovaj problem ex situ tretmanom i uklanjanjem teških metala i nitrata prije in situ biostimulacije za redukciju U(VI) (Wu i sur., 2006). U prisutnosti teških metala potencijal za biostimulaciju bio je poboljšan korištenjem etanola za bioredukciju nitrata, potom je došlo do uspješne redukcije i in situ imobilizacije U(VI). Stoga, dodavanje prikladnog izvora ugljika je bilo nužno za stimulaciju bioredukcije radionuklida u ko-kontamiranom okolišu. Ove studije su pokazale da se mijenjanjem geokemijskih parametara može učinkovito biostimulirati radionuklid-reducirajuće bakterije in situ (Parkash i sur., 2013). Biomineralizacija radionuklida uključuje interakciju mikroorganizama s metalnim ionima te njihovu imobilizaciju putem transformacije. Neki mikroorganizmi stvaraju biofilmove kako bi vezali značajne količine metalnih iona što može poslužiti kao platform za taloženje netopljivih metala. Mikroorganizam *Citrobacter sp.* može proizvesti naslage metalnih fosfata enzimskim putem. Polikristalinski NaUO_2PO_4 nakuplja se u i oko stanične stijenke *Citrobacter sp.* sorpcijom na lipopolisaharide (LPS) i aktivnošću kisele fosfataze na vanjskoj membrane. Mineralnu formaciju pokreću dva gradijenta u vanjskim membranama: dolazni UO_4 i odlazni PO_4 , rezultirajući totalnim uklanjanjem U iz otopine i vezanjem 1 mg NaUO_2PO_4 po mg iz stanice (Keasling i sur., 2000). Biomineralizacija se događa i preko mikrobno nakupljenih liganada. Kelatirajuća sredstva su prisutna u radioaktivnom otpadu jer se naširoko koriste za dekontaminaciju nuklearnih reaktora i opreme, za operacije čišćenja te odvajanje radionuklida. Više organske tvari kao što su limunska kiselina, oksalna kiselina, vinska kiselina, EDTA (etilendiamintetraoctena kiselina), DTPA (dietilentriaminopentaoctena kiselina), NTA (nitrilotrioctena kiselina) i HEDTA (hidroksietilendiamintriaoctena kiselina) korištene su za stvaranje kompleksa s radionuklidima. Ovi metalni kelati prolaze aerobnu i anaerobnu biološku razgradnju i uzrokuju taloženje oslobođenih iona kao hidroksida ili oksida koji su netopljivi u vodi, čime se usporava njihova migracija u podzemne vode. Dokazano je da je i citrat koristan kao kelatirajuće sredstvo u dekontaminaciji jer formira visoko topljive veze s metalima stvarajući komplekse koje mikroorganizmi mogu razgraditi, što rezultira taloženjem metala. Stabilni kompleksi kao bidentat, tridentat i polinuklearni kompleksi mogu biti formirani s citratom i

radionuklidima (Prakash i sur., 2013). Unatoč napretku koji je postignut u području bioremedijacije radionuklida koristeći mikroorganizme, preostaju mnogi izazovi za koje se moraju pronaći rješenja.

3. ZAKLJUČAK

U mikroorganizme ubrajamo bakterije, arheobakterije, jednostanične gljivice, jednostanične životinje te jednostanične fotosintetske mikrobe. S obzirom da ih nalazimo na raznolikim staništima, od kopnenih do vodenih i nekih poprilično ekstremnih, upravo takva široka rasprostranjenost ukazuje na njihove ključne uloge koje bi mogli igrati u biosferi. Od posebnog značaja je uloga u mobilizaciji i imobilizaciji radionuklida i toksičnih metala izravnim enzimskim ili neizravnim neenzimskim putem, a time ujedno utječu i na smanjenje radionuklida u okolišu. Upravo na takvim interakcijama mikrobnih zajednica i radioaktivnog otpada se temelje strategije procesa bioremedijacije odnosno biološkog obnavljanja okoliša. Strategije bioremedijacije uključuju biosorpciju, biomineralizaciju, biostimulaciju i slično. Uz upotrebu pri bioremedijaciji, ovakvi mikroorganizmi koji preživljavaju u uvjetima ekstremne radijacije, bi mogli biti od koristi i za komercijalnu upotrebu. Njihova sposobnost za obranu od radijacije uključuje i izlučivanje sekundarnih metabolita koji onemogućuju oštećenja njihove DNA te bi se to moglo upotrijebiti pri izradi raznih lijekova kao što su lijekovi protiv raka, antibiotici, ali i za izradu antioksidansa i krema za sunčanje.

4. LITERATURA

Bassil NM, Bryan N, Lloyd JR. 2015. Microbial degradation of isosaccharinic acid at high pH. *The ISME journal*

Berner UR. 1992. Evolution of pore water chemistry during degradation of cement in a radioactive waste repository environment. *Waste Management* 12: 201–219.

Bouchard J, Methot M, Jordan B. 2006. The effects of ionizing radiation on the cellulose of woodfree paper. *Cellulose* 13: 601–610.

Brim H, McFarlan SC, Fredrickson JK, Minton KW, Zhai M, Wackett LP, Daly MJ. 2000. Engineering *Deinococcus radiodurans* for metal remediation in radioactive mixed waste environments. *Nature biotechnology*, 85-90.

Brim H, Venkateswaran A, Kostandarithes HM, Fredrickson JK, Daly MJ. 2003. Engineering *Deinococcus geothermalis* for bioremediation of high-temperature radioactive waste environments. *Applied and environmental microbiology*, 4575-4582.

De Rosa M, Gambacorta A, Gliozzi A. 1986. Structure, biosynthesis, and physicochemical properties of archaebacterial lipids. *Microbiological Reviews*, 70-80.

Finneran KT, Housewright ME, Lovley DR. 2002. Multiple influences of nitrate on uranium solubility during bioremediation of uranium-contaminated subsurface sediments. *Environmental Microbiology*, 510-516.

Francis AJ. 2006. *Microbial transformations of radionuclides and environmental restoration through bioremediation*. Brookhaven National Laboratory, New York, USA.

Gadd GM. 2010. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 609-643.

Glaus MA, Van Loon LR. 2008. Degradation of cellulose under alkaline conditions: new insights from a 12 years degradation study. *Environmental Science & Technology*, 2906-2911.

Glaus MA, Van Loon LR, Achatz S, Chodura A, Fischer K. 1999. Degradation of cellulosic materials under the alkaline conditions of a cementitious repository for low and intermediate level radioactive waste. Part I: Identification of degradation products. *Analytica Chimica Acta* 398: 111–122.

Gorby YA, Yanina S, McLean JS, Rosso KM, Moyles D, Dohnalkova A, Beveridge TJ, Chang IS, Kim BH, Kim KS, Culley DE, Reed SB, Romine MF, Saffarini DA, Hill EA, Shi L, Elias DA, Kennedy DW, Pinchuk G, Watanabe K, Ishii S, Logan B, Nealson KH, Fredrickson JK. 2006. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30), 11358-11363.

Hartshorne RS, Reardon CL, Ross D, Nuester J, Clarke TA, Gates AJ, Mills PC, Fredrickson JK, Zachara JM, Shi L, Beliaev AS, Marshall MJ, Tien M, Brantley S, Butt JN, Richardson DJ. 2009. Characterization of an electron conduit between bacteria and the extracellular environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 22169-22174.

Hassan Khani M, Reza Keshtkar A, Meysami B, Firouz Zarea M, Jalali R. 2006. Biosorption of uranium from aqueous solutions by nonliving biomass of marine algae *Cystoseira indica*. *Electronic Journal of Biotechnology*.

John SG, Ruggiero CE, Hersman LE, Tung CS, Neu MP. 2001. Siderophore mediated plutonium accumulation by *Microbacterium flavescens*. *Environmental science & technology*, 2942-2948.

Keasling JD, Van Dien SJ, Trelstad P, Renninger N, McMahon K. 2000. Application of polyphosphate metabolism to environmental and biotechnological problems. *Biochemistry c/c of biokhimiia*, 324-331.

Keith-Roach MJ, Livens FR. 2002. *Interactions of microorganisms with radionuclides*. Vol. 2 Radioactivity in the environment. Elsevier, Oxford, UK, 179-181.

Kiely PD, Regan JM, Logan BE. 2011. The electric picnic: synergistic requirements for exoelectrogenic microbial communities. *Current opinion in biotechnology*, 22(3), 378-385.

Kuipers G, Bassil NM, Boothman C, Bryan N, Lloyd JR. 2015. Microbial degradation of isosaccharinic acid under conditions representative for the far field of radioactive waste disposal facilities. *Mineralogical Magazine*, 1443-1454.

Langley S, Beveridge TJ. 1999. Effect of O-side-chain-lipopolysaccharide chemistry on metal binding. *Applied and Environmental Microbiology*, 489-498.

Lloyd JR. 2003. Microbial reduction of metals and radionuclides. *FEMS microbiology reviews* 27: 411-425.

Lloyd JR, Chesnes J, Glasauer S, Bunker DJ, Livens FR, Lovley DR. 2002. Reduction of actinides and fission products by Fe (III)-reducing bacteria. *Geomicrobiology Journal* 19: 103-120.

Lloyd JR, Macaskie LE. 1996. A Novel PhosphorImager-Based Technique for Monitoring the Microbial Reduction of Technetium. *Applied and Environmental Microbiology*, 578-582.

Lloyd JR, Renshaw JC. 2005. *Metal ions in biological systems* Vol. 44 Microbial transformations of radionuclides: fundamental mechanisms and biogeochemical implications. Taylor and Francis Group, Boca Raton, USA, 206 pp.

Lloyd JR, Renshaw JC. 2005. *Current opinion in biotechnology* Vol. 16 Bioremediation of radioactive waste: radionuclide–microbe interactions in laboratory and field-scale studies. Elsevier, Amsterdam, Nizozemska, 254 pp.

Lloyd JR, Sole VA, Van Praagh CVG, Lovley DR. 2000. Direct and Fe (II)-mediated reduction of technetium by Fe (III)-reducing bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 3743-3749.

Lloyd JR, Sole VA, Van Praagh CV, Lovley DR. 2000. Direct and Fe (II)-mediated reduction of technetium by Fe (III)-reducing bacteria. *Applied and environmental microbiology* 66: 3743-3749.

Lovley DR. 1993. Dissimilatory metal reduction. *Annual Reviews in Microbiology*, 47(1), 263-290.

Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA, Brock T. 2015. *Brock biology of microorganisms*. 14th edition. Prentice Hall, New Jersey, USA.

Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2000. *Brock biology of microorganisms*. 9th edition. Prentice Hall, New Jersey, USA.

Malvankar NS, Lovley DR. 2014. Microbial nanowires for bioenergy applications. *Current opinion in biotechnology*, 27, 88-95.

Martinez RJ, Beazley MJ, Taillefert M, Arakaki AK, Skolnick J, Sobecky PA. 2007. Aerobic uranium (VI) bioprecipitation by metal-resistant bacteria isolated from radionuclide- and metal-contaminated subsurface soils. *Environmental microbiology* 9: 3122-3133.

Pedersen K. 2000. Microbial processes in radioactive waste disposal. SBK TR-00-04. Svensk Kärnbränslehantering AB.

Pirbadian S, Barchinger SE, Leung KM, Byun HS, Jangir Y, Bouhenni RA, Reed SB, Romine MF, Saffarini DA, Shi L, Gorby YA, Golbeck JH, El-Naggar MY. 2014. *Shewanella oneidensis* MR-1 nanowires are outer membrane and periplasmic extensions of the extracellular electron transport components. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(35), 12883-12888.

Pommerville JC. 2011. *Alcamo's fundamentals of microbiology*. 9th edition. Jones and Bartlett Publishers, Boston, USA, 86 pp.

Prakash D, Gabani P, Chandel AK, Ronen Z, Singh OV. 2013. Bioremediation: a genuine technology to remediate radionuclides from the environment. *Microbial biotechnology*, 349-360.

Rahman RO, Ibrahim HA, Yung-Tse Hung. 2011. Liquid radioactive wastes treatment: a review. *Water*, 551-565.

Reguera G, McCarthy KD, Mehta T, Nicoll JS, Tuominen MT, Lovley DR. 2005. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 435(7045), 1098-1101.

Rizoulis A, Steele HM, Morris K, Lloyd JR. 2012. The potential impact of anaerobic microbial metabolism during the geological disposal of intermediate-level waste. *Mineralogical Magazine*, 3261-3270.

Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, Brusca RC, Cavalier-Smith T, Guiry MD, Kirk PM. 2015. Higher level classification of all living organisms. *PloS one*.

Sakadevan K, Zheng H, Bavor HJ. 1999. Impact of heavy metals on denitrification in surface wetland sediments receiving wastewater. *Water Science and Technology*, 349-55.

Sharma Y, Li B. 2010. The variation of power generation with organic substrates in single-chamber microbial fuel cells (SCMFCs). *Bioresource Technology*, 101:1844–1850.

Tharali AD, Sain N, Osborne WJ. 2016. Microbial fuel cells in bioelectricity production. *Frontiers in Life Science*, 9(4), 252-266.

Van Loon LR, Glaus MA. 1997. Review of the kinetics of alkaline degradation of cellulose in view of its relevance for safety assessment of radioactive waste repositories. *Journal of environmental polymer degradation* 5: 97–109.

Van Loon LR, Glaus MA, Laube A, Stallone S. 1999. Degradation of cellulosic materials under the alkaline conditions of a cementitious repository for low- and intermediate-level radioactive waste. II. Degradation kinetics. *Journal of environmental polymer degradation* 7: 41–51.

Van Loon LR, Glaus MA, Stallone S, Laube A. 1997. Sorption of isosaccharinic acid, a cellulose degradation product on cement. *Environmental Science & Technology* 31: 1243–1245.

Watling R. 1997. Pulling the threads together: habitat diversity. *Biodiversity and conservation*, 753-763.

Wildung RE, Gorby YA, Krupka KM, Hess NJ, Li SW, Plymale AE, McKinley JP, Fredrickson JK. Effect of electron donor and solution chemistry on products of dissimilatory reduction of technetium by *Shewanella putrefaciens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2451-2460.

Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. 2011. *Prescott's Microbiology*. McGraw Hill, New York, USA, pp 228–245.

Wu WM, Carley J, Fienen M, Mehlhorn T, Lowe K, Nyman J, Luo J, Gentile ME, Rajan R, Wagner D, Hickey RF. 2006. Pilot-scale in situ bioremediation of uranium in a highly contaminated aquifer. 1. Conditioning of a treatment zone. *Environmental Science & Technology*, 3978-3985.

WEB IZVORI

Web 1. http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Pub1419_web.pdf - preuzeto: 27.02.2017.

Web 2. https://www.researchgate.net/figure/23460032_fig1_Fig-1-Chemical-formula-of-a-a-isosaccharinic-acid-ISA-b-D-gluconic-acid-GLU - preuzeto: 28.02.2017.

Web 3. http://idk.org.rs/wp-content/uploads/2016/10/ZM_48_2_49.pdf - preuzeto: 01.03.2017.