

# Bioremediační inženýrství v rovině aplikace biologického činitele

BIOAUGMENTACE A JEJÍ POZICE PŘI NÁPRAVĚ EKOLOGICKÝCH ŠKOD

**Poznání, že mikroorganismy lze považovat za brilantní chemické inženýry, je známé dlouho. V šedesátých letech minulého století se rozšířilo o zjištění, že určité skupiny látek, které do životního prostředí nepatří (polutanty), mohou být na kontaminované lokalitě přeměňovány původními mikroorganismy do výrazně méně toxické podoby. Postupným utvářením odvětví známého jako bioremediační inženýrství byly kladeny další otázky a vytyčovány nové výzvy. Mezi nimi zřetelně zaznělo i toto: *Může být kontaminovaná lokalita, kde se nenacházejí vhodné (původní) biodegradační mikroorganismy, ošetřena dodávkou uměle vypěstovaných populací mikroorganismů pro biodegradaci vhodných?***

**Odpovědí a konkrétním činem byl koncept bioaugmentace, který se stal jedním ze základních pilířů bioremediací obecně, tedy těch technologií pro nápravu škod na životním prostředí, které se opírají o biologického činitele. Účelem tohoto textu je poskytnout ucelený obecný přehled, vysvětlit klíčové pojmy a ozřejmit, co se skrývá za tzv. bioaugmentačním preparátem, jenž často nese (ač nepřilíš vhodné) název biopreparát.**

orninové prostředí, půdu, říční a mořské sedimenty, podzemní vodu i povrchové vody osídluje velmi pestré spektrum mikroorganismů, které evoluce obdařila důmyslnými prostředky pro přežití v těchto vesměs nutričně velmi chudých podmínkách (jinými slovy „strdím neoplyvající“). Původní úlohou mikroorganismů v životním prostředí je podíl na zprostředkovávání koloběhu hmoty a energie na Zemi.

S rostoucí průmyslovou činností, těžbou surovin a jejich transportem začalo stále častěji docházet k únikům látek tam, kam svou povahou nepatří (úkypy i ekologické havárie). Nežádoucí látka se zde chová jako selekční tlak, který „vybere“ jen ty organismy, které se dokážou přizpůsobit. Důvodem pro toto tvrzení je zdánlivá jednoduchost látkové přeměny mikroorganismů, snazší regulace a rychlé rozmnožování.

Paralelně rozvinutý obor bioinženýrství poskytl teoretické i praktické základy pro „chov mikroorganismů“, odborně pro jejich kultivaci v zařízeních označovaných jako bioreaktory. Bioreaktor je nádoba různého objemu, která disponuje vybavením, jehož prostřednictvím lze kultivovaným mikroorganismům navodit vhodné podmínky (vzdušnění, teplota, přísun živin, míchání). S využitím této definice si lze jednotlivé části Země (voda, půda, sedimenty) velmi obrazně představit také jako bioreaktory, které disponují velkou schopností samoregulace, již bohužel lidské počínání v některých případech poněkud vykojuje.

Přenos mikroorganismů z přirozených podmínek (půda, voda) do podmínek umělých (bioreaktory) vedl k podrobnějšímu poznání jejich životních nároků. Obecně platí, že každý z nich potřebuje mít k dispozici zdroj uhlíku, zdroj energie a zdroj tzv. redukčního ekvivalentu (tedy elektronů) na straně jedné, na straně druhé látku, která bude hrát roli příjemce elektronů (např. kyslík, ale také dusičnany, Fe(III) nebo jiná organická látka či oxid uhličitý). Metabolismus může být zjednodušeně chápán jako velmi komplikovaná soustava zejména oxidačně-redukčních reakcí a přenosu elektronů, který je pro ně typický, tvoří buňce energii.

Pro pochopení procesů v životním prostředí napomůže osvojení si rozdílu mezi mikroorganismy původními (autochtonními) a mikroorganismy pocházejícími z umělých kultivačních systémů – bioreaktorů (alochtonními). Vnášení malého objemu mikroorganismů do nového kultivačního prostředí se v praxi technické mikrobiologie označuje jako inokulace. Použije-li se tento výrok přeneseně pro vysvětlení pojmu bioaugmentace, pak inženýrsky koncipovaná aplikace vhodné populace mikroorganismů v dostatečně velkém objemu na kontaminované lokalitě (in situ) nebo na zabezpečené skládce (tzv. biodegradační ploše, ex situ) je v podstatě inokulací za účelem dosažení přeměny kontaminované látky mikrobiálním metabolismem do podoby méně toxické, popř. zcela netoxické.

## Ekonomické hledisko

Silnou stránkou bioremediace je její nízkonákladovost v porovnání s metodami chemickými, fyzikálními nebo mechanickými. Srovnávat se však musí to, co je porovnatelné. Velmi důležité kritérium představuje faktor času, jenž zdánlivou ekonomickou výhodnost umenšuje, ale neruší ji.

Velkým zdrojem poučení jsou procesy, jimiž příroda sama čelí přítomným polutantům – přirozená atenuace. Její technická podpora ji může proměnit ve funkční prostředek nápravy škod na životním prostředí. V podmínkách střední Evropy z důvodů odlišných geograficko-geologických charakteristik, než jaké jsou např. v USA, se však spíše jedná o tzv. kombinované sanační technologie (KST, tj. chemický nebo mechanický zákrok, na který navazuje bioremediační koncovka).

Slabinou bioaugmentačního konceptu může být omezená schopnost vnášených mikroorganismů do horninového prostředí, popřípadě ztráta konkrétní biodegradační schopnosti a z čistě technologického hlediska pak „nekulturnost“ nekultivovatelných mikroorganismů (viz box **Nekultivovatelnost**), které mívají unikátní biodegradační vlastnosti.

Příležitostí, která se ve spojení s bioaugmentací nabízí, je jednoznačně další roz-

## Nekultivovatelnost

Nejprve 90 %, pak 99 %, nyní dokonce už 99,9 % mikroorganismů, u nichž se předpokládá, že nejsou schopné růstu v uměle vytvořených laboratorních podmínkách. Proč se tyto hodnoty zvětšily? Poznává se stále více druhů mikroorganismů, vedle toho jejich genetická tvárnost má mnoho rozměrů a z těchto důvodů se zmenšil podíl mikroorganismů, které lze bezpečně kultivovat na Petriho miskách. Výhodiskem je příklon k metodám studia těchto mikroorganismů na bázi technik molekulární biologie, tedy těch, jež nejsou spojené s potřebou nárůstu mikroorganismů. Naopak tyto metody jsou schopné poskytovat nejenom odpovědi na otázky kolik, co (druhově), ale také jak (funkční hledisko, co konkrétní mikroorganismus „umí“)

voj KST, zejména v rovině designu, regulace a řízení. Futuristicky leží obrovská příležitost v tzv. horizontálním genovém transferu (HGT), jehož hlubší poznání a technické uchopení by vlastně bylo přirozenou genetickou manipulací v reálných podmínkách.

### Pozice bioaugmentace

Bioaugmentace rozděluje odbornou veřejnost. Na jedné straně zastánci, kteří ji vnímají jako unikátní nástroj „ochočení“ biologického činitele pro technické aplikace, na druhé straně skeptici a odpůrci, kteří argumentují její nefunkčností danou neschopností uměle pěstovaných mikroorganismů přežít v reálných podmínkách. Pravda leží mezi těmito póly. Proč?

Nelze rozporovat metabolické schopnosti mikroorganismů vůči polutantům (biodegradace) za různých podmínek. Každý alochtonní mikroorganismus byl kdysi (před svou izolací, selekcí a kultivací v bioreaktorech) mikroorganismem autochtonním, tedy původním. Procesem kultivace v uměle vytvořených podmínkách však často ztrácí schop-

nost reagovat rychle na změny (teplota, vlhkost, koncentrace živin, přítomnost inhibitorů) a je vůči nim citlivější. To opodstatňuje kritiku odpůrců bioaugmentace, kteří zpochybňují její účinnost tvrzením o neschopnosti mikroorganismů přežít.

Protiargumentem zastánců bývá uměle vyvolaná stresová adaptace, konzervace biodegradací schopnosti a především HGT. Smrt injektovaných mikroorganismů tak v podstatě může představovat vítězství, neboť geneticky kódovaná informace o schopnosti rozkládat konkrétní polutant může být vsřebána příjemcem v podobě původního mikrobiálního osídlení na kontaminované lokalitě.

### Východiska a řešení

Někteří výzkumní pracovníci jsou přesvědčeni, že průlomem v bioaugmentační koncepci bude plná legalizace aplikace geneticky modifikovaných mikroorganismů. V USA se s oblibou používá termín „superbug“, univerzální mikrobiální biodegradér, který je schopen transformovat cokoliv škodlivého na cokoliv neškodného.

Toto je skutečně z oblasti sci-fi, neboť geneticky modifikovaný mikroorganismus je v mnoha případech ještě citlivější (díky manipulaci s jeho genomem), než v umělých podmínkách připravované populace mikroorganismů alochtonních. A s ohledem na minimální posun v možnostech predikce možných rizik nikoliv vůči lidskému zdraví, ale spíše vůči ekosystémům, je málo pravděpodobné uvolnění těchto technologií na bázi GMO do běžné praxe. Ukazuje se, že bioaugmentace stále své uplatnění má, zejména tehdy, naplňuje-li firma z odvětví sanačního servisu marketingový koncept produkt (biopreparát) – služba (precizní aplikace s maximální podporou účinnosti zákroku) a kombinuje-li ji s biostimulací.

*Autoři článku děkují MPO ČR za poskytnutí prostředků v podobě dotačního titulu FR-TI1/318 pro řešení projektu „Vývoj komerčně dostupných remediačních biopreparátů určených k přímé aplikaci na difúzně kontaminované lokality“.*

**Jiří Mikeš**  
EPS, s.r.o.

[jiri.mikes@epsrro.cz](mailto:jiri.mikes@epsrro.cz)

## Slovníček

**akceptor elektronů** – látka (kyslík, dusičnan, Fe(III), Mn(IV), oxid uhličitý), která se redukuje v rámci metabolismu příjmem elektronového toku jím generovaným, může jím být i polutant, který se takto redukuje, např. respirace chlorovaných uhlovodíků

**Archea** – zvláštní skupina mikroorganismů, přežívající mikrobiální dinosaury, kteří jsou schopni žít v mnoha případech ve zcela extrémních podmínkách (termální prameny, vychýlené pH, tlak apod.)

**autochtonní a alochtonní** – původní mikroorganismy v místě svého výskytu (autochtonní) a mikroorganismy kultivované v umělých podmínkách (bioreaktor) a do prostředí vnesené člověkem (alochtonní)

**bioaugmentace** – koncept vnesení mikroorganismu s biodegradací schopností na kontaminovanou lokalitu za účelem jeho působení při přeměně toxické látky v méně toxickou

**biofilm** – struktura vytvořená buňkami mikroorganismů a stabilizovaná jejich produkty (slizy apod.) za účelem osídlení povrchu, jímž může být horninové prostředí, ale i třeba část lidského těla; životní strategie, kdy minimalizace vlastního pohybu zvyšuje pravděpodobnost

získání živin, obrana vůči účinku smrtících látek

**bioreaktor** – zařízení různého objemu s vybavením, jímž lze nastavit optimální podmínky pro mikroorganismy a jejich růst (vzdušnění, míchání, distribuce živin)

**biostimulace** – doplňkový koncept bioremediace, jímž je úprava podmínek na lokalitě s kontaminátem tak, aby vytvořil životním potřebám mikroorganismů (vzduch, živiny)

**endosymbiosa** – součást evoluční teorie, která předpokládá přeměnu nižších organismů (bakterií) v buněčné součásti vyšších organismů – např. mitochondrie, chloroplasty

**fermentace** – lidověji „kvašení“, což však není příliš přesné; forma metabolismu, kdy zdrojem uhlíku, energie i akceptorem elektronů je organická látka – např. sacharid nebo acetát; v rámci životního prostředí děj důležitý ke snížení redox potenciálu a produkci oxidu uhličitého a zejména vodíku

**ISCO** – abiotická technologie aplikace oxidačního činidla za účelem přeměny polutantu v méně škodlivou formu chemickou reakcí (např. aplikace roztoku  $\text{KMnO}_4$  nebo Fentonova činidla)

**HGT** – horizontální genový transfer, „nedědičné“ šíření genetické informace mezi různými bakteriálními druhy, zejména tzv. nejaderně umístěné DNA

**lipofilní kvasinka** – mikroorganismus schopný života v prostředí nepolárního charakteru, přičemž tuto látku využívá jako svůj zdroj uhlíku a energie

**oligotrofie** – schopnost organismů žít v režimu minima živin, jejich nadbytek je naopak inhibuje

**selekční tlak** – přítomnost činitele (např. látky), která determinuje podmínky na lokalitě a umožňuje přežít jen těm druhům, které se adaptují

**syntrofie** – nutriční mapa, závislost více populací na sobě, neboť jedna z nich poskytuje svou látkovou výměnou metabolicky využitelnou látku pro druhou

**VNBC** – skupina mikroorganismů nestanovitelná klasickými kultivačními metodami, např. z důvodů oligotrofie

**zdroj uhlíku, energie a redukčního ekvivalentu** – redukované látky, které se metabolismem oxidují a poskytují stavební hmotu a energii pro život buňky (substrát)