

REVIEW  
UDC 576.8.098:661.7

## MIKROBNA RAZGRADNJA KSENOBIOTIKA U OKOLIŠU

R. ROZGAJ

Institut za medicinska istraživanja i  
medicinu rada, Zagreb, Hrvatska

Primljeno 25. siječnja 1994.

Fizičke i kemijske osobine spojeva, kao i razni činioci iz okoliša, mogu utjecati na razgradljivost spoja. Neke je spojeve moguće razgraditi samo u prisustvu nekog drugog spoja koji služi kao izvor ugljika i energije. Često se spojevi razgraduju postupno kroz sudjelovanje većeg broja različitih mikroorganizama. Najveći dio biološke razgradnje u prirodi obavljaju mikroorganizmi, najčešće bakterije i neke gljive. Selekcijom mikroorganizama s visokim razgradnim potencijalom te njihovom postupnom prilagodbom na različite prirodno nerazgradljive spojeve dobivene su mikrobne kulture koje se primjenjuju u detoksifikaciji otpadnih voda i tla, no o njihovoj širokoj primjeni još ne možemo govoriti. Bolje razumijevanje metaboličkih putova za biodegradaciju pojedinih organskih spojeva, kao i bolje poznавanje mikroorganizama koji razgraduju organske spojeve omogućit će svrshodnu primjenu biodegradacije.

*Ključne riječi:*  
biodegradacija, kometabolizam, mikrobne kulture

**R**azvojem industrije pojavljuje se sve veći broj spojeva koje priroda »ne prepozna« te ih nije moguće uključiti ni u jedan od tih prirodnih ciklusa. Danas smo suočeni s velikim brojem novosintetiziranih organskih spojeva. Smatra se da je u svakodnevnoj upotrebi više od 70.000 kemijskih spojeva, a više od 5.000 novih spojeva proizvede se svake godine (1, 2). Osim toga stotine tisuća spojeva nove građe sintetiziraju se u znanstvenim i industrijskim laboratorijima. Ukupna svjetska godišnja proizvodnja sintetskih organskih spojeva prelazi 300 milijuna tona (3). Iako su količine tih spojeva u odnosu prema količini prirodno razgradljivih spojeva umjerene, oni svojim nakupljanjem mogu izazvati brojne štetne učinke.

Upozorenja znanstvenika dugo nisu nailazila na razumijevanje. Tek su učestali štetni učinci na ljudsko zdravlje potaknuli istraživanja učinaka kemijskih spojeva, kao i načina njihovog uklanjanja ili pretvorbe u manje toksične ili ekološki manje razorne molekule. Velik je broj sintetskih organskih spojeva za koje se zna da izazivaju toksične, karcinogene, mutagene i teratogene učinke. Još je veći broj spojeva, osobito onih koji nisu u svakodnevnoj upotrebi, čiji učinci nisu poznati, a mnogi neće biti istraženi ako ne izazovu neki vidljiv i mjerljiv štetan učinak.

Za procjenu štetnosti nekog kemijskog spoja u okolišu potrebno je, osim količine odložene tvari, poznavati i njezine fizičke i kemijske osobine. Tako koncentracija i toksičnost spoja određuju njegovu štetnost za okoliš, dok su građa spoja, topljivost u vodi, hlapljivost, konstanta disocijacije, značajni pri određivanju njegove razgradljivosti (4).

Procesi razgradnje organskih spojeva u prirodnim sredinama teku na više načina koji se međusobno prepleću i dopunjaju te ih često nije moguće promatrati odvojeno. Nebiološki razgradni procesi, fotokemijski i kemijski, obično ne dovode do potpune mineralizacije spoja, dajući katkad produkte nepoznate toksičnosti i postojanosti. Najčešće su, ipak, takvi produkti podvrgnuti dalnjim pretvorbama biološkim putem. Sigurno je da je razgradnja organskih spojeva koja se provodi posredstvom živih organizama dominantan razgradni proces u vodi i tlu. Doprinos viših organizama odnosi se pretežito na nepotpunu razgradnju spojeva. Životinjski organizam teži izlučivanju kemikalija koje se ne uklapaju u njegov prirodan metabolizam. Posredstvom enzimskog sustava u koji je uključen citokrom P-450 životinje mogu detoksicirati i ukloniti brojne kemijske spojeve (5-7). Pretvorbom u biljci nastaju neutralni produkti netopljivi u vodi koji se lako odlažu. Lako se sudjelovanje viših organizama ne smije zanemariti, biološkom razgradnjom ili biodegradacijom smatramo one razgradne procese koje obavljaju mikroorganizmi u okolišu. Zahvaljujući velikoj raznolikosti vrsta, visokom razgradnom potencijalu i prilagodljivosti, mikroorganizmi su osigurali primat u razgradnji i prirodnih i sintetskih organskih spojeva (8).

## OPĆE KARAKTERISTIKE BIOLOŠKE RAZGRADNJE

Govoreći o organskim spojevima u prirodi često ih dijele na biološki razgradljive i postojane. Kako se pojmom biodegradacije opisuju vrlo različite vrste procesa u kojima se organski spojevi mijenjaju posredstvom živih organizama, on ne određuje stupanj do kojeg se spoj razgradio, kao ni vrstu kemijske reakcije.

Nemogućnost razgradnje nekih kemijskih spojeva i njihovo nakupljanje u prirodi može biti uzrokovano netopljivošću spoja, kao što je slučaj sa sintetskim polimerima (9), ili novim kemijskim strukturama kojima mikroorganizmi nisu bili izloženi tijekom svoje evolucije. Takvi spojevi, među koje pripadaju različiti sintetski

aromatski ugljikovodici i njihovi supstituirani analozi, poliklorirani bifenili, pesticidi i drugi, označeni su kao ksenobiotici (grčki: *xenos* – stranac, *bios* – život).

Nerazgradljivost i postojanost spoja nisu osobine koje bi ga jasno odredile. Prije su to naznake koje upućuju na to da se spoj ne mijenja pod određenim uvjetima. Pad brzine biološke razgradnje pri niskim koncentracijama spoja tumači se smanjenom količinom oslobođene energije potrebne za umnažanje biomase dostačne za razgradnju spoja (10).

Većina ksenobiotika u prirodi ipak je podvrgnuta razgradnji. Čak je i za tetraklordibenzodioksin (TCDD), jedan od najpostojanijih organokloriranih spojeva u okolišu, dokazana, doduše vrlo spora, razgradnja pomoću mikrobnih kultura (11).

Biodegradacija uključuje različite tipove pretvorbe ksenobiotika s različitim, za čovjeka ne uvijek povoljnim ishodom. Mineralizacija je najpotpuniji i najpoželjniji proces biološke razgradnje organskih spojeva. Pretvorbom spoja do anorganskih molekula poput ugljičnog dioksida, oksida dušika, iona amonija i sulfata osiguravaju se ugljik i energija za mikrobeni rast. Ovaj je proces u prirodi vrlo dugotrajan. Njime se razgrađuje samo oko dvije trećine ukupne količine spoja, a ostatak se ugrađuje u stanični materijal.

Kometabolizam je proces u kojem mikroorganizmi uz obaveznu prisutnost hraniće podloge mijenjaju kemijski spoj. Ovaj proces ima važnu ulogu u razgradnji ksenobiotika u prirodi iako ne vodi uvijek do potpune mineralizacije, nego može rezultirati nakupljanjem međuproducta (8, 12, 13).

Nakupljanje u stanicama može biti rezultat aktivnog uklanjanja spoja iz okoliša vezivanjem u mikroorganizme ili na njih. Posljedica može biti biokoncentracija ksenobiotika i njihov ulazak u prehrambene lanci (14).

Polimerizacija i vezanje ksenobiotika za čestice humusa u tlu (15) još je jedan od manje poželjnih načina pretvorbe organskog spoja, jer veze humus-ksenobiotik nisu uvijek stabilne te može doći do ponovnog oslobađanja spoja iz tla.

Biodegradacija se u prirodi zbiva u aerobnim (16) ili anaerobnim uvjetima (17, 18) što podrazumijeva sudjelovanje niza specifičnih enzima, kao i različite razgradne putove (19). Koliko će uspješno teći proces razgradnje ovisi o metaboličkom potencijalu mikroorganizama kao i trajanju izloženosti spoju koji razgrađuju (20, 21).

Organizmi uključeni u razgradnju ksenobiotika su prokarioti i eukarioti. Većina mikroorganizama izdvojenih u područjima onečišćenim organskim spojevima jesu heterotrofne bakterije iz roda *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter* i *Flavobacterium* (22-24). Bakterije iz roda *Pseudomonas* najrasprostranjenije su heterotrofne bakterije u prirodi. Velika prilagodljivost ovih bakterija različitim uvjetima okoliša omogućava im sudjelovanje u razgradnji velikog broja organskih spojeva (25). Pri niskim koncentracijama hranjivih tvari važno mjesto u biološkoj razgradnji imaju fotosintetski mikroorganizmi kao alge *Chlorella*, *Dunaliella* (26, 27), cijanobakterije i fotosintetske bakterije iz porodica *Chromatiaceae* i *Rhodospirillaceae*. One ne mogu provesti potpunu razgradnju spoja, ali sudjeluju u njegovoј pretvorbi u interakciji s drugim

mikroorganizmima. Anaerobna razgradnja zbiva se redovito aktivnošću mješovitih zajednica. Među mikroorganizmima koji sudjeluju u anaerobnoj razgradnji najzastupljeniji su neki predstavnici porodice *Athiorhodaceae* i rodova *Pseudomonas* i *Moraxella* (17).

Eukarioti su vrlo uspješni u razgradnji ksenobiotika. Osobito visoku moć pretvorbe ksenobiotika pokazale su gljive *Neurospora crassa*, *Trichosporon cutaneum* i *Cunninghamella elegans*. Ipak, njihov metabolizam obično nije potpun te zahtijeva uključivanje bakterija u daljnju razgradnju spoja (28, 29).

Kao što je već spomenuto, i neke više biljke i životinje mogu djelomično mijenjati organske spojeve nastojeći ih ukloniti ili prevesti u neku manje toksičnu ili neškodljivu formu.

## PRILAGODBA MIKROORGANIZAMA NA KSENOBIOTIKE

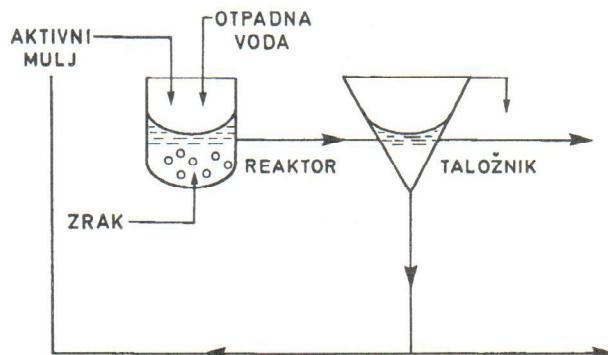
Iako su mikroorganizmi sposobni samo za one metaboličke aktivnosti za koje su genetički opremljeni, nije rijetko da razgradnju ksenobiotika započnu zbog njegove sličnosti s nekim prirodnim, razgradljivim spojem (30, 31). Mogućnost ovakve »slučajne« razgradnje povećava se sa sličnošću u građi između ksenobiotika i prirodnog spoja (32). Druga je mogućnost nespecifičnog napada na molekulu kometabolička pretvorba spoja. Negativna strana ovakvih procesa je mogućnost nastanka produkata toksičnih za organizme koji sudjeluju u razgradnji. Oni su često još postojaniji i podložniji bioakumulaciji od ishodišnog spoja te mogu štetiti i drugim, višim organizmima uključenim u hranidbeni lanac (8). Srećom, često produkti slučajne razgradnje ili kometabolizma mogu poslužiti kao podloga za sljedeći korak kataliziran enzimima. Općenito su se zajednice više različitih mikroorganizama u kojima je razgradni produkt jednog organizma podloga za drugi organizam pokazale mnogo djelotvornijim u razgradnji ksenobiotskih spojeva od pojedinačnih organizama (31, 33). U prirodnim sredinama organizmi u pravilu žive u mješovitim zajednicama u okviru kojih se uspostavljaju interakcije između pojedinih članova. Povezanost članova u zajednici može biti slabija ili jača, što ponajprije ovisi o specifičnosti podloge na kojoj se razvijaju, kao i o stupnju njegove razgradljivosti (32). Biorazgradnja spoja može zahtijevati sekvencijalni metabolizam u koji će biti uključena dva ili više članova od kojih niti jedan zasebno ne može provesti mineralizaciju jer ne posjeduje potpunu genetsku osnovu za šifriranje enzima čitavog razgradnog puta. Razgradnja ksenobiotika ovisi o već postojećim putovima razgradnje prirodnih spojeva koji se razvijaju tijekom evolucije. Uspostavljanje novog puta razgradnje ovisiće o prilagodljivosti mikrobne zajednice (21, 23, 34). Prilagodba na novu podlogu moguća je indukcijom novih ili derepresijom postojećih enzima specifičnih za novu podlogu (30); selekcijom novih metaboličkih potencijala nastalih genetskim promjenama, mutacijom ili posredstvom plazmida (21, 31), i uvođenjem novih članova s traženim metaboličkim potencijalom (21).

Svaki od ovih mehanizama pridonosi povećanju sposobnosti za razgradnju organskih spojeva i moguće ih je odvojeno pratiti u laboratorijskim eksperimentima. U prirodi se oni često događaju istodobno, međusobno se dopunjajući.

## PRIMJENA KONTROLIRANE MIKROBNE RAZGRADNJE

Mikroorganizmi su zbog svoje široke rasprostranjenosti u svim dijelovima biosfere i bogatog metaboličkog potencijala bitan činilac ravnoteže u prirodi. Upoznavanje razgradnih putova pojedinih skupina organskih spojeva (5, 19), kao i mikroorganizama koji u njima sudjeluju pruža mogućnost čovjeku da djeluje tamo gdje je ranije svojom nebrigom tu ravnotežu značajno narušio. Pritom treba voditi računa o tome da razgradljivost spoja nije uvijek i rješenje problema. Pad koncentracije nekog spoja ne mora uvijek značiti da je opasnost za okoliš smanjena, osobito u slučaju njegove konverzije u neku drugu, možda i ekološki nepovoljniju formu. Genetska modifikacija prirodnih mikroorganizama i razvijanje novih razgradnih sposobnosti daju rezultate u strogo definiranim laboratorijskim uvjetima, dok primjena u praksi nije uvijek tako uspješna jer je njihovo ponašanje u prirodi teško ili nemoguće predvidjeti. Obično oni ne mogu preživjeti kompeticiju s autohtonim organizmima, no također postoji mogućnost da se pod utjecajem faktora okoline nastave mijenjati i izmaknu kontroli.

Primjer uspješne primjene razgradnih sposobnosti mikroorganizama u praksi je biološka obrada gradskih i industrijskih otpadnih voda (35, 36). Pojednostavljena shema postupka pročišćavanja voda prikazana je na slici.



Slika. Shematski prikaz procesa pročišćavanja otpadne vode pomoću aktivnog mulja  
Figure. Process of waste water purification by means of active sludge

Aeriranjem otpadne vode spontano se, nakon nekog vremena, formiraju aglomerati, tzv. pahuljice aktivnog mulja, sastavljeni od mikroorganizama, pretežito bakterija (37). Ovakve pahuljice, u kojima se pri dugotrajnoj izloženosti različitim kemijskim spojevima nakupljaju metabolički bolje opremljeni mikroorganizmi, potiskujući postupno slabije prilagođene članove, čine mikrobnu zajednicu uz koju obično dolaze i drugi organizmi poput *Protozoa*, *Rotifera*, *Nematoda* i dr. (38, 39). Oni »uravnotežuju« proces pročišćavanja vode konzumirajući dispergirane bakterijske stanice, čime se pomaže razbistranje konačnog efluenta (40). Nakon odvajanja pahuljica aktivnog mulja od efluenta taloženjem na uređaju za pročišćavanje, dio biomase vraća se u obradu novih količina otpadne vode (41). Nakupljanje viška mulja nastalog u aerobnom postupku u obradi otpadnih voda velik je problem zbog visokog sadržaja toksičnih spojeva kakvi su fenoli, teški metali i dr. Stoga se sve veći interes posvećuje usavršavanju anaerobnih postupaka pri kojima se smanjuje količina nastalog mulja. Uz to anaerobnom razgradnjom organskih spojeva nastaje i biopljin s visokim sadržajem metana, koji se može koristiti kao gorivo te time povećati ekonomičnost postupka (42, 43).

Upotreba fosilnih goriva značajno pridonosi onečišćavanju biosfere. Proizvodi nafte oslobođeni u okoliš adsorbiraju se na čestice tla i sedimenata. Neki od njih donekle su razgradljivi u prirodi (44, 45), no taj je proces spor i nedostatan pri akcidentalnom izljevanju velikih količina nafte (46). Mikrobiološki tretman prirodnih voda i tla, bioremedijacija, zasniva se upravo na dobru poznavanju procesa mikrobnog razgradnje organskih spojeva (47, 48). U novije se vrijeme sve češće koriste komercijalni pripravci mikrobnih kultura prilagođenih na određeni supstrat. Kao kriterije za uvođenje takvih kultura u onečišćenu prirodnu sredinu, tzv. zasijavanje, *Atlas* (49) navodi sposobnost članova mikrobnog zajedničkog razgrada većinu sastojaka nafte, genetičku stabilnost, vijabilnost za vrijeme skladištenja, brz rast nakon skladištenja, visok stupanj enzimske aktivnosti i rast u okolišu, mogućnost kompeticije s autohtonim organizmima, nepatogenost i nesposobnost stvaranja toksičnih metabolita. Rezultati primjene alohtonih mikrobnih kultura u čišćenju prirodnih voda i tla od nafte su različiti (50-52) te za sada nema dovoljno podataka o prednosti takvog postupka (53).

Kopneni ekosistemi uz mnogo veći broj mikroorganizama pokazuju i veću raznolikost fizičkih i kemijskih uvjeta. Posebnu važnost za čovjeka imaju poljoprivredna zemljišta koja su uz manje ili više slučajna onečišćenja različitim kemijskim tvarima izložena nakupljanju pesticida i njihovih razgradnih produkata (54). Neprestane promjene pH, koncentracije soli, otapala, temperature u tlu otežavaju primjenu živih mikrobnih stanica u razgradnji pesticida. Zbog ograničene sposobnosti preživljavanja u promijenjenim uvjetima potrebno je, u nekim slučajevima učestalo dodavati nove količine mikroorganizama, što značajno poskupljuje postupak. Izolacijom kataboličkih enzima kao što su hidrolaze iz prilagođenih organizama moguće je poboljšati detoksifikaciju tla (55). Pokazalo se, naime, da su ti enzimi stabilni, manje osjetljivi na promjene vanjskih uvjeta od živih organizama te da ne zahtijevaju kofaktore. Primjena ovako dobivenih enzima još je

predmet istraživanja kojima je cilj uspješno uklanjanje pojedinih skupina pesticida iz tla bez nakupljanja toksičnih međuprodukata.

## ZAKLJUČAK

Razgradnja prirodno nastalih organskih spojeva teče uglavnom paralelno s njihovom sintezom. S druge strane, mnogi sintetski organski spojevi koji se svojom građom značajno razlikuju od spojeva za koje već postoje razvijeni razgradni putovi, često se nepromijenjeni odlažu u okolišu. Nakupljanje velikih količina vrlo različitih kemijskih spojeva više ne može biti riješeno konvencionalnim metodama uklanjanja organskog otpada. Korištenje golemog razgradnog potencijala mikroorganizama već je dugo predmet istraživanja. Danas se smatra da je svaki biokemijski sintetiziran organski spoj potencijalno razgradljiv. Novosintetizirani spojevi, sada postojani, postat će vjerojatno razgradljivi u budućnosti kad mikroorganizmi koji su s njima u kontaktu, razviju odgovarajuće kataboličke enzime. Zadaća je istraživača izolirati organizme koji bi uspješno pojedinačno ili u zajednici s drugim organizmima mogli razgrađivati ksenobiotske spojeve. Potrebno je bolje razumijevanje razgradnih putova organskih spojeva kao i upoznavanje složenih odnosa koji su se kroz dugu evoluciju života na Zemlji stvarali s jedne strane između pojedinih organizama, a s druge strane između organizama i njihove životne sredine. Uspješne laboratorijske pokuse potrebno je proširiti na istraživanja na terenu uz daljnje usavršavanje opreme i metoda analize. Sigurno je da rezultati pojedinačnih istraživanja mogu pomoći razumijevanju procesa biološke razgradnje, no njezina primjena bit će omogućena tek ujedinjenim naporima znanstvenika i stručnjaka različitih profila, ponajprije mikrobiologa, kemičara i fizičara.

## LITERATURA

1. Maugh TH. Chemicals: how many are there? *Science* 1978; 199:162.
2. Hansch C, Kim D, Leo AJ, Novelino E, Silipo C, Vittorla A. Toward a quantitative comparative toxicology of organic compounds. *CRC Crit Rev Toxicol* 1989;19:185-226.
3. Fewson C.A. Biodegradation of xenobiotic and other persistant compounds: the causes of recalcitrance. *TIBTECH* 1988;6:148-53.
4. Leisinger T. Microorganisms and xenobiotic compounds. *Experientia* 1983;39:1183-91.
5. Jerina DM, Daly JW. Arene oxides: a new aspect of drug metabolism. *Science* 1974;185:573-82.
6. Fewson A. Biodegradation of aromatics with industrial relevance. U: Leisinger T, Cook AM, Hütter R, Nüesch J. ur. *Microbial Degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compounds*. London: Academic Press, 1981:141-79.

7. Parke DV. Activation mechanisms to chemical toxicity. *Arch Toxicol* 1987;60:5-15.
8. Alexander M. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science* 1981;211:132-8.
9. Faber D. Microbial degradation of recalcitrant compounds and synthetic aromatic polymers. *Enzyme Microbiol Technol* 1979;1:226-32.
10. Boethling RS, Alexander M. Effect of concentration of organic chemicals on their biodegradation by natural microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 1979;37:1211-6.
11. Philippi M, Schmid J, Wipf HK, Hütter R. A microbial metabolite of TCCD. *Experientia* 1982;38:659-61.
12. Horvath RS. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriol Rev* 1972;36:146- 55.
13. Dalton H, Stirling ID. Co-metabolism. *Phil Trans R Soc Lond* 1982;B 297:481-96.
14. Baughman GL, Paris DF. Microbial bioconcentration of organic pollutants from aquatic systems - a critical review. *CRC Crit Rev Microbiol* 1981;8:205-28.
15. Bollag JM, Loll MJ. Incorporation of xenobiotics into soil humus. *Experientia* 1983;39:1221-31.
16. Dagedy S. Microbial catabolism, the carbon cycle and environmental pollution. *Naturwissenschaften* 1978;65:85-95.
17. Evans W. C. Biochemistry of the bacterial catabolism of aromatic compounds in anaerobic environments. *Nature* 1977; 270:17-22.
18. Evans WC, Fuchs G. Anaerobic degradation of aromatic compounds. *Ann Rev Microbiol* 1988;42:289-317.
19. Clarke PH. The evolution of degradative pathways. U: Gibson DT, ur. *Microbial Degradation of Organic Compounds*. New York: Marcel Dekker, Inc. 1984:181-252.
20. Spain JC, Pritchard PH, Bourquin W. Effects of adaptation on biodegradation rates in sediment/water cores from estuarine and freshwater environments. *Appl Environ Microbiol* 1980;40:726-34.
21. Madsen EL, Sinclair JL, Ghiorse WC. In situ biodegradation: microbial patterns in a contaminated aquifer. *Science* 1991;252:830-3.
22. Atlas RM. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbial Rev* 1981;45:180-209.
23. Kobayashi H, Rittmann BE. Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environ Sci Technol* 1982;16:170-83.
24. Leahy JG, Colwell RR. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol Rev* 1990;54:305-15.
25. Haas D. Genetic aspects of biodegradation by *Pseudomonas*. *Experientia* 1989;39:1199-213.
26. Soeder CJ, Hegewald E, Kneifel H. Green microalgae can use naphthalenesulfonic acids as sources of sulfur. *Arch Microbiol* 1987;148:260-3.
27. Soeder CJ, Luther M, Kneifel H. Abbaupotential von Mikroalgen unter besonderer Berücksichtigung der Desulfonierung aromatischer Sulfosäuren. *Wasser-Abwasser GWF H1* 1988;129:28-31.
28. Cerniglia CE, Herbert RL, Szaniszlo PJ, Gibson DT. Fungal transformation of naphthalene. *Arch Microbiol* 1978; 117:135-43.
29. Cerniglia CE, Miller DW, Yang SK, Freeman JP. Effects of a fluoro substituent on the fungal metabolism of 1-fluoronaphthalene. *Appl Environ Microbiol* 1984;48:294-300.
30. Knackmuss HJ. Degradation of halogenated and sulfonated hydrocarbons. U: Leisinger T, Cook AM, Hütter R, Nüesch J, ur. *Microbial Degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compounds*. London Academic Press, 1981:189-212.
31. Slater JH, Bull AT. Environmental microbiology: biodegradation. *Phil Trans R Soc Lond* 1982;B297:575-97.

32. Grady CPL, Jr. Biodegradation: its measurement and microbiological basis. *Biotechnol Bioen* 1985;27:660-74.
33. Rozgaj R, Glancer-Šoljan M. Total degradation of 6-aminonaphthalene-2-sulphonic acid by a mixed culture consisting of different bacterial genera. *FEMS Microbiol Ecol* 1992;86:229-35.
34. Spain JC, Van Veld PA. Adaptation of natural microbial communities to degradation of xenobiotic compounds: effects of concentration, exposure time, inoculum and chemical structure. *Appl Environ Microbiol* 1983;45:428-35.
35. Wittauer DP. Biocoenosis and degradation in model waste-water treatment plants. *European J Appl Microbiol Biotechnol* 1980;9:151-63.
36. Somerville HJ. Mixed cultures in aerobic waste treatment. (I: Bushell ME, Slater JH, ur. *Mixed Culture Fermentations*. London: Academic Press, 1981:81-97.
37. Bliss PJ, Barnes D. Design basis for carbonaceous oxidation and nitrification in the activated sludge process. *Proc Biochem* 1979; Dec:22-33.
38. Jones GL. Microbiology and activated sludge. *Proc Biochem* 1976; Jan-Feb:3-24.
39. Eikelboom DH. Microscopic sludge investigation manual. TNO Research Institute for Environmental Hygiene, Delft, The Netherlands 1981.
40. Madoni P. Protozoa in waste treatment systems. (I: Megušar F, Gantar M, ur. *Perspectives in Microbial Ecology*. Proceedings of the Fourth International Symposium on Microbial Ecology. Ljubljana: Slovene Society for Microbiology, 1986:86-90.
41. Becker R-J, Huppe P, Wagner K, Hempel DT. Einsatz eines Suspensions Airlift Schlaufenreaktors zur reinigung problematischer Abwasser. *Chem Ing Tech* 1987;59:486-9.
42. Denac M, Dunn J. Packed- and fluidized-bed biofilm reactor performance for anaerobic wastewater treatment. *Biotechnol Bioeng*. 1988;32:159-173.
43. Goodloe JC, Kilsos HM, Meyers, Jr. AJ, Hubbard JS, Roberts RS. Anaerobic digestion of industrial activated aerobic sludge. (I: Tedder DW, Pohland FG, ur. *Emerging Technologies in Hazardous Waste Management III*. Washington, D.C: American Chemical Society, 1993:219-35.
44. Jobson A, McLaughlin M, Cook FD, Westlake DWS. Effect of amendments on the microbial utilization of oil applied to soil. *Appl Microbiol* 1974;27:166-71.
45. Rambeloarisoa E, Rontani JF, Giussti G, Duvnjak Z, Bertrand JC. Degradation of crude oil by a mixed population of bacteria isolated from sea-surface foams. *Mar Biol (Berlin)* 1984;83:69-81.
46. National Academy of Sciences. Oil in the sea - inputs, fates, and effects. Washington D.C. National Academy Press, 1985.
47. Walker JD, Petrakis L, Colwell RR. Comparison of the biodegradability of crude and fuel oils. *Can J Microbiol*. 1976; 22:598-602.
48. Bertrand JC, Rambeloarisoa E, Rontani JF, Giusti G, Mattei G. Microbial degradation of crude oil in sea water in continuous culture. *Biotechnol Lett* 1983;5:567-72.
49. Atlas RM. Stimulated petroleum biodegradation. *Crit Rev Microbiol* 1977;5:371-86.
50. Atlas RM, Busdosh M. Microbial degradation of petroleum in the arctic. (I: Sharpley JM, Kaplan AM, ur. *Proceedings of the 3rd International Biodegradation Symposium*. London: Applied Science Publishers Ltd, 1976:79-86.
51. Horowitz A, Atlas RM. Microbial seeding to enhance petroleum hydrocarbon biodegradation in aquatic arctic ecosystems. (I: T.A. Oxley, G. Becker, D. Allsopp, ur. *Proceedings of the 4th International Biodegradation Symposium*. London: Pitman Publishing Ltd, 1980:15-20.
52. Tagger S, Bianchi A, Julliard M, LePetit J, Roux B. Effect of microbial seeding of crude oil in seawater in a model system. *Mar Biol (Berlin)* 1983;78:13-20.
53. Atlas RM. Bioremediation of fossil fuel contaminated soil. (I: Hinchee R.E, Olfenbuttel R.F, ur. *In Situ Bioreclamation: Application and Investigations for Hydrocarbons and Contaminated Site Remediation*. Butterworth-Heinemann, 1991:14-32.

54. Fogarty AM, Tuovinen OH. Microbiological degradation of pesticide in yard waste composting. *Microbiol Rev* 1991;55:225-33.
55. Johnson LM, Talbot, Jr. HW. Detoxification of pesticides by microbial enzymes. *Experientia* 1983;39:1236-46.

### Summary

### ENVIRONMENTAL MICROBIAL DEGRADATION OF XENOBIOTICS

Biodegradation of naturally occurring organic compounds follows their synthesis. In contrast, man-made compounds, also known as xenobiotics, are often refractory to degradation. The main reason is that they cannot be recognized by naturally present organisms and therefore do not enter common metabolic pathways. The physical and chemical characteristics of the compounds, as well as environmental factors, may influence their biodegradability. Some compounds may be transformed only in the presence of another compound which appears as a carbon and energy source. Very often compounds are degraded sequentially through the activity of a series of different organisms. The main degraders in nature are microorganisms, mostly bacteria and some fungi. These organisms, due to their rapid rates of multiplication and great metabolic potential, are able to adapt to new substrates. Selection of degradative potent microorganisms and their successive adaptation to a naturally persistent compound might be a powerful means for environmental detoxification. Although numerous laboratory experiments have given positive results, very few are applicable on a large scale. It is necessary to select microorganisms or microbial communities capable of controlled degradation of persistent organic chemicals without their transformation to other, more hazardous compounds. Better understanding of metabolic pathways, for the biodegradation of specific organic compounds as well as more thorough knowledge of degrading microorganisms will make purposeful application of biodegradation possible.

#### Key terms:

biodegradation, co-metabolism, microbial cultures

#### Requests for reprints:

Dr R. Rozgaj  
Institute for Medical Research  
and Occupational Health  
2 Ksaverska St., POB 291  
41001 Zagreb, Croatia