
Marija Đukić

Uticaj zagađenja opušćima cigareta na populacije bakterija u zemljištu

Rad se bavi ispitivanjem uticaja zagađenja opušćima cigareta na mikroorganizme u zemljištu. Poređeno je dejstvo supstanci iz opušaka tradicionalnih i opušaka iQOS Heets cigareta na populacije bakterija u zemljištu nakon odlaganja opušaka u prirodu. Simulirajući prirodne uslove (sunčevu radijaciju i kišu), opušci su prvo zračeni UV lampom različitim intervalima zračenja, i nakon toga potopljeni u rastvor dH_2O koji je titrovani do pH 5. Dobijenim ekstraktom je prelivena zemlja, i potom praćena promena u različitim populacijama bakterija izolovanih iz te zemlje. Dobijeni rezultati pokazuju da se različite populacije bakterija smanjuju u zavisnosti od vrste opušaka (standardni ili Heets) i dužine zračenja. Zaključeno je da se u zemljištu nakon odlaganja opušaka ispuštaju različite koncentracije i supstance standardnih i Heets cigareta, kao i da vreme zračenja ima značajan uticaj na to koja će se supstanca i u kojoj meri osloboediti iz opuška u prirodnu sredinu.

Uvod

Prikupljanje i odlaganje otpada u životnu sredinu ima ogroman uticaj na živi svet. Otpad šteti okolini izazivajući zagađenje vazduha, vode i zemljišta, otrovni gasovi se ispuštaju u atmosferu, a opasne hemikalije odlaze u zemljište i podzemne vode. Među značajnijim zagađivačima životne sredine u prvim redovima nalaze se cigarete, koje pored zagađenja atmosfere duvanskim dimom, zagađuju i zemljište, kao posledica razlaganja opušaka tokom kojeg se oslobađaju toksične supstance. Procenjeno je da se prosečno

baci oko 150 opušaka na jednom kvadratnom kilometru za mesec dana, dok je u samo jednom danu sakupljeno 230 000 opušaka sa kalifornijskih plaža za vreme Dana čišćenja obale 2000. godine, što ih čini najrasprostranjenijim otpadom u svetu, stvarajući znatan ekološki, zdravstveni i ekonomski teret (Qureshi 2014; Novotny *et al.* 2009).

Poslednjih godina, u svetu je uspostavljena prozvodnja različitih, novih vrsta cigareta. Pored standardnih cigareta koje se zasnivaju na sageravanju duvana, upotrebljavaju se i cigarete koje koriste različite tehnologije za zagrevanje rasrtvora u kojima se nalazi nikotin u različitim koncentracijama ili za zagrevanje duvana, kao što to rade cigarete iQOS Heets. Smatra se da se zagrevanjem duvana oslobađaju mnogo niže koncentracije štetnih hemikalija koje se nalaze u duvanskom dimu, a da se korišćenjem tog proizvoda smanjuje rizik obolevanja od bolesti povezanih sa toksičnim dejstvom duvana. S druge strane, mnogi tvrde da za to nema dovoljno dokaza i da su Heets podjednako loše po zdravlje kao i obične cigarete (Lasseter *et al.* 2017).

Cigarete su izgrađene od stuba duvana, filtera i papira koji je omotan oko stuba duvana. Više od 3000 hemijskih supstanci su izolovane tokom nesagorevajuće prerade biljke duvana, a kada bacimo opušak, osim filtera i za njega vezanog ostatka duvana, odlažemo u životnu sredinu čitav niz opasnih supstanci među kojima su razni alkaloidi (nikotin, kotinin, nornikotin, miosmin, anatabin), teški metali (kadmijum, gvožđe, mangan, olovo, cink, bakar, kobalt), formaldehid, polonijum-210, katarn, amonijak i mnoge druge (Qureshi 2014).

Filteri cigareta su napravljeni od celulozo-acetata koji predstavlja najveći problem jer se jako teško razlaže u prirodi. Potrebne su dve godine da bi opušak cigarete u prirodi izgubio 37.8% prvobitne mase (Bonanomi *et al.* 2015).

Marija Đukić (2001), Zlatibor, Smreke 3,
učenica 2. razreda Užičke gimnazije

MENTOR: Nikola Mitović, student treće godine
Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Iako bionerazgradiv, celolozo-acetat je fotorazgradiv. Naime, ultraljubičasti zraci sunca posle dužeg vremena mogu da delimično degradiraju filtere cigareta. Gradivni materijali pak, nikad ne nestanu, ali postaju rastvorni u vodi ili zemljištu. Zračenjem celulozo-acetata u veštačkim uslovima UV lampom ($\lambda = 254.3$ nm) sa dodatkom TiO₂ i celulaze, degradacija je ubrazana. Posle sedam dana zračenja masa celulozo-acetata opadne za 8.7% (Jang *et al.* 2006; Novotny *et al.* 2009; Qureshi 2014.).

Bakterije su najmanji i najbrojniji mikroorganizmi u zemljištu. U samo jednom gramu zemlje se nalazi na milijarde bakterija. Neke vrste bakterija su jako osetljive na promene uslova u staništu i to rezultuje njihovim umiranjem, dok s druge strane, postoje bakterije koje ovakve promene podnose dobro (Burgges i Raw 1967).

Cilj ovog rada je ispitivanje dejstva opušaka cigareta tradicionalnih i novih iQOS Heets cigareta na populaciju bakterija u zemljištu, kao i poređenje i ispitivanje štetnosti opušaka po bakterijske populacije u zemljištu.

Materijal i metode

Procedure uzorkovanja, zračenja i tretiranja zemlje dizajnirani su da što bliže prikažu prirodne uslove. Za rad su korišćene bakterije izolovane iz zemlje, koja je uzorkovana u okolini Istraživačke stanice Petnica.

Određivanje količine opušaka. Brojčano je određena količina opušaka bačenih na površini od 1050 m² šume posle „Hills up“ festivala na Zlatiboru, kao i broj opušaka na livadi pored puta površine 670 m². Izračunata je srednja vrednost broja bačenih opušaka po kvadrartnom metru (Lozano-Rivas *et al.* 2015).

Uzorkovanje zemljišta. Iz okoline Istraživačke stanice Petnica uzeti su uzorci zemljišta sa dubine oko 5 cm pomoću špatula sterilisanih na plamenu. Zemljište je preneto u sterilnim posudama na ledu i čuvano zamrzivaču na temperaturi od -20°C.

Zračenje opušaka cigareta. Opušći standardnih i iQOS Heets cigareta ozračeni su UV lampom talasne dužine 275 nm u trajanju od 8, 12 i 24 h. Za svaki interval zračenja ozračena su po četiri opuška standardnih i po četiri opušaka Heets cigareta (Puls *et al.* 2011; Hosono *et al.* 2007).

Tretiranje zemlje i izolacija bakterija.

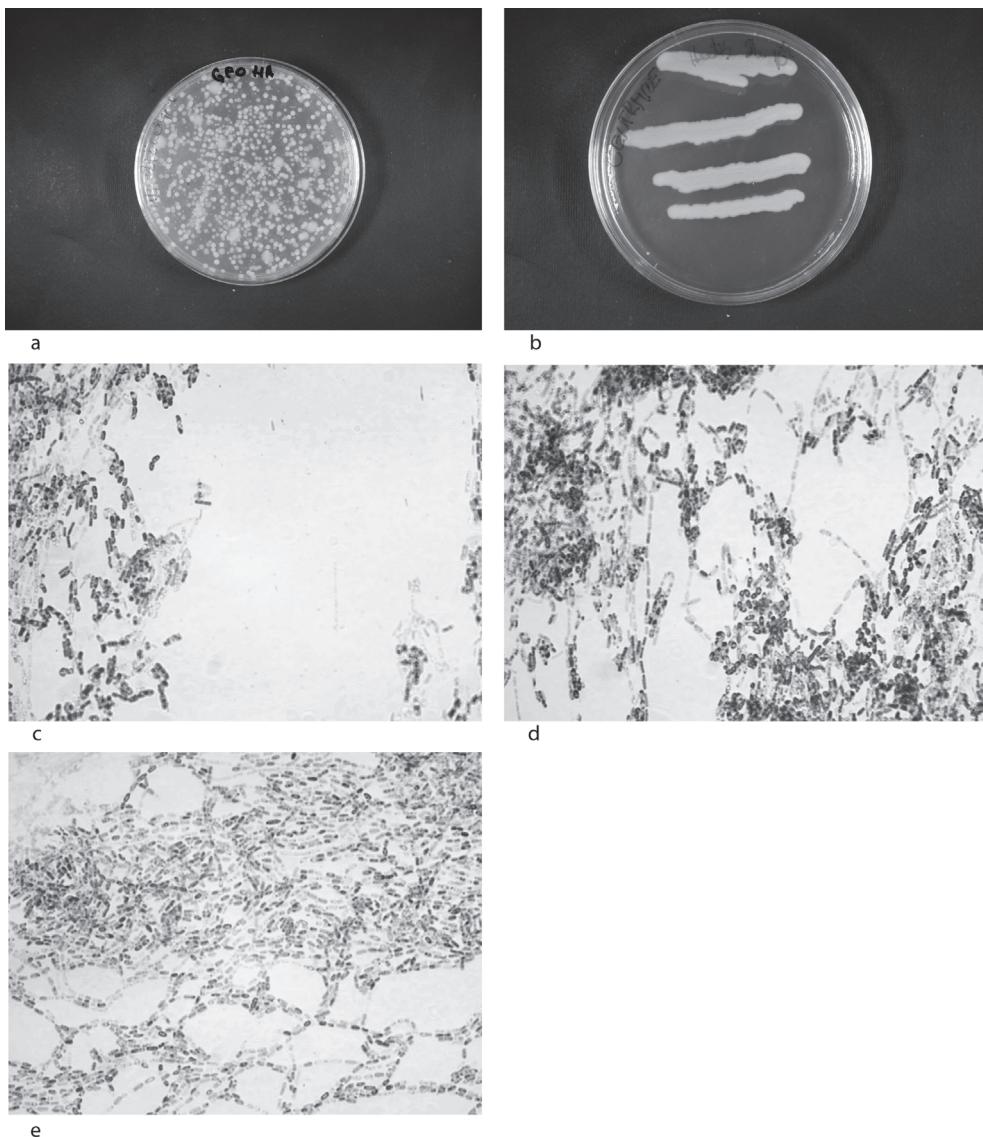
Prethodno ozračeni opušci (standardni i Heets) stajali su jedan dan u vodi na pH 5. Nakon filtriranja, uzorci zemlje preliveni su sa po 22 mL dobijenog ekstrakta. Takva zemlja je ostavljena da stoji još jedan dan. Iz svakog uzorka zemlje uzeto je po 1 g i pomešano sa 100 mL destilovane vode na 200-300 rpm na magnetnoj mešalici sat vremena. Napravljena su razblaženja od 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ i zasejana na neselektivne LB podloge. Bakterije su inkubirane preko noći i potom zasejane na NA čvrste podloge (Eichorst *et al.* 2007).

Gram-bojenje bakterijskih kolonija. Preparati za bojenje po Gramu su pripremljeni po standardnoj proceduri (Đukić i Mandić 2003).

Određivanje koncentracije metala pomoću atomskog apsorpcionog spektrometra (AAS). Iz osnovnog ratvora metala Mn, Fe, Zn, Cu, Pb, Cd, Co napravljeni su međurastvori koji su dalje korišćeni za pravljenje razblaženja svakog od navedenih metala po uputsvu za pripremanje standarda za AAS. Napravljeni su ekstrakti neozračenih opušaka po protokolu: 2 g filtera i 2 g ostatka duvana neozračenih opušaka potopljeno je u 100 mL destilovane vode. Procedura je ponovljena i sa Heets cigaretama. Opušci potopljeni u vodi stajali su jedan dan. Rađena je detekcija metala ekstrakta opušaka procedenih i centrifugiranih na 8000 G, 10 min na 10°C da bi se dobili čisti rastvori bez taloga. Ekstrakti od 100 mL tradicionalnih i Heets opušaka podeljeni su u po dva uzorka od 50 mL i rađena je detekcija metala iz svakog uzorka. Sprovedeno je merenje blanka za svako merenje različitih metala u uzorcima (Moerman i Potts 2011).

Rezultati

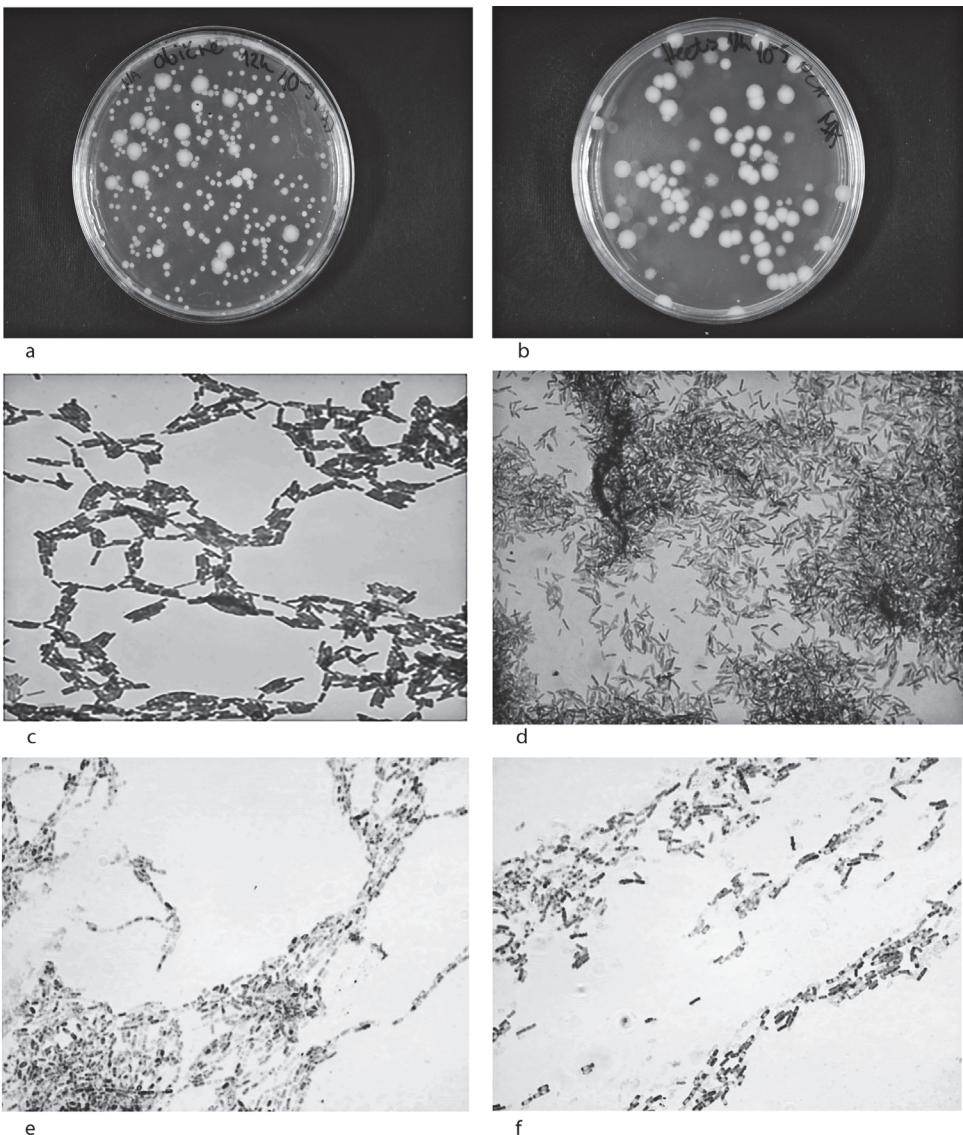
Koncentracije metala. Koncentracije metala u ekstraktima opušaka, određene atomskom apsorpcionom spektrometrijom, prikazane su u tabeli 1. Navedene su srednje vrednosti koncentracija sa procenama greške na nivou poslednje decimale. Rezultati AAS pokazuju da postoji razlika u koncentracijama metala koji su se nalazili u ekstraktima opušaka standardnih i Heets cigareta, ali zbog malog uzorka ne može se ništa pouzdano reći o značajnosti te razlike. Najizraženija razlika konstatovana je kod koncentracija mangana i cinka: kod Heets opušaka za 30% je niža.



Slika 1. Bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktima opušaka nakon izlaganja UV zračenju tokom 8 časova: a) kulture izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta; b) kultura *Pseudomonas* spp. izolovana iz zemljišta tretiranog ekstraktom Heets cigareta (razblaženje 10^{-4}); c) Gram-pozitivne bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta, kolonija 1; d) Gram-pozitivne bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta, kolonija 2; e) Gram-negativne bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta, kolonija 3.

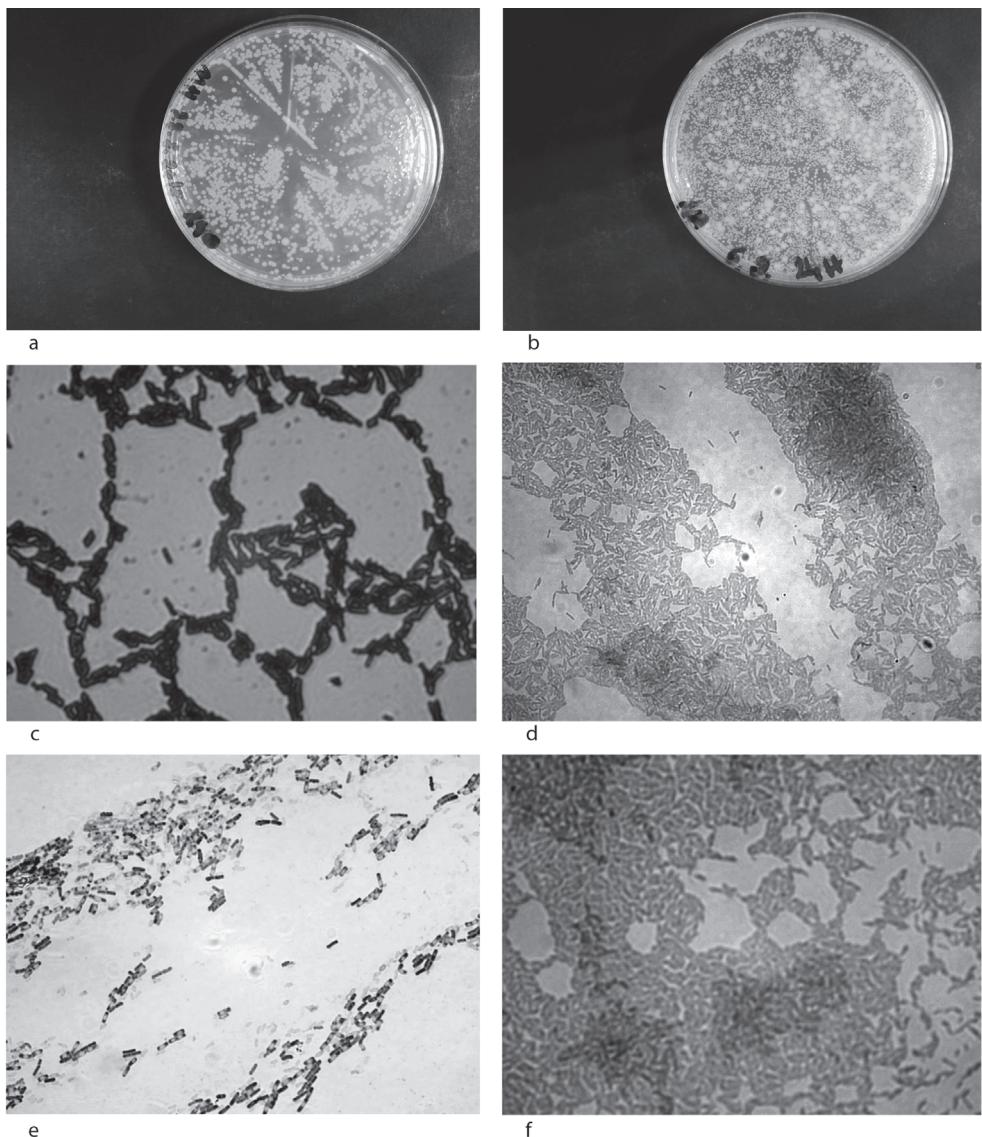
Snimci su napravljeni za razblaženje 10^{-6} (osim ako je drugačije naglašeno) i pri uvećanju 100 puta.

Figure 1. Bacteria isolated from soil treated with cigarette butt extracts which were exposed to UV light for 8 h: a) Bacterial cultures isolated from soil treated with standard cigarette extract; b) Bacterial culture *Pseudomonas* spp. isolated from soil treated with extract of iQOS Heets cigarette extract (dilution 10^{-4}); c) Gram-positive bacteria isolated from soil treated with standard cigarette extract, colony 1; d) Gram-negative bacteria isolated from soil treated with standard cigarette extract, colony 2; e) Gram-negative bacteria isolated from soil treated with standard cigarette extract, colony 3. Footage was made at 10^{-6} dilution (unless noted otherwise) and at $100 \times$ microscope magnification.



Slika 2. Bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktima opušaka nakon izlaganja UV zračenju tokom 12 časova: a) kulture iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta; b) kulture iz zemljišta tretiranog ekstraktom Heets cigareta; c) Gram-pozitivne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta; kolonija broj 1; d) Gram-pozitivne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom Heets cigareta, kolonija 1; e) Gram-negativne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta, kolonija 2 (razblaženje 10^{-4}); f) Gram-negativne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom Heets cigareta, kolonija 2.
Snimci su napravljeni za razblaženje 10^{-5} (osim ako je drugačije naglašeno) i pri uvećanju 100 puta.

Figure 2. Bacteria isolated from soil treated with cigarette butt extracts which were exposed to UV light for 12h: a) Bacterial cultures isolated from soil treated with standard cigarette extract; b) Bacterial cultures isolated from soil treated with iQOS Heets cigarette extract; c) Gram-positive bacteria from soil treated with standard cigarette extract, colony 1; d) Gram-positive bacteria isolated from soil treated with Heets cigarette extract, colony 1; e) Gram-negative bacteria isolated from soil treated with standard cigarette extract, colony 2 (10^{-4} dilution); f) Gram-negative bacteria isolated from soil treated with Heets cigarette extract, colony 2. Footage was made at 10^{-5} dilution (unless noted otherwise) and at 100 \times microscope magnification.



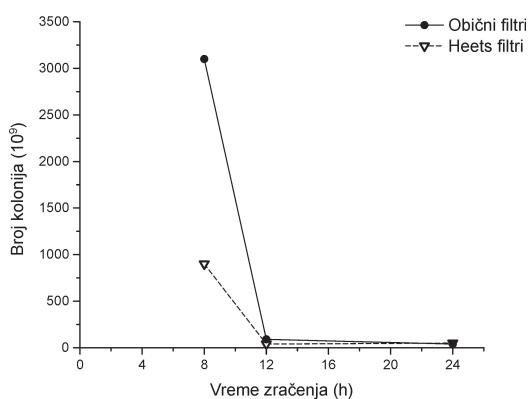
Slika 3. Bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktima opušaka nakon izlaganja UV zračenju tokom 24 časa: a) kulture izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta; b) kulture iz zemljišta tretiranog ekstraktom Heets cigareta; c) Gram-pozitivne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta, kolonija 1; d) Gram-pozitivne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom Heets cigareta, kolonija 1; e) Gram-negativne bakterije iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih cigareta, kolonija 2; f) Gram-negativne bakterije izolovane tretiranog ekstraktom Heets cigareta, kolonija 2.
Svi snimci su napravljeni za razblaženje 10^{-4} i pri uvećanju 100 puta.

Figure 3. Bacteria from soil treated with cigarette butt extracts which were exposed to UV light for 24 h;
 a) Bacterial cultures isolated from soil treated with standard cigarette extract; b) Bacterial cultures isolated from soil treated with iQOS Heets cigarette extract; c) Gram-positive bacteria isolated from soil treated with standard cigarette extract, colony 1; d) Gram-positive bacteria isolated from soil treated with Heets cigarette extract, colony 1; e) Gram-negative bacteria isolated from soil treated with standard cigarette extract, colony 2; f) Gram-negative bacteria isolated from soil treated with Heets cigarette extract, colony 2.
 Footage was made at 10^{-4} dilution and at 100 \times microscope magnification.

Tabela 1. Koncentracije metala u ekstraktima opušaka

Metal	Konzentracija (mg/L)	
	Standarni opušci	Heets opušci
Mn	2.17(9)	1.552(1)
Fe	0.31(1)	0.276(1)
Zn	0.323(1)	0.227(6)
Cu	0.23(1)	0.19(1)
Pb	ispod granica detekcije	
Cd	ispod granica detekcije	
Co	ispod granica detekcije	

Analiza izolovanih kultura. Na slikama 1, 2 i 3 prikazane su bakterijske kulture izolovane iz tretiranog zemljišta. Primećeno je da su se, u zavisnosti od tipa cigareta i dužine zračenja, razvile različite kolonije bakterija. Kolonije su označene brojevima 1, 2 i 3 (slika 1a) za bakterije izolovane iz zemljišta tretiranog ekstraktom standardnih opušaka ozračenih 8 h, dok se iz zemlje tretirane ekstraktom Heets opušaka ozračenih 8 h razvila samo jedna bakterijska kultura koja je kasnije identifikovana kao *Pseudomonas* spp (slika 1b). Slično su označene i bakterijske kulture izolovane iz zemlje tretirane ekstraktima standardnih i Heets opušaka ozračenih 12 h (slika 2) i 24 h (slika 3).



Slika 4. Grafik zavisnosti broja bakterijskih kolonija po mL od sati zračenja opušaka cigareta

Figure 4. Graphical dependence of number of bacterial colonies on hours of UV radition of cigarette butts

Brojnost bakterijskih populacija. Bakterijske kolonije su obeležene na petri šljajama i izbrojane, a zatim je izračunat broj bakterijskih populacija u 1 mL. Dobijeni rezultati su prikazani na grafiku (slika 4). Na osnovu brojanja pokazano je da je na početku tretamana ekstraktom standardnih opušaka ozračenih 8 h bilo oko $3000 \cdot 10^9$ bakterijskih kolonija, dok je nakon tretmana ekstraktom Heets opušaka bilo oko $1000 \cdot 10^9$ bakterijskih kolonija. Kako se broj sati zračenja povećava, primetan je pad u brojnosti bakterijskih kolonija kod oba tretmana na približno $100 \cdot 10^9$ bakterijskih kolonija.

Diskusija

Ovaj rad pokazuje da se iz standardnih i Heets opušaka, pod uticajem vode i UV zračenja, oslobođaju metali u različitim koncentracijama. Kao što je već pokazano u radu J. W. Moerman (2011), iz opušaka koji su tokom jednog dana bili potpopljeni u destilovanu vodu najviše se oslobođilo mangana. Takođe, detektovane su visoke koncentracije Zn, Fe i Cu. Kod standardnih opušaka se cink osloboodi u najvišoj koncentraciji odmah posle mangana koji je pokazao statistički značajno povećanje koncentracije, dok kod Heets opušaka, posle mangana najviše se oslobođi gvožđa. Olovo nije registrovano i nalazi se ispod granice detekcije, kao i kadmijum za koji je već pokazano u radu Moermanove i Pottsove (2011) da ne može biti detektovan nakon jednog dana rastvaranja opušaka u vodi. Odstupanja su takođe dobijena kod cinka. Prema radu Moermanove i Pottsove (2011) gvožđe se kod standardnih cigareta ispusti u višim koncentracijama nego cink, dok je ovde to obrnuto u slučaju standardnih opušaka cigareta.

Na prikazanim slikama izolovanih bakterija iz zemlje tretirane ekstraktima standardnih i iQOS Heets opušaka (slike 1, 2 i 3), može se videti smenjivanje raznih bakterijskih kultura u odnosu na vremena zračenja. U radu Micevske i saradnika (Micevska *et al.* 2005) pokazana je različita osetljivost gram-negativne bakterije *V. fischeri* na različite koncentracije toksičnih materija iz opušaka. Gram-negativne bakterije su tolerantnije na toksične supstance iz opušaka nego Gram-pozitivne, dok su selektivne grupe kao što su Azotobacter ili nitritifikacione bakterije posebno osetljive na zagađenje teškim metalima. Doelman i Haanstra (1979) su otkrili Gram-ne-

gativne bakterije koje su otporne na olovo, a Barkay *et al.* (1985) su otkrili populacije *Pseudomonas* spp. u muljevitom zemljištu sa povećenom koncentracijom kadmijuma. Shodno različitim odstupanjima u kulturama, kako kod Gram-pozitivnih, tako i kod Gram-negativnih bakterija, teški metali oslobođeni u našim eksperimentima mogu se dovesti u vezu sa varijabilnim prisustvom kolonija, što je dokazano tokom prethodnih istraživanja. Samim tim, potrebno je detaljnije i pojedinačno ispitati koji od metala dovodi do izvesnih promena u tipu i broju kolonija, u zavisnosti od koncentracija i odnosa tokom razgradnje opušaka. Takođe, dalja ispitivanja su neophodna i u cilju utvrđivanja značajno visokih koncentracija mangana, naročito kod standarnih opušaka.

Iako kadmijum nije detektovan, može se pretpostaviti da je on ipak prisutan, jer je u zemljištu tretiranom ekstraktom 8 h zračenih Heets opušaka uticao na rast dominantne vrste *Pseudomonas* spp., koji je najosetljiviji na dejstvo kadmijuma. U radu Viškovske i saradnika (Wyszkowska *et al.* 2007) pokazano je da su najtoksičniji metali za bakterijske zajednice kadmijum, bakar, olovo, cink i hrrom, što bi moglo da znači da su upravo detektovani olova i cinka imali najveći uticaj na ostale bakterijske populacije. Takođe, ako bi se poredio i uticaj zračenja obe vrste opušaka na bakterije, može se primetiti da sa produžavanjem vremena zračenja više rastu populacije otpornijih bakterija na toksične supstance iz opušaka, tj. populacije Gram-negativnih bakterija.

Na prikazanom grafiku (slika 4) smanjenje rasta kolonija približno je isto i kod oba tipa opušaka sa povećanjem dužine zračenja. To može sugerisati na povećeno oslobađanje štetnih supstanci iz opušaka sa povećanjem zračenja. Kod tretmana Heets opušcima prvo je zabeležen rast bakterijskih kultura *Pseudomonas* spp., zatim je došlo do smanjenja bakterijskih populacija, i među njima nije bio prisutan *Pseudomonas* (slike 2b i 3 b).

Zaključak

Na osnovu smanjenja broja bakterijskih kolonija proporcionalno dužini zračenja opušaka, možemo pretpostaviti da osetljivost bakterijskih populacija u zemlji na toksične supstance iz opuška zavisi od vrste bakterija i njihove otpornosti, kao i od koncentracije supstanci koje se

ispuste u zemlju. U našem radu se takođe primećuje da i zračenje, odnosno stepen razgradnje opušaka, ima bitan uticaj na smenjivanje dominatnih bakterijskih kolonija izolovanih iz zemlje.

Rezultati pokreću neka pitanja i dileme kao što je razlika u koncentracijama teških metala i ostalih otrovnih supstanci standardnih i iQOS Heets opušaka koja se ogleda u razvijanju različitih bakterijskih kolonija u odnosu na vrste opušaka i dužinu zračenja, pogotovo kada je mangan u pitanju. Duže zračenje opušaka, kao i detaljniji uvid u sepratnom uticaju toksičnih supstanci iz opušaka na bakterije, mogu biti samo neka od pitanja budućih istraživanja. Takođe, determinisanje opušaka biohemski i tačno određivanje koncentracije alkaloida, celulozo-acetata i drugih toksičnih supstanci, uz preciznu identifikaciju vrsta i podvrsta bakterija iz zemljišta mogu biti samo neke od odrednica budućih istraživanja.

Literatura

- Burges A., Raw F. 1967. *Soil Biology*. London: Academic Press
- Barkay T., Tripp S. C., Olson B. H. 1985. Effect of metal-rich sewage sludge application on the bacterial communities of grasslands. *Applied and Environmental Microbiology*, **49**: 333.
- Lozano-Rivas W. A., Bonilla Cortés R. A., Salinas Caicedo A., Flórez Ramírez L., Campos Rodríguez V. M. P., Manrique Rodríguez A., Jaimes R. A. 2015. Quantification of cigarette butts littered to the streets and sidewalks in dance clubs and pub areas in Bogota D.C. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, **2** (11): 69.
- Doelman E., Haanstra L. 1979. Effects of lead on the soil bacterial microflora. *Soil Biology and Biochemistry*, **11**: 487.
- Đukić D. A., Mandić L. 2003. *Praktikum iz mikrobiologije*. Novi Sad: Stilos
- Bonanomi G., Incerti G., Cesaran G., Gaglione A. S., Lanzotti V. 2015. Cigarette butt decomposition and associated chemical changes assessed by ¹³C CP/MAS NMR. *Plos One*, **10** (1): e0117393.
- Jang J., Lee H. S., Lyoo W. S. 2007. Effect of UV Irradiation on Cellulase Degradation of Cellulose Acetate Containing TiO₂. *Fibers and Polymers*, **8**: 19.

- Puls J., Wilson A. S., Hölder D. 2011. Degradation of cellulose acetate-based materials: A review. *Journal of Polymers and the Environment*, **19**: 152.
- Moerman J. W., Potts G. E. 2011. Analysis of metals leached from smoked cigarette litter. *Tobacco Control*, **20**: 30.
- Hosono K., Kanazawa A., Mori H., Endo T. 2007. Photodegradation of cellulose acetate film in the presence of benzophenone as a photosensitizer. *Journal of Applied Polymer Science*, **105**: 3235.
- Novotny T., Lum K., Smith E., Wang V., Barnes R. 2009. Cigarette butts and the case for an environmental policy on hazardous cigarette waste. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **6** (5): 1691.
- Eichorst A. S., Breznak A. J., Schmidt M. T. 2007. Isolation and characterization of soil bacteria that define *Terriglobus* gen. nov., in the phylum Acidobacteria. *Applied Environmental Microbiology*, **73** (8): 2708.
- Kazi T. G., Jalbani N., Arain M. B., Jamali M. K., Afzidi H. I., Sarfraz R. A., Shah A. Q. 2008. Toxic metals distribution in different components of Pakistani and imported cigarettes by electrothermal atomic absorption spectrometer. *Journal of Hazardous Materials*, **163** (1): 302.
- Micevska T., Warne M. St. J., Pablo F., Patra R. 2005. Variation in, and causes of, toxicity of cigarette butts to a cladoceran and microtox. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **50** (2): 205.
- Lasseter T., Bansal P., Wilson T., Miyazaki A., Wilson D., Kalra A. 2017. Scientists describe problems in Philip Morris e-cigarette experiments. *Reuters*, December 20, 2017.
<https://www.reuters.com/article/us-tobacco-iqos-science-specialreport/specialreport-scientists-describe-problems-in-philip-morris-e-cigarette-experimentsidUSKBN1EE1GG>.
- Qureshi U. 2014. Interpreting environmental risks of cigarette butt litter at Novia University of Applied Sciences-Campus Raseborg. Degree thesis for a bachelor of natural resources. Degree program in sustainable coastal management Raseborg
- Wyszkowska J., Boros E., Kucharski J. 2007. Effect of interactions between nickel and other heavy metals on the soil microbiological properties. *Plant, Soil and Environment*, **53** (12): 544.

Marija Đukić

The Effect of Cigarette Butt Pollution on Bacterial Populations in Soil

This paper examines the impact of cigarette butt pollution on soil microorganisms. The effects of disposed traditional cigarettes and iQOS Heets cigarettes on the bacterial populations in soil were compared. Simulating natural conditions (solar radiation and rain), cigarette butts were first irradiated with a UV lamp at different radiation intervals and then immersed in a dH₂O solution that was titrated to pH 5. Soil was watered with the obtained extract and that was followed by changes in different bacterial populations isolated from that soil. The obtained results show that different populations of bacteria change depending on the type of cigarette (standard or Heets) and depending on the length of radiation. It was concluded that different concentrations and substances of standard and Heets cigarettes are released into the soil after the cigarette has been disposed of, and that the irradiation time has a significant effect on which substance and to what extent it will be released from the cigarette butt into the natural environment.