

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

ZEOLITI KAO NOSAČI BAKTERIJA U FUNKCIJI PROČIŠĆAVANJA
OTPADNIH VODA

ZEOLITES AS CARRIERS OF BACTERIA IN THE FUNCTION OF
WASTEWATER TREATMENT

SEMINARSKI RAD

Luka Polović

Preddiplomski studij Znanosti o okolišu

(Undergraduate Study of Environmental Sciences)

Mentori: izv. prof. dr. sc. Jasna Hrenović i doc. dr. sc. Tomislav Ivanković

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. ZEOLITI.....	2
2.1. Struktura i tipovi zeolita	2
2.2. Zeoliti kao nosači bakterija.....	3
2.3. Zeoliti kao nosači teških metala i fosfata	4
2.4. Zeolit A.....	5
2.5. Klinoptilolit	7
3. BAKTERIJE KAO FIKSATORI FOSFATA	8
3.1. Biofilmovi na biočesticama	9
3.2. Negativni utjecaji na bakterije u reaktorima.....	10
4. ZAKLJUČAK	12
5. LITERATURA.....	13
6. SAŽETAK.....	15
7. SUMMARY	16

1. UVOD

U zadnjih nekoliko desetljeća dolazi do povećanog ispuštanja zagađivala u okoliš. Razlog tome je povećana industrijalizacija, potreba za hranom koja uzrokuje rast poljoprivrede te povećan protok energije. Veliki udio tih zagađivala čine teški metali te mineralne soli koje se koriste kao gnojiva u poljoprivredi. U ovome radu detaljnije će biti obrađeni fosfati, te teški metali kao što su cink, bakar i nikal.

Fosfati su skupina soli i aniona koji sadržavaju fosfor. Takve soli su često u okolišu mjerodavni element te mogu utjecati, odnosno ograničavati rast bakterija, biljaka i algi. Kao mjerodavni element oni predstavljaju tvar koja često nedostaje u rastu biljaka, te se kao takva nadomještava, odnosno koristi u poljoprivredi kao gnojivo. Prekomjerno ispuštanje fosfata može dovesti do prekomjernog rasta. Na primjer, prekomjerni rast algi dovodi do cvjetanja mora, što ima mnoge negativne utjecaje na prirodnu ravnotežu. Također utječu na površinske vode, smanjujući im vrijednost za čovjeka (Hrenović, 2011.).

Povećava se potreba za teškim metalima, zbog njihove primjenjivosti i ubrzane industrijalizacije. Teški metali već u malenim količinama imaju izrazito štetan utjecaj na čovjeka i prirodu. Utjecaj teških metala se često ne primjećuje dok ne uzrokuje teške posljedice, jer imaju sposobnost bioakumulacije, što s vremenom dovodi do raznih poremećaja i deformacija kod ljudi i životinja (Bryan i Langston, 1992.).

Postoji mnogo metoda kojim se navedena zagađivala izoliraju iz okoliša, preciznije, vode, no jedan od načina kojim se mogu izolirati je bioremedijacija zeolitima i fosfat - akumulirajućim bakterijama (eng. PAB – Phosphate Accumulating Bacteria) (Hrenović, 2011.). Zeoliti posjeduju svojstvo vezanja teških metala i fosfata, te omogućavaju PAB formiranje biofilmova (Hrenović i sur. 2005.). Te bakterije su važne jer uvelike ubrzavaju izolaciju navedenih zagađivala, a koriste se u raznim oblicima pročišćivača voda.

Cilj ovog rada je prikazati efikasnost pročišćavanja voda od fosfata i teških metala korištenjem zeolita i bakterijskih biofilmova, te navesti faktore, svojstva i uvjete zbog kojih bi taj oblik bioremedijacije bio isplativ i treba li se više koristiti kao način terciarnog pročišćavanja otpadnih voda.

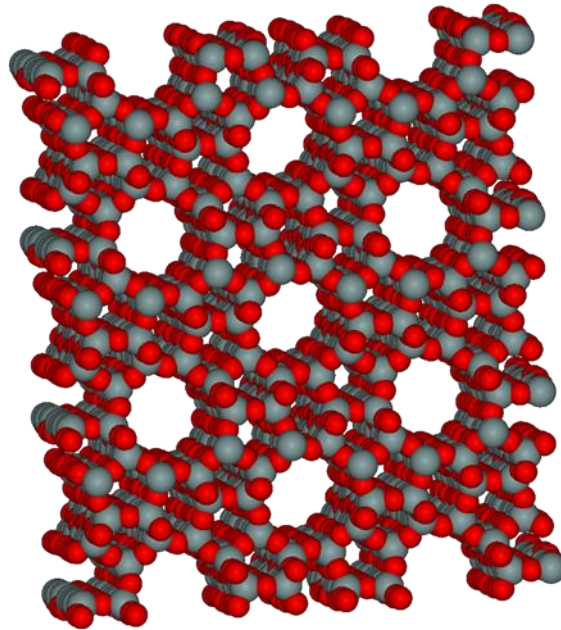
2. ZEOLITI

Pojam zeolit sjedinjava mnoštvo minerala sličnih svojstava. Postoji preko 50 tipova prirodnih zeolita, kao što su analcim, kabazit, heulandit, natrolit, fillipsit, stilbit i najvažniji za ovaj rad, klinoptilolit koji je detaljnije opisan kasnije u radu. Ukoliko uračunamo i umjetno stvorene zeolite, taj broj raste preko 200. Prirodni zeoliti (NZ) se pojavljuju kao prirodni minerali u izmijenjenim bazičnim magmatskim stijenama i tufovima, očvrnulim vulkanskim pepelima procesima alteracije, dijageneze i niskog stupnja metamorfizma (<http://www.lenntech.com/zeolites.htm>). Vade se u velikim otvorenim kopovima, ili se mogu proizvoditi kemijskom sintezom kao Zeolit A (Hrenović i sur., 2010.). Svaki od tih minerala iz skupine zeolita varira po fizikalno-kemijskim svojstvima. Gustoća čestica, selektivnost kationa, veličina pora, i čvrstoća su samo neka od svojstava koja se mogu razlikovati ovisno o kojem je zeolitu riječ. Važno je znati tip zeolita u upotrebi kako bi se zadovoljile potrebe onoga koji ga koristi. Zeoliti imaju širok spektar upotrebe, mogu se koristiti u petrokemijskoj i nuklearnoj industriji, u proizvodnji bioplina, te imaju mnoga komercijalna svojstva. Također se koriste u medicini za proizvodnju kisika, upravo zbog svoje strukture koja omogućava filtriranje molekula (<http://asdn.net/asdn/chemistry/zeolites.php>). Zbog mikroporne strukture, korišten u prikladnom okolišu, zeolit može poslužiti kao odličan pročišćivač viška nutrijenata, te održavati ionsku ravnotežu voda.

2.1. Struktura i tipovi zeolita

Zeoliti su trodimenzionalne, mikroporne, kristalne krutine s dobro definiranim strukturama koje sadržavaju aluminij, silikate i kisik u svojim standardnim okvirima, te katione i vodu koji su smješteni u porama. Samo se kationi odgovarajuće veličine mogu smjestiti u pore, kalij, kalcij, natrij i magnezij. Navedeni kationi su lako zamjenjivi drugim ionima iz otopine. Kod zeolita atomi aluminija i silicija su međusobno tetraedarno koordinirani preko atoma kisika (<http://asdn.net/asdn/chemistry/zeolites.php>). Kompozicijski, zeoliti su slični mineralima glina te su obje skupine minerala alumo-silikati, no razlikuju se po kristalnoj strukturi. Mnogi tipovi glina imaju uslojenu kristalnu strukturu, poput složenih karata, te su predmet smanjivanja i bubrenja ovisno o uklanjanju ili dovođenju vode među slojeve. U kontrast tome, zeoliti imaju rigidnu trodimenzionalnu kristalnu strukturu sličnu pčelinjem saću meda. Takva struktura se sastoji od mreže međusobno povezanih tunela i kaveza. Kao što je

ranije u ovom radu navedeno, zeoliti mogu služiti kao molekularni filteri, a razlog tome je što su kanali unutar zeolita uniformni. Zbog njihove regularne i predvidljive strukture, lako ih je sintetizirati. Često se koriste kao adsorbensi, te u ovom slučaju najvažnije, koriste se u održavanju čistoće voda jer na sebe vežu amonijeve ione, nitrate, nitrite, fosfate, pri čemu otpuštaju navedene izmjenjive katione. Razlog tome je upravo njihovo mikroporno svojstvo koje je uzrokovano specifičnom molekularnom strukturom kao što je to prikazano na Slici 1.



Slika 1. Molekularna struktura zeolita koja mu daje filtracijska i adsorbativna svojstva (preuzeto s: <https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/736x/d6/d5/fb/d6d5fb8ba18c4421a83bf541fc091a09.jpg>).

2.2. Zeoliti kao nosači bakterija

Kao što je ranije navedeno, zeoliti mogu poslužiti kao mineralni nosači bakterija. Njihovo svojstvo kao nosača bakterija ovisi o mnoštvu faktora, kao što je maseni udio klinoptilolita, kvarca, kalijevih feldspata i drugih mineralnih frakcija. Zatim su važne dimenzije čestica koje mogu biti u frakcijama otprilike od 0,125 mm do 1 mm, kao i mikroorganizam koji će se na njih imobilizirati, te svojstvo koje će izvršavati (Hrenović i sur., 2009.). Kao modelni organizam se koriste bakterije iz roda *Acinetobacter*, jer je dokazano kako neke vrste iz tog roda kao što je *Acinetobacter junii* imaju jednu od glavnih uloga u uklanjanju fosfata iz otpadnih voda (Ivanković i sur., 2013.). Maseni udio klinoptilolita predstavlja važnu ulogu u imobilizaciji bakterija na zeolit, te malene razlike mogu uvelike mijenjati tu mogućnost.

Bakterije su nasađivane na zeolit iz Srbije, koji je sadržavao 75% klinoptilolita, te na zeolit iz Turske koji je sadržavao 70% klinoptilolita, kao i na prirodni betonit. Utvrđeno je kako se bakterije najbolje vežu, odnosno najviša je koncentracija imobiliziranih bakterija na zeolitu iz Turske (Hrenović i sur., 2009.). Također je za nosača važna količina kationa, kao i njegov zeta potencijal. Povećanjem masenog udjela Mg^{2+} kationa na zeolitu, porastao je broj bakterija koje se imobiliziraju na površini čestice zeolita, te je fiksacija fosfata povećana. Razlog tome je pristup većoj količini Mg^{2+} čime se ubrzava metabolizam imobiliziranih PAB. Također je promijenjen zeta potencijal. Zeta potencijal je elektrokinetički potencijal u koloidnim disperzijama, te označava razliku električnog potencijala na površini neke tvari. Mjerenjem zeta potencijala (mV) dobivamo uvid u stabilnost suspenzije. Promjenom masenog udjela Mg^{2+} na površini zeolita povećan je zeta potencijal, nakon čega se veća količina PAB imobilizirala. Povećanjem zeta potencijala uvećava se razlika naboja između negativno nabijene *A. junii* i pozitivno nabijene površine zeolita, što smanjuje odbojne sile pri imobilizaciji (Hrenović i sur., 2009.).

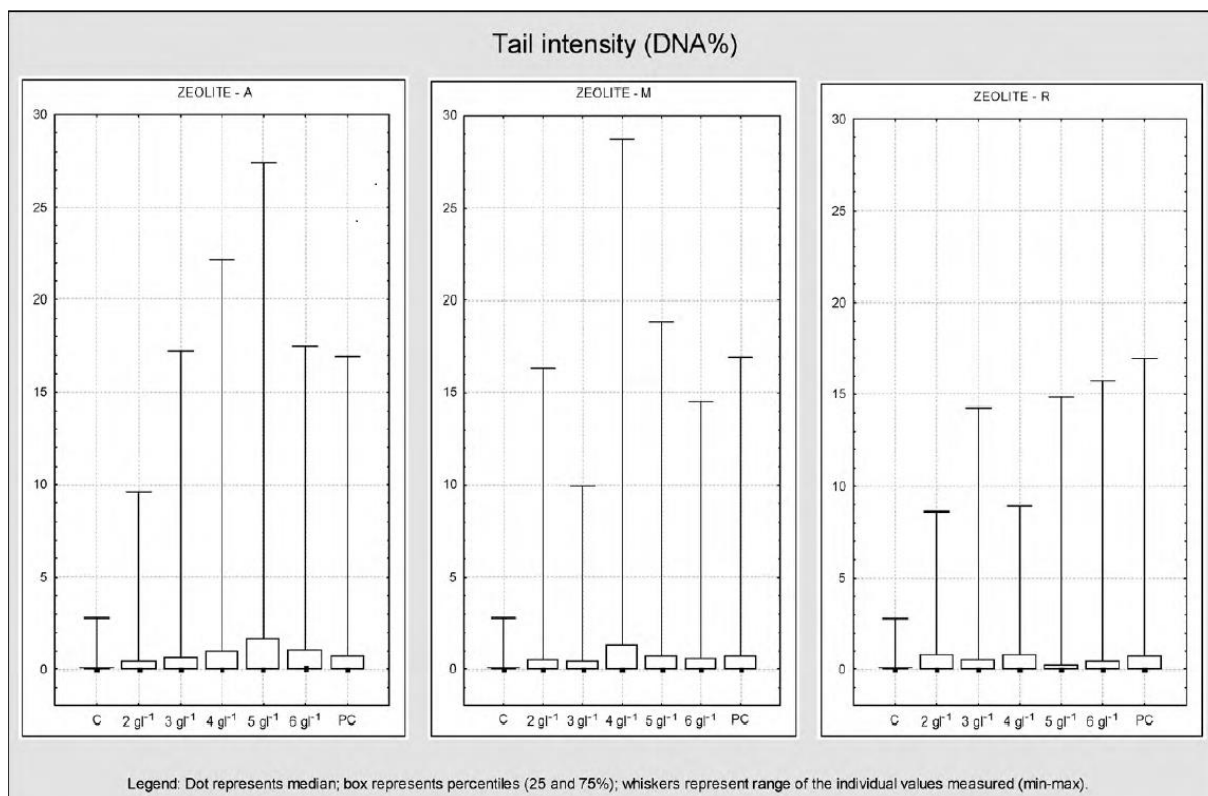
2.3. Zeoliti kao nosači teških metala i fosfata

Zeoliti mogu služiti kao fiksatori teških metala u dvije svrhe. Ciljanom kemijskom reakcijom, u njihovu strukturu mogu biti ubačeni teški metali kako bi dobili antimikrobna svojstva, ili mogu služiti kao izolatori teških metala iz otpadnih voda. U ulozi zeolita kao nosača teških metala, vrlo je važno njihovo svojstvo slabo vezanih izmjenjivih kationa, kao i njihov maseni udio na mineralu. Razlog tome je što se povećanjem masenog udjela kationa, olakšava njihovo izbijanje, i zamjena teškim metalima. Uzet je NZ iz rudnika Zlatokop u Srbiji. Navedeni NZ sadržava 70% klinoptilolita, te vrlo visoku koncentraciju natrijevih iona. Kupanjem tog NZ u više otopina raznih metalnih klorida ($NiCl_2$, $CuCl_2$ i $ZnCl_2$) izbijen je natrij iz molekula NZ, te ubačen metal koji se nalazio u otopini. Tako dobiveni zeoliti su imali antimikrobno djelovanje, odnosno dokazano je kako su zeoliti sa cinkom i bakrom uspješno suzbijali bakterije u supernatantima dok su nanočestice s niklom imale slabije djelovanje. Slično djelovanje su takvi zeoliti imali na protiste, no u tom slučaju je zeolit sa cinkom slabije djelovao na njihovo suzbijanje (Hrenović i sur., 2012.). Upravo zbog svojstva zamjene kationa iz zeolita sa teškim metalom iz vode, takvi zeoliti se mogu koristiti u pročišćavanju voda. Navedeno svojstvo može imati negativnih ili nikakvih utjecaja, pošto bi previsoki maseni udio kationa kod zeolita, utjecao na nastanak kisikovih radikala u vodi, čineći ju potencijalno otrovnijom, no, ukoliko

zeolit ima niski maseni udio iona, to ga čini inertnim, odnosno ne dolazi do izmjene kationa i teškog metala.

2.4. Zeolit A

Zeolit A je jedan od najčešće upotrebljivanih sintetskih zeolita. Kristalna jedinica Zeolita A se može opisati formulom: $48 \text{ Na}_2\text{O} \times 48 \text{ Al}_2\text{O}_3 \times 96 \text{ SiO}_2 \times 216 \text{ H}_2\text{O}$. Negativan naboj takvog okvira se kompenzira natrijevim kationima. Njegova proizvodnja u Europi prelazi 600 000 tona godišnje, te on kao i ostali minerali skupine zeolita ima široku upotrebu, ali se najviše koristi u proizvodnji detrdženata. No postavlja se pitanje, je li zeolit A podoban kao podloga za bakterije, te može li sa bakterijama formirati biočestice. Istraživanje na hrčcima, štakorima i majmunima nije pokazalo nikakve dokaze da zeolit A uzrokuje ikakva oštećenja na genima, niti je imalo kancerogen za Metazoa, kao ni za neke prokariote (Hrenović i sur. 2010.). Zeolit A je matreijal koji se ne može biodegradirati, ali posjeduje svojstvo akumulacije u okolišu kao što su vode i sediment, no do sada se nije dokazao njegov direktan štetni utjecaj na okoliš, čemu je vjerojatno uzrok činjenica da se i dalje malo zna o tom umjetno stvorenom spoju. Toksičnost zeolita A ovisi o njegovoj topivosti u vodi, te je to na primjeru bakterije *Acinetobacter junii* i kvasca *Saccharomyces cerevisiae* i dokazano. Naime, pri proizvodnji zeolita A dolazi do malenih, ali zamjetljivih varijeteta u odnosima količine tvari. Broj atoma unutar kemijske formule može varirati uslijed promjene uvjeta pri sintezi, što ne mijenja njegovu strukturu, no može mijenjati topljivost. U interakciji zeolita A s vodom iz njega se luče aluminij i silikati, hidroliziraju njegovi kristali, te se oslobađaju amorfni alumosilikati. Količina oslobođenih tvari ovisi o kemijskoj i faznoj kompoziciji zeolita A. Toksičnost zeolita A nije intenzivna, no može se vidjeti direktan utjecaj na *A. junii* i *S. cerevisidae* tako što se pri malenim koncentracijama zeolita A inhibira rast navedenih organizama i njihovih populacija, a pri većim koncentracijama dolazi do odumiranja navedenih organizama (Hrenović i sur., 2010.). Iako mehanizam štetnosti zeolita A kao takav nije još u potpunosti poznat, odnosno njegova biokemija nije dovoljno istražena, zna se kako zeolit A utječe na gene prokariota i jednostaničnih eukariota, odnosno može biti genotoksičan. To je potvrđeno elektroforezom gena kvasca *S. cerevisidae* izloženom zeolitu A. Naime pri komet testu, vidljivo je kako je povećan intenzitet repa, što upućuje na povećanu količinu oštećenja gena. (Slika 2.)



Slika 2. Distribucija individualnih vrijednosti intenziteta repa mjerenih kod stanica kvasca izloženim trima uzorcima zeolita A (A, M i R) u rasponu koncentracije od 2.0 do 6.0 g l⁻¹ i odgovarajuća negativna (C) i pozitivna kontrola (PC; 10 μM vodikovog peroksida). Parametri alkalnog komet eseja su ovjereni mjerenjem 200 kometa po uzorku (preuzeto iz: Hrenović i sur., 2010.).

2.5. Klinoptilolit

Klinoptilolit je mineral iz skupine zeolita, te kao pripadnik te skupine također ima tetraedarsku trodimenzionalnu strukturu koju tvore alumo-silikati, voda, kisik i razni kationi (<http://www.iza-online.org/natural/Datasheets/Clinoptilolite/clinoptilolite.htm>). Klinoptilolit je prirodni mineral koji se vadi u otvorenim kopovima diljem svijeta, te se jedan od tih rudnika nalazi u Hrvatskoj. U radu je već navedena široka primjena klinoptilolita, no ono što je specifično je da se klinoptilolit često koristi kao aditiv prehrani ili se ubacuje u akvarij, također postoje neki dokazi koji upućuju na djelovanje klinoptilolita protiv tumora (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11434724>). Iako široka primjena klinoptilolita još uvijek nije u potpunosti istražena, po dosadašnjim istraživanjima, može se vidjeti kako klinoptilolit ima mnoga blagotvorna svojstva, kao što je vezanje teških metala i toksina. U ovom slučaju je klinoptilolit važan pošto predstavlja direktnu vezu između količine klinoptilolita u zeolitu i sposobnosti adsorbiranja i nošenja bakterija. Kemijska formula klinoptilolita je $(\text{Na}_2, \text{K}_2, \text{Ca})_3 \text{Al}_6\text{Si}_{30}\text{O}_{72} \times 24 \text{H}_2\text{O}$ (<https://www.britannica.com/science/clinoptilolite>).

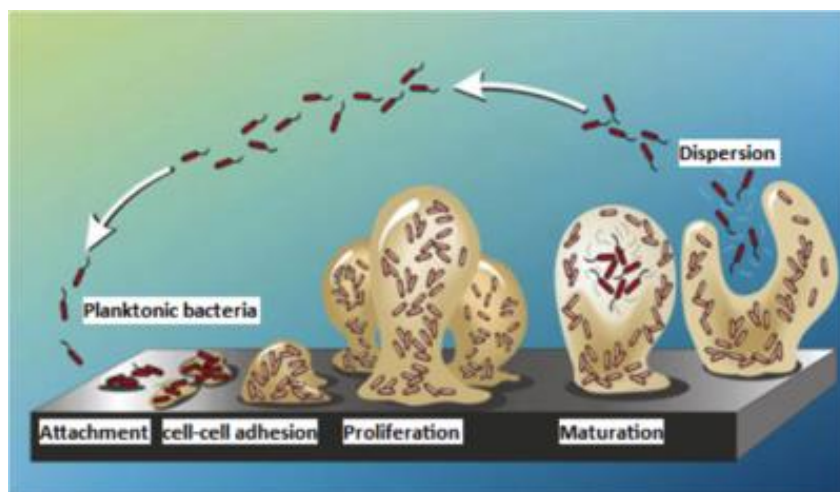
Po formuli se može vidjeti razlika između klinoptilolita i zeolita A, u klinoptilolitu je odnos aluminija i silicija 1:5, dok je kod sintetičkih zeolita taj odnos 1:1. To predstavlja jedno od važnih svojstava jer kod sintetičkih zeolita dolazi do lučenja određenih elemenata u vodi, što ga čini blago toksičnim, dok se to kod klinoptilolita ne događa te je time klinoptilolit odličan nosač mikroorganizama.

3. BAKTERIJE KAO FIKSATORI FOSFATA

Ranije su opisani razlozi za potrebom fiksacije viška fosfata. Radi se o mjerodavnom elementu koji ograničava rast, i ukoliko se u prevelikim količinama nađe u okolišu može potaknuti prekomjernu produkciju, točnije, oligotrofni okoliši mogu postati eutrofni. Jedni od najvećih izvora fosfata u okolišu su komunalne i industrijske vode (Hrenović, 2011.). Diljem svijeta gradi se sve više postrojenja za pročišćavanje otpadne vode prije ispuštanja u okoliš. Upravo zbog toga su takva postrojenja najprikladnije mjesto gdje započeti fosfata iz vode. To se radi nasadivanjem, bioaugmentiranjem i dohranjivanjem takvih sustava. Naime, postoji mnoštvo raznih vrsta bakterija koje su odlični organizmi za fiksaciju fosfata. Modelni organizam za taj oblik prehrane je *Acetivobacter junii*. Razlog tome je što se ta bakterija prirodno pojavljuje u aktivnom mulju, te ga nije potrebno bioaugmentirati. Također, ta bakterija se lagano uzgaja na hranjivoj podlozi što ju čini idealnim kandidatom za istraživanja (Ivanković i sur., 2013.). Navedena bakterija nije najbrojniji fiksator fosfata u aktivnom mulju, ali konzumira najviše fosfata po jedinki (Hrenović i sur., 2005.). Razlog tome je što navedena bakterija akumulira fosfate u obliku netopivih polifosfatnih granula. Navedene granule se uklanjaju iz sustava uklanjanjem aktivnog mulja (Hrenović, 2011.). Nadalje, problem se pojavljuje kada govorimo o stabilnosti sustava. Stabilnost sustava u pročišćivaču voda ovisi o mnogo elemenata, kao što su godišnje doba, količina vode koja protječe, oblici polutanata (može se raditi o teškim metalima, antibioticima, hormonima i drugima), varijacije u pH, temperaturi i količini kisika, kao i sama interakcija među organizmima koji žive u aktivnom mulju, a čiji odnos može biti predatorski i/ili antagonistički (Ivanković i sur., 2013.). Problem fosfata je rješiv ukoliko se riješe idući problemi: koji organizam iskoristiti kao dobrog fiksatora fosfata, da može preživjeti u navedenim uvjetima i kako omogućiti tom organizmu preživljavanje i pri najvećim fluktuacijama. Rješenje tog problema se potencijalno nalazi u biofilmovima, bakterijskim tvorbama na odgovarajućim površinama. Bakterije se vežu na površinu te izlučuju ekstracelularni mukus, što im nudi dodatnu zaštitu, a kao tvar odgovarajuće površine su minerali iz skupine zeolita (Ivanković i sur.,2013.).

3.1. Biofilmovi na biočesticama

Već neko vrijeme se pojavljuje problem imobilizacije bakterija na nosače, a interes za imobilizacijom bakterija na nosače se pojavio jer je to dobar oblik pročišćavanja otpadnih voda. Imobilizacijom bakterija na nosače, njihova brojnost, a time i fiksacija fosfata se uvelike uvećavaju, također cijeli sustav postaje stabilniji, odnosno, bakterije postaju otpornije na razne fluktuacije u reaktoru pročišćivača (Hrenović i sur., 2005.). Imobilizacijom nastaju takozvane biočestice, odnosno nosači bakterija raznih dimenzija, prekriveni biofilmom određenih bakterija (Slika 3.). Nosači bakterija mogu dolaziti u puno oblika, svojstava i dimenzija. Najboljim nosačem su se pokazali zeoliti zbog svoje porozne strukture i velike površine, a povećanu imobilizaciju su pokazali zeoliti sa povećanom koncentracijom kationa magnezija (Hrenović i sur. 2005.). Kao nosači su isprobani razni supstrati kao što su prirodni zeolit, prirodni zeolit obogaćen magnezijem, kvarcni pijesak (Hrenović i sur., 2005.), glina (Hrenović i sur., 2003.), sintetski zeolit A koji je dokazano neutralan ili toksičan ovisno o mikroorganizmu i prirodni zeoliti obogaćeni metalima kao što su cink, bakar i nikal. Prirodni zeoliti obogaćeni metalom ili nanočesticama teških metala (eng. Metal Oxide Nano Particles, MONP), nisu bili dobri nosači, zapravo su se pokazali kao vrlo efektivni dezinficijensi (Hrenović i sur., 2012.). Zeolit koji je obogaćen cinkom se pokazao kao dobar dezinficijens i dobar fiksator fosfata, te je na temperaturi od 338 K vršio sorpciju od 37% fosfata iz suspenzije (Stojaković i sur., 2011.). No kao najbolja podloga za nastanak biofilma bakterije *Acinetobacter calcoaceticus* se pokazao prirodni zeolit obogaćen magnezijem. Takav zeolit se dobiva i tretiranjem prirodnog zeolita otopinom $MgCl_2$. Time se u strukturu zeolita, koja je mikroporozna, te sadržava katione u porama ubacuje povećani broj kationa, u ovome slučaju magnezija (Hrenović i sur., 2005.). Također, pokazalo se kako zeoliti sa povećanom koncentracijom kationa, na primjeru magnezija, imaju povećanu sposobnost za prihvaćanje i izolaciju fosfata iz sustava. Povećana koncentracija magnezija je pokazala povećani potencijal za sorpciju fosfata, što je dovelo do povećanog metabolizma, a samim time i povećani broj imobiliziranih stanica (Hrenović i sur. 2009.). Ovi primjeri nam daju dobru sliku o mogućnostima i raznolikostima kao i o potencijalnim prilagodbama zeolita, njihovih iona, i biofilmova sustavu u kojem trebaju djelovati s obzirom na tvar koju trebaju uklanjati.



Slika 3. Prikaz ciklusa bakterija u biofilmu (preuzeto s:

<https://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/8/84/Biofilm.png/400px-Biofilm.png>).

3.2. Negativni utjecaji na bakterije u reaktorima

Kao što je ranije navedeno, ekološki uvjeti u bioreaktorima su ekstremni i često nestabilni. To se može odnositi na pH, temperaturu, razne dezificijense, teške metale i predatore. Kao protumjeru na navedene negativne utjecaje, bakterije mogu stvarati biofilmove koji im pružaju zaštitu, no samo ukoliko imaju odgovarajuće nosače. Jedni od obećavajućih nosača bakterija su zeoliti. U odnosu na planktonske bakterije, bakterije u biofilmu na nosaču su puno zaštićenije od različitih nepovoljnih ekoloških čimbenika. Na primjeru modelnog organizma za uklanjanje fosfora, fosfat-akumulirajuće bakterije *Acetivobacter junii* je prikazan utjecaj pH, dezificijensa benzalkonij klorida (BAC), te predatorstva Protozoa na planktonsku populaciju i populaciju u biofilmu (Ivanković i sur. 2013.).

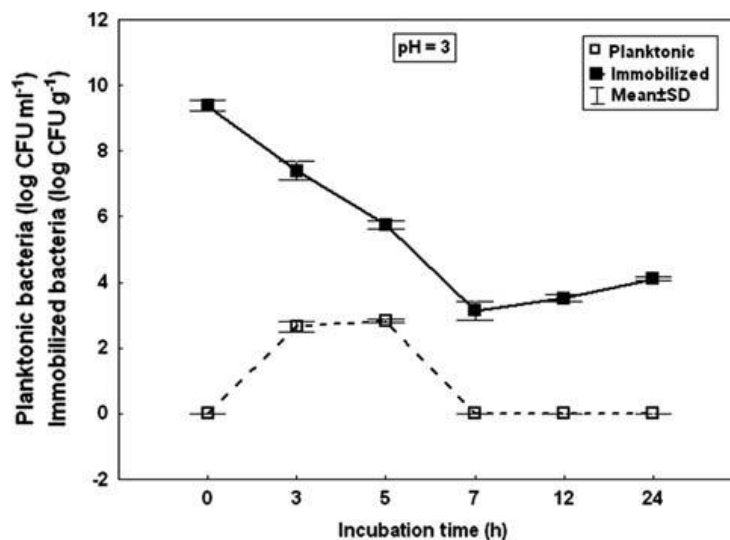
Naime, idealna pH za navedenu vrstu je 7, no u bioreaktorima pH može varirati od 2 do 10. U sustavu gdje su samo planktonske jedinice *A. junii*, ukoliko je pH od 6 do 10, populacija i dalje raste, no na pH 5 počinje padati. Nakon što se u sustav ubace biočestice s *A. junii*, normalan rast populacija se vidi i pri pH 4, dok tek na pH 3 populacija počinje degradirati (Slika 4.), a na pH 2 u potpunosti nestaje.

Slična stvar se događa i kod unošenja BAC-a u sustav. BAC je kationski surfaktant koji je toksičan za bakterije, te planktonsku populaciju uklanja već pri niskim koncentracijama. No ukoliko se u sustav ubace biočestice, ili čestice NZ, bakterije je gotovo nemoguće ukloniti, odnosno, populacija bi se vratila nakon tretiranja vrlo visokim koncentracijama BAC-a. Također je objavljena studija koja govori da za neke vrste bakterija treba ubaciti 100 do 1000

puta veće koncentracije BAC-a da ih ubije, u odnosu na planktonski oblik (Ivanković i sur. 2013.).

Kao zadnji primjer mogu poslužiti interakcije s drugim organizmima. Ukoliko biofilm na nosaču, uz *A. junii* tvori još neki prokariot, njihova interakcija je neutralna, odnosno nema smetnje ni prednosti u razmnožavanju, kao i potrošnji fosfata. Zanimljiv je odnos sa Protozoa, koji su predatori na bakterijama. Naime, Protozoa, u ovom slučaju vrste *Paramecium caudatum* i *Eurytemora affinis* se hrane heterotrofnim bakterijama kao što je *A. junii*. No preferiraju isključivo planktonske jedinke, što znači kako su u biofilmovima jedinke *A. junii* zaštićene (Ivanković i sur. 2013.).

Na ova tri primjera možemo vidjeti kako, ukoliko imamo dobrog nositelja na kojemu bakterija može oblikovati biofilm, uvelike štitimo tu bakteriju od raznih negativnih utjecaja, odnosno, ona se štiti sama biofilmom, te donosi stabilnost populacije u odnosu na fluktuacije.



Slika 4. Gustoća planktonskih i imobiliziranih bakterija u reaktorima sa početnom vodom, i početnim pH 3, promatrana 24h nakon dodavanja biočestica (preuzeto iz: Ivanković i sur., 2013.).

4. ZAKLJUČAK

Bakterije imobilizirane na zeolitima se pokazuju kao vrlo jeftino i efektivno rješenje za zbrinjavanje viška fosfata, no to je samo jedan od mnogo primjera korištenja zeolita. Njihova široka upotreba pokazuje koliko su primjenjivi ne samo u čišćenju voda, već u industriji, komercijalnoj upotrebi, prehrani, medicini i mnogim drugim područjima upotrebe. Sama raznolikost govori o mogućnostima upotrebe, gdje će zeolit obogaćen magnezijem biti odličan fiksator fosfora i podloga za biofilm, a s druge strane zeolit obogaćen teškim metalom će biti odličan dezinficijens. Isto vrijedi i za bakterije, veliki broj varijabli i mogućnosti govori o njihovoj širokoj prilagodljivosti primjeni. Korištenje zeolita u čišćenju voda uvjetovano je različitim elementima kao što su kvaliteta vode, mjerodavna tvar, tip bakterije, otpornost organizma odgovarajući nosači i mnogi drugi, ali ti elementi ne ograničavaju, već pružaju mogućnost za široko i precizno djelovanje.

5. LITERATURA

- Bryan, G. W., Langston, W. L., 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution* 76, 89-131.
- Hrenović, J. 2011. Bakterije odgovorne za biološko uklanjanje fosfata iz otpadnih voda. Hrvatske vode 77, 195-200.
- Hrenović, J., Ivanković, T., Tibljaš, D. 2009. The effect of mineral carrier composition on phosphate-accumulating bacteria immobilization. *Journal of Hazardous Materials* 166, 1377-1382.
- Hrenović, J., Milenković, J., Daneu, N., Matoničkin-Kepčija, R., Rajić, N. 2012. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles supported onto natural clinoptilolite. *Chemosphere* 88, 1103-1107.
- Hrenović, J., Tibljaš, D., Büyükgüngör, H., Orhan, Y. 2003. Influence of Support Materials on Phosphate Removal by the Pure Culture of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Food Technology and Biotechnology* 41, 331-338.
- Hrenović, J., Tibljaš, D., Orhan, Y., Büyükgüngör, H. 2005. Immobilisation of *Acinetobacter calcoaceticus* using natural carriers. *Water SA* 31, 261-266.
- Hrenović, J., Željezić, D., Kopjar, N., Sarpola, A., Bronić, J., Sekovanić, L. 2010. Antimicrobial activity of commercial zeolite A on *Acinetobacter junii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Hazardous Materials* 183, 655-663.
- Ivanković, T., Hrenović, J., Matoničkin-Kepčija, R. 2013. Resistance of bioparticles formed of phosphate-accumulating bacteria and zeolite to harsh environmental conditions. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research* 29, 641-649.

Stojaković, D., Hrenovic, j., Mazajc, M., Rajić, N. 2011. On the zinc sorption by the Serbian natural clinoptilolite and the disinfecting ability and phosphate affinity of the exhausted sorbent. *Journal of Hazardous Materials* 185, 408-415.

<http://asdn.net/asdn/chemistry/zeolites.php>, pristupljeno 14. rujna 2016.

<https://www.britannica.com/science/clinoptilolite>, pristupljeno 12. rujna 2016.

<http://www.iza-online.org/natural/Datasheets/Clinoptilolite/clinoptilolite.htm>, pristupljeno 14. rujna 2016.

<http://www.lenntech.com/zeolites.htm>, pristupljeno 14. rujna 2016.

<https://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/8/84/Biofilm.png/400px-Biofilm.png>, pristupljeno 12. rujna 2016.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11434724>, pristupljeno 14. rujna 2016.

<https://s-media-cache>

<ak0.pining.com/736x/d6/d5/fb/d6d5fb8ba18c4421a83bf541fc091a09.jpg>, pristupljeno 12. rujna 2016.

6. SAŽETAK

U svijetu dolazi do sve većeg ispuštanja otpadnih voda. Razlog tome je rast svjetske populacije i ubrzana industrijalizacija. Kao protumjera zagađenja uzrokovano razvitkom ljudske civilizacije, traže se nove, učinkovite i isplative metode pročišćavanja voda. Kao jedan od mnogo rezultata takvih protumjera, nastala je metoda pročišćavanja voda bakterijama imobiliziranim u biofilmove na minerale zeolita. Ovaj rad govori o potencijalu korištenja takve metode za pročišćavanje voda, o njenim prednostima i nedostacima, kao i što pokušava obuhvatiti širinu mogućnosti i varijabli koje utječu na rezultate. U ovom radu se govori o fosfatima jer su fosfati jedan od najraširenijih oblika zagađivala diljem svijeta. Također se govori o organizmima koji su adekvatni za uklanjanje fosfata iz vode, konkretno o fosfat – akumulirajućim bakterijama iz roda *Acinetobacter*, te o raznim mineralima iz skupine zeolita koji bi potencijalno služili kao dobra podloga za imobilizaciju navedene bakterije.

7. SUMMARY

In the world there is an increasing discharge of waste water. The reason for this is the growth of world population and rapid industrialization. As a countermeasure for pollution caused by the development of human civilization, there is a search for new, efficient and cost-effective methods of purifying water. One of the many results of such countermeasures, was development of the method of purifying water with immobilized bacteria in biofilms on mineral zeolite. This article talks about the potential of using such a method for the purification of water, and also talks about its advantages and disadvantages, as well as trying to cover the breadth of capabilities and variables that affect the results. This paper discusses the phosphates as they are the one of the most widespread pollutants worldwide. Also discussed are the organisms that are adequate for removing phosphate from the water, in particular the bacteria of the genus *Acinetobacter*. Paper also discusses various minerals from the group of zeolites which could potentially serve as a good surface for said bacteria.