Upotreba gljiva u obradi otpadnih voda

Magdić, Marko

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:932428

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Marko Magdić

Upotreba gljiva u obradi otpadnih voda

završni rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Završni rad

Upotreba gljiva u obradi otpadnih voda

Naziv nastavnog predmeta

Osnove biotehnologije

Predmetni nastavnici: doc. dr. sc. Natalija Velić

izv. prof. dr. sc. Vinko Krstanović

Student:	Marko Magdić	(MB: 3619/12)
Mentor:	doc. dr.sc. Natalija Velić	
Predano (datum):	**25. rujna 2015.**	
Pregledano (datum):	**14. listopada 2015.**	

Ocjena: **Potpis mentora:**

Upotreba gljiva u obradi otpadnih voda

Sažetak:

Kao posljedica razgradnje organskih spojeva tijekom konvencionalnih aerobnih postupaka obrade otpadnih voda nastaju značajne količine aktivnog mulja. Obrada i odlaganje viška aktivnog mulja predstavlja veliki ekološki i financijski problem. Obradom otpadnih voda pomoću gljiva dobiva se pročišćena voda i biomasa gljiva koja, za razliku od primarno bakterijske biomase aktivnog mulja, ima veliku proteinsku vrijednost te ju je značajno lakše izdvojiti od pročišćene vode i dehidrirati nakon izdvajanja. Osim biomase, tijekom procesa obrade, ovisno o uvjetima vođenja procesa, mogu nastati i drugi korisni metaboliti gljiva koji se mogu naknadno izdvojiti. Gljive sintetiziraju velik broj unutarstaničnih i izvanstaničnih enzima koji im omogućuju razgradnju strukturno različitih i teško biorazgradljivih spojeva koji su prisutni u otpadnim vodama kao onečišćenje. Obrada otpadnih voda pomoću gljiva koja uključuje istovremeno dobivanje korisnih produkata zanimljiva je alternativa konvencionalnim postupcima obrade. Ipak, nedovoljno poznavanje ponašanja (kinetike rasta) gljiva u umjetno konstruiranim ekosustavima, poput uređaja za obradu otpadnih voda, čini ovu tehnologiju još uvijek teško primjenjivom u velikom mjerilu.

Ključne riječi: aktivni mulj, biorazgradnja, gljive, onečišćujuće tvari, otpadna voda

Use of Fungi for Wastewater Treatment

Summary:

Conventional biological wastewater treatment generates large amounts of activated (sewage) sludge as a result of organic compounds biodegradation. The treatment and the disposal of this excess sludge is a major environmental and financial problem. Fungal wastewater treatment results in improved and purified water and fungal biomass that potentially has a much higher protein value compared to mostly bacterial biomass of activated sludge. Furthermore, the separation and dewatering of fungal biomass is much easier. Apart from the biomass, valuable fungal metabolites (by-products) may be synthesized during the wastewater treatment process, depending on the process conditions, and isolated afterwards. Fungi synthesize a large number of intracellular and extracellular enzymes that enable biodegradation of structurally diverse, recalcitrant pollutant compounds present in wastewater. Fungal wastewater treatment for concomitant pollutant degradation and by-product recovery is an interesting alternative to conventional wastewater treatment methods. However, more research is needed to establish a better understanding of fungal systems (e.g. growth kinetics) in constructed ecosystems (such as the wastewater treatment plants) which makes full-scale-up of this technology difficult.

Keywords: activated sludge, biodegradation, fungi, pollutant, wastewater

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 3

2.1. GLJIVE 3

2.2. BIOLOŠKA OBRADA OTPADNIH VODA 5

2.3. GLJIVE U OBRADI OTPADNIH VODA 8

2.3.1. Gljive u konvencionalnoj obradi otpadnih voda 8

2.1.1. Obrada otpadnih voda pomoću biomase gljiva 9

3. ZAKLJUČAK 14

4. LITERATURA 15

1. UVOD

Mikrobne zajednice temelj su biološke razgradnje različitih organskih onečišćujućih tvari u otpadnim vodama, neovisno radi li se o procesima samopročišćavanja vodenih ekosustava ili o uređajima za biološku obradu otpadnih voda, koji su primjer konstruiranih ekosustava. Pri tome su bakterije najodgovornije za uklanjanje, odnosno razgradnju onečišćujućih tvari, ali i sve druge prisutne vrste svojom aktivnošću doprinose učinkovitosti pročišćavanja otpadnih voda. Tijekom konvencionalnih aerobnih postupaka obrade otpadnih voda (tzv. tehnologija aktivnog mulja) kao posljedica razgradnje organskih spojeva nastaje velika količina mikrobne biomase, pri čemu se dio nastale biomase vraća u sustav, dok se višak nastale biomase (tzv. višak aktivnog mulja, otpadni mulj) treba na odgovarajući način zbrinuti. Po gramu uklonjene organske tvari izražene kao KPK (kemijska potrošnja kisika) vrijednost nastaje 0,4 g mikrobne biomase (Metcalf i Eddy, 1991). Obrada i odlaganje viška aktivnog mulja predstavlja veliki ekološki problem u mnogim zemljama (Weemaes i Verstraete, 1998.). Naime, troškovi obrade i zbrinjavanja viška mulja iznose 60% ukupnih troškova rada uređaja za obradu otpadnih voda (Canales i sur., 1994). Kako bi se smanjila količina nastalog mulja, često se provodi anaerobna digestija, odnosno stabilizacija mulja, pri čemu nastaje metan. Osim anaerobne obrade mulja, provodi se i anaerobna obrada otpadnih voda koje imaju visoko organsko opterećenje, jer pri anaerobnoj obradi nastaje značajno manje mikrobne biomase (anaerobnog mulja). Nedostatak anaerobne obrade otpadne vode i mulja je osjetljivost procesa na okolišne promjene i veliki troškovi vođenja procesa (Metcalf i Eddy, 1991).

Zbog sve veće svijesti o potrebi zaštite okoliša, zakonska regulativa vezana za obradu kako komunalnih, tako i industrijskih otpadnih voda stalno se pooštrava. Pri tome obrada otpadnih voda za industriju predstavlja veliko financijsko opterećenje. Obrada otpadnih voda pomoću gljiva, koja bi uključivala istovremeno dobivanje korisnih produkata stoga je zanimljiva alternativa konvencionalnim postupcima obrade.

Obradom jako opterećenih otpadnih voda pomoću gljiva dobiva se pročišćena voda i biomasa gljiva koja, za razliku od primarno bakterijske biomase aktivnog mulja, ima veliku proteinsku vrijednost te ju je puno lakše dehidrirati nakon izdvajanja. Ovisno o podrijetlu otpadne vode (npr. otpadna voda prehrambene industrije), nastala biomasa gljiva može se

upotrijebiti kao stočna hrana (Guest i Smith, 2002; Zheng i sur., 2005). Osim biomase, tijekom procesa obrade, ovisno o uvjetima vođenja procesa, mogu nastati i drugi korisni metaboliti gljiva. Važna karakteristika gljiva je njihova sposobnost brze prilagodbe metabolizma na različite izvore ugljika i dušika, što je još jedna prednost kod njihove upotrebe za obradu otpadnih voda. Ova sposobnost rezultat je djelovanja velikog broja unutarstaničnih i izvanstaničnih enzima koje gljive mogu sintetizirati i koji omogućavaju razgradnju niza strukturno različitih spojeva. Tako gljive, u usporedbi s bakterijama, pokazuju veću sposobnost iskorištavanja složenih ugljikohidrata poput škroba (van Leeuwen i sur., 2003) te složenih organskih spojeva poput aromatskih ugljikovodika, bojila, različitog organskog otpada i slično.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GLJIVE

Mikologija je jedna od prvih mikrobioloških znanosti i bavi se proučavanjem gljiva. Gljive ili fungi (jed. fungus) su posebna skupina organizama koja uključuje kvasce i plijesni te skupinu makroskopskih organizama, koje nazivamo mesnatim gljivama. Kirk i suradnici (2008) navode da je do sada identificirano i dobro opisano oko 99 000 vrsta gljiva, ali se smatra da je ukupan broj gljiva nekoliko desetaka puta veći. Gljive su eukariotski, nefotosintetički, heterotrofni organizmi čija je stanica obavijena staničnom stijenkom izgrađenom od polisaharida hitina. Zajedno s bakterijama sudjeluju u razgradnji organskih tvari u okolišu. Zbog njihove izrazite biokemijske aktivnosti i metaboličke raznolikosti imaju važnu komercijalnu primjenu u mnogim gospodarskim granama kao što je biotehnološka proizvodnja hrane (pivo, vino, fermentirani mliječni proizvodi), proizvodnja antibiotika, enzima, polisaharida, vitamina, proteina, ali i u zaštiti okoliša gdje se koriste u bioremedijaciji (Borrás i sur., 2008.). Neke gljive su opasne po zdravlje ljudi jer uzrokuju infektivne bolesti ili sintetiziraju sekundarne metabolite koji su snažni toksini (mikotoksini) (Duraković, 1996.)

Klasifikacija gljiva. Veliko carstvo Fungi općenito se dijeli na četiri velika razdjela Gymnomycota, Deuteromycota, Mastigomycota i Amastigomycota, koji se dalje dijele u podrazdjele, razrede, redove, porodice, rodove i vrste. Za identifikaciju i klasifikaciju gljiva potrebno je poznavati način razmnožavanja gljiva, tip micelija (morfologija hifa) te nastanak staničnih struktura (vrsta spora) U **Tablici 1.** prikazane su odabrane značajke glavnih skupina gljiva koje pripadaju razredima *Ascomycetes, Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*, *Zygomycetes* i *Oomycetes*.

Morfologija gljiva. Iako gljive mogu biti jednostanične, većina ih je višestanična. Pojedinačne stanice gljiva su promjera od 1 do 30 µm. Mikroskopske gljive kvasci i plijesni dolaze u obliku pojedinačnih stanica (kvasci), odnosno u obliku velikih nakupina razgranatih vlaknastih stanica, tzv. hifa (plijesni). Za razliku od ova dva oblika rasta, dimorfizam, koji je primijećen kod nekih mikroskopskih gljiva, je sposobnost rasta u oba oblika u ovisnosti o uvjetima okoline. Tijelo ili vegetativna struktura gljive naziva se micelij i razlikuje se u sastavu i veličini ovisno o tome radi li se o mikroskopskim ili makroskopskim gljivama (Duraković, 1996.)

Tablica 1. Odabrane značajke glavnih skupina gljiva (Duraković, 1996.)

Podrazred (razred)	***Tip micelija***	***Mjesto tvorbe (nespolne spore)***	***Mjesto tvorbe (spolne spore)***	***Predstavnici***
Ascomycetes	septiran	na tipičnim hifama	unutar mješinice	*Claviceps purpurea*
Basidiomycetes	septiran	na tipičnim hifama	na površini bazidija	mesnate gljive, hrđe, snijeti
Deuteromycetes	septiran	na tipičnim hifama	nema	ljudski patogeni
Zygomycetes	gotovo potpuno neseptiran	u mješinici	u miceliju	*Rhizopus nigricans*
Oomycetes	neseptiran	u mješinici	unutar ženskih spolnih organa	veliki broj odgovornih za propadanje biljaka

Ishrana i metabolizam gljiva. Uvjeti rasta koji pogoduju gljivama uključuju tamni i vlažni okoliš s otopljenim organskim sastojcima dostupnim za apsorpciju. Složene, netopljive organske sastojke gljive enzimski razgrađuju i prevode u jednostavne i topljive sastojke. Gljive su kemoorganotrofi, odnosno kao izvor ugljika, energije i elektrona koriste organske kemijske spojeve. Većina gljiva su saprofiti, odnosno hranjive tvari pribavljaju od mrtve organske tvari, ali postoje i vrste koje su paraziti te simbionti. Nadalje, one su aerobni organizmi, osim nekih kvasaca koji su fakultativni anaerobi (npr. *Saccharomyces cerevisiae*) i nekih anaerobnih gljiva koje obitavaju u buragu preživača. Gljive imaju izrazitu sposobnost prilagodbe na različite izvore hrane i okolišne uvjete, tako da mogu preživjeti na mjestima gdje se općenito ne očekuje mikrobni rast. Osnovne karakteristike gljiva mogu se sažeti kako slijedi:

a) gljivama za rast pogoduje blago kiselo pH područje (pH 5,0)
b) većina gljiva su aerobi i odlikuje ih rast na površini supstrata
c) pokazuju veću otpornost na osmotski tlak, što im omogućuje rast u okolišu s visokim koncentracijama šećera ili soli
d) mogu rasti na supstratima koji imaju vrlo mali sadržaj vode
e) za rast zahtijevaju manju koncentraciju dušika od bakterija

f) za rast mogu koristiti složene ugljikohidrate, poput celuloze i lignina budući da posjeduju enzimske sustave za njihovu razgradnju (Duraković, 1996.)

Razmnožavanje gljiva. Gljive se mogu razmnožavati spolno i nespolno. Nespolno razmnožavanje događa se dijeljenjem roditeljske stanice na dvije stanice kćeri, stvaranjem pupova na somatskim vegetativnim stanicama (karakteristično za kvasce) i tvorbom nespolnih spora u pojedinačnim gljivama tijekom mitoze. Prema mjestu nastanka i karakteristikama nespolne spore mogu se podijeliti u nekoliko tipova: artrospore, klamidospore, sporangiospore, konidiospore i blastospore. Spolno razmnožavanje uključuje spajanje jezgara, pri čemu su neke vrste gljiva samooplodive, dok druge zahtijevaju vanjsko križanje između različitih, spolno skladnih micelija. Spolno razmnožavanje može dovesti i do stvaranja spolnih spora: zigospora, askospora i bazidiospora. Gljive tvore spolne spore rjeđe nego nespolne spore. Spore gljiva važne su zbog identifikacije vrste gljive, ali i zbog preživljavanja nepovoljnih okolišnih uvjeta te širenja gljiva, odnosno njihove široke rasprostranjenosti (Duraković, 1996.).

2.2. BIOLOŠKA OBRADA OTPADNIH VODA

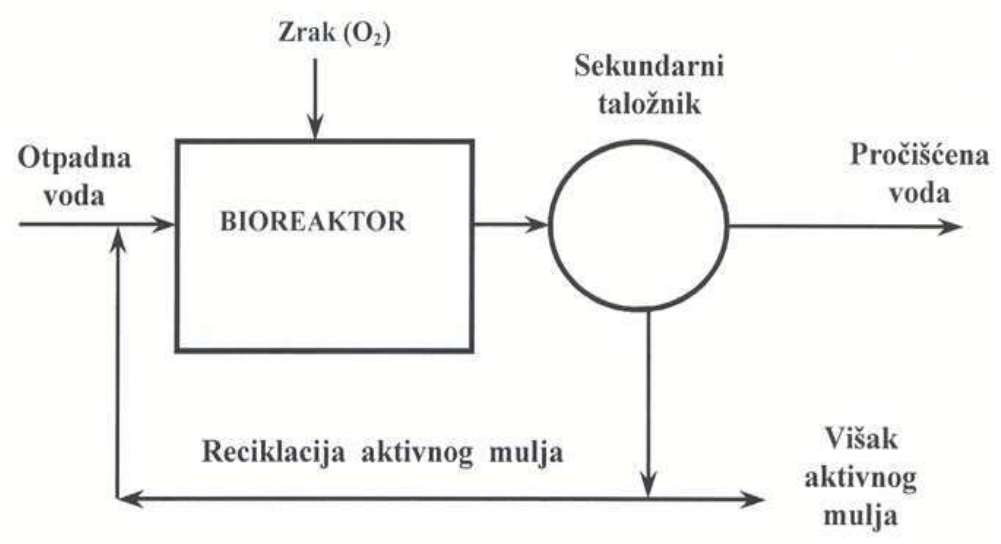
Velike količine otpadnih voda nastaju svakodnevno kao rezultat različitih gospodarskih aktivnosti (industrijske otpadne vode), ali također i u kućanstvima (komunalna voda). Neobrađena otpadna voda opterećena je organskim i anorganskim onečišćujućim tvarima te ju je potrebno obraditi prije ispuštanja u prirodne prijemnike, kako bi se osigurao što manji negativni učinak na okoliš. Obrada otpadne vode obuhvaća provedbu postupaka prethodne i primarne obrade, sekundarne (biološke obrade) i tercijarne obrade.

Prethodna obrada otpadne vode uključuje postupke odstranjivanja krupnih tvari (plivajuće i raspršene) iz otpadne vode primjenom grubih i finih rešetki. ***Primarna obrada otpadne vode*** uključuje odstranjivanje zrnatih (šljunak, pijesak), plivajućih (masti i ulja) i suspendiranih čestica, na dijelovima sustava pjeskolovu, mastolovu i primarnom taložniku. Primarnom obradom smanjuje se organsko onečišćenje otpadne vode 30 – 40% od vrijednosti

neobrađene otpadne vode. Nakon prethodne i primarne obrade slijedi ***sekundarna (biološka) obrada*** o kojoj će biti riječi u ovom poglavlju. ***Tercijarna obrada otpadne vode*** provodi se nakon *sekundarne obrade* te osigurava daljnje uklanjanje organskog opterećenja, suspendiranih, hranjivih ili toksičnih tvari kada je neophodan visok stupanj pročišćavanja vode. Tercijarnom obradom uklanjaju se i boje, mirisi, okus vode, mikroorganizmi, koloidi te neke otrovne tvari koje mogu biti štetne za žive organizme u vodi.

Biološka obrada temelji se na oponašanju prirodnih procesa samopročišćavanja vode djelovanjem složenih mikrobnih zajednica, odnosno mješovitih mikrobnih kultura. Obuhvaća primjenu mikroorganizama za uklanjanje otopljenih organskih sastojaka (izvori ugljika i energije), anorganskih sastojaka (izvori dušika i fosfora) te suspendiranih čestica (koloidne čestice) preostalih nakon provedbe primarnih postupaka obrade otpadne vode, pri čemu se dobivaju pročišćena voda i biomasa mikroorganizama. Ovisno o mikroorganizmima koji provode pročišćavanje otpadne vode, odnosno njihovim potrebama za kisikom, razlikujemo aerobnu i anaerobnu obradu otpadnih voda. Većina uređaja za obradu otpadnih voda radi aerobno (Glancer-Šoljan i sur., 2001.).

Tehnologija aktivnog mulja (često nazivana „konvencionalnom“) je postupak aerobne obrade otpadne vode koji, iako prvi put primijenjen početkom 20. stoljeća, i dalje predstavlja najčešće primjenjivanu tehnologiju zbog jednostavnosti vođenja i ekonomičnosti (**Slika 1.**). Ipak, ova je tehnologija doživjela mnoge preinake i unaprjeđenja. Tijekom ovog postupka mikroorganizmi prisutni u aktivnom mulju koriste organske sastojke s ugljikom te spojeve s dušikom i fosforom (onečišćujuće tvari) kao supstrat za rast, pri čemu nastaje biomasa aktivnog mulja. Aktivni mulj čine bakterije, gljive, alge, protozoe i metazoe međusobno povezane na osnovu različitog naboja i sa suspendiranim česticama (zaostalim nakon prethodne i primarne obrade) u veće ili manje nakupine zvane pahuljice ili flokule. Svaka vrsta svojom aktivnošću doprinosi učinkovitosti uklanjanja sastojaka iz otpadne vode, pri čemu su za razgradnju organske tvari primarno zaslužne bakterije. Nakon završenog postupka obrade otpadne vode, pročišćena voda odvaja se od mulja (kruti dio), pri čemu uspješnost odvajanja određuje učinkovitost samog procesa obrade. Pročišćena voda ispušta se u okoliš, dok se mulj dijelom vraća u proces, a dijelom (višak) dalje obrađuje i zbrinjava (Metcalf i Eddy, 1991.). Ovisno o stupnju opterećenja otpadne vode organskim tvarima, tijekom ovog procesa nastat će veća ili manja količina biomase aktivnog mulja.



Slika 1. Tehnologija aktivnog mulja (Glancer-Šoljan i sur., 2001.)

Tijekom aerobne biološke obrade otpadnih voda nastaju velike količine aktivnog mulja (višak aktivnog mulja), odnosno bakterijske biomase niske vrijednosti. Obrada i zbrinjavanje viška aktivnog mulja čini oko 40-60 % ukupnih troškova rada uređaja za obradu otpadnih voda (Sankaran i sur., 2010.). Stoga bi nastajanje biomase drugačije strukture, primjerice biomase gljiva koja zbog udjela proteina ima veću vrijednost od bakterijske biomase, moglo značajno smanjiti troškove rada uređaja.

Anaerobna obrada otpadne vode provodi se za vode koje imaju izrazito veliko organsko opterećenje. Aerobnom obradom takve vode nastala bi velika količina biomase aktivnog mulja, čije bi zbrinjavanje predstavljalo dodatni problem. Anaerobnom razgradnjom nastaje manja količina biomase nego u slučaju aerobne razgradnje otpadne vode. Proces anaerobne obrade provodi velik broj bakterijskih vrsta (hidrolizne bakterije, kiselinske baketrije, metanogene bakterije), no mogu biti prisutne i protozoe i gljive. Anaerobne mješovite bakterijske zajednice su adaptirane i kometabolitički usklađene te kao takve temelj učinkovitog odvijanja procesa anaerobne razgradnje otpadne vode ili mulja do metana. Nedostatci procesa anaerobne obrade otpadnih voda su velika osjetljivost procesa pri neznatnim kolebanjima vrijednosti odabranih osnovnih čimbenika vođenja procesa (pH, T) te veliki utrošak topline, budući da se radi o endotermnom procesu (Glancer-Šoljan i sur., 2001).

2.3. GLJIVE U OBRADI OTPADNIH VODA

2.3.1. Gljive u konvencionalnoj obradi otpadnih voda

Različite vrste gljiva uobičajeno su prisutne u aktivnom mulju pri konvencionalnoj biološkoj obradi otpadnih voda. Pri tome je kakvoća otpadne vode kao supstrata ključni čimbenik koji određuju mikrobnu strukturu aktivnog mulja, odnosno zastupljenost pojedinih vrsta u aktivnom mulju. Svaka vrsta mikroorganizama troši supstrate, odnosno organske spojeve prisutne u otpadnoj vodi kao onečišćenje, različitom brzinom u ovisnosti o njihovom metabolizmu. Otpadna voda, odnosno aktivni mulj osiguravaju sve okolišne uvjete, uključujući i potrebu za hranjivim tvarima, neophodne za rast gljiva (Fakhru'l-Razi i Molla, 2007). **Tablica 2.** prikazuje različite vrste gljiva izolirane iz aktivnog mulja s konvencionalnih uređaja za obradu otpadnih voda.

Tablica 2 Najčešće vrste gljiva izolirane iz aktivnog mulja (prema More i sur., 2010.)

Izvor	***Vrsta***	***Referenca***
aktivni mulj	*Pencillium communnae, P. lividum, P. janczewskii P. vulpinum, P. spinulosum, P. granulatum*	Kacprzak i sur., 2005
aktivni mulj	*Penicillium (P. corylophilum, P. waskmanii, P. citrinum), Aspergillus (A. terries, A. flavus), Trichoderma (T. harzianum), Spicaria i Hyaloflorae*	Fakhru'l-Razi i sur., 2002a
aktivni mulj	*Penicillium (P. roqueforti, P. camembertii, P. chrysogenum, P. atramentosum), Trichoderma (T. viride, T. koningii, T. reesei), Mucor (M. hiemalis, M. mucedo, M. racemosus, M. circinelloides, M. fuscus, M. plumbeus), Galactomyces geotricum, Aspergillus (A. phoenicis, A. niger, A. ficuum), Fusarium equisetii, Geotrichum candidum, Phoma glomerata, Botrytis cinerea, Geomyces pannorum*	Fleury, 2007

Fakhru'l-Razi i sur. (2002a) izolirali su ukupno 70 sojeva filamentoznih gljiva s uređaja za obradu otpadnih voda, pri čemu je 41 % sojeva izolirano iz aktivnog mulja, 39 % iz otpadne vode te 20 % iz procjednih voda. Izolirani sojevi bili su iz sljedećih rodova: *Penicillium* (39), *Aspergillus* (14), *Trichoderma* (12), *Spicaria* (3) i *Hyaloflorae* (2). Vrste iz roda *Penicillium* izolirane su iz aktivnog mulja i u drugim provedenim istraživanjima (Fleury, 2007;. Kacprzak i sur., 2005). Komparativna analiza koju su proveli Kacprzak i sur. (2005) kvantitativno je

dokazala da se u aktivnom mulju nalazi najviše gljiva iz roda *Penicillium*, kojemu pripada 50 % svih izoliranih vrsta. Zastupljenost vrsta *P. communae, P. lividum, P. vulpinum, P. janczewskii, P. spinulosum* and *P. granulatum* kretala se od 43 103 do 182 103 CFU/g suhe tvari. Subramanian i sur. (2008) su iz aktivnog mulja zaostalog nakon obrade komunalnih otpadnih voda izolirali vrstu *Penicillium expansum* BS30 koja je imala sposobnost stvaranja flokula. Osim vrsta iz roda *Penicillium*, vrste najčešće izolirane iz aktivnog mulja bile su iz rodova *Aspergillus* i *Trichoderma*.

Prevelika proliferacija filamentoznih, ali i neki nefilamentoznih mikroorganizama u aktivnom mulju za posljedicu mogu imati mulj slabije taloživosti, odnosno flotaciju mulja (engl. *bulking*) te pojavu pjenjenja mulja (engl. *foaming*). Ovo dalje uzrokuje probleme prilikom odvajanja (taloženja) aktivnog mulja od pročišćene vode i dehidracije mulja (Richard 2003; Hossain, 2004). Filamentozne bakterije su glavni uzročnici pojave flotacije i pjenjenja aktivnog mulja, ali se s ovim problemom povezuju i neke filamentozne gljive, primjerice *Trichosporon* sp. (Martins i sur., 2004). Prekomjerna količina filamenata sprječava povezivanje pahulja aktivnog mulja tijekom procesa taloženja te dio biomase zaostaje u efluentu, što dovodi do slabije učinkovitosti pročišćavanja (smanjenja KPK otpadne vode) (Guibau i sur., 2005). Iako gljive nisu uobičajeno nisu prisutne u aktivnom mulju u velikoj količini, uvjeti poput niže pH vrijednosti otpadne vode (pH<6) pogoduju njihovoj proliferaciji. Tako je njihova prisutnost u većoj količini indikator prevelike kiselosti otpadnih voda, najčešće podrijetlom iz industrije. Nadalje, gljive mogu podnijeti i male koncentracije hranjivih tvari u otpadnoj vodi, što im također omogućava preživljavanje i proliferaciju u promjenjivom okolišu poput otpadnih voda (Richard, 2003).

2.1.1. Obrada otpadnih voda pomoću biomase gljiva

Kako je već navedeno, tijekom konvencionalne biološke obrade otpadnih voda nastaju velike količine mulja (uglavnom bakterijske biomase) male vrijednosti, ali koji zahtijeva velike troškove zbrinjavanja. Kako se gljive koriste za proizvodnju niza korisnih proizvoda, integracija remedijacije otpadnih voda i oporabe vrijednih resursa upotrebom gljiva mogla bi predstavljati ekonomski isplativo, tj. održivo gospodarenje otpadom (Sankaran i sur., 2010.). Istraživanja koja su se bavila obradom otpadnih voda pomoću gljiva imala su različite ciljeve

koji se mogu općenito svrstati u dvije skupine: obrada otpadnih voda s ciljem razgradnje teško biorazgradljivih spojeva te obrada otpadnih voda tijekom koje se provodi istovremena razgradnja onečišćujućih tvari i izdvajanje nusproizvoda mikrobnog metabolizma (Sankaran i sur., 2010). Otpadna voda pri tome predstavlja jeftin i dostupan supstrat za rast gljiva. Osnovne prednosti korištenja biomase gljiva u obradi otpadnih voda mogu se sažeti kako slijedi:

a) učinkovitije odvajanje biomase gljiva od pročišćene vode nakon završenog procesa obrade
b) učinkovitija razgradnja složenih organskih spojeva (onečišćujućih tvari) prisutnih u otpadnoj vodi zbog djelovanja fungalnih enzima
c) mogućnost izdvajanja vrijednih nusprodukata koji nastaju tijekom obrade kao rezultat metabolizma gljiva (Sankaran i sur., 2010.).

Odvajanje i obrada viška biomase gljiva nastale tijekom obrade otpadnih voda. Odvajanje, obrada i zbrinjavanje viška aktivnog (bakterijskog) mulja veliki je ekološki i financijski problem. Višak biomase gljiva puno se jednostavnije odvaja od pročišćene vode i dehidrira u odnosu na bakterijsku biomasu (Truong i sur., 2004). Pri submerznom uzgoju gljive mogu rasti u obliku raspršenih micelijskih filamenata ili u obliku peleta, isprepletene kompaktne micelijske mase. Zbog svoje kompaktnosti peleti imaju potencijalnu primjenu kao sustav imobiliziranih stanica te ne zahtijevaju primjenu imobilizacijskih tehnika poput unakrsnog vezanja ili umrežavanja (Truong et al., 2004). Izvanstanični fungalni enzimi pri tome ostaju zatvoreni unutar kompaktne strukture peleta, gdje sudjeluju u reakcijama. Biomasa gljiva u obliku peleta još se jednostavnije odvaja od pročišćene vode na kraju procesa bilo taloženjem ili pomoću finih rešetki (Jin i sur., 1999b).

Razgradnja (uklanjanje) onečišćujućih tvari iz otpadnih voda upotrebom gljiva. Uklanjanje i detoksikacija onečišćujućih tvari može se postići fizičkim, kemijskim ili biološkim postupcima. Biološki postupci naširoko su usvojeni i koriste se zbog svoje isplativosti, veće učinkovitosti te zbog nastajanja netoksičnih ili manje toksičnih produkata razgradnje. Tako primjena gljiva za uklanjanje onečišćujućih tvari iz otpadnih voda rezultira ne samo pročišćenom vodom, već

pruža mogućnost iskorištavanja nusprodukata nastalih tijekom procesa. Poseban problem tijekom biološkog uklanjanja onečišćenja predstavljaju ksenobiotici, odnosno sintetički spojevi strani biološkim sustavima koji se uobičajeno ne nalaze u prirodi i koji su izuzetno teško biorazgradljivi. Mnoge vrste gljiva zbog specifičnih enzimskih sustava koje posjeduju imaju sposobnost potpune razgradnje ili transformacije ksenobiotika (koje većina bakterija ne mogu učinkovito razgraditi) do manje toksičnih spojeva (Nilsson i sur., 2006). Gljive sintetiziraju enzime u svim fazama životnog ciklusa, pri čemu i prisutnost vrlo malih koncentracija onečišćujućih tvari inducira sintezu enzima potrebnih za njihovu razgradnju (Ryan i sur., 2005). Posebnu pozornost istraživača plijene fungalni enzimi za razgradnju polimernih molekula poput lignina i celuloze, koje skupina gljiva nazvanih „gljive bijelog truljena“ proizvode izvanstanično. Gljive bijelog truljenja proizvode enzime oksidaze, poput lakaze, lignin peroksidaze i mangan-peroksidaze, koji imaju sposobnost razgradnje lignina, fenola, bojila te raznih drugih ksenobiotika (Libra i sur, 2003; Giraud i sur., 2001; Yesilada i sur., 1999; Boyle i sur., 1992; Elisa i sur, 1991). Gljive bijelog truljenja koje su često korištene u istraživanjima s ciljem obrade (obezbojenja), odnosno bioremedijacije obojenih otpadnih voda su *Trametes versicolor* i *Phanerochaete chrysosporium*, zbog njihove sposobnosti razgradnje velikog broja ksenobiotika (Forgacs i sur., 2004.; Chander i Arora, 2007; Harazono i Nakamura, 2005). Osim razgradnje bojila djelovanjem enzima, uklanjanje bojila pomoću gljiva dijelom je rezultat adsorpcije bojila na biomasu, što je dodatno potvrđeno eksperimentima u kojima je korištena inaktivirana (sterilizirana) biomasa gljiva. Gljive bijelog truljenja korištene su i u obradi otpadnih voda iz prerade maslina koje karakterizira prisutnost fenolnih spojeva sličnih onima koji nastaju tijekom enzimske razgradnje lignina (Jaouani i sur., 2005.). Neki primjeri gljiva korištenih u obradi otpada uključuju vrste *Myrothecium verrucaria*, *Trametes hirsuta* i *Pleurotus ostreatus* za razgradnju lignocelulozno otpada, *Aspergillus niger* za razgradnju tropa jabuke iz destilerije, *Phanerochaetae chrysosporium* za razgradnju lignina, *Alternaria tenuis*, *A. niger* i *Trichoderma viride* za razgradnju plastike te *Humicola grisea* za razgradnju rafinoze (National Collection of Industrial Microorganisms, 2005).

Osim sinteze enzima, stanične stjenke gljiva i njihove komponente imaju sposobnost biosorpcije različitih toksičnih spojeva tijekom obrade otpadne vode. Provedena su razna istraživanja u kojima je fungalna biomasa korištena kao biosorbens za uklanjanje teških

metala poput kroma (Park i sur., 2005; Say i sur., 2004), bakra (Ozsoy i sur. 2008), žive, nikla, kadmija i olova (Ozsoy i van Leeuwen 2009) iz otpadne vode.

Iskorištavanje nusproizvoda obrade otpadnih voda gljivama. Mogućnost korištenja raznih nusproizvoda nastalih tijekom obrade otpadnih voda gljivama do sada nije dovoljno istražena na velikim sustavima za pročišćavanje otpadnih voda. Starija istraživanja koja su se bavila istovremenom razgradnjom onečišćujućih tvari iz otpadnih voda i iskorištavanjem nusproizvoda nastalih tijekom obrade provodila su se većinom u sterilnim uvjetima. Novija istraživanja temelje se na uzgoju gljiva, odnosno obradi u nesterilnim uvjetima, budući da oni bolje simuliraju realne sustave za obradu otpadnih vode i samu otpadnu vodu u kojoj su prisutne različite vrste mikroorganizama osim gljiva. Kada se gljive koriste za proizvodnju specifičnih metabolita, obično se uzgajaju u aseptičnim uvjetima u monokulturama na relativno skupim supstratima, poput škroba, kukuruznog sirupa ili melase (Sankaran i sur., 2010). Međutim, provedena su istraživanja u kojima su gljive uzgajane na jeftinim supstratima poput otpada iz prerade kukuruza uz istovremenu proizvodnju nusprodukata gljiva i remedijaciju otpadne vode (Jasti i sur., 2005; van Leeuwen i sur., 2003).

Obrada otpadnih voda iz prehrambene industrije (koje ne sadrži toksične spojeve i patogene) pomoću gljiva s ciljem istovremenog uklanjanja organskog onečišćenja i njegovog prevođenja u biomasu gljiva predstavlja ekonomski isplativ, tehnički jednostavan proces proizvodnje proteina za obogaćivanje stočne hrane (Stevens i Gregory, 1987). Upotreba monokultura (odnosno samo jedne vrste gljive) pri takvoj obradi predstavlja dodatnu prednost, jer se istovremeno može proizvoditi cijeli niz vrijednih nusprodukata. Tako se na primjer *Aspergillus oryzae* koristi za proizvodnju proteinaza (Christensen i sur., 1988), lizozima (Tsuchiya i sur.,1992), lipaza (Huge-Jensen i sur., 1989), laktoferina (Ward i sur. 1992), α-amylase (Jin i sur., 1998), proteina (Jin i sur., 2002; Truong i sur., 2004; van Leeuwen i sur., 2003) i hitina/hitozana (Jasti i sur., 2006). Otpadne vode podrijetlom iz prehrambene industrije obično imaju visok sadržaj ugljikohidrata, lipida i proteina što pogoduje proliferaciji gljiva, odnosno proizvodnji vrijednih metabolita.

Jedan od osnovnih problema koji se javlja prilikom neaseptične obrade otpadnih voda pomoću gljiva je proliferacija bakterija koje se natječu za supstrat s radnim mikroorganizmom (monokulturom gljiva) te njihova prisutnost uzrokuje otežano izdvajanje

biomase gljiva od pročišćene vode, kao i naknadnu dehidraciju. Ovi problemi donekle se mogu riješiti odabirom odgovarajućeg bioreaktora za provođenje procesa obrade otpadne vode, odnosno osiguravanje optimalnih uvjeta pri kojima će gljive biti dominantan mirkoorganizam unatoč prisutvu bakterija (Sankaran i sur., 2010).

3. ZAKLJUČAK

Obrada otpadnih voda pomoću gljiva s ciljem istovremenog pročišćavanja otpadne vode i proizvodnje vrijednih metabolita gljiva (nusproizvoda) predstavlja ekonomski isplativu alternativu primjeni konvencionalnih bioloških metoda obrade pomoću mješovitih mikrobnih kultura. Biomasa gljiva bogata proteinima pri tome je vrjednija od poglavito bakterijske biomase mješovitih mikrobnih kultura. Ipak, unatoč brojnim nedostatcima korištenja bakterijske biomase za obradu otpadnih voda, kinetika rasta bakterija uglavnom je dobro poznata, što omogućava lakše vođenje i bolju kontrolu procesa. Stoga je tehnologija aktivnog mulja još uvijek tehnologija odabira na većini uređaja za obradu otpadnih voda. S druge strane, ponašanje (kinetika rasta) gljiva u konstruiranim ekosustavima koji su stalno izloženi ekstremnim okolišnim uvjetima, poput uređaja za obradu otpadnih voda, još uvijek je nedovoljno istraženo. Ovo je jedan od osnovnih razloga zašto primjena gljiva u obradi otpadnih voda još uvijek nije tehnologija koja je našla primjenu na realnim sustavima, odnosno u „velikom mjerilu“.

4. LITERATURA

Barbesgaard P, Heldt-Hansen HP, Diterichsen B: On the safety of Aspergillus oryzae: A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36:569–572, 1992.

Borrás E, Blànquez P, Sàrra M, Caminal G, Vicent T: Trametes versicolor pellets production: Low-cost medium and scale-up. *Biochemical Engineering Journal,* 42:61-66, 2008.

Boyle CD, Kropp BR, Reid ID: Solubilization and mineralization of lignin by white-rot fungi. *Applied Environmental Microbiology*, 58:3217–3224, 1992.

Canales A, Pareilleux A, Rols JL, Goma G, Huyard A: Decreased sludge production strategy for domestic treatment. *Water Science and Technology*, 30:97–116, 1994.

Chander M, Arora DS: Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolorize industrial dyes. *Dyes and Pigments*, 72:192–198, 2007.

Christensen T, Woeldike H, Boel E, Mortensen SB, Hjortshoej K, Thim L, Hansen MT: High level expression of recombinant genes in Aspergillus oryzae. *Nature Biotechnology*, 6:1419–1422, 1988.

Cing S, Yesilada O: Astrazon Red dye decolorization by growing cells and pellets of Funalia trogii. *Journal of Basic Microbiology*, 44:263–269, 2004.

Duraković S: Opća mikrobiologija, Prehrambeno tehnološki inženjering, Zagreb, 1996.

Elisa E, Vanderlei PC, Nelson D: Screening of lignin degrading fungi for removal of color from kraft mill wastewater with no additional extra carbonsource. *Biotechnology Letters*, 13, 571–576, 1991.

Fakhru'l-Razi A, Alam MZ, Idris A, Abd-Aziz S, Molla AH: Filamentous fungi in Indah Water Konsortium (IWK) sewage treatment plant for biological treatment of domestic wastewater sludge. *Journal of Environmental Science and Health* 37:309–320, 2002a.

Fakhru'l-Razi A, Molla AH: Enhancement of bioseparation and dewaterability of domestic wastewater sludge by fungal treated dewatered sludge. *Journal of Hazardous Materials,* 147:350–356, 2007.

Fleury S: Method for Treatment of Sewage Plant Sludge by a Fungal Process. United States Patent, US007270751B2, 2007.

Forgacs E., Cserhati T., Oros G., Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Enviroment Internationa*l 30, 953-971, 2004.

Giraud F, Guiraud P, Kadri M, Blake G, Steiman R: Biodegradation of anthracene and fluoranthene by fungi isolated from an experimental constructed wetland for wastewater treatment. *Water Research*, 35:4126–4136, 2001.

Glancer-Šoljan M, Landeka Dragičević T, Šoljan V, Ban S: *Biološka obradba otpadnih voda*, str. 39 – 51, 61 – 85, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 2001.

Guest RK, Smith D.: A potential new role for fungi in a wastewater MBR biological nitrogen reduction system. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 1: 433–437, 2002.

Guibaud G, Tixier N, Baudu M: Hysteresis area, a rheological parameter used as a tool to assess the ability of filamentous sludge to settle. *Process Biochemistry,* 40:2671–2676, 2005.

Harazono K, Nakamura K: Decolorization of mixtures of different reactive textile dyes by the white-rot basidiomycete Phanerochaete sordida and inhibitory effect of polyvinyl alcohol. *Chemosphere*, 59:63–68, 2005.

Hossain, F: Activated sludge bulking: a review of causes and control strategies. *Journal of Institution of Engineers* (India) 85, 2004.

Huang LP, Jin B, Lant P, Hou J: Biotechnological production of lactic acid integrated with potato wastewater treatment by Rhizopus arrhizus. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 78:899–906, 2003.

Huge-Jensen B, Andreasen F, Christensen T, Christensen M, Thim L, Boel E: Rhizomucor miehei triglyceride lipase is processed and secreted from transformed Aspergillus oryzae. *Lipids*, 24, 781–785, 1989.

Jaouani A, Guill´en F, Penninckx MJ, Mart´ınez AT, Mart´ınez MJ: Role of Pycnoporus coccineus laccase in the degradation of aromatic compounds in olive oil mill wastewater. *Enzyme Microbial Technology*, 36:478– 486, 2005.

Jasti N, Khanal SK, Pometto III AL, van Leeuwen J: Attached growth fungal system for food-processing wastewater treatment and high value protein recovery. *U Proceedings of 78th Annual Conference & Exposition (WEFTEC),* 14:4049–4062, 2005.

Jasti N, Khanal SK, Pometto AL, van Leeuwen J: Fungal treatment of corn processing wastewater in an attached growth system. *Water Practice Technology*, 1:1–8, 2006.

Jin B, van Leeuwen J, Patel B, Yu Q: Utilization of starch processing wastewater for production of microbial biomass protein and fungal α-amylase by Aspergillus oryzae. *Bioresource Technology*, 66:201–206, 1998.

Jin B, van Leeuwen, J, Patel B, Yu Q: Mycelial morphology and fungal protein production from starch processing wastewater in submerged cultures of Aspergillus oryzae. *Process Biochemistry,* 34:335–340, 1996.

Jin B, Yan XQ, Yu Q, van Leeuwen J: A comprehensive pilot plant system for fungal biomass protein production and wastewater reclamation. *Advances in Environmental Research*. 6:179–189, 2002.

Kacprzak M, Neczaj E, Okoniewska E: The comparative mycological analysis of wastewater and sewage sludges from selected wastewater treatment plants. *Desalination* 185: 363–370, 2005.

Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA: Dictionary of the Fungi, 10th edition. CABI, Wallingford, UK, 2008.

Libra JA, Borchert M, Banit S: Competition strategies for the decolorization of a textile-reactive dye with the white-rot fungi Trametes versicolor under non-sterile conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 82:736–744, 2003.

Martins AMP, Pagilla K, Heijnen JJ, van Loosdrecht MCM: Filamentous bulking sludge – a critical review. *Water Research* 38:793–817, 2004.

Metcalf & Eddy: Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse, 3rd edition, New York, McGraw Hill, 1991.

More TT, Yan S, Tyagi RD, Surampalli RT: Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment, *Bioresource Technology* 101:7691–770, 2010.

National Collection of Industrial Microorganisms: Strains with special application: Fungi. The National Collection of Industrial Microorganisms Catalogue, Pune, India: National Chemical Laboratory, Retrieved June 20, 2005,
(http://wdcm.nig.ac.jp/catalogue/ncim/document/Ncim s fungi.pdf)

Nilsson I, Moller A, Mattiasson B, Rubindamayugi MS T, Welander U: Decolorization of synthetic and real textile wastewater by use of whiterot fungi. *Enzyme and Microbial Technology,* 38:94–100, 2006.

Ozsoy HD, van Leeuwen J: Pb(II) ions removal by dried rhizopus oligosporus biomass produced from food processing wastewater, *U Fluid waste disposal*, chapter 18. Hauppage, New York: Nova Publishers, 2009.

Ozsoy HD, Kumbar H, Saha B, van Leeuwen JH: Use of Rhizopus oligosporus produced from food processing wastewater as a biosorbent for Cu (II) ions removal from the aqueous solutions. *Bioresource Technology*, 99:4943–4948, 2008.

Park D, Yun YS, Jo JH, Park JM: Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of Aspergillus niger. *Water Research*, 39:533–540, 2005.

Richard M: Activated sludge microbiology problems and their control*, U Proceedings of the 20th Annual US Environmental Protection Agency National Operator Trainers Conference*. Buffalo, New York, Jun 8; US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2003.

Ryan DR, Leukes WD, Burton SG: Fungal bioremediation of phenolic wastewaters in an airlift reactor. *Biotechnology Progress*, 21:1068–1074, 2005.

Sankaran S, Khanal SK, Jasti N, Jin B, Anthony L, Pometto III, Van Leeuwen JH: Use of Filamentous Fungi for Wastewater Treatment and Production of High Value Fungal Byproducts: A Review, Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 40:5, 400-449, 2010.

Santos AZ D, Neto JM C, Regina C, Tavares G, Costa SMG: Screening of filamentous fungi for the decolorization of a commercial reactive dye. *Journal of Basic Microbiology*, 44:288–295, 2004.

Say R, Yilmaz N., Denizli, A: Removal of chromium (VI) from synthetic solutions by the fungus Penicillium purpurogenum. *Engineering in Life Sciences*, 4:276–280, 2004.

Stevens CA, Gregory KF: Production of microbial biomass protein from potato processing wastes by Cephalosporium eichhorniae. *Applied Environmental Microbiology*, 53:284–291, 1987.

Subramanian BS, Yan S, Tyagi RD, Surampalli RY: A new, pellet-forming fungal strain: its isolation, molecular identification, and performance for simultaneous sludge-solids reduction, flocculation, and dewatering. *Water Environment Research*, 80: 840–852, 2008.

Truong QT, Miyata N, Iwahori K: Growth of Aspergillus oryzae during the treatment of cassava starch wastewater with high content of suspended solids. *Journal of Bioscience and Bioengineering,* 97:329–335, 2004.

Tsuchiya K, Tada S, Gomi K, Kitamoto K, Kumagai C, Jigami Y, Tamura G: High level expression of the synthetic human lysozyme gene in Aspergillus oryzae. Applied Microbiology Biotechnology, 38:109–114, 1992.

Van Leeuwen J, Hu Z, Yi TW, Pometto III AL, Jin B: Kinetic model for selective cultivation of microfungi in a microscreen process for food processing wastewater treatment and biomass production. *Acta Biotechnologica,* 23:289–300, 2003.

Ward PP, Lo J, Duke M, May GS, Headon DR, Conneely OM: Production of biologically active recombinant human lactoferrin in Aspergillus oryzae. *Biotechnology*, 10:784–789., 1992.

Weemaes MP J, Verstraete WH: Evaluation of current wet sludge disintegration techniques. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology,* 73:83–92, 1998.

Yesilada O, Sik S, Sam M: Treatment of olive oil mill wastewater with fungi. Turkish *Journal of Biology*, 23:231–240, 1999.

Zheng S, Yang M, Yang Z: Biomass production of yeast isolated from salad oil manufacturing wastewater. *Bioresource Technology,* 96:1183–1187, 2005.