Praživotinje u uređajima za pročišćavanje voda

Jaćimovska, Maja

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:422537

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

PRAŽIVOTINJE U UREĐAJIMA ZA PROČIŠĆAVANJE VODA
PROTOZOA IN TECHNOLOGIES FOR WATER TREATMENT

MAJA JAĆIMOVSKA
PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOSTI O OKOLIŠU
UNDERGRADUATE STUDY OF ENVIRONMENTAL SCIENCES

MENTOR: doc. dr. sc. RENATA MATONIČKIN-KEPČIJA

Zagreb, 2009.

Sadržaj:

1. UVOD 2

2. KARAKTERISTIKE PRIRODNE I OTPADNE VODE 3

- 2.1.– PRIRODNA VODA 3
- 2.2.– OTPADNE VODE 4

3. SUSTAVI ZA PROČIŠĆAVANJE VODE 6

4. AKTIVNI MULJ 8

5. PRAŽIVOTINJE (PROTOZOA) 10

6. POPULACIJE PRAŽIVOTINJA U AKTIVNOM MULJU 12

7. DOKAZ UČINKOVITOSTI PRAŽIVOTINJA U BIOLOŠKIM PJEŠČANIMFILTRIMA 13

8. UTJECAJ BIOFILMA I PRAŽIVOTINJA NA UKLANJANJE BAKTERIJA IZ SEPTIČNOG IZLJEVA 15

9. PRAŽIVOTINJE KAO BIOINDIKATORI 17

10. SAŽETAK 21

11. SUMMARY 22

12. LITERATURA 23

1. UVOD

Gotovo nema osobe koja se barem jedanput nije zapitala hoćemo li u budućnosti imati dovoljno pitke vode te hoće li ona zauvijek ostati čista i lako dostupna. S druge strane, manje je onih koji su se zapitali: a što ćemo s otpadnom vodom koje nastaje sve više? Pročišćavanje otpadnih voda danas ima sve veću ulogu u zaštiti prirodne okoline jer se smanjuje količina raspoložive pitke vode za koju se do nedavno smatralo da je neiscrpna. Prvi procesi vezani za pročišćavanje vode svodili su se na mehaničko i fizičko smanjivanje i odstranjivanje čvrste tvari. Na početku 20. st. svi problemi vezani za čistoću vode rješavali su se kloriranjem vode dodavanjem Cl_2 ili NaOCl, a tek kasnije u Engleskoj su otkrića vezana uz aktivni mulj dovela do složenijeg, sekundarnog pročišćavanja vode smanjujući pri tome količinu organske tvari procesom aeracije. Kao posljedica toga, došlo je do razvoja raznih tehnologija i uređaja koji su postali sve zastupljeniji pri sekundarnoj obradi vode; razni filtri, rotirajući biološki diskovi i različiti sastavi aktivnog mulja dovodili su do stalnog poboljšavanja. Ovakav napredak u tehnologiji pročišćavanja vode omogućila su nova dostignuća na poljima kemije i mikrobiologije, a za širenje je zaslužno buđenje ekološke svijesti među ljudima i odluke o smanjenju negativnog antropogenog utjecaja na okoliš, u skladu s poboljšanjem kvalitete življenja.

Postoje razna postrojenja za pročišćavanje vode i njihova složenost raste sa stupnjem onečišćenosti vode koja se podvrgava tom postupku, međutim svim postrojenjima je zajednička jedna stvar: za smanjenje organske opterećenosti vode odgovoran je aktivni mulj, u kojemu se aktivno uklanja organska tvar iz vode pomoću aerobnih mikroorganizama u bazenu za aeraciju. Mikroorganizmi, uglavnom bakterije, protozoa i metazoa nalaze se na želatinoznim pahuljicama (flokulama) mulja u bazenu za aeraciju, gdje se uz pomoć kisika u procesu metabolizma mikroorganizama osigurava razgradnja supstrata tj. organskog zagađenja. Pri tome je uloga praživotinja ključna i višestruka jer sudjeluju u izgradnji želatinoznih pahuljica mulja, trepetljikama dižu nutrijente s dna te tako stimuliraju produkcije zajednica mikroorganizama i većina njih su bakteriovorni ili algivorni organizimi koji se hrane istim tim mikroorganizmima. Time kontroliraju njihovu biomasu i pridonose stabilnosti cijelog sustava (nazivamo ih grejzerima, od eng. riječi *graze*=brstiti, pasti).

Još jedna vrlo bitna uloga praživotinja je i uloga bioindikatora; pojavljivanje određenih vrsta praživotinja pokazuje nam koliko je određeni mulj opterećen organskom tvari, odnosno kolika je količina raspoloživog kisika koji će biti korišten u metabolizmu mikroorganizama.

2. KARAKTERISTIKE PRIRODNE I OTPADNE VODE

2.1. PRIRODNA VODA

Vodu u prirodi možemo podijeliti u dvije kategorije: površinsku vodu, koju čine sve tekućice i stajaćice i podpovršinsku vodu koju čine podzemna voda i izvori. Sastav prirodne vode uvjetovan je nizom fizičko-kemijskih i biokemijskih procesa koji se odvijaju u različitim fazama hidrološkog ciklusa. Na kvalitetu prirodne vode utječu i atmosferske prilike i sezonske klimatske varijacije. Stoga vrste i količine prisutnih kemijskih tvari znatno variraju, koncentracije se kreću od nekoliko mg/L do nekoliko g/L. Tablica 1. pokazuje sastav i odlike različitih uzoraka prirodne vode uzorkovanih u Italiji.

Tablica 1. Najčešći sastav prirodne vode

parameter	unit	spring	groundwater			lakes	reservoirs
		Canzo (1988)	Pavia (1972)	San Zenone Po (1982)	Milano	Maggiore (1987)	Camastra (1987)
solids (at 180 °C)	mg/l	197	230	455	630	—	—
pH		8	7.1	7.3	7.3	7.2	8.4
electrical conductivity	µS/cm	315	330	645	850	136	315
organic matter	mgO_2/l	< 0.10	0.79	—	0.40	—	3.22
total hardness	°F	18.1	17.6	36.2	42.7	6.8	19.1
calcium	$mgCa^{2+}/l$	57.2	52	104	135	21	60.3
magnesium	$mgMg^{2+}/l$	9.4	11	25	21.8	3.8	13.48
sodium	$mgNa^{+}/l$	1.3	8.1	16.2	19.3	2.1	—
potassium	mgK^{+}/l	0.4	1.1	0.9	2.4	1.5	—
ammonia nitrogen	$mgNH_4^{+}/l$	—	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	traces
sulfate	$mgSO_4^{2-}/l$	14.1	17	62	127	29	158.3
nitrate	$mgNO_3^{-}/l$	—	1	11	18	3.7	2.0
chloride	$mgCl^{-}/l$	6.2	6	10	31	1.7	15
bicarbonate	$mgHCO_3^{-}/l$	197	207	378	335	45	—
silica	$mgSiO_2/l$	10	14	24	—	1.30 (as Si)	3.89 (as Si)

Organska tvar je zastupljena spojevima ugljika i vodika, kisika i dušika, a također i u obliku ugljične kiseline, fenola, tanina, lignina i dušičnih kiselina. Pretjerano iskorištavanje tla u agrikulturne i industrijske svrhe dovelo je do nezamislive degradacije i promjene kvalitete podzemne vode te pojave određenih organskih i anorganskih komponenti koje su opasne za čovjekovo zdravlje čak i u malim koncentracijama: amonijak, nitriti, sulfidi, teški metali, pesticidi, herbicidi, fenoli, poliklorodifenoli i ostale kemijske tvari. Koncentracija metala

povećava se uporabom umjetnih gnojiva i pretjeranom erozijom minerala iz tla ali i procjeđivanjem vode iz odlagališta otpada.

Patogeni mikroorganizmi, bakterije i virusi, obično nisu zastupljeni u podzemnoj vodi, zbog samopročišćavanja vode pri prolazu kroz vodonosnike, međutim u nekim slučajevima ih možemo detektirati.

2.2. OTPADNE VODE

Otpadne vode možemo definirati kao nusproizvod rada i/ili življenja. Postoje razne otpadne vode, a najopćenitija podjela bila bi ona koja ih po mjestu nastanka dijeli na komunalne (gradske) i industrijske (tehnološke) otpadne vode. Fizičke, kemijske i biološke karakteristike stope zagađenja su: temperatura, udio čvrste tvari, organska tvar, anorganske tvari i metali, plinovi i hlapljive tvari, miris i okus te boja i patogeni organizmi. Tablica 2. pokazuje sastav kanalizacije razvijenih zemalja.

Tablica 2. Sastav kanalizacijske vode

parameter	unit	value
temperature	°C	4-20
dry matter	mg/l	700-800
suspended solids	mg/l	200-300
COD_t	mgO_2/l	500
$bCOD_t$	mgO_2/l	330
COD_s	mgO_2/l	250
BOD^{20}_5	mgO_2/l	220
volatile acids	$mgCH_3COOH/$	40
Kjeldhal nitrogen	mgN/l l	50
ammonia nitrogen	$mgNH^+_4/l$	25-40
nitrites and nitrates	$mg(NO_2, NO_3)$	≈ 0
phosphates	$mgPO^{3-}_4/l$	10
sulphates	$mgSO^{2-}_4/l$	75
pH		7.0-7.5
alkalinity	$mgCaCO_3/l$	2-15
fats and substances extracted in ethane	mg/l	up to 100

Većina industrijskih postrojenja koristi vodu u jednom ili više stadija svog rada pa stoga i sastav industrijske vode može znatno varirati. S druge strane, komunalne vode najčešće sadrže oko 75% otopljene krute tvari i oko 50% krute tvari koja se može ukloniti filtriranjem.

Najučestalije organske tvari koje pronalazimo u otpadnim vodama su proteini 40-60%, ugljikohidrati 25-50% i masti i ulja oko 10%. Organska tvar je zastupljena spojevima ugljika, vodika, kisika i dušika, sumpora, fosfora i željeza te raznim sintetičkim spojevima.

Miris i okus su odlike koje su najčešće vrlo tijesno vezane. Industrijska voda sa sobom nosi benzenove spojeve, sumporne spojeve, željezo, soli magnezija, kiseline i ugljikovodike koji imaju jak i neugodan miris.

Različita obojenja industrijske vode uzrokuju ioni metala: žutu boju uzrokuju ioni kroma, plavu ioni bakra, smeđu ioni željeza, a zelenu ioni nikla, dok su za crnu boju odgovorni acetilenski i petrokemijski muljevi i katrani iz rafinerija. Primjer otpadne vode iz rafinerije i koksare imamo na Slici 1**.**



Slika 1. Jama Sovjak u Viševu blizu Rijeke

Temperatura otpadne vode je također vrlo bitna karakteristika, mada se ovoj odlici vode pridaje najmanje značaja. Da visoka temperatura može biti zagađivalo, vidimo na primjerima nuklearnih elektrana koje u procesu hlađenja nuklearnih reaktora koriste ogromne količine vode koje se moraju hladiti prije ponovnog vraćanja u okoliš.

3. SUSTAVI ZA PROČIŠĆAVANJE VODE

Voda na kopnu predstavlja izvore i zalihe pitke vode. Podzemna voda obično ima dobre fizikalno-kemijske odlike jer se većina nečistoća i mikroorganizama ukloni u procesu autopurifikacije vode pri njenom prolasku kroz porozne slojeve tla. Izvorska voda je najpogodnija za piće jer prirodni uvjeti garantiraju standarde čistoće i kao takva ne zahtijeva nikakve posebne procese pročišćavanja. Međutim, možemo izdvojiti uobičajeni niz procesa koji voda prolazi u procesu pročišćavanja prije no što je podobna za piće, kao što su: zaštićivanje (natkrivanje) izvora, određivanje podrijetla vode, oksidacija, flokulacija, sedimentacija, filtracija pijeskom i dezinfekcija, kao što je prikazano na Slici 2. i Slici 3.

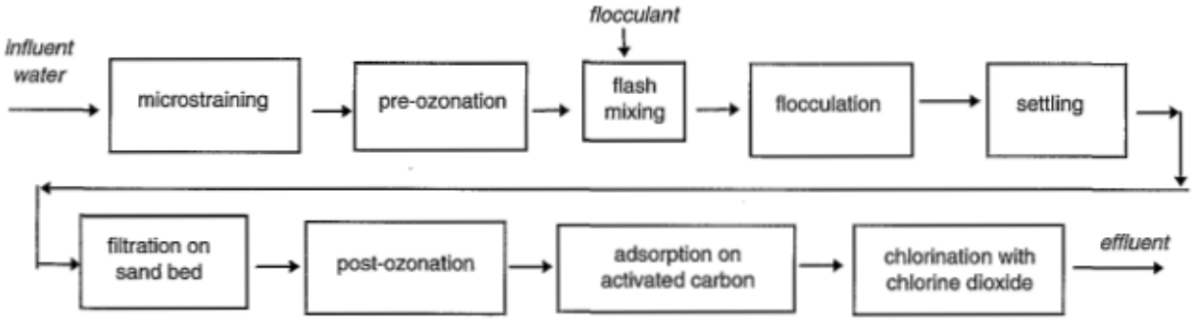


Slika 2. Procesi pročišćavanja izvorske vode



Slika 3. Niz bazena za taloženje na izvoru podzemne vode sv. Ivan u Buzetu u Istri

Prirodna jezera predstavljaju značajnu zalihu vode koju možemo iskoristiti za piće ukoliko je prethodno podvrgnemo procesu pročišćavanja. Kvaliteta ove vode uvelike ovisi o tipu tla koje se nalazi u podini, o tipu vegetacije i faune koje se nalaze na dnu bazena i koje ga okružuju i o trofičkom stanju jezera. Stoga je i razumljivo da će i procesi (Slika 4.) proizvodnje pitke vode biti složeniji. Primjer takvog iskorištavanja vode u Hrvatskoj je postrojenje na umjetnom jezeru Butoniga u Istri.



Slika 4. Prikaz pročišćavanja jezerske vode

Što se tiče pročišćavanja komunalne vode, možemo izdvojiti tri osnovne faze, primarnu, sekundarnu i tercijarnu.. Primarna, sedimentacija, je najučinkovitija pri odvajanju krupnijih čvrstih tvari. Biološka dostignuća se koriste kako bi se otopljena organska tvar prevela u flokulantne odjeljive tvari koje se talože u sedimentacijskom bazenu. Ovaj proces temeljito uklanja čak i koloidno raspršene čestice organske tvari. Većina sustava za smanjivanje količine patogenih organizama, čvrste tvari i organske tvari koristi u sekundarnoj fazi pri svom radu aktivni mulj: prokapni filtri, aeracijske lagune i bazeni (imamo ih više tipova, a podjela je izvršena na temelju dužine upuhivanja zraka: 1.5-3 sata, ponekad i znatno duže), jezera s visokom stopom oksidacije i stabilizacijska jezerca.

Nutrijenti se također uklanjaju u procesu pročišćavanja, za što su u prvom redu odgovorne biljke iz biljnog pročistača. Biljni pročistači su relativno jeftini i jednostavni sistemi u kojima korijenje močvarnih biljaka apsorbira anorganske tvari, u najvećoj mjeri nitrate, i obogaćuje dno kisikom što dalje omogućava razvoj aerobnih mikroorganizama koji će svojom aktivnošću smanjivati količinu organske tvari.

Dezinfekcija predstavlja zadnju, tercijarnu fazu pročišćavanja vode; bitna je jer se njome rješavamo patogenih mikroorganizama, a postupak se provodi UV zračenjem vode ili dodavanjem reduktivnih kemijskih tvari kao npr. broma, joda ili najčešće klora (G. Boari, I. M. Mancini, E. Trulli 1997).

4. AKTIVNI MULJ

Ideja o procesu pročišćavanja vode koristeći aktivni mulj rodila se u Engleskoj u prvoj polovici 20. st. Proces se svodi na uklanjanje organskog zagađenja iz otpadne vode pomoću aerobnih mikroorganizama. Mikroorganizmi, uglavnom bakterije, protozoa i neke metazoa nalaze se na želatinoznim pahuljicama mulja (flokulama) u bazenu za aeraciju, gdje se uz pomoć kisika u procesu metabolizma mikroorganizama osigurava razgradnja supstrata (organskog zagađenja). Da ne bi došlo do prekomjernog povećanja volumena mulja, pomoću jedne uronjene pumpe prekomjerni aktivni mulj se transportira u silose za mulj, a izdvojeni mulj u taložniku vraća se u recirkulaciju.

Proces pročišćavanja vode koristeći aktivni mulj svodi se na to da se voda u reakcijskom bazenu intenzivno izmiješa sa kisikom iz zraka dovedenog pomoću kompresora, što vodi ka stvaranju i održavanju mikroorganizama (aerobne i anaerobne bakterije) koje su u stanju u potpunosti razdvojiti vodu od otpadnih tvari, u prvom redu od organskog opterećenja te ih pretvoriti u vlastitu biomasu. Tvorba ovih mikroorganizama zapravo predstavlja aktivni mulj, a njihova izbalansirana kombinacija populacija osigurava potpuno i učinkovito ispunjenje zadataka biološkog pročišćavanja. U održavanju stabilnosti sustava i brojnosti bakterijskih zajednica vrlo su važne praživotinje, što će kasnije biti objašnjeno.

Postoje više vrsta otpadnih voda s obzirom na opterećenost organskom tvari, pa stoga postoje i različiti uređaji za pročišćavanje sa aktivnim muljem. Razlikuju se po opterećenju biomase organskim zagađenjem na dan. Koriste se slijedeći sustavi:

- visoko opterećeni aktivni mulj Cm > 0,5 kg BPK_5/ kg mulja na dan,
- srednje opterećeni aktivni mulj Cm =0,2-0,5 kg BPK_5/ kg mulja na dan,
- nisko opterećeni aktivni mujlj Cm=0,07 – 0,2 kg BPK_5/ kg mulja na dan,
- vrlo nisko opterećeni aktivni mulj (produžena aeracija) Cm < 0,07 kg BPK_5/ kg mulja na dan.

Stupanj onečišćenja otpadnih voda organskom tvari u izravnoj je vezi s količinom kisika potrebnom za oksidaciju odnosno razgradnju te tvari. Količina kisika potrebna da se razgradi biološki razgradiva organska tvar u vodi posredstvom aerobnih bakterija, tj. da se prevede u njihovu gradivnu komponentu, naziva se biokemijska potrošnja kisika (BPK), a ukupna biokemijska potrošnja kisika (BPKukup) bila bi količina kisika potrebna za potpunu

razgradnju organske tvari. Radi kvantificiranja opterećenja otpadnih voda organskom tvari za praktične je potrebe uveden pokazatelj petodnevne biokemijske potrošnje kisika (BPK_5).

BPK_5 se određuje tako da se relativno mala količina otpadne vode razrijedi u znatno većoj količini destilirane vode bogate otopljenim kisikom. Ta se smjesa hermetički zatvori u bocu i drži u njoj 5 dana na temperaturi 20 °C. Nakon toga se odredi koliko je otopljenog kisika potrošeno, te se ta količina izrazi u miligramima kisika po litru otpadne vode. Orijentacijski, za kućanske otpadne vode BPK_5 iznosi do 400 mg/L.

Prema hidrokemijskim čimbenicima vode i njenom opterećenošću organskom tvari, postoje 4 kategorije kakvoće vode određene po stupnju saprobnosti (Kolkwitz i Marsson 1908). Saprobnost je biološka situacija neke vode s obzirom na količinu i intenzitet razgradnje mrtve organske tvari autohtonog ili alohtonog porijekla. Prema tome postoje 4 kategorije, odnosno stupnja saprobnosti:

- oligosaprobni stupanj (vrlo čiste vode),
- betamezosaprobni stupanj (malo onečišćene vode),
- alfamezosaprobni stupanj (voda opterećena organskom tvari),
- polisaprobni stupanj (jako zagađena voda).

Pri procesima tretmana pročišćavanja otpadnih voda nastaju različite vrste otpadnih muljeva koje je potrebno odgovarajuće odložiti i tretirati. Ponekad su ti talozi i muljevi visoko toksični polutanti koji zagađuju okolinu i izazivaju neugodne mirise. Oni mogu biti opasni jer apsorbiraju i akumuliraju patogene organizme i toksine. Ugušćivanje taloga i muljeva može znatno smanjiti količinu otpada za odlaganje. Najčešće se koristi stabilizacija mulja putem anaerobne digestije pri čemu se dobije koristan bioplin i stabilizirani muljni ostatak koji se može odlagati na deponije ili koristiti u poljoprivredi i proizvodnji komposta. Najpodobnije vrste otpada za daljnje kondicioniranje su one koji sadrže visoku koncentraciju vlaknastih materija, kao što su otpadi iz prerade povrća i iz industrije papira. Spaljivanjem mulja riješili bismo ga se u potpunosti, međutim jedan od najvećih problema sa spaljivanjem je nastajanje dioksina, furana i drugih toksičnih, plinovitih ostataka.

5. PRAŽIVOTINJE (PROTOZOA)

Praživotinje je 1674. god. otkrio Leeuwenhoek, a 1817. godine ih je Goldfuss nazvao „protozoa“, što znači prvotne, izvorne životinje (grč. *protos*-prvi, prednji + *zoon*-živo biće, životinja). U današnjoj raspodjeli živog svijeta one su, uz mnoge druge jednostanične eukariote, smještene unutar carstva Protista.

Protozoa su jednostanični eukariotski organizmi veličine od 2 mikrometra do više od 4500 mikrometara. Tjelesna organizacija praživotinja ostala je na jednostaničnoj razini, a njihove brojne razvojne linije tekle su preko specijalizacije citoplazmatskih dijelova (organela) i skeletnih struktura. Zbog toga je jednostavnost i složenost građe tijela protozoa izražena u broju i građi njihovih organela i skeletnih struktura. Stanice praživotinja mnogo su složenije građe od stanica mnogostaničnih životinja jer adaptacije za preživljavanje postoje na staničnoj razini. Stoga protozoa pokazuju specijalizacije, složene morfološke adaptacije i životne cikluse koji nemaju sličnosti s pojedinačnom stanicom u mnogostaničnom organizmu.

OSNOVNI PLAN GRAĐE TIJELA: integracija životnih funkcija kod praživotinja postignuta je na razini eukariotskog tipa stanice (imaju jezgrinu ovojnicu, eukariotsku rRNA, endoplazmatske membrane, karakteristične eukariotske organele, sposobnost fagocitoze i sl.). Citoplazma čini osnovu unutrašnje građe tijela. U citoplazmi se nalaze organeli, citoskelet, pigmenti, rezervne tvari, kao i produkti tvarne izmjene. Kod mnogih praživotinja može se razlikovati vanjska, gušća ektoplazma i unutrašnja, rjeđa, endoplazma koje kontinuirano prelaze jedna u drugu. Organeli obavljaju sve životne funkcije, a po svom postanku mogu biti autonomni, euplazmatski i aloplazmatski.

INTEGUMENTNA I POTPORNA FUNKCIJA: stanična membrana, sastavljena od proteina i lipidnog dvosloja, nalazi se na površini tijela svih praživotinja. Osim što ima zaštitnu funkciju, sudjeluje u kretanju, omogućava selektivnu izmjenu tvari, prima podražaje i uspostavlja dodir s okolinom. Čvrstoća i oblik tijela najviše ovise o građi citoskeleta. Citoskeleti su najčešće smješteni odmah ispod stanične membrane gdje, zajedno s drugim organelima, čine pelikulu. Citoskelet može biti sastavljen od mikrofilamenata, mikrotubula ili alveola.

PREHRANA I PROBAVA: kod protozoa postoje svi tipovi prehrane. Hranjive tvari mogu ući u tijelo praživotinje na nekoliko načina, ovisno o veličini čestica i njihovoj koncentraciji. Neke ekstracelularne tvari mogu ući u stanicu kroz sitna udubljenja na staničnoj membrani. Taj proces naziva se endocitoza. Pinocitoza je nespecifičan oblik endocitoze u kojem je stopa uzimanja tvari proporcionalna njihovoj koncentraciji u okolnom mediju. Većina slobodno živućih praživotinja hrani se fagocitozom, a predstavlja zatvaranje većih čestica hrane (bakterija, algi i drugih praživotinja) u hranidbeni mjehurić – hranidbenu vakuolu. Kod Sarcodina (sluzavaca) se fagocitoza vjerojatno odvija na bilo kojem dijelu stanične površine. Kod trepetljikaša i većine fagotrofnih bičaša to se događa na posebnom mjestu na tijelu – u citosomu. Na površini tijela, različiti trepetljikavi organeli koji okružuju citosom služe za koncentraciju ili zaustavljanje čestica hrane.

RASPROSTRANJENOST I KLASIFIKACIJA PRAŽIVOTINJA: većina slobodno živućih oblika protozoa ima kozmopolitsku distribuciju. Rasprostranjuju se uz pomoć strujanja vode, vjetra i životinja. Po različitosti oblika, veličini, građi tijela i načinu života praživotinje su vjerojatno najraznolikija skupina organizama koja obuhvaća oko 40 000 vrsta. Većinom su to slobodnoživući oblici koji nastanjuju mora, vode na kopnu i vlažno tlo gdje se hrane fagocitozom. Postoje 4 skupine praživotinja:

- Mastigophora ili Flagellata (bičaši) uključuje praživotinje koje imaju bičeve, a tradicionalno ih dijelimo na Phytoflagellata i Zoophlagellata,
- Sarcodina (sluzavci) – neki stvaraju ljušture složene građe, kreću se pomoću pseudopodija (amebe),
- Sporozoa ili Apicomplexa (truskovci) – endoparaziti koji su nesposobni za aktivan život izvan domadara,
- Ciliophora (trepetljikaši) – praživotinje koje su u na razini stanice postigle najviši stupanj, a organeli za kretanje i skupljanje hrane su trepetljike (ciliae) (I.Habdija i suradnici, 2005.).

Sve skupine, osim Sporozoa, naseljavaju stajaće vode u kojima ima truležnog biljnog materijala i ostalog organskog otpada. Pojedine vrste praživotinja često žive pričvršćene za vodeno bilje ili na trulim grančicama i lišću na dnu plićih bara ili u litoralu jezera. Upravo je afinitet ovih životinja prema organski opterećenoj vodenoj sredini bio pokazatelj da bi ih se

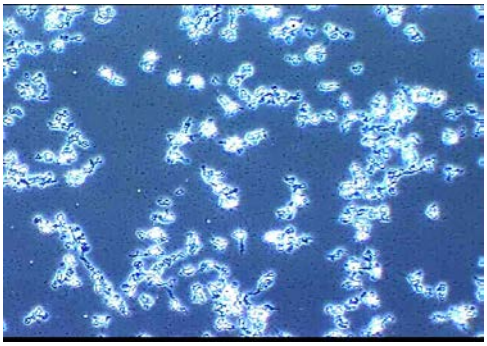
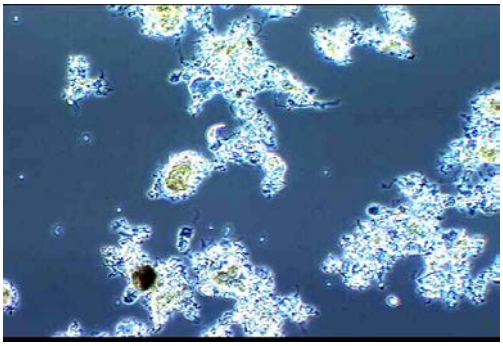
lako moglo nasaditi u zajednici aktivnog mulja, zajedno sa ostalim mikroorganizmima i učinkovito iskorištavati u procesu pročišćavanja jezerske vode ili raznih vrsta otpadne vode.

6. POPULACIJE PRAŽIVOTINJA U AKTIVNOM MULJU

Od svih spomenutih koljena praživotinja, Ciliophora ili Ciliata (trepetljikaši) su najzastupljeniji u uređajima za pročišćavanje voda. Njihova uloga u pročišćavanju vode je višestruka jer sudjeluju u nakupljanju, taloženju i razgradnji otpadnih mineralnih tvari. Praživotinje nakupljaju raspršene bakterije koje se razmnožavaju u otpadnim vodama. Taloženjem bakterija smanjuje se volumen biološkog mulja zasićenog bakterijama. Raspršenost bakterija uzrokuju spojevi ugljika i sitne tvari, koje se iz zamućene vode uklanjaju procesom taloženja u kojem trepetljikaši imaju glavnu ulogu. Trepetljikaši također luče ljepljivu tekućinu kojom obavijaju i nakupljaju sitne čestice, te se smanjuje njihov kvantitativni udio u krajnjem talogu. Izlučevine praživotinja prodiru u mulj i sa mineralnim tvarima, uključujući dušik i fosfor, pridonose razgradnji mineralnih čestica u procesu pročišćavanja otpadnih voda s aktivnim biološkim muljem (Martín-Cereceda, Serano i. Guinea 1996)

U aktivnom biološkom mulju najprije se inokulira mješovita kultura raznih mikroorganizama. Bakterije imaju zadaću uklanjanja organske tvari pretvarajući ju u vlastitu biomasu, a praživotinje predstavljaju konzumente bakterija, odnosno primarne potrošače. U aktivnom mulju pojavljuju se: amebe, bičaši, zavojnotrepetljikaši, slabotrepetljikaši i stabljikasti trepetljikaši.

Praživotinje u aktivnom mulju hrane se bakterijskim zajednicama te tako uvelike pridonose kontroli brojnosti bakterija, odnosno drastičnom smanjenju broja bakterija, što je jedan od osnovnih ciljeva pročišćavanja vode. Praživotinje u ovom slučaju imaju ulogu grejzera, tj. brstača bakterija jer se hrane upravo njima i učinkovito ih uklanjaju iz otpadne vode, prvenstveno komunalne. Također, kao što je već spomenuto, svojim izlučevinama uzrokuju stvaranje želatinoznih pahuljica mulja i bakterija (flokula) te tako smanjuju raspršenost bakterija i njihovu relativnu koncentraciju, što je prikazano na Slici 5.

 a)  b)

Slika 5. a) raspršene bakterije i b) želatinozne pahuljice mulja

7. DOKAZ UČINKOVITOSTI PRAŽIVOTINJA U BIOLOŠKIM PJEŠČANIM FILTRIMA

U studiji u kojoj je proučavana važnost praživotinja kao učinkovitog načina uklanjanja bakterija u pješčanim filtrima pri pročišćavanju vode, jedanaest koloni pješčanih filtera zasijano je bakterijom *Aeromonas hydrophila* i ispunjeno otpadnom vodom. Toj zajednici su također dodali i praživotinje kako bi se pratio i potvrdio njihov učinak u biološkim pješčanim filtrima. Pokus je trajao 30 dana, a kroz taj vremenski period su se detaljno pratile brojnosti bakterijskih zajednica otpadne vode, brojnost bakterije *Aeromonas hydrophila* i brojnost praživotinja u filterskom pijesku. Rezultati pokusa su dokazali da je učinkovitost uklanjanja nasađene bakterije *Aeromonas hydrophila* uvelike rasla sa porastom broja praživotinja u pješčanom filtru, što se pokazalo valjanim dokazom u vezi sa „grejzerskom“ ulogom praživotinja u sustavima za pročišćavanje vode.

Otpadne vode sa patogenim organizmima mogu onečistiti podzemnu vodu i izvore. Stoga je u uređajima za pročišćavanje vode najviše pažnje posvećeno upravo uklanjanju fekalnih mikroorganizama iz komunalnog otpada. Ovi mehanizmi predstavljaju kombinaciju fizikalno-kemijskih i bioloških faktora, međutim s naglaskom na biološkim faktorima jer nam je poznato da su praživotinje jedni od najvažnijih bakteriovora u uređajima za pročišćavanje te da svojim prehranjivanjem brste bakterijske zajednice i tako učinkovito uklanjaju patogene organizme iz otpadne vode.

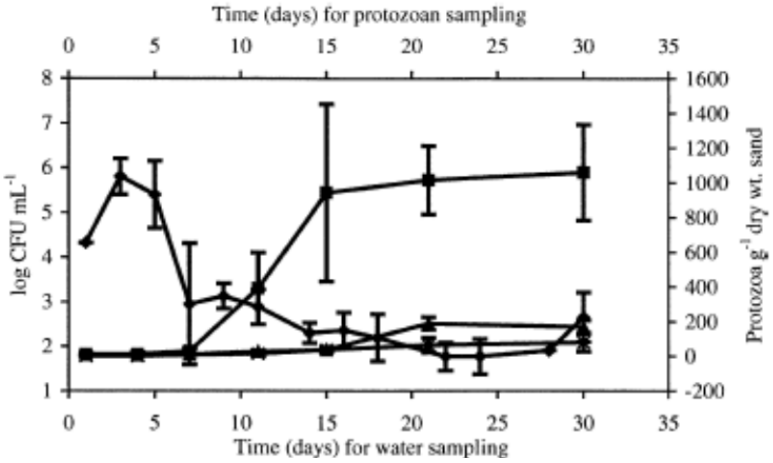
Aeromonas hydrophila nasijana je na hranjivom agaru i dodavana je svaki dan pješčanom filteru kako bi se održala stalna dolazna koncentracija novih bakterija. Pješčanom

filteru pridodana je i otpadna voda bogata nutrijentima (kako pokazuje Tablica 3.) u svrhu osiguravanja hrane za bakterije

Tablica 3. Sastav otpadne vode riblje farme bogate nutrijentima

Nutrient	Concentration
	mg L^{-1}
Ammonia	7.33 ± 3.79‡
Nitrate	1.18 ± 0.18
Total P	0.08 ± 0.05
Total N	1.61 ± 0.39
Total organic C	3.40 ± 0.89

Nakon toga, praćene su koncentracije *Aeromonas hydrophila* i praživotinja u pješčanim kolonama. U prvih 2-4 dana, koncentracija bakterije *Aeromonas hydrophila* bila je relativno visoka nakon čega slijedi njen brzi pad između 5. i 7. dana te njen blaži pad između 7. i 14. dana. Nakon 14. dana, koncentracija bakterija u filteru se stabilizirala i ostala na jako niskom nivou do kraja izvođenja pokusa. Suprotno tome, mali broj praživotinja zabilježen je na početku pokusa u svim slojevima pješčanog filtra prije zasijavanja bakterije *A. hydrophila*. Do 14. dana izvođenja pokusa, broj praživotinja u pješčanoj koloni je znatno i brzo rastao, da bi se oko 14. dana stabilizirao i ostao na vrlo visokoj brojčanoj vrijednosti. Kao što vidimo, brojnosti bakterija i praživotinja su tijesno povezane i obrnuto proporcionalne, što pokazuje i Slika 6. (Bomo, Stevik, Hovi i Hanssen, 2004)



Slika 6. Koncentracija bakterije *Aeromonas hydrophila* i brojnost praživotinja

Kako bi se osigurali da povezanost brojnosti bakterija i praživotinja nije samo puka slučajnost, znanstvenici su neke pješčane kolone prethodno tretirali cikloheksimidom,

kemijskim inhibitorom rasta za većinu eukariotskih organizama. U kolonama sa cikloheksimidom došlo je do inhibicije razvoja praživotinja što je onemogućilo brštenje bakterije *A. hydrophila* i njeno uklanjanje te je *A. hydrophila* cijelo vrijeme imala visoku koncentraciju u pješčanom filteru jer nije imala predatore(Tablica 4.)

Tablica 4. Koncentracije *A. hydrophila* u kolonama sa/bez cikloheksimida

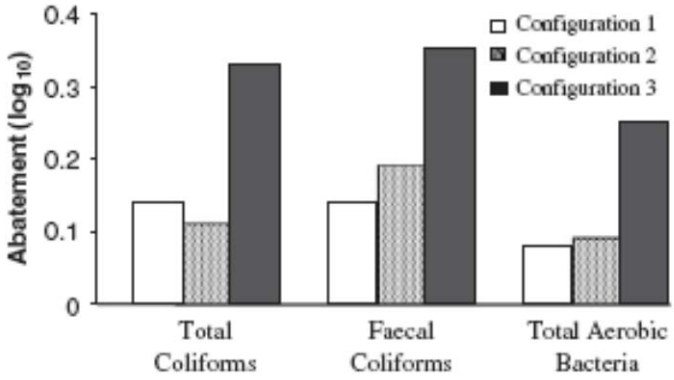
Sampling	Cycloheximide-treated columns	Nontreated columns
1	2.20 ± 0.42	1.14 ± 0.50
2	2.75 ± 0.26	1.36 ± 0.29
3	2.49 ± 0.15	0.50 ± 0.35
4	2.22 ± 0.15	0.40 ± 0.00
5	1.69 ± 0.22	0.98 ± 0.38
6	1.83 ± 0.13	1.09 ± 0.24
7	1.63 ± 0.28	0.49 ± 0.55
8	1.02 ± 0.34	0.63 ± 0.21
9	0.86 ± 0.49	0.40 ± 0.52
10	2.31 ± 0.07	1.15 ± 0.17
11	1.52 ± 0.10	0.30 ± 0.17
12	1.55 ± 0.20	0.40 ± 0.00

8. UTJECAJ BIOFILMA I PRAŽIVOTINJA NA UKLANJANJE BAKTERIJA IZ SEPTIČNOG IZLJEVA

Dva najvažnija mehanizma smanjenja broja bakterija u poroznoj sredini su filtracija i adsorpcija, a ovise o veličini zrna poroznog sloja, obliku i veličini bakterijske stanice, hidrostatskom tlaku i zasićenosti vode. Potpuno uklanjanje bakterija iz otpadne vode ovisi o predatorskoj aktivnosti praživotinja, a neke studije su pokazale da je učinkovitost ukalanjanja bakterija čak i veća u pristutnosti biofilma (Chabaud, Andres, Lakel i Le Cloirec, 2006). Biofilm je zajednica mikroorganizama i njihovih ekstracelularnih produkata koji izgrađuju zaštitnu biološku opnu. Gradnja biofilma počinje lijepljenjem slobodnoplivajućih mirkoorganizama za površinu pomoću slabih van der Waalsovih sila. Nakon toga dolazi do adhezijskog prianjanja ostalih organizama (bakterija, praživotinja, algi, gljiva) i izlučivanja matriksa koji ih obavija. Neka postrojenja za pročišćavanje vode koriste biofilm; pri tome se otpadna voda prelijeva preko biofilma čime se ekstrahira organska tvar iz vode (http://www.answers.com/topic/biofilm&usg?).

Uklanjanje ukupnih i fekalnih koliforma i aerobnih bakterija proučavano je na premazu septičnog izljeva na staklenim pločama (1)sa biofilmom i aktivnim praživotinjama, (2) sa biofilmom i kemijski inaktiviranim praživotinjama koristeći ponovno cikloheksimid i

(3) bez biofilma. Koncentracija i preživljavanje ukupnih i fekalnih koliforma praćeni su 26 dana. Na kraju pokusa, analiziran je sastav staklenih pločica. Slika 7. nam pokazuje učinkovitost uklanjanja aerobnih bakterija, ukupnih i feklanih koliforma na tri različita uređaja za pročišćavanje vode.



Slika 7. Učinkovitost uklanjanja bakterija u tri različita uređaja; (Configuration 1) bez biofilma, (Configuration 2) bez aktivnih praživotinja i (Configuration 3) sa biofilmom i sa aktivnim praživotinjama

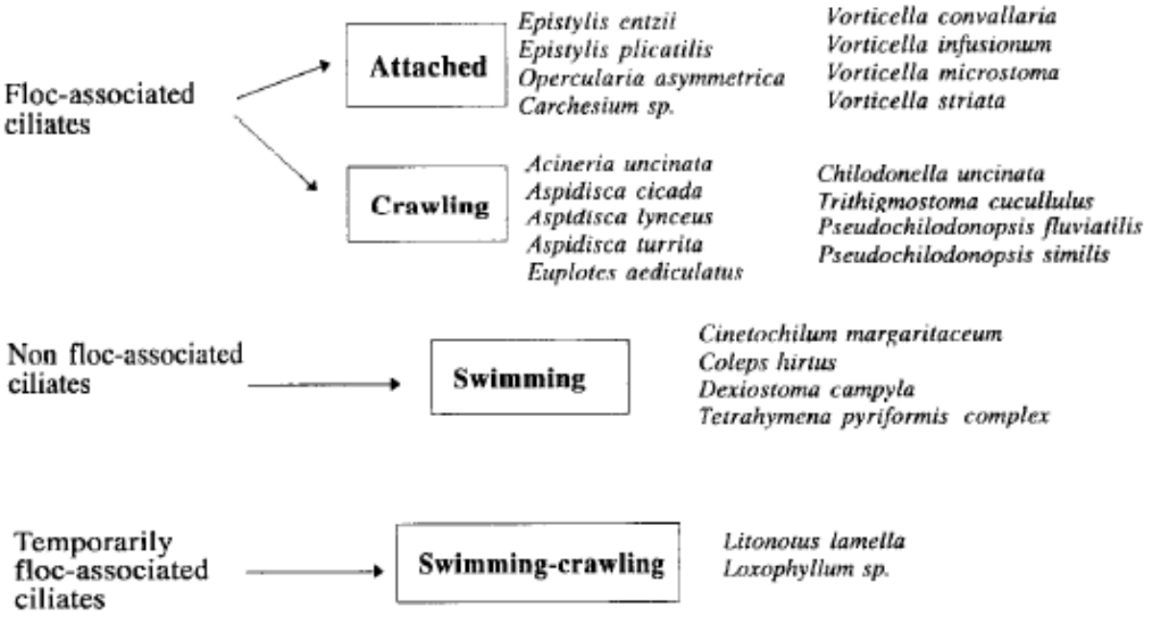
Dijagram pokazuje da konzumacija bakterija od strane praživotinja ima znatan učinak pri uklanjanju patogenih organizama (koliforma) u tekućem septičnom izljevu i u prisutnosti biofilma (krutoj tvari) te da je uređaj 3 zabilježio najbolje rezultate (oko 60% uklonjenih bakterija). Rezultati učinkovitosti biofilma sa praživotinjama inaktiviranim cikloheksimidom bili su jednaki onima na uređaju bez biofilma i bez praživotinja. Međutim, važna uloga biofilma je da potpomaže smanjenje broja bakterija pomoću adhezije i adsorpcije; preciznije, biofilm koncentrira zajednice praživotinja koji su predatori za sve bakterije u uzorku. (Chabaud, Andres, Lakel i Le Cloirec, 2006).

9. PRAŽIVOTINJE KAO BIOINDIKATORI

Indikatori su tvari koje ukazuju na fizičko-kemijska svojstva određenog medija (ukazuju na neki proces u tijeku, koncentraciju neke tvari ili kakvoću), a bioindikatori su živa bića koja svojom prisutnošću u nekoj sredini ili mediju svjedoče o određenim fizičko-kemijskim i biološkim karakteristikama te sredine.

Praživotinje smatramo važnim bioindikatorima procesa koji se odvijaju u uređajima za pročišćavanje vode. Kako bi se to i dokazalo, provedena je studija u kojoj se u jednom postrojenju za pročišćavanje vode pratilo sedam fizikalno-kemijskih karakteristika vode i mulja te vrste trepetljikaša koji su se pojavljivali za vrijeme proučavanja. Pojavile su se sveukupno 23 svojte trepetljikaša: *Acineria unicata, Aspidisca cicada, Aspidisca lynceus, Aspidisca turrita, Carchesium* sp., *Chilodonella unicata, Cinetochilum margaritaceum, Coleps hirtus, Dexiostoma campylum, Epistylis entzii, Epistylis plicatilis, Euplotes aediculatus, Litonotus lamella, Loxophyllum* sp., *Opercularia asymetrica, Pseudochilodonopsis fluviatilis, Pseudochilodonopsis similis, Tetrahymena pyriformis, Trithigmostoma cucullulus, Vorticella convallaria, Vorticella infusionum, Vorticella microstoma, Vorticella striata.* Od nabrojanih svojti, najveću učestalost pojavljivanja u uređajima zabilježili su rodovi *Vorticella* (93%) i *Epistylis* (85%). Ostali rodovi kao npr. *Aspidisca* (64%), *Litonotus* (37%), *Acineria* (34%), i *Chilodonella* (20%) pojavljivali su se sa znatno manje obilja i učestalosti.

Nakon formiranja želatinoznih pahuljica (flokula) u bazenu za aeraciju, ustanovljene su 4 grupe trepetljikaša, a podjela je izvršena s obzirom na njihov odnos prema flokulama; tako imamo trepetljikaše pričvršćene za flokule, puzajuće, plivajuće i plivajuće-puzajuće trepetljikaše. Pričvršćeni i puzajući trepetljikaši su vezani za flokule, s tim da su pričvršćeni trepetljikaši čvrsto pričvršćeni i ne mogu se kretati, a puzajući se mogu kretati po površini flokule koristeći posebne strukture (cilije ili cire). Grupa plivajućih trepetljikaša obuhvaća one koji nisu vezani za flokule, tj. slobodno su raspršeni u tekućem mediju, a grupi plivajuće-puzajućih pripadaju oni trepetljikaši koji su ponekad vezani za flokule, a ponekad slobodno raspršeni u tekućini. Rezultati analize pokazali su da su jedino grupe pričvršćenih i puzajućih trepeljikaša uvijek prisutne i obilju različitim vrstama. Slika 8. pokazuje četiri grupe s pripadajućim vrstama.

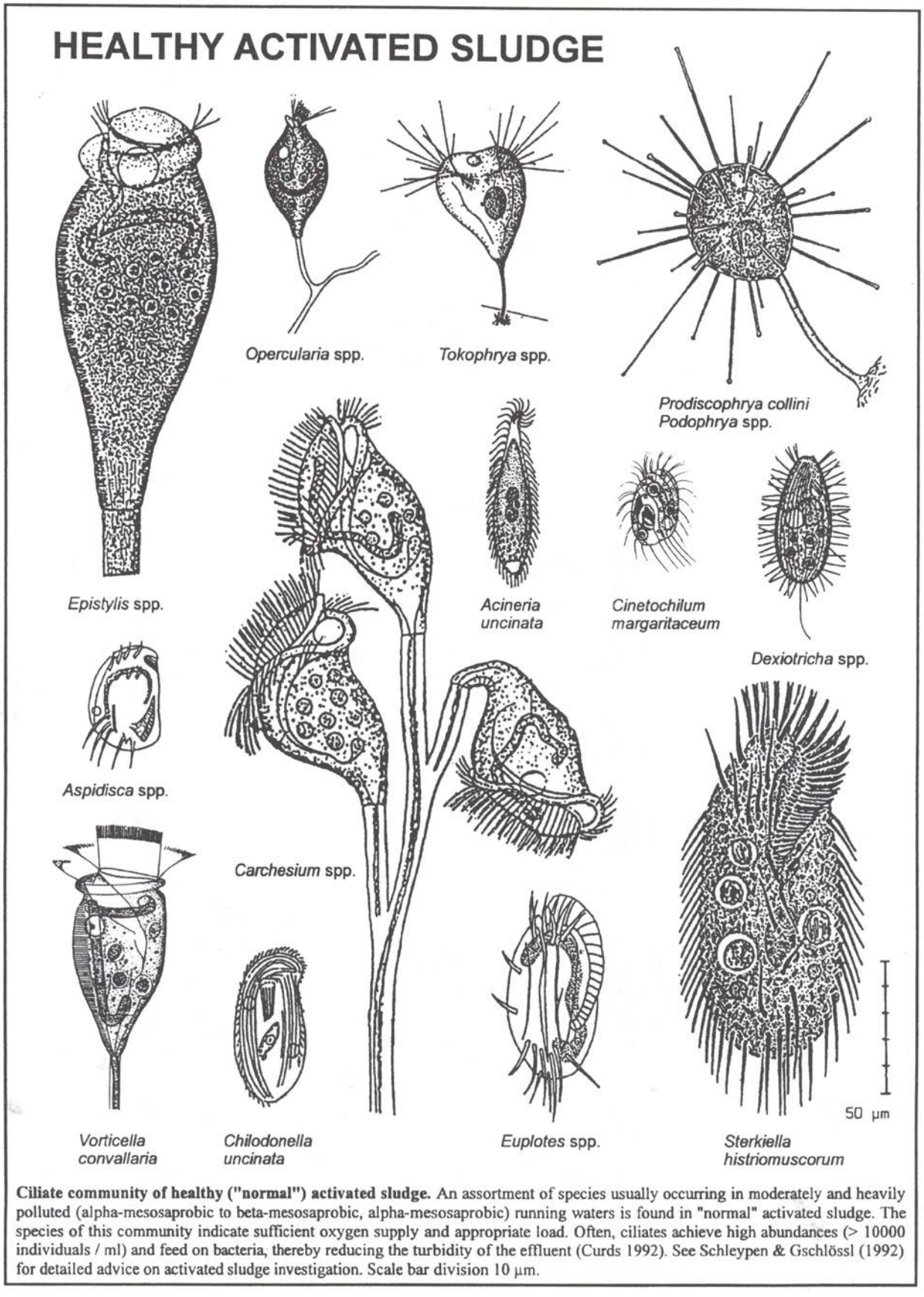


attached=pričvršćeni, crawling=puzajući, swimming=plivajući i swimming-crawling=plivajuće-puzajući

Slika 8. 4 grupe praživotinja s obzirom na njihovu pokretljivost na želatinoznim pahuljicama

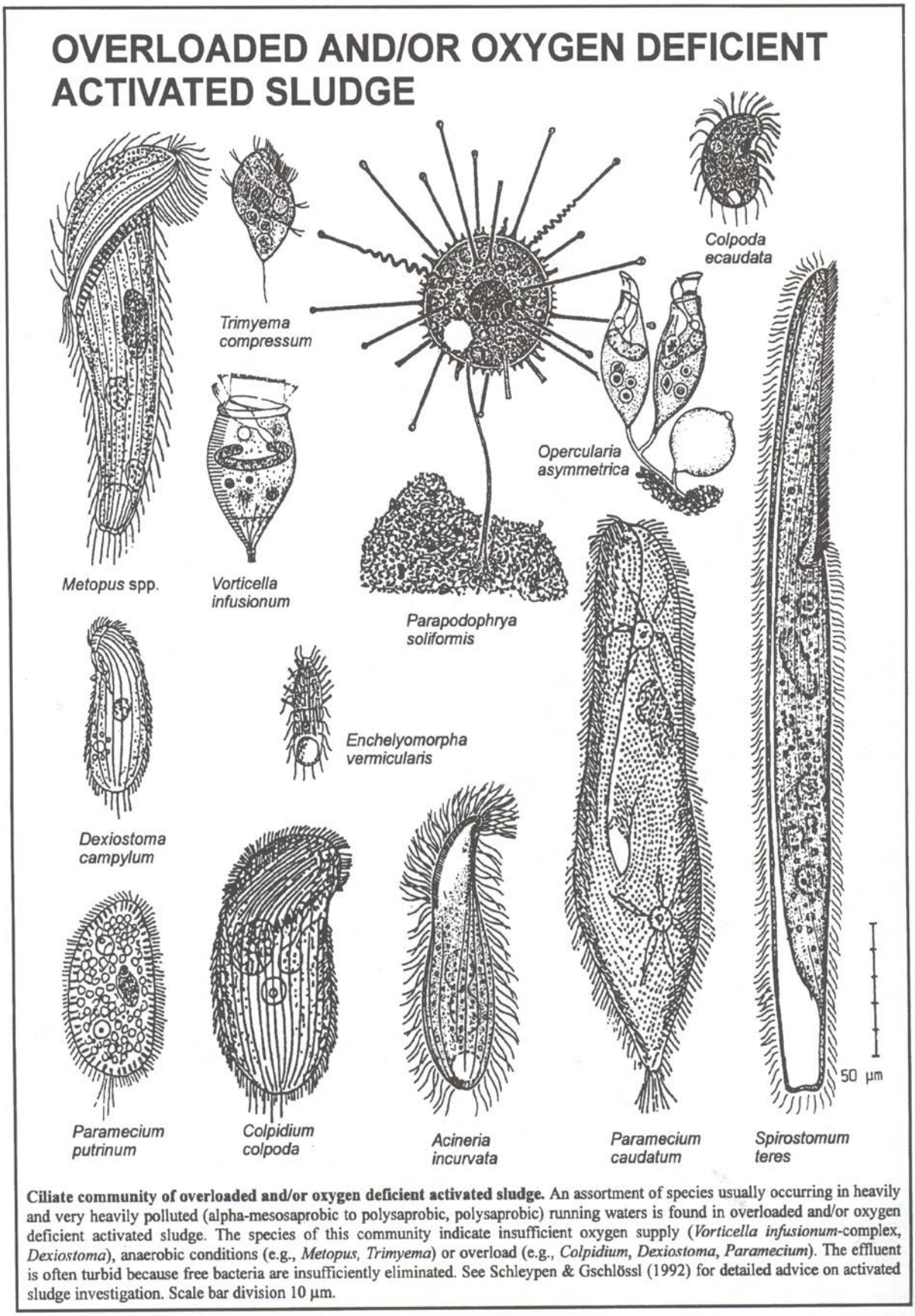
Izdvojeno je sedam parametara vezanih za kakvoću i stanje aktivnog mulja koji su u izravnoj vezi s pojavljivanjem pojedinih trepetljikaša: koncentracija amonijaka u ulaznoj i izlaznoj vodi, petodnevna biološka potrošnja kisika (BPK_5), volumni indeks mulja, starost mulja te maseno i volumno opterećenje mulja.

Tako npr. *Dexiostoma campylum* može podnijeti jako visoku količinu toksičnih tvari, a *Coleps hirtus* je vrsta trepetljikaša jako osjetljivih na koncentraciju amonijaka, dobar je indikator ispravnosti procesa nitrifikacije te se koristi u postrojenjima koja pročišćavaju poljoprivrednu vodu bogatu amonijakom. Pričvršćeni trepetljikaši su u izravnoj vezi s volumnim opterećenjem mulja i poželjnim vrijednostima BPK_5 izlazne vode. Plivajući trepetljikaši nam ukazuju na lošu kvalitetu pročišćene vode, opterećenje mulja, manjak kisika i prisutnost toksičnih tvari. Plivajuće-puzajući trepetljikaši su vezani za volumni indeks, parametar koji pokazuje kvalitetu slijeganja mulja; oni obiluju u mulju sa lošom sedimentacijom i time su dobar bioindikator niske kakvoće mulja (Martín-Cereceda, Serano i Guinea, 1996). Slika 9. i Slika 10. pokazuju trepetljikaše prisutne u zdravom aktivnom mulju i trepetljikaše prisutne u opterećenom mulju s nedostatkom kisika.



Ciliate community of healthy ("normal") activated sludge. An assortment of species usually occurring in moderately and heavily polluted (alpha-mesosaprobic to beta-mesosaprobic, alpha-mesosaprobic) running waters is found in "normal" activated sludge. The species of this community indicate sufficient oxygen supply and appropriate load. Often, ciliates achieve high abundances (> 10000 individuals / ml) and feed on bacteria, thereby reducing the turbidity of the effluent (Curds 1992). See Schleypen & Gschlössl (1992) for detailed advice on activated sludge investigation. Scale bar division 10 µm.

Slika 9. Trepetljikaši prisutni u zdravom mulju



Ciliate community of overloaded and/or oxygen deficient activated sludge. An assortment of species usually occurring in heavily and very heavily polluted (alpha-mesosaprobic to polysaprobic, polysaprobic) running waters is found in overloaded and/or oxygen deficient activated sludge. The species of this community indicate insufficient oxygen supply (*Vorticella infusionum*-complex, *Dexiostoma*), anaerobic conditions (e.g., *Metopus, Trimyema*) or overload (e.g., *Colpidium*, *Dexiostoma*, *Paramecium*). The effluent is often turbid because free bacteria are insufficiently eliminated. See Schleypen & Gschlössl (1992) for detailed advice on activated sludge investigation. Scale bar division 10 µm.

Slika 10. Trepetljikaši karakteristični za opterećeni mulj i/ili nedostatak kisik

10. SAŽETAK

Praživotinje su jednostanični eukariotski organizmi vrlo složene stanične građe. Njihovo prirodno stanište su stajaće vode u kojima ima truležnog biljnog materijala i ostalog organskog otpada, što svjedoči o afinitetu praživotinja ka organski opterećenoj sredini. Ova karakteristika ukazuje da bi ih se moglo iskorištavati u uređajima za pročišćavanje izvorske, jezerske i otpadne vode koristeći aktivni mulj. Aktivni mulj je zajednica mikroorganizama (bakterija, praživotinja, algi) gdje pojedine vrste organizama obavljaju određenu zadaću; aerobne bakterije smanjuju količinu organske tvari tako što te iste tvari koriste u svom metabolizmu, a praživotinje svojom aktivnošću sudjeluju u izgradnji želatinoznih pahuljica mulja (flokula) i trepetljikama dižu nutrijente s dna te tako stimuliraju produkcije zajednica mikroorganizama. Praživotinje se također hrane aerobnim bakterijama; time kontroliraju biomasu bakterija i pridonose stabilnosti cijelog postrojenja za pročišćavanje vode (nazivamo ih grejzerima, od eng. riječi *graze*=brstiti, pasti).

Još jedna vrlo bitna uloga praživotinja je i uloga bioindikatora; pojavljivanje određenih vrsta praživotinja ukazuje na opterećenost mulja organskom tvari, prisutnost toksičnih tvari, pokazatelji su procesa slijeganja mulja, količine amonijaka u dolaznoj i odlaznoj vodi i ukazuju na količinu raspoloživog kisika koji će biti korišten u metabolizmu aerobnih bakterija.

11. SUMMARY

Protozoa are single cellular eukaryotic organisms with a complex structure. These organisms natural habitats are standing waters in which there are high amounts of decomposed plant material and other organic wastes that indicate their affinity to high organic production waters. Given this fact we can conclude that these protozoa can be used in water cleaning devices based on activated sludge, and this primarily for spring waters, lakes and waste waters. Active sludge is a community of micro-organisms (bacteria, protozoa, algae) in which each specie is specified to its own work; aerobic bacteria use organic material in their own metabolisms and thus lower its amounts in their surrounding, while protozoa produce gelatin mud flakes (flocula) and with their cilia bring up nutrients from the bottom, which all together stimulates production of micro-organisms. These protozoa graze on aerobic bacteria allowing them to control the bacterial biomass and stabilize the whole water cleaning plant.

Another important role that the protozoa have is their role as bioindicators; the appearance of specific protozoa in waters indicates that the waters contain high amounts of organic production and toxic material. They can also indicate processes of sludge sedimentation, amounts of oxygen (that the aerobic bacteria use for their metabolism) as well as amounts of amonia in incoming water and drain.

12. LITERATURA:

- I. Habdija, B. P.-Habdija, I. Radanović, J. Vidaković, M. Kučinić, M. Špoljar, R. Matoničkin, M. Miliša,,2005., Protista – Protozoa i Metazoa – Invertebrata: Funkcionalna građa i praktikum, Meridijani, Samobor, 399 p
- Boari G., I. M. Mancini, E. Trulli, 1997, Technologies for water and wastewater treatment, *Options Mediterraneennes* **31**, 262-287.
- Kolkwitz, R., and Marsson, M. 1908. Oekologie der pflanzlichen saprobien. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 26a: 505-519. (Translated 1967. Ecology of plant saprobia. U: *Biology of Water Pollution*, pp. 47-52 [Kemp, L. E., Ingram, W. M., and Mackenthum, K. M., Eds]. Washington, DC, Federal Water Pollution Control Administration.)
- Martín-Cereceda M., S. Serrano, A. Guinea, 1996, A comparative study of ciliated protozoa in activated-sludge plants, *FEMS Microbiology Ecology* **21**, 267-276.
- Bomo A.-M., T. K. Stevik, I. Hovi, J. F. Hanssen, 2004, Waste management: Bacterial removal and protozoa grazing in biological sand filters, *Journal of Environmental Quality* **33**, 1041-1047.
- Chabaud S., Y. Andres, A. Lakel, P. Le Cloirec, 2006, Bacterial removal in septic effluent: Influence of biofilm and protozoa, *Water Research* **40**, 3109-3114.
- http://www.answers.com/topic/biofilm&usg?