

Termofilni mikroorganizmi u zaštiti okoliša

Muzica, Katarina

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:651447>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Muzica

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Muzica

TERMOFILNI MIKROORGANIZMI U ZAŠTITI OKOLIŠA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Prof. dr. sc. Zvezdana Findrik Blažević

Doc. dr. sc. Dragana Vuk

Zagreb, rujan 2021.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Mariji Vuković Domanovac na zanimljivoj temi, iskazanom trudu i susretljivosti tijekom pisanja ovog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci tijekom svih godina studiranja.

SAŽETAK

Termofilni mikroorganizmi rastu pri temperaturama iznad 40°C, a njihov najdragocjeniji proizvod jesu termostabilni enzimi koji su na tim temperaturama i dalje aktivni. Zbog te činjenice njihova je uloga u zaštiti okoliša veoma šarolika. Koriste se u procesima proizvodnje biogoriva, gdje se biokemijskim reakcijama dobivaju bioetanol te vodik kao alternativa kemijskim reakcijama. Osim toga, njihovi enzimi imaju značajnu ulogu u industrijskim procesima proizvodnje deterdženata i papira, te u prehrambenoj i tekstilnoj industriji. Enzimi su biorazgradivi i kao takvi bolje rješenje od štetnih kemikalija koje se uobičajeno koriste u tim procesima.

Kompostiranje i bioremedijacija predstavljaju važne postupke u zaštiti okoliša koji ne bi bili mogući bez termofilnih mikroorganizama. U procesu kompostiranja imaju zadaću razgradnje biorazgradivog otpada pri povišenoj temperaturi s ciljem stvaranja komposta. Neki termofili dugotrajnim izlaganjem stekli su prirodnu otpornost na pesticide, teške metale, naftne ugljikovodike i tekstilne boje te imaju sposobnost biosorpcije ili bioakumulacije koju možemo iskoristiti za sanaciju onečišćenih područja tom vrstom onečišćenja.

Ključne riječi: termofilni mikroorganizmi, enzimi, zaštita okoliša, bioremedijacija

SUMMARY

Thermophilic microorganisms grow at temperatures above 40°C. Their most valuable product is thermostable enzymes, which are still active at these high temperatures. Due to this fact, their role in environmental protection is very broad. They are used in biofuel production, where hydrogen and bioethanol are produced by biochemical reactions as an alternative to chemical reactions. Enzymes also play an important role in industrial production processes of paper and detergents, as well as in the food and textile industries. Since enzymes are biodegradable, they are a better solution than harmful chemicals that are traditionally used.

Composting and bioremediation are important processes in environmental protection that would not be possible without thermophiles. In the composting process, they degrade biodegradable waste at elevated temperatures to produce compost. Through long-term exposure, some thermophiles have acquired a natural resistance to pesticides, heavy metals, textile dyes, and petroleum hydrocarbons, giving them the ability to biosorb or bioaccumulate, which we can use to remediate this type of pollution.

Key words: thermophilic microorganisms, enzymes, environmental protection, bioremediation

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. MIKROORGANIZMI.....	3
2.1.1. Podjela mikroorganizama.....	3
2.1.2. Građa mikroorganizama	3
2.1.3. Podjela mikroorganizama prema okolišnim uvjetima.....	4
2.1.4. Uzgoj mikroorganizama u laboratorijskim uvjetima	6
2.2. ENZIMI.....	6
2.2.1. Građa enzima	6
2.2.2. Termostabilni enzimi	7
2.3. TERMOFILNI MIKROORGANIZMI.....	9
2.3.1. Staništa termofilnih mikroorganizama	9
2.3.2. Podjela termofilnih mikroorganizama.....	9
2.3.3. Prilagodbe i karakteristike	10
2.4. ZAŠTITA OKOLIŠA	10
2.4.1. Voda	11
2.4.2. Tlo	11
2.4.3. Zrak	12
3. PREGLEDNI DIO	13
3.1. PROIZVODNJA EKOLOŠKI PRIHVATLJIVOG GORIVA	13
3.1.1. Proizvodnja vodika	13
3.1.2. Proizvodnja etanola.....	13
3.2. BIOREMEDIJACIJA.....	15
3.2.1. Naftni ugljikovodici	15
3.2.2. Teški metali	16
3.2.3. Tekstilne boje.....	17
3.3. KOMPOSTIRANJE	18
3.3.1. Faze kompostiranja	18
3.3.2. Fizikalno-kemijski uvjeti.....	19
3.3.3. Zajednice termofila	20
3.3.4. Visoko-temperaturno kompostiranje.....	21

3.4. UKLANJANJE PESTICIDA IZ OKOLIŠA.....	22
3.5. POBOLJŠANJE INDUSTRIJSKIH PROCESA	23
3.5.1. Proizvodnja deterdženata	23
3.5.2. Prehrambena industrija.....	24
3.5.3. Tekstilna industrija.....	25
3.5.4. Proizvodnja papira	26
4. ZAKLJUČAK.....	27
5. LITERATURA	28

1. UVOD

Mikrobiologija je znanost koja se bavi proučavanjem mikroorganizama te se od njezinih početaka do danas sve više razvijala otkrivanjem do tada nepoznatih živućih stvorenja. Tehnologija je također znatno napredovala pa se stoga intenzivnije počinje istraživati razne procese u živim sustavima i tako se postupno dolazi do otkrića da mikroorganizmi posjeduju svojstva koje mogu koristiti čovjeku unatoč tome što su neki od njih uzročnici mnogih bolesti [1]. Ova živa bića nevidljiva golom oku nalaze se svuda oko nas i život kakav poznajemo zasigurno ne bi bio moguć bez njih. Posljednjih smo godina svjedoci ubrzane industrijalizacije, porasta svjetskog stanovništva, urbanizacije, a sve to ostavlja ogroman trag na okoliš i sve njegove sastavnice. Iz tog razloga znanstvenici se sve više okreću istraživanju obnovljivih izvora energije te održivog razvitka kako bi se usporila degradacija planeta Zemlje zbog nemarnog iskorištavanja prirodnih resursa te nekontroliranog stvaranja otpada. Otpad se vrlo često ne zbrinjava na odgovarajući način i završava u dragocjenim vodnim resursima ili odbačen na plodnome tlu. Mikroorganizmi nam uvelike mogu pomoći, jer se direktno ili indirektno mogu iskorištavati u svrhu zaštite okoliša. U bioremedijaciji tla mikroorganizmi imaju sposobnost korištenja onečišćujućih i opasnih spojeva koji su dospjeli u tlo kao izvor hranjivih tvari. Osim toga, izolirani mikroorganizmi mogu ciljano razgraditi pesticide koji su po svojoj prirodi vrlo postojani i sporo se razgrađuju u okolišu. [2]

Jedni od najvažnijih produkata mikrobiološkog metabolizma jesu enzimi. Enzimi su katalizatori koji ubrzavaju kemijske reakcije u živim stanicama, ali i izvan njih [1]. Veoma su zanimljiv predmet istraživanja zato što imaju velik potencijal za upotrebu u industriji [3]. Glave prednosti korištenja enzima su visoka selektivnost i smanjenje otpadnih tokova u proizvodnji što je, pogotovo u današnjici, od izuzetne važnosti [4]. Proteini, koji čine kemijsku strukturu enzima, mogu biti osjetljivi na neke denaturirajuće kemijske spojeve, radijaciju i ekstremne temperature. Takvi uvjeti mogu inhibirati djelovanje enzima ili ih čak razarati što predstavlja problem u industrijskoj primjeni gdje temperature često dostižu ekstremne vrijednosti. [1] Zbog toga su posebno zanimljivi mikroorganizmi koji žive u ekstremnim uvjetima u kojima drugi organizmi ne mogu preživjeti. U tu skupinu spadaju i termofilni mikroorganizmi.

Termofilni mikroorganizmi obitavaju u staništima gdje je temperatura vrlo visoka, optimalno od 60°C do 80°C. Stanična građa im omogućava preživljavanje u ekstremnim uvjetima jer sadrže termostabilne enzime koji su pogodni za upotrebu u industrijskim procesima zbog svoje stabilnosti na visokim temperaturama. [5] Provedba procesa pri visokim temperaturama također osigurava smanjenje rizika onečišćenja drugim mikroorganizmima [6]. Mogućnosti za iskorištavanje termofila u svrhu zaštite okoliša su različite, a povećavaju se iz dana u dan zahvaljujući novim istraživanjima. Neke od mogućih primjena su: dobivanje vodika i etanola kao ekološki prihvatljivog goriva [5,7-12], u bioremedijaciji naftnog onečišćenja [5,13], teških metala [5,13,14], tekstilnih boja [5], kompostiranju [15,16], razgradnji pesticida [17-19]. U industrijama kao što su papirna, tekstilna i prehrambena, termofilni mikroorganizmi se koriste za unaprjeđenje industrijskih procesa kako bi se smanjila potrošnja kemikalija, energije i ostalih resursa i postigao pomak prema održivom razvoju i ekološkoj osviještenosti [20,21].

U ovom radu prikazana je uloga termofilnih mikroorganizama u procesima proizvodnje biogoriva i komposta, u bioremedijaciji onečišćenja tekstilnim bojama, pesticidima, teškim metalima i naftnim onečišćenjem, zatim u prehrambenoj i tekstilnoj industriji te proizvodnji papira i deterdženata.

2. OPĆI DIO

2.1. MIKROORGANIZMI

Mikroorganizmi su jedni od prvih oblika života na Zemlji, a pojavili su se prije otprilike 4 milijarde godina. Prije formiranja mikrobiologije kao znanstvene discipline, imali su značajnu ulogu u razvoju čovječanstva i u svakodnevnom životu čovjeka. Ljudi nisu bili svjesni njihove prisutnosti zato što su to sićušni organizmi, najčešće nevidljivi golim okom. Tek se zahvaljujući izumu mikroskopa počinje pobliže promatrati ove male organizme što na koncu dovodi do razvoja mikrobiologije, a kasnije i do podjele mikroorganizama kojom se danas služimo. [1]

2.1.1. Podjela mikroorganizama

Mikroorganizme možemo podijeliti u šest velikih kategorija: praživotinje, mikroskopske alge, gljive, bakterije, cijanobakterije i virusi. Praživotinje su jednostanični, eukariotski organizmi čija je stanična struktura slična životinjskoj. S druge strane, alge su fotosintetski eukariotski organizmi, a njihove stanice podsjećaju na stanice biljaka te sadrže klorofil. Gljive su također eukarioti i mogu biti jednostanične ili višestanične. Jednostanični oblici su kvasci, dok su plijesni najtipičniji predstavnici sa šarolikom primjenom. Bakterije su jednostanični prokariotski organizmi vrlo malih dimenzija i raznih oblika. Upravo one imaju najširu mogućnost primjene u raznim procesima zaštite okoliša. Najsitniji od ovih kategorija mikroorganizama jesu virusi, bez stanični organizmi koji žive kao paraziti na ostalim živim stanicama. [22,23]

2.1.2. Građa mikroorganizama

Mikroorganizmi su sazđani od makromolekula, koje su pak stvorene od manjih podjedinica. Svaka molekula u stanici ima svoju funkciju: obavljanje bioloških procesa, tvorba fizičke strukture stanice ili pohrana energije. [1] Makromolekule su podijeljene na četiri najvažnije skupine: proteine, polisaharide, lipide i nukleinske kiseline. [1,23]

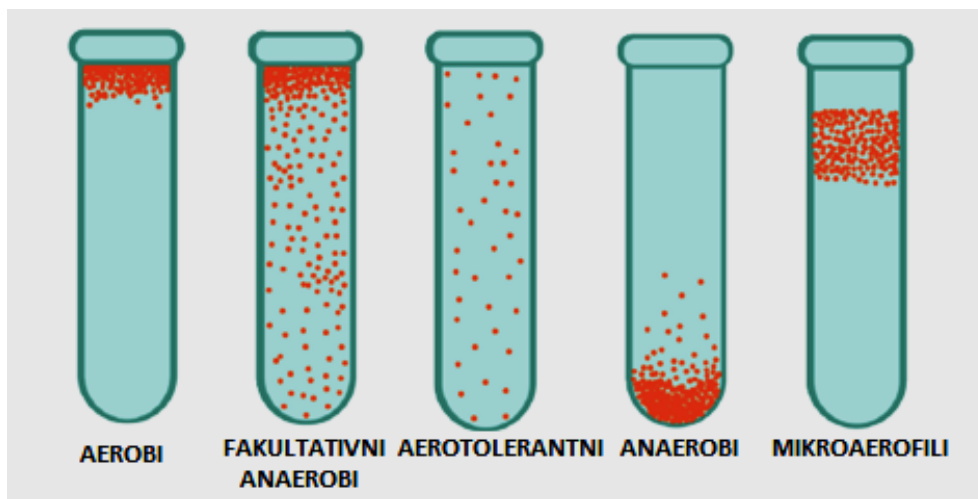
Proteini su polimeri čije su podjedinice aminokiseline. Svaka aminokiselina određena je aminoskupinom i karboksilnom skupinom. Upravo slijed aminokiselina određuje funkciju proteina koja može biti raznolika. Najvažnija skupina proteina jesu enzimi koji imaju veoma važnu ulogu u procesima unutar stanica. Polisaharidi su građeni od jednostavnih šećera poput glukoze i fruktoze, odnosno monosaharida koji su međusobno povezani glikozidnim vezama. Najčešće imaju ulogu pohranjivanja energije u stanici, a kod bakterija su i sastavni dio strukture staničnih stijenki, kapsula i sluzavih dijelova. Lipidi su sačinjeni od glicerola i masnih kiselina. To su masti, ulja, voskovi i steroidi koji su netopljivi u vodi, no dobro topljivi u hidrofobnim organskim otapalima. Oni mogu činiti sastavne dijelove membrana i njenih staničnih struktura, ali njihova najvažnija primjena je pohrana suvišne energije u organizmima u obliku masti ili ulja. [1,23] Postoje dva opća tipa nukleinskih kiselina: deoksiribonukleinska (DNK) i ribonukleinska kiselina (RNK). Njihove podjedinice se nazivaju nukleotidi i sastoje se od pentoze, fosfatne skupine i dušikove baze. Nukleotidi su međusobno povezani preko fosfatnih skupina. Osnovu deoksiribonukleinske kiseline čine baze adenin, gvanin, citozin i timin. Ribonukleinsku kiselinu čine iste te baze, samo je timin zamijenjen uracilom. Genetička informacija prokariota sadržana je u unutrašnjosti pojedinačnog lanca molekule DNK, dok RNK sudjeluje u cijelom nizu procesa za izražavanje te genetičke informacije unutar molekule DNK. S obzirom na funkciju koju obavlja, razlikujemo tri oblika RNK: informacijska, transfer i ribosomska RNK. [1,24]

2.1.3. Podjela mikroorganizama prema okolišnim uvjetima

S obzirom da svi mikroorganizmi nemaju iste potrebe za zadovoljavanje njihovog rasta i razvoja, možemo ih podijeliti u skupine prema načinu prehrane, potrebi za kisikom, temperaturnim uvjetima, uvjetima pH vrijednosti i hidrostatskog tlaka. [1]

Prema načinu prehrane mikroorganizmi se dijele na autotrofe, heterotrofe i hipotrofe. Autotrofni mikroorganizmi zadovoljavaju sve potrebe za ugljikom putem ugljikovog dioksida. Heterotrofni mikroorganizmi iskorištavaju organske tvari kao izvor ugljika. Hipotrofima se nazivaju oni mikroorganizmi koji se ponašaju kao obvezatni stanični nametnici, odnosno mogu rasti samo unutar žive stanice domaćina [1,23].

Prema potrebi za kisikom (Slika 2.1.) mikroorganizme dijelimo na aerobne i anaerobne. Aerobnim organizmima je potreban kisik za rast, i to u koncentracijama koliko ga ima u zraku. Organizmi mogu zahtijevati i manju koncentraciju kisika od one u zraku, tada se oni nazivaju mikroaerofilnim organizmima. Za razliku od aerobnih mikroorganizama, anaerobni mikroorganizmi ne mogu iskoristavati slobodan kisik, no mogu imati različite stupnjeve tolerancije na njega. Striktni ili obvezatni anaerobi nemaju nikakvu toleranciju na kisik. Aerotolerantni anaerobi mogu rasti u okruženju gdje je prisutan kisik, ali im on nije nužan. Fakultativni anaerobi isto tako ne koriste kisik u svom metabolizmu, ali bolje rastu u njegovoj prisutnosti. [23]



Slika 2.1. Podjela mikroorganizama prema potrebi za kisikom

Mikroorganizmi imaju veoma širok raspon temperature u kojem mogu rasti, koji se kreće od -10°C do 110°C [1]. Prema tome, dijelimo ih na psihrofile, mezofile i termofile. Psihrofilni žive u staništima gdje se temperatura kreće ispod 20°C , primjerice u ledu, hladionicama ili dubokim oceanima. Mezofili obitavaju na temperaturama od 20°C do 40°C , što čovjeka čini pogodnim domaćinom za njihov rast, a također se mogu naći u tlu i vodi. Termofili, kao što im i naziv kaže, vole toplinu te rastu na temperaturama od 40°C do čak preko 90°C . [22] Njihova uobičajena staništa su vulkanski izvori, tlo, vrući izvori te stajski gnoj. [1]

U ovisnosti o pH vrijednosti supstrata, mikroorganizmi se dijele na neutrofilne, acidofilne i alkalofilne. Neutrofilni mikroorganizmi bolje rastu u neutralnom pH području, acidofilni u kiselom, a alkalofilni u lužnatom. [23]

Hidrostatski tlak, odnosno tlak zbog težine tekućine, u prirodi se povećava s dubinom mora i oceana. Iako visok hidrostatski tlak štetno djeluje na većinu organizama, postoje mikroorganizmi koji rastu u uvjetima gdje je hidrostatski tlak viši od atmosferskog, a pripadaju skupini barofila. [23] Postoje i barotolerantni mikroorganizmi koji podnose visok hidrostatski tlak, ali optimalno rastu pri atmosferskom tlaku. [1]

2.1.4. Uzgoj mikroorganizama u laboratorijskim uvjetima

Za proučavanje mikroorganizama koji su izolirani iz svojih prirodnih staništa, moguće ih je uzgojiti u laboratorijskim uvjetima. Za industrijsko iskorištavanje mikroorganizama posebno je prikladno uzgajanje u velikim bioreaktorima. Svaka vrsta mikroorganizama treba različite uvjete i specifičnu kombinaciju hranjivih podloga kako bi uspjeli zadovoljiti sve potrebe za rast. Hranjive podloge mogu biti tekuće ili čvrste, a prema namjeni ih dijelimo na podloge za prenošenje, podloge za namnožavanje, selektivne te diferencijalne podloge. Važno je pravilno odrediti vrstu podloge koja nam je potrebna, kao i kombinaciju hranjivih tvari kako bi uzgoj mikroorganizama bio uspješan. [1]

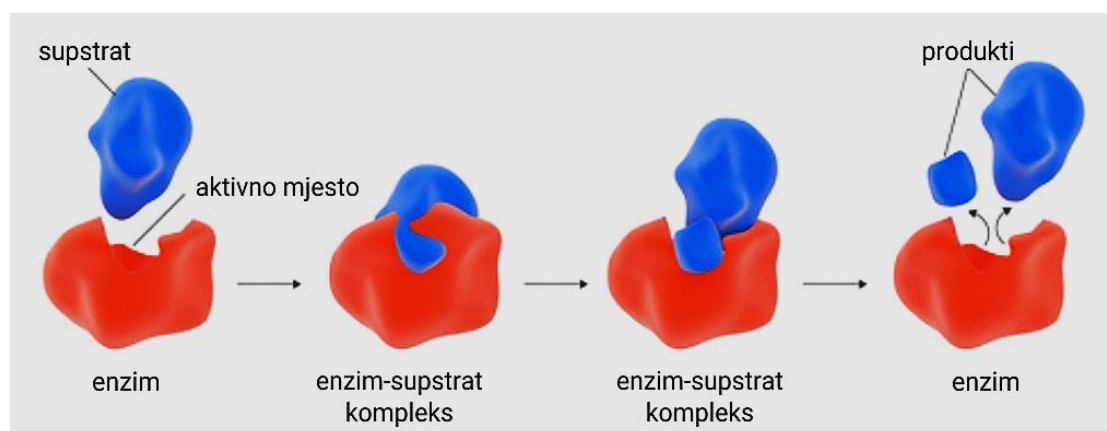
2.2. ENZIMI

Enzimi su tvari koje ubrzavaju kemijske reakcije povećanjem uspješnosti sudara molekula i smanjivanjem energije aktivacije. [1] Vrlo su važni za biološke sustave zato što se u njima u svakom trenutku odvija velik broj kemijskih reakcija, stoga je bitno da se one odvijaju u kratkom vremenu i bez razaranja žive stanice. Pri tome je svaki enzim specifičan za određenu reakciju. [7]

2.2.1. Građa enzima

Enzimi su po kemijskom sastavi proteini. Jednostavni enzimi sastoje se samo od proteina, dok konjugirani enzimi u svom sastavu imaju i neproteinske skupine. Proteinski dio naziva se apoenzim, neproteinski dio koenzim, a zajedno tvore holoenzim, odnosno potpuni enzim. Koenzimi mogu biti metalni ioni ili primjerice

vitamini. [1] Ekstremni uvjeti, poput visoke temperature, radijacije ili izlaganja denaturirajućim kemijskim spojevima, inhibiraju ili u potpunosti razaraju enzime [7].



Slika 2.2. Mehanizam enzimskog djelovanja [1]

Karakteristika enzima je da iz reakcije koju kataliziraju izlaze nepromijenjeni. Supstrat se veže na aktivno mjesto enzima (Slika 2.2.) stvarajući enzim-supstrat kompleks. Zatim iz supstrata nastaju produkti, a enzim izlazi iz reakcije. [1]

2.2.2. Termostabilni enzimi

Termostabilni enzimi ili kraće termoenzimi zaslužni su za mogućnost široke primjene termofilnih mikroorganizama. Sastavni dio njihove strukture su posebni proteini koji omogućuju enzimima vraćanje u početno stanje nakon denaturacije uslijed djelovanja ekstremnih uvjeta [13]. Zbog toga ti enzimi pokazuju otpornost na djelovanje organskih otapala, deterdženata te bazičnih ili kiselih uvjeta [4]. Zanimljivo je da se pokazalo da termoenzimi zadržavaju termofilna svojstva čak i nakon što se genetičkim inženjerstvom ubace u mezofilnog domaćina [7].

Termalna stabilnost enzima može se mjeriti kao funkcija temperature pri kojoj dolazi do povratne ili nepovratne promjene proteina ili pak određivanjem temperature pri kojoj se gubi funkcija enzima [7]. Svojstvo termostabilnosti enzima posljedica je unutarnjih karakteristika enzima, odnosno molekularne strukture. Vanjski faktori također imaju utjecaja na ovo važno svojstvo, a ovisno o okolišu to mogu biti faktori poput metalnih veza, otapala ili raznih supstrata. [6]

Termostabilni enzimi sve više postaju predmet proučavanja u biotehnologiji zato što su vrlo pogodni za korištenje u industrijskim procesima gdje se uvjeti često

približavaju ekstremima. Provedba procesa pri visokim temperaturama podrazumijeva niz pogodnosti kao što su smanjen rizik od onečišćenja drugim mikroorganizmima, smanjenje viskoznosti medija, povećanje topljivosti organskih spojeva te povećanje brzine reakcije. [6] Neki od izoliranih enzima prikazani su u Tablici 2.1. zajedno sa njihovom potencijalnom ulogom u industriji te mikroorganizmom iz kojeg su izolirani.

Tablica 2.1. Termofilni enzimi i njihova uloga [5]

Mikroorganizam	Enzim	Optimalna temperatura	Primjena
<i>Pyrococcus woesei</i>	alfa-Amilaza	100°C	Šećerna industrija i prerada škroba
<i>Thermococcus profundus</i>	alfa-Amilaza	80°C	Šećerna industrija i prerada škroba
<i>Staphylothermus marines</i>	Pululanaza	90-105°C	Šećerna industrija i prerada škroba
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	Glukoamilaza	90°C	Šećerna industrija i prerada škroba
<i>Pyrococcus woesei</i>	β -Galaktozidaza	93°C	Proizvodnja mlijeka s niskim udjelom laktoze
<i>Pyrococcus furiosus</i> <i>Sulfobales sp.</i>	Celulaza	103°C	Proizvodnja alkohola, voćna industrija
<i>Pyrodictium abyssi</i>	Ksilanaza	100-110°C	Papirna industrija – izbjeljivanje
<i>Humicola lanuginosa</i>	Lipaza	65°C	Deterdženti
<i>Myceliophthora thermophila</i>	Lakaza	60°C	Polimerizacija fenolnih spojeva do huminskih spojeva
<i>Myceliophthora thermophila</i>	Fitaza	42-45°C	Životinjska hrana
<i>Penicillium duponti</i>	Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza	50°C	Stvaranje NADPH za biosintetske reakcije
<i>Bacillus licheniformis</i>	Alkalaza	60°C	Pospješuje upotrebu proteina

2.3. TERMOFILNI MIKROORGANIZMI

Termofilima se nazivaju organizmi kojima je optimalna temperatura za rast između 60 i 80°C, iako mogu obitavati i na znatno višim temperaturama [5]. Za sada najviša temperatura na kojoj je otkriven život iznosi čak 121°C, što odgovara temperaturi sterilizacije u autoklavu. Ovisno o vrsti mikroorganizama, termofili se mogu pronaći u širokom spektru staništa pri različitim temperaturama optimalnim za njihov rast. [25]

2.3.1. Staništa termofilnih mikroorganizama

Termofilne mikroorganizme pronalazimo na mjestima gdje vladaju visoke temperature. Neka staništa su prirodnog podrijetla i ondje organizmi obitavaju već dugi niz godina. Ona se nalaze na geotermalnim i vulkanskim područjima, ali i u dubokim podmorskim hidrotermalnim izvorima. Na takvim područjima ima mnogo fumarola, termalnih izvora i prirodnih rezervoara nafte što ih čini plodnim tлом za termofilne mikroorganizme. Osim prirodnih, razvojem čovječanstva otvorila se mogućnost i antropogenih staništa za termofile. Danas te mikroorganizme možemo izolirati iz kompostnih hrpa, biootpada, postrojenja za obradu otpada i otpadnih voda. [25] Zanimljivo je da su termofilni mikroorganizmi pronađeni čak i na Antarktici, što možda i ne bismo očekivali. Naime, ondje se nalazi veliki broj geotermalnih izvora, pretežno na vulkanskom otoku Deception što ga čini poželjnim stanodavcem za neke termofile iz rodova *Bacillus* i *Clostridium*. [26]

2.3.2. Podjela termofilnih mikroorganizama

Ovisno o optimalnoj temperaturi rasta, termofile dijelimo na umjerene i ekstremne termofile te hipertermofile. U Tablici 2.2. navedene su odgovarajuće temperature za pojedinu vrstu termofila te primjeri mikroorganizama. Umjereni termofili rastu na najnižim temperaturama, u rasponu od 40 do 60°C. Ekstremni termofili rastu pri višim temperaturama do 85°C, dok hipertermofili zahtijevaju najviše temperature, iznad 85°C. [25]

Tablica 2.2. Klasifikacija termofilnih mikroorganizama [25]

Vrsta	Optimalna temperatura	Primjer
Umjereni termofili	40-60°C	<i>Clostridium, Thermoanaerobacter, Thermoplasma, Sulfobacillus, Caminicella</i>
Ekstremni termofili	60-85°C	<i>Thermococcus, Thermovibrio, Oceanithermus, Thermaerobacter, Persephonella</i>
Hipertermofili	>85°C	<i>Archaeoglobus, Pyrococcus, Methanothermus, Sulfolobus, Acidianus</i>

2.3.3. Prilagodbe i karakteristike

Sposobnost mikroorganizama da žive u ekstremnim uvjetima, u ovom slučaju visoke temperature, posljedica je određenih karakteristika mikroorganizama koje su oni razvili nizom prilagodba na okolišne uvjete. Jedna od prilagodba jest prilagođen sastav stanične membrane koja služi kao polupropusna barijera. Propusnost je ovisna o temperaturi, stoga je sastav stanične membrane termofila reguliran tako da održava zadovoljavajuću propusnost i kemijsku stabilnost na višim temperaturama. [13] Osim toga, RNA molekule termofila sadržavaju veći udio gvanina i citozina od mezofilnih organizama zato što se pokazalo da taj par baza formira više vodikovih veza koje doprinose termostabilnosti. Važan utjecaj imaju i proteini sadržani u enzimima termofila koji su termostabilni s odgovarajućim karakteristikama. [5]

2.4. ZAŠTITA OKOLIŠA

Okoliš je sve što nas okružuje. Izvor je sirovina, energije, u njemu se odvijaju sve životne funkcije zajednica organizama koji obitavaju na planetu Zemlji. [2] Nekada je čovjek živio u sinergiji s okolišem, dopuštajući mu da se obnavlja održivim korištenjem prirodnih resursa. Razvitkom čovjeka, raste i broj ljudske populacije na Zemlji rezultirajući sve gušćim naseljavanjem i razvitkom gradova te industrijskih zona. Veća važnost daje se komociji i olakšavanju svakodnevnog ubrzanog života ljudi što kao krajnji proizvod ostavlja ogromne količine otpada, razna onečišćenja svih sastavnica okoliša i neodrživo trošenje resursa. S vremenom počinjemo uviđati

da priroda sve pamti stoga se sve više radi na uvođenju održivih koncepata u svakodnevni život i posvećuje se veća pažnja smanjenju otpadnih tokova. No, značajna šteta je već učinjena pa se također radi na uklanjanju posljedica nemarnog ponašanja koje se godinama nakupljaju svuda oko nas. Jedan od alata kojim se možemo poslužiti jesu i mikroorganizmi kao vrlo učinkoviti „čistači“ nekih vrsta onečišćenja, ili pak kao izvori enzima koji mogu zamijeniti štetne kemikalije u nekim industrijskim procesima [8].

2.4.1. Voda

Voda je neophodna za život. Organizmima je potrebna zbog normalnog obavljanja metabolizamskih reakcija, a također služi kao transportni medij u tijelu. Voda za ljudsku potrošnju opskrbljuje ljude vodom za piće, pripremu hrane i sanitarne potrebe što je važno zbog sprječavanja širenja bolesti. Velike količine vode troše se i u industriji u procesu proizvodnje, ali i u procesima hlađenja i zagrijavanja. [2] Ne postoji djelatnost koja se može uspješno obavljati bez sigurne opskrbe vodom odgovarajuće kakvoće. Iz navedenih razloga vrlo je bitno spriječiti onečišćenje vodnih resursa i nekontrolirano ispuštanje otpadnih voda u prijemnike. Ipak se nerijetko događa da čitamo o havarijama na moru ili pak visokim koncentracijama farmaceutika ili pesticida u rijekama, a možemo i vidjeti posljedice ukoliko je onečišćenje toliko veliko da dolazi do pomora životinja ili biljaka. U tim slučajevima od iznimne je važnosti brzo reagirati i ukloniti onečišćujuće tvari te sanirati posljedice. Jedan od načina korištenja mikroorganizama u svrhu pročišćavanja vode jest aktivni mulj gdje mikroorganizmi razgrađuju organsku tvar u otpadnim vodama [22].

2.4.2. Tlo

Bez kvalitetnog tla ljudska civilizacija ne bi se mogla prehraniti, svijetom bi zavládala glad. Uzevši u obzir činjenicu da je tlo nastajalo milijunima godina i da se ne može obnoviti u kraćem razdoblju, dolazimo do zaključka da je tlo još jedna važna sastavnica okoliša prema kojoj se moramo odnositi s poštovanjem. Ono nam pruža podlogu za obavljanje poljoprivrednih i stočarskih djelatnosti, pa čak i djelatnost građevinarstva. Moramo ga zaštititi od propadanja i erozije uslijed neodgovornog iskorištavanja tla i utjecaja vremenskih nepogoda. Ali isto tako moramo spriječiti

odbacivanje otpada na divlja neuređena odlagališta te nekontrolirano korištenje pesticida u poljoprivredi. [2]

Jedan od postupaka kojim svatko od nas može pridonijeti zaštiti tla jest kompostiranje. Time iskorištavamo biorazgradivi otpad u svrhu dobivanja komposta kojim možemo dohranjivati tlo. [16] Već nastalo onečišćenje možemo pokušati sanirati postupkom bioremedijacije, koristeći odgovarajuće mikroorganizme, ovisno radi li se o onečišćenju pesticidima, teškim metalima ili nekom drugom onečišćujućom tvari. [14] Na istom principu djeluje i fitoremedijacija, samo što se u tom postupku koriste biljke za akumulaciju i apsorpciju onečišćujućih tvari. [2]

2.4.3. Zrak

Zrak je još jedna sastavnica okoliša koja ima velik utjecaj na ljudski život. Već pri malim promjenama u kvaliteti zraka možemo primijetiti razliku. Onečišćenju zraka pridonose mnoge prirodne pojave poput požara, pješčanih oluja i raspadanja odumrlog biljnog i životinjskog materijala. Ljudska djelovanja svakako ne poboljšavaju situaciju emisijama iz nepokretnih i pokretnih izvora. Tvornice ispuštaju u zrak dimne plinove koji usprkos raznim filterima i dalje sadržavaju onečišćujuće čvrste čestice, a prijevozna sredstva i kućanstva su emiteri ogromnih količina ugljikovog dioksida i lebdećih čestica na dnevnoj bazi. Stoga ne čudi da je kvaliteta zraka u većim gradovima često nezadovoljavajuća i opasna po zdravlje ljudi. Osim na ljude, onečišćeni zrak ima negativne posljedice i za sav ostali živi svijet, te potiče klimatske promjene uslijed uništavanja ozonskog omotača. Onečišćenje zraka je najvidljivije s obzirom da se on nalazi svuda oko nas, pa se već dugo radi na smanjenju štetnih emisija u zrak. Prelazi se na goriva koja izgaranjem ne emitiraju štetne spojeve te se sve više iskorištavaju obnovljivi izvori energije. [2]

3. PREGLEDNI DIO

3.1. PROIZVODNJA EKOLOŠKI PRIHVATLJIVOG GORIVA

S obzirom da fosilna goriva nisu obnovljivi izvori energije, a troše se velikom brzinom, traže se adekvatne zamjene za korištenje pri transportu i za pogon tvornica. Osim problema zaliha, tu je i problem štetnog utjecaja na okoliš stoga se razvijaju goriva i procesi koji imaju manji negativan utjecaj na okoliš od postojećih. Ovdje će biti opisani procesi u kojima se u tu svrhu koriste termofilni mikroorganizmi.

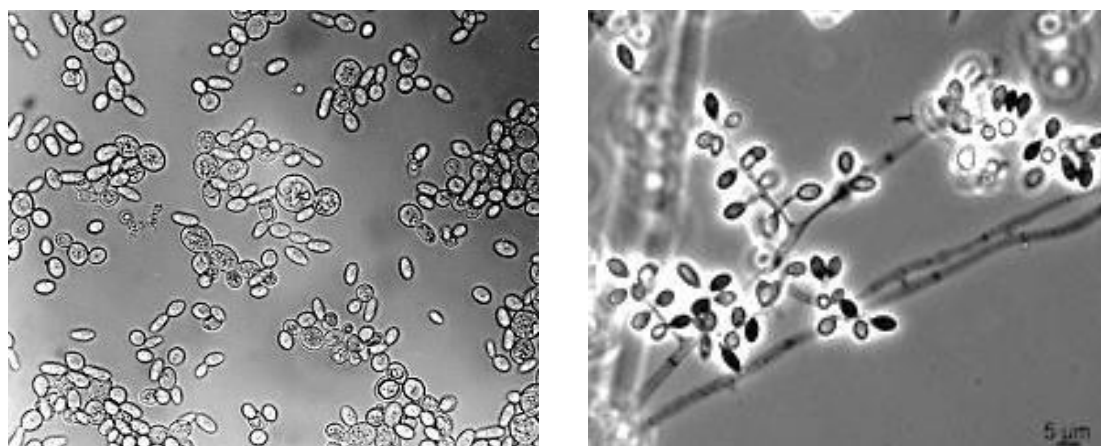
3.1.1. Proizvodnja vodika

Vodik se smatra jednim od najperspektivnijih goriva budućnosti. Princip korištenja vodika zasniva se na miješanju vodika i kisika u ćeliji čime se stvara električna struja i oslobađa mala količina topline. Pri tome nastaje voda koja je jedini nusprodukt ovog procesa. Nema emisija štetnih tvari poput ugljikovog dioksida ili dušikovih oksida za razliku od klasičnih goriva. [7] Jedino se javlja problem proizvodnje vodika, no i za to postoji rješenje. Postoje mikroorganizmi koji sadrže enzime sposobne za pretvorbu celuloze u glukozu te konačno konverziju glukoze i glukozne kiseline u vodik. Taj proces naziva se celulolitičkom proizvodnjom biovodika. Celuloliza, odnosno proces razgradnje celuloze, odvija se brže pri višim temperaturama stoga su za taj proces posebno pogodni termofilni mikroorganizmi. [5] Osim brzine procesa, bitno je napomenuti da termofili pokazuju i veći prinos vodika u usporedbi s mezofilima, odnosno iskorištenje reakcije stvaranja vodika veće je pri višim temperaturama [13]. Još jedna prednost korištenja termofilnih mikroorganizama jest što visoke temperature sprječavaju rast mezofilnih mikroorganizama koji troše vodik [10]. Glavni proizvođači vodika pripadaju rodovima *Clostridium*, *Caldicellulosiruptor*, *Thermoanaerobacter*, *Thermotoga* te *Thermococcus* [13].

3.1.2. Proizvodnja etanola

Bioetanol, odnosno etanol dobiven iz biomase, jedna je od najčešćih alternativa klasičnom gorivu u današnje vrijeme [12]. Proces konverzije biomase u

etanol može se znatno poboljšati uvođenjem enzima termofilnih mikroorganizama koji imaju sposobnost razgradnje supstrata na bazi celuloze [7]. Uobičajene sirovine za proizvodnju etanola su škrob i šećerna trska. Saharoza iz šećerne trske se može direktno fermentirati u etanol, dok škrob prvo mora proći hidrolizu do glukoze i tek onda fermentaciju. Problem leži u tome što šećerna trska i škrob nisu zadovoljavajuće sirovine za održivu proizvodnju velikih količina etanola. Zbog toga se pribjegava alternativnim izvorima biomase, poput poljoprivredne i šumske biomase, te biorazgradive komponente komunalnog otpada. [12] Najčešći sastojak biomase tih sirovina koji je potrebno razgraditi jest lignoceluloza, polimer koji se uglavnom sastoji od glukoze i ksiloze [11]. Učinkovita razgradnja tih komponenti zahtjeva enzime koji mogu podnijeti ekstremne uvijete, i tu nastupaju termofili [12]. Njih karakterizira širok spektar supstrata koje mogu razgraditi, što je bitno s obzirom da sastav sirovina može varirati, te djeluju na višim temperaturama i tako ne postoji opasnost od onečišćenja mezofilnim mikroorganizmima [5]. Idealno bi bilo kada bi isti mikroorganizam imao sposobnost hidrolize i fermentacije, no to često nije slučaj. Hidroliza se odvija pri višim temperaturama i zahtjeva upotrebu termofilnih mikroorganizama, dok se fermentacija odvija pri nižim temperaturama i mogu je provoditi i mezofilni mikroorganizmi poput *Saccharomyces cerevisiae* (Slika 3.1. lijevo). [12] Ipak, otkriveno je nekoliko mikroorganizama koji imaju sposobnost provedbe oba procesa. Jedan od njih je *Myceliophthora thermophila* (Slika 3.1. desno), nitasta gljiva koja može proizvesti enzime koji djeluju na ugljikohidrate i pogodna je za industrijsku proizvodnju [11].



Slika 3.1. Mikrofotografije *Saccharomyces cerevisiae* i *Myceliophthora thermophila*

3.2. BIOREMEDIJACIJA

Bioremedijacija je postupak kojim se iskorištavaju mikroorganizmi u svrhu smanjenja, uklanjanja ili transformacije onečišćujućih tvari u neopasne ili manje opasne tvari [14]. Mikroorganizmi mogu koristiti toksične spojeve kao izvor hranjivih tvari te ih na taj način ukloniti iz okoliša. To je veoma učinkovit način saniranja već nastalog onečišćenja, pod uvjetom da okruženje odgovara zahtjevima mikroorganizama. Naime, mikroorganizmi za rast i razmnožavanje zahtijevaju određene uvjete koji moraju biti zadovoljeni kako bi oni uspješno mogli provoditi proces bioremedijacije. Ukoliko je to osigurano, mogu transformirati, razgraditi ili adsorbirati razne onečišćujuće tvari poput teških metala, pesticida, naftnih derivata i nekih kemikalija. [2] Mikroorganizmi mogu biti ciljano genetski modificirani i uneseni u onečišćeni okoliš, no dobiju se puno bolji rezultati ukoliko su oni izvorno prisutni u onečišćenom okolišu zato što su već prilagođeni na te uvjete [14].

3.2.1. Naftni ugljikovodici

Onečišćenje produktima naftne industrije nerijetko predstavlja ozbiljnu ugrozu za biljni i životinjski svijet ukoliko dođe do izlivanja u okoliš. Usprkos mjerama koje se poduzimaju da do katastrofe ne dođe, ipak smo kroz povijest bili svjedocima nesrećama najčešće vezanima uz havarije uslijed oštećenja tankera na morskim pučinama [2]. Sanacija te vrste onečišćenja vrlo je kompleksna, a posljedice mogu biti dugotrajne. Termofilni mikroorganizmi pokazali su se kao obećavajuće sredstvo rješavanja problema nakon što su izolirani iz prirodnih rezervoara nafte. Ogroman broj naftnih polja otkriven je diljem Zemlje, a s obzirom da u njima vladaju povišene temperature, iz njih su izolirani i brojni termofilni mikroorganizmi. Neki od primjera su *Pyrococcus* i *Thermococcus*. Oni proizvode energiju fermentacijom peptida, amino kiselina i šećera, formirajući pri tome masne kiseline, ugljikov dioksid i vodik. [25] S obzirom da već obitavaju u područjima ispunjenima naftom i koriste ugljikovodike za rast i razvoj, pogodni su za iskorištavanje na mjestima gdje je došlo do onečišćenja naftnim ugljikovodicima. Na isti način kao i u prirodnim staništima mogu iskorištavati dostupne resurse za rast i razmnožavanje, a u isto vrijeme uklanjati onečišćenje. Otkriveno je nekoliko bakterija koje mogu iskorištavati lančane alkane pri različitim temperaturama. *Bacillus stearotherophilus* ima sposobnost

metaboliziranja lančanih alkana sa petnaest do sedamnaest atoma ugljika, a *Bacillus thermoleovorans* može iskorištavati lanac alkana koji sadrži čak 23 atoma ugljika pri 70°C. [13] Reakcija razgradnje alkana favorizira više temperature, stoga su termofili izrazito pogodni za taj proces [5]. Sa jednog vulkanskog otoka izolirano je čak 150 termofilnih mikroorganizama koji imaju sposobnost metaboliziranja velikog raspona ugljikovodika iz sirove nafte, neki sa visokom učinkovitošću od 87,68%. Još je potrebno poraditi na osiguravanju zadovoljavajućih uvjeta za rast mikroorganizama kada se oni ubacuju u onečišćen okoliš koji im nije izvorno stanište. Često uvjeti nisu odgovarajući, primarno temperatura, pa je potrebno optimizirati uvjete ili pak modificirati mikroorganizme koristeći genetičko inženjerstvo. [13]

3.2.2. Teški metali

Razvoj industrije povlači sa sobom i povećan broj industrijskih aktivnosti koje povećavaju emisije teških metala u okoliš. Krom može dospjeti u okoliš putem otpadnih voda iz industrijske proizvodnje boja, metala i kože [13]. Jedan od opasnijih metala jest živa, ona je otrovna za žive organizme već pri nižim koncentracijama [14]. Izvor žive su industrija papira i boja, rafinerije nafte te farmaceutska industrija. Postoji još mnogo izvora teških metala poput olova, kadmija i cezija koji su toksični za žive organizme te se zbog toga intenzivno radi na istraživanju metoda za otklanjanja tih toksičnih tvari iz okoliša. [13]

Ljudske aktivnosti su svakako uzrok onečišćenja teškim metalima, no oni su se u prirodi nalazili i puno prije no što se industrija počela razvijati. Neki mikroorganizmi su stoga prirodno razvili otpornost ili toleranciju na povišene koncentracije metala, najčešće termofili. Postupno su razvili mehanizme kojima reguliraju mobilnost, topljivost i toksičnost metala. [14] Primjer takvog mehanizma nalazi se u bakterijama koje reduciraju metale i sulfate. Njihovi metabolički proizvodi poput primjerice željeza i sumporovodika dovode do stvaranja minerala koji mogu reagirati s teškim metalima što u konačnici rezultira taloženjem novonastalih spojeva. Termofilne bakterije iz roda *Bacillus* koje su izolirane iz vrućih izvora mogu na taj način uklanjati stroncij iz vodenih tokova. [5]

U bioremedijaciji onečišćenih područja teškim metalima najčešće se koriste postupci biosorpcije i bioakumulacije. Biosorpcija podrazumijeva uklanjanje metala pomoću neživih stanica, odnosno to je proces neovisan o metabolizmu

mikroorganizama. Bioakumulacija pak ovisi o metabolizmu, to je unutar stanično nakupljanje metala pomoću živućih stanica. Metali se brzo vežu na površinu stanice, a zatim slijedi sporo transportiranje unutar same stanice. [13] Osim ovih procesa, mikroorganizmi mogu provoditi i procese oksidacije i redukcije metala kojima utječu na njihova svojstva. Većinu metala karakterizira manja topljivost i toksičnost u reduciranom obliku. Mikroorganizmi reduciraju toksične metale pomoću izravne enzimske redukcije koja uključuje oksidirane oblike tih metala kao elektron akceptore, što omogućuje da se toksični metali istalože i tako uklone iz vodenog medija. [14]

U Jordanu su iz vrućih izvora izolirani termofilni mikroorganizmi *Bacillus sphaericus*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus larvae* i *Geobacillus stearothermophilus*, koji su korišteni u svrhu bioremedijacije teških metala prisutnih u otpadnim vodama jedne tvornice. Pokazalo se da ti termofili pokazuju najbolju učinkovitost u vezanju metala pri temperaturama između 60 i 70°C. Svi izolirani mikroorganizmi roda *Bacillus* imaju najveći afinitet prema kromu, a nešto manji prema bakru i niklu, jedino *B. sphaericus* ima najveći afinitet prema bakru, a manji prema kromu i niklu. [14]

3.2.3. Tekstilne boje

Tekstilna industrija također bilježi svoj rast, a samim time raste i broj kemikalija koje se koriste u ovoj grani industrije. Najveće štete mogu uzrokovati tekstilne boje koje dopijevaju u okoliš putem otpadnih tokova. One su po svom kemijskom sastavu topljivi organski spojevi koji nisu biorazgradivi. Posljedice ove vrste onečišćenja su opasne i dugotrajne. Boje mogu obojati vodne prijemnike i tako spriječiti prolazak sunčevih zraka i onemogućiti obavljanje fotosinteze što dovodi i do smanjene količine otopljenog kisika u vodi. Zbog sastava u kojem se mogu nalaziti i neki teški metali, imaju i toksična, kancerogena te mutagena svojstva. Zato je vrlo važno ukloniti ih iz okoliša kako ne bi dospjele do vrha hranidbenog lanca vodenih organizama, a potencijalno onda i do čovjeka. [27]

Jedan od primjera jesu takozvane azo boje, odnosno boje koje u svom sastavu imaju azo-skupinu o kojoj ovisi pigment. Problem je što se one tijekom procesa bojanja ne vezuju u cijelosti za tkaninu, već u velikoj mjeri izlaze iz procesa i završavaju u okolišu. [27] Kao najbolji način za sanaciju te vrste onečišćenja nameće se bioremedijacija, kao ekološki i ekonomski najpovoljnije rješenje. [5] Taj proces

može se provoditi *in situ*, odnosno na samom mjestu onečišćenja, pomoću već prisutnih mikroorganizama ili uvodeći nove pogodnije mikroorganizme. Postoji mogućnost i *ex situ* bioremedijacije. Tada se onečišćenje mehanički uklanja i odvodi na obradu izvan mjesta onečišćenja. [2]

Termofilni mikroorganizmi su se i u ovom slučaju pokazali kao učinkovito sredstvo u bioremedijaciji. Jedan od primjera je *Geobacillus thermocatenulatus* čiji enzim lakaza učinkovito uklanja tekstilne boje iz okoliša [5]. Bakterije *Anoxybacillus pushchinoensis*, *Anoxybacillus kamchatkensis* te *Anoxybacillus flavithermus* imaju sposobnost obezbojenja crnog pigmenta pri temperaturi od 65°C, a *Anoxybacillus rupiensis* može obezbojiti tamno crveni pigment pri 60°C [27].

3.3. KOMPOSTIRANJE

Svakodnevno se proizvode ogromne količine otpada, u industriji, uslužnim djelatnostima i kućanstvu. Velik dio tog otpada je biorazgradiv, stoga bi bila šteta kada bi on završavao u spalionicama ili na odlagalištima otpada. Odvajanjem biorazgradivih komponenti možemo smanjiti volumen otpada, a istovremeno dobiti koristan produkt – kompost. Kompostiranje je proces razgradnje biootpada uz pomoć mikroorganizama pod određenim uvjetima, uz stvaranje već spomenutog komposta, ugljikovog dioksida i vode te oslobađanje topline [16]. Pri tome se ne oslobađaju štetne tvari poput dušikovih i sumpornih oksida te dioksina [15]. U kompostnim hrapama temperature rastu i do 80°C stoga su one bogat izvor termofilnih organizama, koji uz mezofile imaju ključnu ulogu u nastajanju kvalitetnog komposta [25]. Kompost se koristi za oplemenjivanje tla, kao aditiv umjesto umjetnih gnojiva [16]. Proces je relativno jednostavan i svatko ga može provoditi u svom dvorištu te tako dati svoj doprinos zaštiti okoliša.

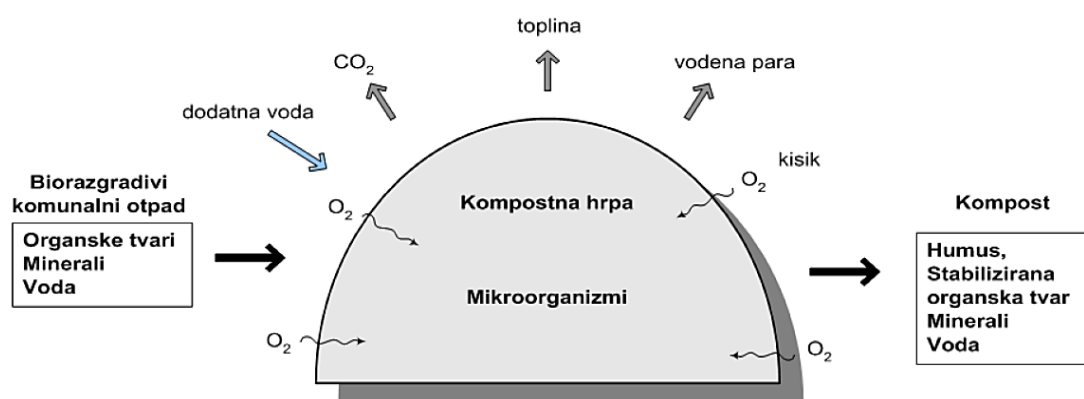
3.3.1. Faze kompostiranja

Potrebno je određeno vrijeme kako bi iz biorazgradivih komponenti otpada dobili produkt kompost. Tijekom tog perioda izmjenjuju se određene faze kompostiranja. Na početku imamo mezofilnu fazu koja traje nekoliko dana. Mezofilni mikroorganizmi iskorištavaju lako dostupne hranjive tvari, a temperatura je još uvijek umjerena. Metabolička aktivnost tih mikroorganizama rezultira povišenjem

temperature, te tako započinje sljedeća, termofilna faza. Ona traje duže od mezofilne, može se protezati i do nekoliko mjeseci, sve dok ima dostupne organske tvari za razgradnju. Po završetku termofilne faze započinje period hlađenja. Ponovno se pojavljuju mezofilni mikroorganizmi koji razgrađuju složenije organske tvari. Posljednja faza jest najduža, to je faza dozrijevanja komposta. Tijekom te faze uništavaju se patogeni mikroorganizmi i kompost poprima odgovarajući sastav za daljnje korištenje. [16]

3.3.2. Fizikalno-kemijski uvjeti

Za uspješnu provedbu procesa kompostiranja, potrebno je osigurati optimalne uvjete što uključuje temperaturu, sadržaj kisika, veličinu čestica supstrata, vlagu i omjer ugljika i dušika C:N (Slika 3.2.) [15].



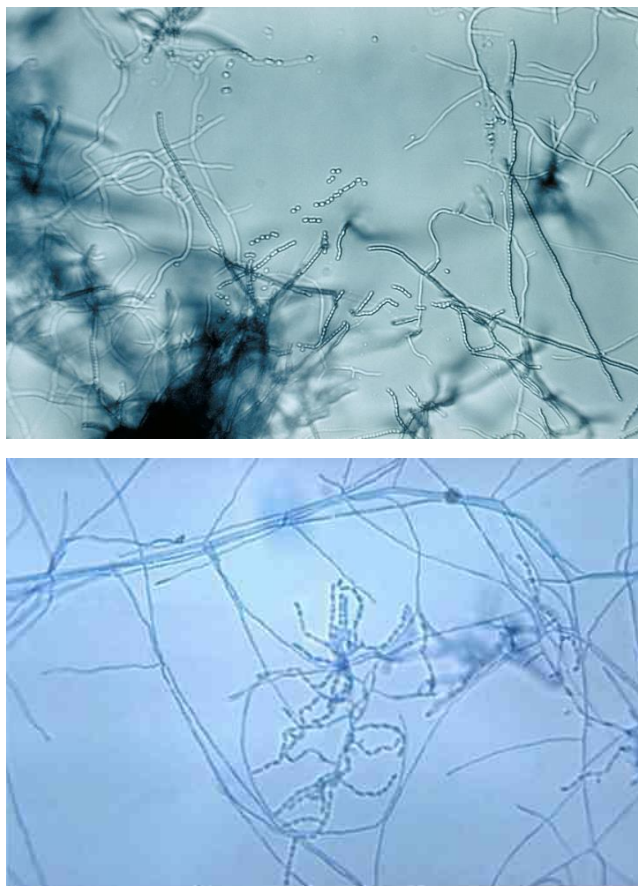
Slika 3.2. Čimbenici koji utječu na proces kompostiranja

Temperatura je direktno proporcionalna biološkoj aktivnosti cjelokupnog sustava, raste povećanjem aktivnosti. Ona također ovisi o sastavu kompostne hrpe i starosti materijala. Udio vlage trebao bi biti između 50 i 60% kako bi se osigurala zadovoljavajuća aktivnost mikroorganizama. Prevelik postotak vlage dovodi do stvaranja anaerobnih uvjeta u kojima mikroorganizmi ne mogu preživjeti, dok premali udio vlage također ne zadovoljava potrebe za rast mikroorganizama. [16] Važno je okretanjem osiguravati protok zraka kroz kompostnu hrpu kako bi se osigurali aerobni uvjeti potrebni za rast mikroorganizama. Velike komade biomase potrebno je usitniti prije kompostiranja kako bi se osiguralo bolje miješanje i protok zraka kroz korišteni

materijal. [15] Za većinu mikroorganizama idealan omjer ugljika i dušika iznosi 30:1, kako bi imali dovoljnu količinu nutrijenata za rast. Ukoliko su svi navedeni čimbenici zadovoljeni, može se očekivati dobivanje komposta dobre kakvoće. [16]

3.3.3. Zajednice termofila

Termofilni mikroorganizmi postaju aktivni u drugoj, termofilnoj fazi kompostiranja. Iznad 60°C aktivne su termofilne gljive, bakterije te aktinomicete. [25] Najčešće se pojavljuju bakterije iz rodova *Geobacillus*, *Bacillus* i *Clostridium*, a mogu se pronaći i metanogene arheje [15].



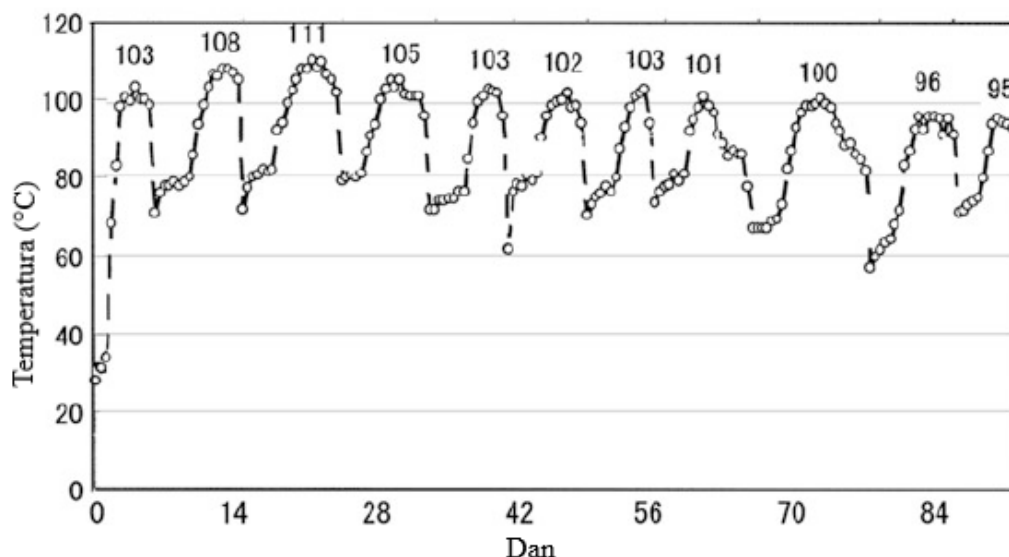
Slika 3.3. Mikrofotografije aktinomiceta u procesu kompostiranja

Iz gotovo svakog procesa kompostiranja možemo izolirati *Bacillus stearothermophilus*, *Thermomonospora*, *Thermoactinomyces*, te *Clostridium thermocellum*. Iz različitih vrsta komposta izolirano je i nekoliko potpuno novih vrsta termofila. U Koreji je pronađena aerobna termofilna bakterija *Geobacillus toebii* u

kompostu od sijena, na temperaturi od 60°C. U kompostu rađenom od otpada od hrane u Tajvanu otkrivena je gram-negativna bakterija *Luteimonas composti*. Od termofilnih gljiva aktivnih u kompostu ističu se *Geotrichum candidum*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor pusillus*, *Chaetomium thermophile*, *Thermoascus aurantiacus* te *Torula thermophila*. [25] Aktinomicete imaju ulogu proizvodnje enzima i razgradnje kompleksnih molekula poput lignoceluloze. Neki od primjera termofilnih aktinomiceta izoliranih iz komposta su *Nocardia brasiliensis*, *Streptomyces diastaticus* i *Thermoactinomyces chromogena*. Specifičnost kompostiranja jest što se kroz proces izmjenjuje nekoliko generacija različitih mikroorganizama o kojima uvelike ovisi stabilnost komposta. [16]

3.3.4. Visoko-temperaturno kompostiranje

S ciljem unaprjeđenja tradicionalnog procesa kompostiranja, provedena su istraživanja u okviru kojih se razvio učinkovitiji proces – visoko-temperaturno kompostiranje. [15] Unutarnja temperatura kompostne hrpe dostiže visoke temperature oko 100°C što omogućuje bržu razgradnju biootpada.



Slika 3.4. Promjena temperature tijekom visoko-temperaturnog kompostiranja [15]

Na Slici 3.4. grafički je prikazana promjena unutarnje temperature tijekom procesa po danima. Vidimo da već nakon nekoliko dana temperatura počinje naglo rasti, te nakon miješanja kompostne hrpe sa zrelim kompostom dostiže oko 100°C.

Nakon toga temperatura počinje padati nakon što je kompost dobro promiješan, te se onda opet penje do visoke temperature. Možemo uočiti da se taj proces hlađenja i zagrijavanja ciklički ponavlja sve do kraja procesa. Prednosti ovog načina kompostiranja naspram uobičajenog su što visoka temperatura ubija nepoželjne patogene, a sama razgradnja organskih tvari je znatno brža. Iz ovog komposta izoliran je puno veći broj termofila nego mezofila. Većina mikroorganizama pripada rodovima *Geobacillus*, *Bacillus*, *Saccharococcus* i *Thermoaerobacter*. Za razliku od uobičajenog kompostiranja, ovdje se većinom radi o ekstremnim termofilima. Neke od novih vrsta izoliranih bakterija su *Calditerricola satsumensis* i *Calditerricola yamamurae*. [15]

3.4. UKLANJANJE PESTICIDA IZ OKOLIŠA

Pesticidi su kemijska sredstva koja se upotrebljavaju najčešće u poljoprivredi kao zaštita od nametnika. Jedan od najpoznatijih jest diklor-difenil-trikloretan (DDT), za kojega se ispostavilo da ima štetno djelovanje na životinje i ljude, stoga je njegova upotreba zabranjena u većini zemalja. Problem kod prekomjerne uporabe toksičnih pesticida jest što su vrlo postojani, odnosno ne razgrađuju se već se akumuliraju u okolišu i živim organizmima. Iako je njihova upotreba danas većinom zabranjena ili strogo regulirana, ostaci nekadašnjeg masovnog korištenja još su uvijek prisutni. Zato je bitno otkriće da postoje određeni mikroorganizmi koji imaju sposobnost uklanjanja ove vrste onečišćenja iz okoliša. [2]

Proces razgradnje pesticida koristeći mikroorganizme učinkovitiji je pri višim temperaturama, stoga važnu ulogu imaju termofili [28]. Mikroorganizmi su s godinama stekli otpornost na pesticide i najčešće im je prirodno stanište bogato ovim kemijskim tvarima, pa se takvi mikroorganizmi također mogu izolirati i koristiti za bioremedijaciju drugog područja onečišćenog pesticidima. [29] Mikroorganizmi mogu iskorištavati pesticide kao izvor hrane i energije, prevodeći ih istovremeno u neopasne spojeve. [28] Pri tome ne dolazi do stvaranja opasnih nusprodukata pa je ovaj proces ekološki prihvatljiv, kao i ekonomski, no često je dugotrajan i nepredvidiv s obzirom da se odvija u promjenjivim okolišnim uvjetima. Najvažniju ulogu u tom procesu imaju enzimi. Oni omogućavaju provedbu raznih biokemijskih reakcija kojima se pesticidi razgrađuju na krajnje produkte. [29]

Najveći broj mikroorganizama koji imaju sposobnost bioremedijacije pesticida pripada bakterijama. Neki od primjera su *Bacillus subtilis*, *Klebsiella sp.*, te rodovi *Alcaligenes* i *Moraxella* [28,29]. Često je potrebna zajednica više različitih vrsta bakterija kako bi bioremedijacija dala najbolje rezultate. [29] Osim bakterija, gljive su se također pokazale kao dobar izbor za razgradnju postojanih pesticida i drugih organskih spojeva. [28] Razlika od bakterija je što gljive ne koriste pesticide u svom metabolizmu, već izlučuju izvanstanične enzime koji sudjeluju u razgradnji tih spojeva. Većina gljiva ipak preferira mezofilne uvjete za ovaj proces, iako se mogu naći primjeri termofilnih gljiva poput *Aspergillus flavus* [30].

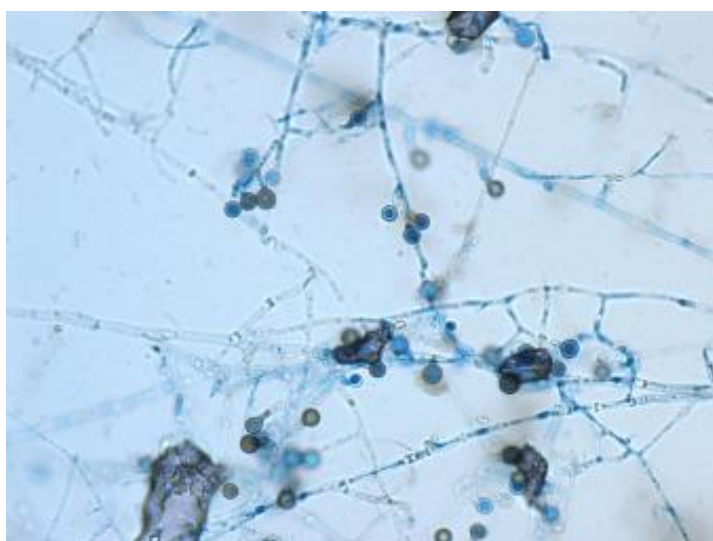
3.5. POBOLJŠANJE INDUSTRIJSKIH PROCESA

Termofilni mikroorganizmi osobito su prikladni za uporabu u industrijskim procesima s obzirom da temperatura industrijskih procesa odgovara optimalnoj temperaturi za rast termofila. Na taj način moguće je izbaciti ili smanjiti upotrebu štetnih kemikalija i zamijeniti ih termostabilnim enzimima koje proizvode mikroorganizmi. [5] Time uklanjamo mogućnost onečišćenja okoliša putem otpadnih tokova štetnim kemikalijama, a pokazalo se da su enzimi i ekonomski isplativija opcija. [8] Iz tog razloga njihova upotreba je već vrlo raširena u prehrambenoj, tekstilnoj, papirnoj i industriji deterdženata. Svakodnevno se radi na istraživanjima kako bi se omogućila još šira primjena raznih enzima, odnosno njihova masovna proizvodnja, prvenstveno pomoću naprednih tehnologija koje podrazumijevaju genetsko inženjerstvo. [31]

3.5.1. Proizvodnja deterdženata

Poznato je da su deterdženti česte onečišćujuće tvari koje zaostaju u vodenim prijemnicima i predstavljaju opasnost za floru i faunu slatkovodnih sustava. Stoga ne čudi da se industrija deterdženata smatra najvećim potrošačem enzima, osobito u posljednjih desetak godina. Enzimi su puno bolja alternativa klasičnim sastojcima deterdženata zato što su biorazgradivi, neotrovni i ne ostavljaju štetne ostatke na odjeći. Svaki enzim ima svoju specifičnu ulogu. Proteaze primjerice učinkovito uklanjaju mrlje od krvi, trave, jaja i znoja, dok celulaze sudjeluju u omekšavanju tkanine i prosvjetljavanju boja. Proteaze čine oko 60% sveukupne svjetske

proizvodnje enzima. [7] Ove enzime dobivamo pomoću mikroorganizama iz rodova *Bacillus* te *Enterobacter* [7,32]. S obzirom da deterdženti djeluju na visokim temperaturama, enzimi korišteni u ovoj grani industrije su termostabilni, odnosno proizvode ih termofilni mikroorganizmi. Još neki od primjera su enzimi lipaze, koje proizvode bakterija *Pseudomonas mendocina* te lipolaze od gljive *Humicola lanuginosa*. [7] *H. lanuginosa* danas se naziva *Thermomyces lanuginosus* iz koje je 1994. godine izolirana prva komercijalna lipaza koja se koristila u sastavu deterdženata (Slika 3.5.). Lipaze poboljšavaju učinkovitost deterdženata te pospješuju uklanjanje tvrdokornih mrlja. [4]



Slika 3.5. Mikrofotografija *Thermomyces lanuginosus*

3.5.2. Prehrambena industrija

Jedan dio prehrambene industrije, prerada škroba, bavi se razgradnjom škroba do vrijednijih produkata poput glukoze, fruktoze, maltoze i dekstrina. Taj proces je dugotrajan i kompleksan, stoga su od velikog značaja enzimi koji ga mogu pojednostaviti. [8] To su većinom termostabilni enzimi pošto je proces ovisan o visokim temperaturama. Zbog visoke temperature ne postoji opasnost od onečišćenja nepoželjnim mikroorganizmima, a ujedno se povećavaju brzina i učinkovitost procesa. Neki od primjera termofila koji su važni proizvođači enzima za razgradnju škroba su *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus*. Nedavno je otkrivena nova vrsta enzima iz bakterije

Bacillus acidicola koja može iskorištavati sirovi škrob kao supstrat pri optimalnoj temperaturi od 60°C. [31]

U proizvodnji kruha također mogu pronaći svoje mjesto enzimi koji djeluju na škrob. Koriste se za sprječavanje ustajalosti kruha, odnosno produženje roka trajanja. Najčešće se koriste enzimi amilaze. [8] Amilaze se mogu kombinirati sa ksilazama i tako dodatno poboljšati proces dizanja tijesta, dok se enzimi fitaze koriste kao dodatak tijestu za bolju konzistenciju kruha. [9,21] Proizvođači ksilaza su termofili *Bacillus subtilis* i *Pseudoalteromonas haloplanktis*. [9]

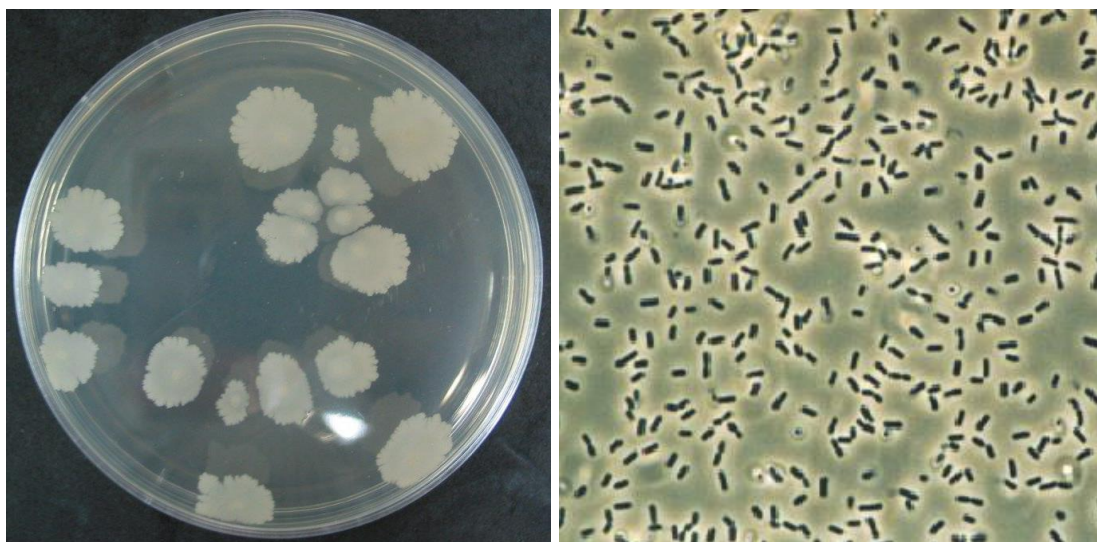
Fitinska kiselina je uobičajeni sastojak žitarica, mahunarki, sjemenki i orašastih plodova. No, ona je teško probavljiva stoga se hrana nekih životinja mora obogaćivati dodacima anorganskog fosfora kako bi se zadovoljila njihova potreba za ovim spojem. Korištenje takvih dodataka prehrani je problematično, osobito na velikim farmama životinja, zato što predstavlja određen rizik od onečišćenja okoliša što posljedično može dovesti do pojave eutrofikacije vode, odnosno cvjetanja algi te hipoksije i pomora vodenih organizama. Zbog toga se sve više koriste enzimi koji mogu hidrolizirati fitinsku kiselinu i na taj način omogućiti izvor fosfora svim organizmima, umjesto korištenja anorganskih dodataka. Enzimi fitaze i fosfataze mogu se izolirati iz termofilne plijesni *Sporotrichum thermophile*, a optimalna temperatura djelovanja iznosi 60°C. [21]

U proizvodnji voćnih sokova česta je upotreba enzima pektinaze u procesu ekstrakcije i bistrenja. Pektin doprinosi viskoznosti i mutnoći sokova, stoga je ovaj enzim vrlo učinkovit kao prirodan reagens u ovoj industriji. Djeluje tako da stvara agregate krutih čestica koje onda sedimentiraju i lako se uklanjaju centrifugiranjem. Taj proces se provodi između 40 i 50°C stoga se enzimi izoliraju iz termofila, najčešće bakterije *Bacillus pumilus*. [20]

3.5.3. Tekstilna industrija

Najčešće korištena sirovina u tekstilnoj industriji jest pamuk. Proizvodnja pamuka troši značajnu količinu resursa, kao i njegova obrada. U obradi pamuka, u fazi pripreme za šivanje tekstila, on se tretira otopinom natrijevog hidroksida pri povišenoj temperaturi kako bi se postignula jednolika moć upijanja materijala. Tijekom tog postupka emitiraju se značajne količine otpadne vode koja sadrži visoku koncentraciju natrijevog hidroksida te predstavlja opasnost za okoliš. To rezultira

povišenim vrijednostima biokemijske (BPK) i kemijske (KPK) potrošnje kisika u otpadnim vodama. Oko 75% organskog onečišćenja iz tekstilne industrije potječe prvenstveno iz procesa pripreme pamučnih sirovina. Alternativa ovom postupku jest upotreba enzima pektinaza koje proizvode bakterije *Bacillus subtilis*. Slika 3.6. lijevo prikazuje fotografski snimak izraslih kolonija na hranjivoj podlozi, a desno je mikroskopski prikaz stanica *B. subtilis*. [20]



Slika 3.6. Bakterija *Bacillus subtilis*

3.5.4. Proizvodnja papira

U industriji vezanoj uz proizvodnju papira najveći problem predstavljaju organske onečišćujuće tvari. One su rezultat korištenja kemikalija poput klora, klorovog dioksida i natrijevog hidroksida u procesu obrade sirovina. Nusprodukti ovog procesa su toksični i mutageni stoga predstavljaju ozbiljnu opasnost za biološke sustave. Iz tog razloga, u ovoj grani industrije sve češće se prelazi na inovativne zamjene kemikalijama koje nemaju tako velik utjecaj na okoliš – enzime. Pektinaze se koriste u procesima izbjeljivanja koji se provode pri visokim temperaturama stoga su najčešće izolirane iz termofilnih mikroorganizama kao što je *Bacillus subtilis* koji je aktivan pri 70°C. [20] Za izbjeljivanje se također mogu koristiti enzimi ksilanaze koji osim postizanja odgovarajuće bjeline doprinose i očuvanju odgovarajuće kvalitete papira. One ne mogu u potpunosti zamijeniti klor, no istraživanja su pokazala da se uz korištenje ksilanaze potrošnja klora može smanjiti za 12-30%. [9]

4. ZAKLJUČAK

Posljednjih godina raste svijest o očuvanju okoliša koji je već poprilično ranjen uslijed razvoja čovječanstva i industrije. U naporima da se saniraju već nastale štete prouzročene izravnim ili neizravnim onečišćenjem okoliša uvelike mogu pomoći termofilni mikroorganizmi. Zbog preživljavanja na temperaturama višim od 40°C, otvara se cijeli niz mogućnosti za njihovu upotrebu. Onečišćenje okoliša toliko je dugotrajna pojava da su mnogi od njih stekli prirodnu otpornost na tvari poput pesticida, naftnih ugljikovodika, teških metala te kemijskih spojeva iz proizvodnih industrija poput tekstilne, stoga su idealni za procese bioremedijacije. Na taj način prirodnim putem mikroorganizmi saniraju onečišćene dijelove okoliša, iskorištavajući onečišćujuće tvari kao izvor energije i hranjivih tvari.

Onečišćenju zraka najviše pridonosi upotreba fosilnih goriva, bez kojih je život do nedavno bio nezamisliv. Njihove zalihe su ograničene i brzo se troše, stoga se pronalaze alternativna rješenja poput bioetanola i vodika. Iako još nemaju širu komercijalnu primjenu, obećavajuća je činjenica da se termofili mogu iskorištavati u procesima proizvodnje ove vrste goriva zamjenjujući kemijske biokemijskim reakcijama koje su prihvatljivije za okoliš.

Jedan od najvećih problema današnjice jest sve veća količina otpada koju proizvodimo, a ne obrađujemo na način koji bi bio prihvatljiv za okoliš. Kako bi izbjegli scenarij pretrpavanja Zemlje vlastitim smećem, možemo biorazgradive komponente otpada iskoristiti i pretvoriti u koristan produkt kompostiranjem, procesom u kojem ključnu ulogu imaju mikroorganizmi, među kojima su i termofili. Oni razgrađuju biootpad te ga pretvaraju u kompost koji možemo iskoristiti kao dodatak tlu umjesto umjetnih gnojiva.

Najvrjedniji proizvod mikroorganizama jesu njihovi enzimi, koji su termostabilni, što znači da se ne deaktiviraju pri visokim temperaturama. Najveću ulogu imaju u industrijskim procesima gdje se koriste kao zamjena za kemijske reagense. Korištenjem enzima izbjegava se opasnost od emisija onečišćujućih, otrovnih tvari u prirodne prijemnike, a istovremeno se štedi energija te potrošnja resursa. Enzimi termofilnih mikroorganizama svoju su komercijalnu primjenu pronašli u prehrambenoj i tekstilnoj industriji te u procesima proizvodnje papira i deterdženata.

5. LITERATURA

- [1] Duraković, S., Opća Mikrobiologija, Prehrambeno-tehnološki inženjering, Zagreb, 1996.
- [2] Briški, F., Zaštita Okoliša, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2016.
- [3] Chandel, A. K., Chandrasekhar, G., Sridevi, J., Venkateswar Rao, L., Vimala Rodhe, A., Cellulases of Thermophilic Microbes, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 771 – 793.
- [4] Birkeland, N., Sharma, M., Sharma, R., Thakur, V., Biocatalysis Through Thermostable Lipases: Adding Flavor to Chemistry, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 905 – 927.
- [5] Damle, D., Mehta, R., Sharma, A. K., Singh, H., Singhal, P., Insight Into Thermophiles and Their Wide - spectrum Applications, 3 Biotech, 6 (2016) 81
- [6] Da Silva, R., Gomes, E., de Oliveira, T. B., Orjuela, G. L., Rodrigues, A., Rodrigues da Souza, A., Applications and Benefits of Thermophilic Microorganisms and Their Enzymes for Industrial Biotechnology, u: Dattenbock, C., Schmoll, M., Gene Expression Systems in Funghi: Advancements and Applications, Springer, 2016., str. 456 – 492.
- [7] James, P., Littlechild, J., Novak, H., Sayer, C., Mechanisms of Thermal Stability Adopted by Thermophilic Proteins and Their Use in White Biotechnology, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 481-507.
- [8] Nisha, M., Satyanarayana, T., Thermostable Archaeal and Bacterial Pullulanases and Amylopullulanases, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 535 – 587.
- [9] Bisaria, V. S., Biswas, R., Gupta, G., Mishra, S., Nakra, S., Sahai, V., Xylanases from Thermophilic Fungi: Classification, Structure, and Case Study of *Melanocarpus albomyces*, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 795 – 811.
- [10] Abreu, A. A., Alves, M. M., Angelidaki, I., Karakashev, D., Sousa, D. Z., Biohydrogen production from arabinose and glucose using extreme thermophilic anaerobic mixed cultures, Biotechnol. Biofuels, 5 (2012) 6.
- [11] Li, Jinyang, Li, Jingen, Sun, T., Tian, C., Zhang, Y., Metabolic engineering of the cellulolytic thermophilic fungus *Myceliophthora thermophila* to produce ethanol from cellobiose, Biotechnol. Biofuels, 13 (2020) 23.

- [12] Mamo, G., Nordberg Karlsson, E., Turner, P., Potential and utilization of thermophiles and thermostable enzymes in biorefining, *Microbial Cell Factories*, 6 (2019) 9.
- [13] Bhadury, P., Mohammad, B. T., Thermophilic Bacteria: Environmental and Industrial Applications, u: Kumar Nayak, S., Mishra, B. B., *Frontiers in Soil and Environmental Microbiology*, CRC Press, 2000., str. 97 – 106.
- [14] Kazy, S. K., Paul, D., Sar, P., Sarkar, A., Metal Bioremediation by Thermophilic Microorganisms, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles*, 2nd ed., Springer, 2013., str. 171 – 201.
- [15] Mariya, T., Oshima, T., Yashii, T., Bacterial and Biochemical Properties of Newly Invented Aerobic, High – Temperature Compost, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles*, 2nd ed., Springer, 2013., str. 119 – 135 .
- [16] Johri, B. N., Rawat, S., Role of Thermophilic Microflora in Composting, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles*, 2nd ed., Springer, 2013., str. 137 – 169.
- [17] Fogarty, A. M., Tuovinen, O. H., Microbiological Degradation of Pesticides in Yard Waste Composting, *Microbiol. Rev.*, 55 (1991) 225 – 233.
- [18] Huang, Y., Li, F., Lin, D., Long, X., Wu, Z., Xiao, L., Xiao, M., Microbial Degradation of Pesticide Residues and an Emphasis on the Degradation of Cypermethrin and 3-phenoxy Benzoic Acid: A Review, *Molecules*, 23 (2018) 2313.
- [19] Debarati, P., Bioaugmentation of Pesticide Contaminated Agricultural Fields using Microbes: Need and Perspectives, u: Kumar, P., Rai, V., *Recent Advance in Biotechnology* vol. 1, New Delhi, 2018, str. 53 – 71.
- [20] Dhiman, S. S., Mahajan, R., Sharma, J., Pectinases of Thermophilic Microbes, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles*, 2nd ed., Springer, 2013., str. 689 – 710.
- [21] Satyanarayana, T., Singh, B., Phytases and Phosphatases of Thermophilic Microbes: Production, Characteristics and Multifarious Biotechnological Applications, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles*, 2nd ed., Springer, 2013., str. 671 – 687.
- [22] Pelczar, M. J., Pelczar, R. M., Microbiology, *Encyclopedia Britannica*, 4 (2020), <https://www.britannica.com/science/microbiology> (pristup 9. kolovoza 2021.)
- [23] Bruslind, L., *General Microbiology*, Oregon State University, Corvallis, 2020.
- [24] Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Hrvatska enciklopedija, nukleinske kiseline, <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=44390> (pristup 10. kolovoza 2021.)

- [25] Mehta, D., Satyanarayana, T., Diversity of Hot Environments and Thermophilic Microbes, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 3 – 60.
- [26] Amenabar, M. J., Blamey, J. M., Flores, P. A., Hot Environments of Antarctica: Source of Thermophiles and Hyperthermophiles, with Potential Biotechnological Applications, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 99 – 118.
- [27] Favaro-Polonio, C. Z., Lellis, B., Pamphile, J. A., Polonio, J. C., Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms, Biotechnology Research and Innovation, 3 (2019), 275-290.
- [28] Debarati, P., Bioaugmentation of Pesticide Contaminated Agricultural Fields using Microbes: Need and Perspectives, u: Kumar, P., Rai, V., Recent Advances in Biotechnology, Shree Publishers & Distributors, New Delhi, 2018., str. 53-68.
- [29] Huang, Y., Li, F., Lin, D., Long, X., Wu, Z., Xiao, L., Xiao, M., Microbial Degradation of Pesticide Residues and an Emphasis on the Degradation of Cypermethrin and 3-phenoxy Benzoic Acid: A Review, Molecules, 23 (2018) 2313.
- [30] Fogarty, A. M., Tuovinen, O. H., Microbiological Degradation of Pesticides in Yard Waste Composting, Microbiol. Rev., 55 (1991) 225-233.
- [31] Antranikian, G., Elleuche, S., Starch-Hydrolyzing Enzymes from Thermophiles, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 509-533.
- [32] Khare, S. K., Sinha, R., Thermostable Proteases, u: Kawarabayasi, Y., Littlechild, J., Satyanarayana, T., Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles, 2nd ed., Springer, 2013., str. 859-880.

ŽIVOTOPIS

Katarina Muzica [REDACTED] Završila je Osnovnu školu Vazmoslava Gržalje Buzet u područnoj školi Vrh. Nakon toga upisuje opću gimnaziju u Srednjoj školi Buzet. Po završetku srednjoškolskog obrazovanja, 2018. godine upisuje preddiplomski studij Ekoinženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Studentsku praksu odradila je u Istarskom vodovodu d.o.o. u laboratoriju za analizu vode proizvodne jedinice Butoniga.