



Sveučilište u
Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Slavko Kepec

**EKOTOKSIKOLOŠKA
I MIKROBIOLOŠKA KARAKTERIZACIJA
PROČIŠĆENIH OTPADNIH VODA
GRADA VIROVITICE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2016.

Ovaj je doktorski rad izrađen u Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu, Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi (stari naziv: Laboratorij za ihtiopatologiju – biološke materijale), Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu i poduzeću Virkom d.o.o. Virovitica, pod vodstvom mentorice dr.sc. Natalije Topić Popović i mentora prof.dr.sc. Gorana Klobučar, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija biologije.

Zahvale

Prije svega, najiskrenije se zahvaljujem mojoj mentorici dr.sc. Nataliji Topić Popović i mojem mentoru prof.dr.sc. Goranu Klobučaru, bez čijeg strpljenja i velike pomoći, kroz cijelo vrijeme, sve ovo ne bih mogao privesti kraju.

Zahvaljujem se ponaosob svima u Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu na pomoći u stručnom dijelu, na razumijevanju i podršci u svakom smislu.

Ogromnu zahvalnost dugujem mojoj dragoj suradnici iz Tvornice šećera Virovitica, Kseniji Zidar, dipl.ing. zbog svega što je učinila kako bi se istraživanje moglo provesti na pravi način.

Zahvaljujem svojim dragim kolegicama Blaženki Čeleš, dipl.ing. i Ljiljani Jarčov, mag.ing.univ.spec. iz Zavoda za javno zdravstvo Bjelovarsko bilogorske županije, Mirjani Špehar, mag.med.biochem. iz Zavoda za javno zdravstvo „Sveti Rok“ Virovitičko-podravske županije, dr.sc. Ljiljani Čačić, dr.sc. Željki Romić i Antoniji Kezerle, dipl.ing. iz Vodovoda Osijek, na pomoći u stručnom dijelu i moralnoj podršci. Hvala Draženki Stipaničev, dipl.ing. i Siniši Repecu, dipl.ing. iz Glavnog vodnogospodarskog laboratorija Hrvatskih voda na njihovom doprinosu.

Posebno se zahvaljujem mojim prijateljima Denisu Balažu, dipl.ing. i Marijanu Mlinariću iz Tvornice šećera, Draženu Viljevcu iz Brezovice, mojem nećaku Ivanu, i ostalima, na pomoći u izlovu riba.

Zahvaljujem se direktorima Virkom-a, Zdravku Peru, dipl.ing. na pomoći u početku doktorskog studija i Damiru Mareniću, dipl.ing. na razumijevanju i velikoj podršci u svakom smislu. Hvala i ostalima iz Virkom-a koji su u mene vjerovali.

Zahvaljujem i onima koje nisam naveo imenom, a koje sam u poslovnoj suradnji, kroz dugi niz godina, susretao i zavolio.

Hvala cijelom mom obiteljskom krugu na inspiraciji i strpljenju.

EKOTOKSIKOLOŠKA I MIKROBIOLOŠKA KARAKTERIZACIJA PROČIŠĆENIH OTPADNIH VODA GRADA VIROVITICE

SLAVKO KEPEC

Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek

Analiza pročišćenih otpadnih voda koje se ispuštaju u vodene prijemnike uglavnom podrazumijeva tek utvrđivanje koncentracije organskih tvari (kemijske i biološke potrošnje kisika) i nutrijenata (dušika i fosfora). Stoga je u ovom radu ispitan i učinak efluenta na bioindikatorske organizme (ribe (*Carassius gibelio*)) i gujavice (*Eisenia fetida*, *Oligochaeta*)) i stupanj rezistentnosti bakterijskih izolata na antimikrobne lijekove podrijetlom iz otpadnih voda, s ciljem utvrđivanja štetnog djelovanja na živa bića u vodi, a posredno i na zdravlje ljudi. U tom smislu provedena su ekotoksikološka ispitivanja na bioindikatorskim modelnim organizmima, izvršeno je mjerenje mehanizma multiksenobiotičke otpornosti i vrijednosti parametara oksidacijskog stresa. Citogenetska oštećenja utvrđivana su mikronukleus testom a mutageni učinci Ames testom. Izvršena je komparativna mikrobiološka analiza standardnim mikrobiološkim testovima i MALDI-TOF spektrometrom masa, te su provedena hematološka i histopatološka istraživanja. Rezultati navedenih istraživanja pokazuju da pročišćene otpadne vode unošenjem ksenobiotika mijenjaju okolišne parametre recipijenta, dovode do porasta otpornosti bakterija na antibiotike, histopatoloških promjena i oksidacijskog stresa u riba. Dobiven je cjeloviti prikaz utjecaja pročišćenih otpadnih voda na ključne parametre kakvoće i ekološkog stanja vode i biote.

115 stranica/ 36 slika/ 17 tablica/ 165 literaturnih navoda/ jezik izvornika hrvatski

Ključne riječi: uređaj za biološko pročišćavanje, efluent, bakterije, ribe, genotoksičnost, mehanizma multiksenobiotičke otpornosti, mikronukleus, oksidacijski stres

Mentori: dr.sc. Natalija Topić Popović, znanstvena savjetnica, IRB, Zagreb
prof.dr.sc. Goran Klobučar, PMF, Zagreb

Ocjenjivači:

1. Dr.sc. Ivančica Strunjak-Perović, viša znanstvena savjetnica, IRB, Zagreb
2. Prof.dr.sc. Mirjana Pavlica, PMF, Zagreb
3. Izv.prof.dr.sc. Jasna Hrenović, PMF, Zagreb
4. Zamjena: Dr.sc. Rozelindra Čož-Rakovac, znanstvena savjetnica, IRB, Zagreb

Rad prihvaćen:

**ECOTOXICOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF
TREATED WASTEWATER OF THE CITY OF VIROVITICA**

SLAVKO KEPEC

Faculty of Science, Department of Biology

Currently, analysis of treated wastewater discharged from the wastewater treatment plants (WWTP) inflowing into recipients involves determination of concentrations of organic substances (chemical and biological oxygen demand) and nutrients (nitrogen and phosphorus). In this study, the impact of effluent on organismic bioindicators and degree of resistance of bacterial isolates to antimicrobial drugs originating from wastewater has been evaluated with the aim to determine toxic effects on aquatic (fish, *Carassius gibelio*) and terrestrial (earthworm, *Eisenia fetida*, Oligochaeta) organisms, and indirectly on human health. The ecotoxicological testings on bioindicator model organisms were conducted, measuring mechanisms of multixenobiotic resistance and parameters of oxidative stress. Cytogenetic damages were determined by micronucleus test, and mutagenic effects with Ames test. Comparative microbiological analyses were made with conventional methods and mass spectrometry analyser. Results of this study show that treated wastewater (leaving WWTP) changed environmental parameters by introduction of xenobiotics, contributed to microbial contamination and antimicrobial resistance, histopathological tissue changes and oxidative stress of examined organisms. Hencewith, our approach encompassed an integrated overview of the impact of treated wastewater on key environmental and organismal parameters.

115 pages/ 36 figures/ 17 tables/ 165 references/ original in Croatian

Keywords: wastewater treatment plant, effluent, bacteria, fish, genotoxicity, mechanism of multixenobiotic resistance, micronuclei, oxidative stress

Supervisors:

Natalija Topić Popović, Ph.D., Senior Scientist, RBI, Zagreb
Goran Klobučar, Ph.D., Full Professor, PMF, Zagreb

Reviewers:

1. Ivančica Strunjak-Perović, Ph.D., Senior Scientist, RBI, Zagreb
2. Mirjana Pavlica, Ph.D., Full Professor, PMF, Zagreb
3. Jasna Hrenović, Ph.D., Associate Professor, PMF, Zagreb

Replacement: Rozelindra Čož-Rakovac, Ph.D., Senior Scientist, RBI, Zagreb

Thesis accepted: