

**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Karlo Koraj

**Utjecaj aeracije pod tlakom na uspješnost
poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora iz
otpadne vode**

Zagreb, 2018

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za tehnologiju vode na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta pod vodstvom prof.dr.sc. Marina Matošića i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2017/2018.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	Biološka obrada otpadnih voda	3
1.2.	Poboljšano biološko uklanjanje fosfora.....	6
1.2.1.	Metabolizam PAO.....	7
1.2.2.	Metabolizam GAO	9
1.2.3.	Kompeticija između mikroorganizama u aktivnom mulju.....	10
1.2.4.	Utjecaj kisika i nitrata na EBPR.....	11
1.2.6.	Utjecaj pH na EBPR.....	12
1.2.7.	Utjecaj kationa na EBPR.....	12
1.2.8.	Utjecaj supstrata na EBPR	13
1.2.9.	Utjecaj SRT-a na EBPR	13
1.2.10.	Optimizacija i razvoj konfiguracija EBPR sustava	14
1.3.	SBR uređaj.....	17
1.4.	SDOx sustav	20
2.	OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA	22
3.	MATERIJALI I METODE	23
3.1.	Uzgoj PAO u laboratorijskom SBR uređaju.....	23
3.2.	Aeracija u SDOx uređaju.....	28
3.3.	Određivanje koncentracije otopljenog kisika	29
3.4.	Određivanje pH vrijednosti	30
3.5.	Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK).....	30
3.6.	Određivanje koncentracije ukupnog fosfora.....	31
3.7.	Određivanje koncentracije otopljenog fosfora	31
3.8.	Određivanje koncentracije ukupnog dušika	32
3.9.	Određivanje koncentracije nitrata.....	32

3.10.	Određivanje koncentracije amonijaka.....	33
3.11.	Određivanje ukupne suspendirane tvari (TSS) i ukupne organske suspendirane tvari (VSS)	33
3.12.	Određivanje SVI vrijednosti	35
3.13.	Određivanje maksimalne specifične brzine anaerobnog otpuštanja fosfora, maksimalne specifične brzine asimilacije KPK i neto uklonjenog fosfora	35
4.	REZULTATI.....	37
5.	RASPRAVA.....	54
6.	ZAKLJUČCI.....	58
7.	ZAHVALE	59
8.	POPIS LITERATURE	60
9.	SAŽETAK.....	65
10.	SUMMARY	66

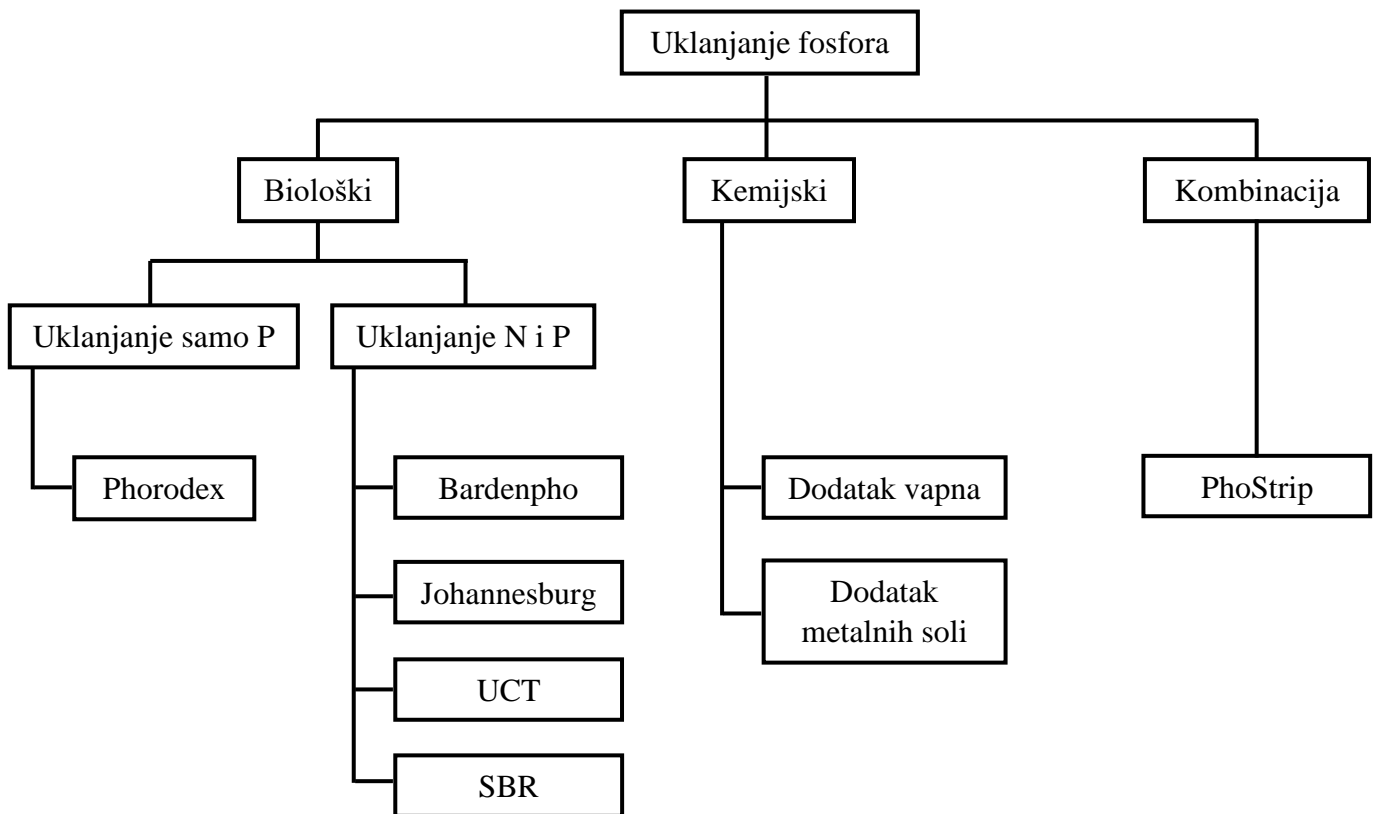
1. UVOD

Prisutnost nutrijenata, posebice dušika i fosfora, u otpadnim vodama koje se ispuštaju u okoliš mogu imati negativno djelovanje na prirodni ekosustav. Takve vode mogu dovesti do eutrofikacije u površinskim vodama pri čemu dolazi do povećanog rasta algi koje svojim naknadnim odumiranjem i razgradnjom troše sav raspoloživ otopljeni kisik. To može dovesti do pomora riba te promjene u prirodno prisutnoj flori i fauni. Iako se nekad mislilo da na rast algi podjednako utječu fosfor i dušik, otkriveno je da je fosfor limitirajući faktor i da je njegovo uklanjanje iz otpadne vode ključan postupak u sprječavanju cvjetanja algi (Schindler, 2006). Uklanjanje fosfora iz otpadne vode moguće je postići na razne načine kao što je prikazano na slici 1.

Kemijske metode se temelje na taloženju fosfata kemijskim sredstvima kao što su metalne soli ili vapno. Metalne soli koje se najčešće koriste su željezove soli (FeCl_3 , FeCl_2 i FeSO_4) i aluminijske soli ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) pri čemu nastaje teško topivi FePO_4 , odnosno AlPO_4 . Osim toga koriste se i kalcijeve soli i to u obliku živog (CaO) ili gašenog vapna ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Kemijske metode mogu se samostalno koristiti za uklanjanje fosfora iz otpadne vode, međutim zbog potrebe za velikim količinama kemikalija to je skupo. Kako bi se postigle željene vrijednosti fosfora u pročišćenoj vodi, kemijske metode mogu se zamijeniti ili nadopuniti biološkim uklanjanjem fosfora što ima sve veću primjenu. Posebno uspješan način za biološko uklanjanje fosfora naziva se EBPR (eng. Enhanced Biological Phosphorus Removal). Poboljšano biološko uklanjanje fosfora isplativ je i ekološki prihvatljiv postupak za uklanjanje fosfora u sustavima s aktivnim muljem. Mikroorganizmi odgovorni za EBPR nazivaju se fosfat akumulirajući organizmi ili PAO (eng. Phosphate Accumulating Organisms). U EBPR sustavima aktivni mulj obogaćen s PAO uklanja više fosfora nego što mu je potrebno za normalan rast i razmnožavanje tako što nakuplja intracelularne polifosfate u granule volutina. Kako bi se omogućio EBPR potrebno je zadovoljiti određene uvjete tijekom procesa obrade otpadne vode zbog specifičnog metabolizma PAO. Potrebna je izmjena anaerobnih i aerobnih uvjeta kako bi PAO mogao provoditi svoj metabolizam i uklanjati fosfor i uspješno se natjecati za supstrat s ostalim prisutnim mikroorganizmima. U anaerobnim uvjetima PAO cijepa veze u prethodno nakupljenim unutarstaničnim polifosfatima kako bi osigurao energiju za unošenje organskog ugljika pri čemu nastali ortofosfat izlazi iz stanica u okolinu. Zatim u aerobnim uvjetima unosi puno veće količine fosfata nego što ih je u anaerobnoj fazi izbacio iz stanice.

Izbacivanjem viška mulja na kraju aerobne faze uklanja se dio fosfora iz otpadne vode vezan u polifosfatima. Postoje različite konfiguracije sustava za poboljšano biološko uklanjanje fosfora, no svima je zajedničko da imaju anaerobnu zonu nakon koje slijedi aerobna. U EBPR sustavima uz uklanjanje fosfora može se postići i djelomično uklanjanje dušika što će biti detaljnije objašnjeno u nastavku.

Problem koji se može javiti kod EBPR sustava je pojava bakterija koje konkuriraju PAO za supstrat u anaerobnim uvjetima i na taj način smanjuju udio PAO u aktivnom mulju, a time i uspješnost uklanjanja fosfora. Te bakterije su poznate pod nazivom glikogen akumulirajući organizmi ili GAO (eng. Glycogen Accumulating Organisms). Važno je optimizirati uvjete u sustavu za obradu vode kako bi aktivni mulj sadržavao što veći udio PAO.



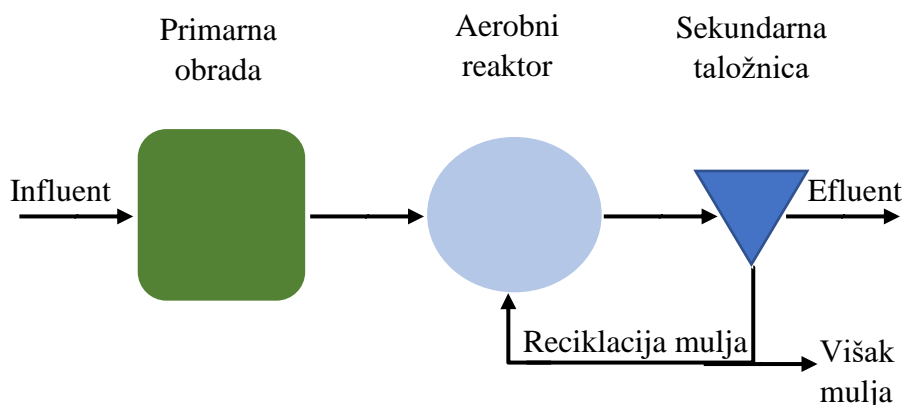
Slika 1. Pregled procesa za uklanjanje fosfora

Također, da bi se omogućilo što brže i potpunije otapanje kisika u suspenziji aktivnog mulja, uvode se i istražuju novi procesi koji troše manje energije. Proces SDOx koji u aktivnom mulju pod tlakom otapa kisik ima potencijal za upotrebu pri aeraciji aktivnog mulja, ali je još

nedovoljno poznato kakav utjecaj ima na aktivnost i karakteristike mulja. Glavni cilj ovog rada je odgovoriti na pitanje kako utječe visoki tlak na aktivni mulj s PAO.

1.1. Biološka obrada otpadnih voda

Za obradu otpadnih voda ključno je bilo otkriće aktivnog mulja na početku 20. stoljeća. Otkriveno je da aktivni mulj u aeriranim uvjetima uklanja organske tvari iz otpadne vode pri čemu se povećava njegova masa. Aktivni mulj je definiran kao mješovita mikrobna kultura mikroorganizama koja razgrađuje i koristi otopljene sastojke iz otpadne vode kao hranjivi supstrat. Ista tehnologija je do danas ostala najčešće korištena tehnologija za obradu otpadnih voda na svijetu zbog svoje niske cijene i učinkovitosti. Jednostavan prikaz biološke obrade otpadne vode prikazan je na slici 2.



Slika 2. Jednostavna shema obrade otpadne vode

U klasičnoj obradi, primarna fizikalna obrada uključuje odstranjivanje zrnatih, pahuljastih i drugih čestica veće gustoće koje se talože, kao i čestica manje gustoće koje isplivavaju na površinu. Rezultat primarne obrade je smanjenje ukupnog organskog onečišćenja za 30-50 % (Glancer-Šoljan i sur., 2001)

Prije primarne obrade može se provesti i prethodna obrada u kojoj se iz otpadne vode uklanjaju grube nečistoće pomoću rešetaka ili sita nakon čega može slijediti proces

izjednačavanja. Izjednačavanje ili egalizacija otpadne vode omogućuje razrijeđenje toksičnih sastojaka te izjednačavanje pH vrijednosti.

Nakon primarne obrade slijedi sekundarna ili biološka obrada koja obuhvaća biološke postupke u kojima se djelovanjem mikroorganizama razgrađuju otopljeni sastojci u otpadnoj vodi kao što su organski sastojci (izvor ugljika i energije), anorganski sastojci (izvor dušika i fosfora) te ostatak koloidnih čestica zaostalih nakon prethodne i primarne obrade. Organizmi koji troše otopljene sastojke iz otpadne vode kao hranjivog supstrata djeluju kao mješovite mikrobne zajednice u kojima prevladavaju bakterije, kvasci, alge, protozoe i metazoe (Glancer-Šoljan i sur., 2001). Svi mikroorganizmi zajedno sa suspendiranim česticama tvore flokule na temelju različitih naboja pri čemu nastaje aktivni mulj.

U aerobnoj obradi otpadnih voda mikroorganizmi u aktivnom mulju najčešće su obični heterotrofni organizmi ili OHO (eng. Ordinary Heterotrophic Organisms). Oni koriste otopljene organske sastojke kao izvor energije i ugljika te anorganske sastojke kao izvor fosfora i dušika za svoj rast i razmnožavanje. Uklanjanje organskih tvari uključuje anaboličke procese u kojem OHO dobivaju ugljik za rast stanica iz organske tvari prisutne u otpadnoj vodi. Također, uključuje i kataboličke procese u kojima se odvijaju oksidacijsko-redukcijske reakcije pri čemu dolazi do prijenosa elektrona iz organske tvari na kisik čime se dobiva energija potrebna za sintezu stanica. Kisik je potreban za respiraciju kao akceptor elektrona, a aerobni uvjeti se postižu prozračivanjem bioaeracijskog bazena ili reaktora.

Zbog prilično raznolike mješavine biološki razgradivih i nerazgradivih organskih spojeva, KPK se najčešće koristi za procjenu njihove ukupne koncentracije. KPK je ukupna količina kisika koja se potroši na razgradnju organske tvari, a ekvivalentna je koncentraciji. Potreban omjer nutrijenata za provođenje metabolizma OHO iznosi KPK:N:P jednako 100:5:1 (Tchobanoglous i sur., 2003).

Organske tvari mogu se uspješno ukloniti u aerobnoj obradi otpadne vode. Međutim, uklanjanje organskih tvari može se postići i u sustavima s aktivnim muljem koji provode biološko uklanjanje nutrijenata (fosfora i dušika). Na primjer, denitrificirajući mikroorganizmi koriste biološki razgradive organske tvari za potrebe denitrifikacije koristeći nitrat ili nitrit kao akceptor elektrona (Ekama i wantzel, 2008). Isto tako, kod EBPR biomasa PAO u anaerobnom reaktoru apsorbira hlapive masne kiseline (VFA – eng. Volatile Fatty Acids) kao što su acetat i propionat iz otpadne vode.

Kako bi se odvojila pročišćena voda od aktivnog mulja najčešće se koristi sekundarna taložnica u kojoj se aktivni mulj taloži u obliku flokula uslijed djelovanja gravitacije. Uspješnost obrade otpadne vode ovisi o procesu flokulacije aktivnog mulja u sekundarnoj taložnici. Potrebno je održavati uvjete tijekom procesa koji onemogućavaju pojavu nitastih bakterija zato što one značajno otežavaju taloženje mulja. Dio istaloženog mulja vraća se u bioreaktor, a višak priraslog mulja se odvodi iz procesa. Kao produkti biološke obrade vode su pročišćena voda te višak mulja. Dobivena pročišćena voda se najčešće vraća u površinske vode kao što su jezera, rijeke ili more.

Kako ne bi došlo do eutrofikacije u prirodi, otpadna voda se mora pročistiti do određenog nivoa što je u Republici Hrvatskoj regulirano Pravilnikom o graničnim vrijednostima otpadnih voda iz 2013. godine. U tablici 1 prikazane su vrijednosti onečišćujućih pokazatelja ispod kojih se mora otpadna voda obraditi u određenom stupnju pročišćavanja. Prema istom Pravilniku drugi stupanj pročišćavanja definiran je kao obrada komunalnih otpadnih voda postupkom koji općenito obuhvaća biološku obradu sa sekundarnim taloženjem, dok je treći stupanj pročišćavanja stroža obrada komunalnih otpadnih voda postupkom kojim se uz drugi stupanj pročišćavanja postižu zahtjevi za fosfor, dušik i druge onečišćujuće tvari (Pravilnik, 2013).

Tablica 1. Granične vrijednosti emisija komunalnih otpadnih voda pročišćenih na uređajima za obradu otpadnih voda (Pravilnik, 2016)

STUPANJ PROČIŠĆAVANJA	POKAZATELJI	GRANIČNA VRIJEDNOST	NAJMANJI POSTOTAK SMANJENJA OPTEREĆENJA
Drugi stupanj	Suspendirane tvari	35 mg/L	90%
	KPK	125 mg O ₂ /L	75%
Treći stupanj	Ukupni fosfor	2 mg P/L (10 000-100 000 ES)	80%
		1 mg P/L (veće od 100 000 ES)	
	Ukupni dušik	15 mg N/L (10 000-100 000 ES)	70%
		10 mg N/L (veće od 100 000 ES)	

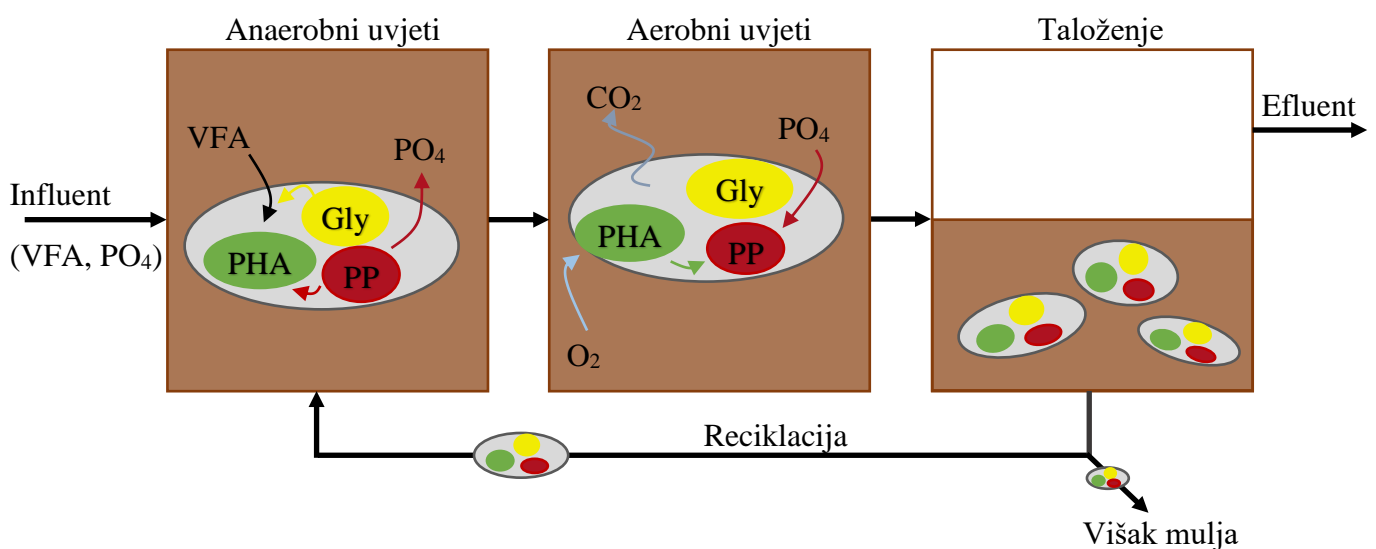
1.2. Poboljšano biološko uklanjanje fosfora

Poboljšano biološko uklanjanje fosfora mikrobnim je procesom za uklanjanje većih količina fosfora iz otpadne vode tako što PAO nakuplja fosfate u obliku polifosfata u granule volutina unutar stanica. Na taj način se uklanja znatno više fosfora nego što se uklanja s potpuno aerobnim muljem kojem fosfor služi samo za rast biomase. Pošto ovaj proces ima visoku učinkovitost uklanjanja fosfora, manju proizvodnju mulja, niže operativne troškove te potencijalni povrat fosfora iz uklonjenog mulja široko je rasprostranjen u sustavima za obradu otpadne vode (Hu i sur., 2012). Izbacivanjem aktivnog mulja obogaćenog s PAO iz bioreaktora dovodi do uklanjanja fosfora iz otpadne vode. PAO ima potencijalnu sposobnost vezanja 0,38 mgP/mgVSS, dok OHO imaju sposobnost vezanja samo 0,02 mgP/mgVSS (Wentzel i sur., 2008). VSS (eng. Volatile Suspended Solids) je ukupna organska suspendirana tvar i predstavlja aktivnu biomasu mulja. U praksi se koncentracija fosfora u mulju obogaćenom s PAO kreće između 0,06 i 0,15 mgP/mgVSS. To je zato što u sustavima EBPR biomasa PAO koegzistira s OHO i GAO pa količina uklonjenog fosfora ovisi o samom udjelu PAO u aktivnom mulju. U EBPR-u se favorizira PAO s obzirom na OHO na način da mulj kruži između aerobne i anaerobne/anoksične faze (Barnard, 1975). Cilj dizajniranja postrojenja za EBPR je povećati koncentraciju PAO u mulju s obzirom na OHO i GAO i na taj način će sam EBPR biti efikasniji i ukloniti će se više fosfora. Na odnos PAO i OHO u aktivnom mulju velikim dijelom utječe i sastav otpadne vode, odnosno sastav biorazgradivog KPK kojeg može koristiti svaka vrsta mikroorganizama. Što više KPK potroši biomasa PAO, to će više PAO narasti pa će efikasnost EBPR biti veća. U dobro postavljenim postrojenjima PAO može činiti oko 40% aktivne biomase (Wentzel i sur., 2008). Postoji više izvedba EBPR-a. Najjednostavniji proces razvijen je za istovremeno uklanjanje KPK i P. Međutim, postoje i razvijeni procesi za istovremeno uklanjanje KPK, N i P o čemu će više riječi biti u nastavku.

Polifosfate mogu nakupljati razne vrste bakterija, no većina tih bakterija stvara rezerve fosfora u relativno malim količinama. Samo mali broj bakterija ima sposobnost korištenja energije spremljene u polifosfatima kako bi u anaerobnim uvjetima unosile VFA i skladištile ih u obliku PHA. Takva vrsta bakterija je poznata pod nazivom polifosfat akumulirajući organizmi ili fosfat akumulirajući organizmi (PAO).

1.2.1. Metabolizam PAO

U anaerobnoj fazi, za razliku od mnogih drugih mikroorganizama, PAO ima sposobnost korištenja lako razgradive organske tvari kao što su masne kiseline poput acetata (HAc) i propionata (HPr) te njihovog intracelularnog nakupljanja u obliku poli- β -hidroksialkanoata koji se skraćeno nazivaju PHA (Wentzel i sur., 1986). Ovisno o tipu izvora ugljika i njegovom stupnju redukcije, mogu se javiti različiti oblici PHA kao što su poli- β -hidroksibutirat (PHB), poli- β -hidroksivalerat (PHV), poli- β -hidroksi-2-metilvalerat (PH2MV) i poli- β -hidroksi-2-metilbutirat (PH2MB). Ovakav specifičan metabolizam daje im kompetitivnu prednost ispred organizama koji nemaju sposobnost nakupljanja organske tvari u anaerobnoj fazi. Za nakupljanje masnih kiselina u obliku poli- β -hidroksialkanoata potrebna je energija i redukcijski potencijal za što se koriste dva unutarstanična polimera koji sudjeluju u metabolizmu PAO, a to su polifosfat i glikogen. Energija se najvećim dijelom dobiva cijepanjem veza u polifosfatima pri čemu nastaje ADP iz AMP-a. Zatim enzim fosfokinaza prevodi dvije molekule ADP-a u jednu molekulu AMP i jednu molekulu ATP. Kad se ATP potroši dolazi do ispuštanja ortofosfata iz stanice. Za dobivanje redukcijskog potencijala i dodatne energije predloženi su različiti metabolički putevi kao što je glikoliza intracelularnog glikogena (Smolders i sur., 1994) i Krebsov ciklus (Wentzel i sur., 1985.) te njihova kombinacija. Na taj način, anaerobna apsorbcija masnih kiselina od strane PAO dovodi do nakupljanja PHA i istovremeno hidrolize polifosfata i glikogena.



Slika 3. Shematski prikaz metabolizma PAO u uređaju za obradu otpadnih voda

Kasnije, u aerobnoj ili anoksičnoj fazi PAO koristi anaerobno pohranjen PHA kao izvor ugljika i energije za održavanje stanica, njihov rast te sintezu glikogena i polifosfata. Zbog takvog metabolizma, PAO u anaerobnim uvjetima ima prednost pred ostalim mikrobnim populacijama kao što su OHO koji u aerobnim uvjetima brže prigrabe organske tvari za rast od PAO. U aerobnim uvjetima fosfor je unesen iz otpadne vode u stanice PAO i sintetiziran u polifosfate koji se pohranjuje u granulama volutina. Shematski prikaz metabolizma PAO prikazan je na slici 3. Već je spomenuto da anaerobnom hidrolizom polifosfata dolazi do ispuštanja ortofosfata (PO_4) u tekući dio suspenzije što dovodi do povećanja koncentracije fosfora u anaerobnoj fazi. Kada PAO dođe u aerobnu fazu koristi pohranjeni PHA u anaerobnoj fazi kao izvor energije i ugljika pri čemu koristi kisik kao akceptor elektrona u staničnom disanju. Dobivena energija u ovom procesu koristi se za apsorpciju veće količine PO_4 od količine ispuštene u anaerobnoj fazi. PHA se koristi u aerobnoj fazi i za obnovu unutarstanične zalihe glikogena, rast biomase te zadovoljavanje energetske potrebe PAO za aerobni metabolizam (Smolders i sur., 1994). Zbog rasta biomase PAO te nakupljanja fosfora unutar stanica, aerobni unos fosfora u stanicu je veći od anaerobnog ispuštanja fosfora što dovodi do uklanjanja fosfora iz otpadne vode. Uklanjanje fosfora iz otpadne vode postiže se izdvajanjem aktivnog mulja na kraju aerobne faze kad mulj sadrži visoku koncentraciju fosfora, odnosno polifosfata (Comeau i sur., 1986).

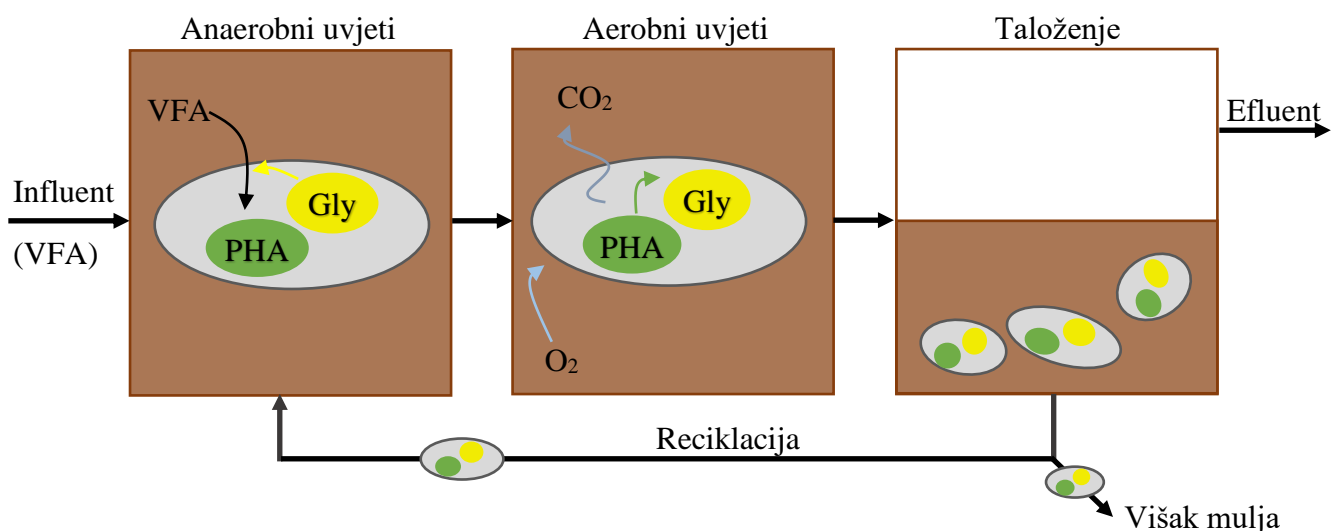
Metabolizam PAO dovodi do dva osnovna preduvjeta kako bi EBPR bio moguć. To su:

1. Zona s anaerobnim uvjetima nakon koje slijedi zona s aerobnim (anoksičnim) uvjetima
2. Postojanje VFA u anaerobnom reaktoru (VFA može biti u influentu ili ga se može proizvesti u nekom anaerobnom fermentoru (npr. pri anaerobnoj digestiji mulja))

Kao posebna vrsta PAO može se smatrati denitrificirajući fosfat akumulirajući organizmi ili DPAO (eng. Denitrifying Phosphate Accumulating Organisms). DPAO se razlikuje od običnih PAO po tome što, uz kisik, mogu koristiti i nitrate i nitrite kao elektron akceptore. Ta sposobnost im omogućuje da provode denitrifikaciju u anoksičnim uvjetima, odnosno omogućuje istovremeno uklanjanje i dušika i fosfora iz otpadne vode (Hu i sur., 2002). Iako imaju slabiju sposobnost uklanjanja fosfora iz otpadne vode, ekonomski su isplativi za provođenje EBPR zato što zahtijevaju manje aeracije i manje ugljika kao izvora energije (Lopez-Vazquez i sur., 2016).

1.2.2. Metabolizam GAO

PAO ima veliku kompetitivnu prednost ispred OHO kada mulj kruži kroz aerobnu i anaerobnu fazu. Međutim, GAO ili glikogen akumulirajući organizmi imaju sposobnost rasta i razmnožavanja u takvim uvjetima. Glikogen akumulirajući organizmi imaju prividno sličan metabolizam kao i PAO samo što polifosfati nisu uključeni u njihov metabolizam zbog čega ne doprinose uklanjanju fosfora (Mino i sur., 1998). GAO se oslanjaju isključivo na svoj unutarstanično pohranjen glikogen kao izvor energije i redukcijskog potencijala koji omogućuju nakupljanje masnih kiselina kao PHA bez ikakvog doprinosa polifosfata kao što je prikazano na slici 4. Njihova prisutnost povezuje se sa smanjenom učinkovitosti sustava EBPR zato što GAO ne pridonosi uklanjanju fosfora iz otpadne vode već se nadmeću s PAO za hranjivi supstrat u anaerobnim uvjetima.



Slika 4. Shematski prikaz metabolizma GAO u uređaju za obradu otpadnih voda

U anaerobnoj fazi, kao i PAO, GAO nakuplja masne kiseline i prevodi ih u PHA. Međutim, energiju potrebnu za taj proces, za razliku od PAO, dobivena je razgradnjom glikogena. Zbog toga GAO troši puno više glikogena od PAO. Za dobivanje redukcijskog potencijala najvećim dijelom služi glikoliza intracelularno pohranjenog glikogena, ali djelomično doprinosi Krebsov ciklus (Zeng i sur., 2003). Jedna od posljedica korištenja glikogena za dobivanje energije je i veća proizvodnja reducensa. U aerobnim uvjetima, GAO koristi pohranjeni PHA kao izvor ugljika i energije slično kao i PAO za održavanje, rast i sintezu glikogena. Međutim, razlika je u tome što nema sinteze intracelularnog polifosfata.

1.2.3. Kompeticija između mikroorganizama u aktivnom mulju

Učinkovitost EBPR ovisi o udjelu, odnosno nadmoćnosti PAO u aktivnom mulju. Mnoga istraživanja prikazuju uvjete koji PAO daju određenu kompetitivnu prednost ispred OHO i GAO i na taj način poboljšavaju učinkovitost EBPR.

Kompeticija između PAO i OHO

Zbog specifičnog metabolizma PAO, važno je da mulj bude izložen striktno anaerobnim uvjetima u otpadnoj vodi koja sadrži otopljene VFA nakon čega slijedi aerobna faza. U anaerobnim uvjetima OHO ne može koristiti VFA zato što nema vanjskog akceptora elektrona, kisika ili nitrata. S druge strane, PAO može unositi VFA i pohraniti ih u obliku PHA. Sustav EBPR ima puno manju učinkovitost, odnosno puno slabije uklanja fosfor ako se u anaerobnom reaktoru nalaze kisik ili nitrat koji omogućuju OHO da troše VFA u Krebsovom ciklusu s krajnjim akceptorom elektrona u obliku kisika (obična oksidacija organskih tvari) ili nitrata (oksidaciju uz denitrifikaciju) i tako se namnože umjesto PAO u mulju (Barnard, 1976).

Kompeticija između PAO i GAO

Uspješnost EBPR procesa ovisi o mnogo faktora među kojima je najbitnija mikrobiološka kompeticija između PAO i GAO. Oehmen i sur. (2007) pokazuju da su temperatura, pH i izvor ugljika najvažniji faktori koji utječu na kompeticiju između PAO i GAO. Osim toga, poznato je da na kompeticiju utječe još i SRT, odnosno vrijeme zadržavanja mulja u reaktoru. Važno je poznavati kako koji faktor utječe na kompeticiju kako bi se u postrojenjima za obradu vode moglo spriječiti rast GAO i na taj način poboljšati sam EBPR proces. GAO je sposoban uspješno se boriti za supstrat s PAO samo pri temperaturama višim od 20 °C. Na temperaturi od 20 °C, propionat i acetat favoriziraju rast biomase PAO neovisno o pH (Lopez-Vazquez i sur., 2009). U slučaju da je samo acetat ili propionat izvor ugljika, pH bi trebao biti iznad 7,5 kako bi bio preferiran rast PAO. Pijuan i sur. (2010) pokazali su da prisutnost slobodne nitritne (dušikaste) kiseline može negativno utjecati na metabolizam PAO što dovodi do smanjenja učinkovitosti EBPR. Osim toga, GAO je manje osjetljiv na slobodnu nitritnu kiselinu zbog čega veća koncentracija te kiseline povećava udio GAO u aktivnom mulju (Saito i sur., 2004). Važan faktor koji utječe na kompeticiju između PAO i GAO je i omjer organskog ugljika i fosfora u influentu.

1.2.4. Utjecaj kisika i nitrata na EBPR

Reciklacijom aktivnog mulja u anaerobni reaktor dovodi do moguće pojave nitrata i kisika u anaerobnom reaktoru što ima za posljedicu smanjenje efikasnosti EBPR (Kuba i sur., 1994). To je zato što kisik i/ili nitrat može poslužiti kao akceptor elektrona u metabolizmu OHO. Na taj način se dio KPK troši na rast i razmnožavanje biomase OHO. Osim toga dio OHO koji ima metabolizam sposoban za fermentaciju više nema potrebu provoditi konverziju fermentabilnog KPK u VFA, pa je samim time i manje VFA u otpadnoj vodi. To za posljedicu ima slabije uklanjanje fosfora. Zbog toga je bitno spriječiti reciklaciju kisika i nitrata u anaerobni reaktor. Jedan od načina kako se može smanjiti koncentracija kisika u anaerobnoj fazi je slabija aeracija pred kraj aerobne faze ili postavljanje dodatnog reaktora u kojem bi se kisik potrošio, a nitrati denitrificirali prije povratka u anaerobni reaktor (Ye i sur., 2010).

1.2.5. Utjecaj temperature na EBPR

Temperatura je važan faktor koji utječe na kompeticiju između PAO i GAO. U sustavima EBPR, smanjenjem temperature usporava se metabolizam PAO (ispuštanje i unos fosfora, unos VFA, rast biomase i dr.) kao i kod većine drugih mikroorganizama. Međutim, sustav EBPR može uspješno djelovati čak i pri niskim temperaturama (5 °C) ako se SRT dovoljno produži zbog usporavanja bioloških reakcija, a samim time i razmnožavanja stanica. U nekim istraživanjima niske temperature su poboljšale učinkovitost EBPR uslijed povećanja udjela PAO naspram GAO u aktivnom mulju. Panswad i sur. (2003) otkrili su da povećanjem temperature od 20 °C do 35 °C dolazi do povećanja ispuštanja fosfora u anaerobnoj fazi, ali i smanjenog unosa P u aerobnoj fazi, odnosno dolazi do povećanje frakcije GAO u aktivnom mulju i smanjenja frakcije PAO. Iz toga se može zaključiti da temperature niže od 20 °C pospešuju rast PAO, dok više temperature pogoduju rastu GAO. Međutim, stabilni EBPR sustavi mogu raditi i pri temperaturama višim od 25 °C. Na to veliku ulogu imaju sastav otpadne vode te radni i okolišni uvjeti. Prilagodba EBPR kultura na takve posebne uvjete može dovesti do razvoja i obogaćivanja aktivnog mulja s PAO kulturama koje mogu provoditi stabilno uklanjanje fosfora pri višim temperaturama.

1.2.6. Utjecaj pH na EBPR

Vrijednost pH utječe na aerobni i anerobni metabolizam PAO i GAO na različite načine. Smolders i sur. (1994) otkrili su da mulj obogaćen s PAO pri višim pH vrijednostima u anaerobnim uvjetima ispušta veće količine fosfora. Taj fenomen se može objasniti na sljedeći način: pod pretpostavkom da je unutarstanični pH konstantan, dolazi do povećanja pH gradijenta, a time i električnog potencijala uz membranu pri višem okolišnom pH. Zbog toga je potrebno više energije za transport VFA kroz membranu. Ta dodatna potrebna energija dobivena je povećanom hidrolizom polifosfata. Međutim, unos VFA, razgradnja glikogena te nakupljanje PHA konstantna je u pH rasponu od 6,5 do 8 (Liu i sur., 2007) što ukazuje da potreba za većim količinama energije ne utječe negativno na sposobnost metaboliziranja VFA. U aerobnim uvjetima unos fosfora, korištenje PHA i rast biomase nije moguć kod niskih pH vrijednosti (<6,5) što znači da bi više vrijednosti pH (7-7,5) bile pogodnije za PAO (Filipe i sur., 2001). S druge strane, zapaženo je da GAO u anaerobnim uvjetima unosi manje količine VFA što je pH viši, a osim toga koristi i veće količine glikogena. Dakle, više pH vrijednosti rezultiraju većom potrebom energije za unos VFA kod PAO i GAO, no to ima negativan učinak samo na unos VFA kod GAO. To se može objasniti time što PAO ima polifosfat koji služi kao dodatni izvor energije. Filipe i sur. (2001) otkrili su i da je pH od 7,25 u anaerobnim uvjetima kritična točka, odnosno kod pH nižeg od 7,25 GAO mogu brže unositi VFA od PAO, dok je kod pH višeg od 7,25 obrnuto. Očito je da pH ima velik utjecaj na kompeticiju između PAO i GAO te da povećanje pH može značajno poboljšati uklanjanje fosfora iz otpadnih voda u EBPR sustavima uslijed obogaćivanja mulja sa fosfat akumulirajućim organizmima.

1.2.7. Utjecaj kationa na EBPR

Važnu ulogu na stabilnost EBPR-a ima sastav i koncentracija kationa u influentu. Svaka otpuštena molekula ortofosfata (PO_4^{3-}) ima 3 negativna naboja i kao takva nije sposobna proći kroz membranu stanice. Kako bi se transport omogućio ortofosfat mora biti vezan s pozitivno nabijenim ionima kao što su magnezij (Mg^{2+}) i kalij (K^+). Jednom kad se ortofosfat veže s pozitivnim ionima i postane neutralan može biti transportiran kroz membranu. Istraživanja su pokazala da su magnezij i kalij ključni ioni za ovaj transport (Schönborn i sur. 2001).

1.2.8. Utjecaj supstrata na EBPR

Važan faktor na kompeticiju PAO i GAO je odnos organskog ugljika i fosfora u otpadnoj vodi koji se može prikazati kao KPK/P. Istraživanja pokazuju da visok omjer KPK/P (>50 mgKPK/mgP) u otpadnoj vodi preferira rast GAO u odnosu na PAO, dok s druge strane nizak omjer KPK i P (10-20 mgKPK/mgP) preferira rast PAO (Mino i sur., 1998). Bitno je napomenuti da neovisno o omjeru KPK i P u otpadnoj vodi mora biti dovoljno hlapivih masnih kiselina (VFA) kako bi se postiglo dobro uklanjanje fosfora. Sam izvor ugljika, bilo to da su masne kiseline ili neki drugi izvori ugljika, utječe na kompeticiju između PAO i GAO. Najvažniji je utjecaj masnih kiselina i to acetata i propionata kojih i ima najviše u otpadnoj vodi. Osim toga mogu biti prisutni i butirir, valerir i ostale VFA, ali u zanemarivim količinama. PAO u anaerobnoj fazi može jednakom učinkovitosti i sličnim kinetičkim parametrima koristiti HAc i HPr, dok GAO pri standardnim uvjetima (20 °C i 7 pH) može skladištiti HPr jednakom učinkovitosti kao i PAO, dok HAc skladišti u zanemarivim količinama. GAO može unositi HPr jednakom učinkovitosti kao i PAO, dok HAc unosi i prevodi u PHA 50% sporije od PAO (Guerrero i sur., 2011). Osim toga, ovisno o VFA u anaerobnim uvjetima nastaju različiti poli-β-hidroksialkanoati kao što je već spomenuto. To je važno zato što aerobni metabolizam PAO i GAO ovisi o vrstama i količinama PHA skladištenim u anaerobnim uvjetima. Hollender i sur. (2002) primjetili su da PAO može uspješno koristiti mješavinu acetata i propionata, dok GAO preferira samo jedan izvor VFA.

1.2.9. Utjecaj SRT-a na EBPR

SRT (eng. Sludge Retention Time) je prosječno vrijeme koje aktivni mulj provede u sustavu, a računa se kao omjer između ukupne mase mulja u uređaju i mase viška mulja koja se dnevno izvadi iz uređaja. Općenito uzevši, za dobro uklanjanje fosfora SRT bi trebao biti kratak (nekoliko dana) jer se fosfor uklanja izvlačenjem mulja bogatog fosforom iz uređaja, a pri nižoj vrijednosti SRT iz procesa se odvodi više mulja, a s njim i više fosfora. Viši SRT omogućava da neke stanice odumru u uređaju i otpuste nakupljeni fosfor u vodu čime se smanjuje učinkovitost uklanjanja fosfora. Dakle, niže vrijednosti SRT su bolje za EBPR, no, ne može se ići ispod neke granice SRT jer se mora omogućiti da se provedu sve kemijske reakcije i rast biomase u uređaju. Osim toga, ako se u uređaju provodi i biološko uklanjanje dušika, SRT

mora biti dovoljno velik da se omogući spororastućim nitrifikantima da narastu i održe se u mulju. Najčešće se zbog toga upotrebljava SRT od oko 10 dana, odnosno svakodnevno se izuzima 10% mulja (Song i sur., 2009).

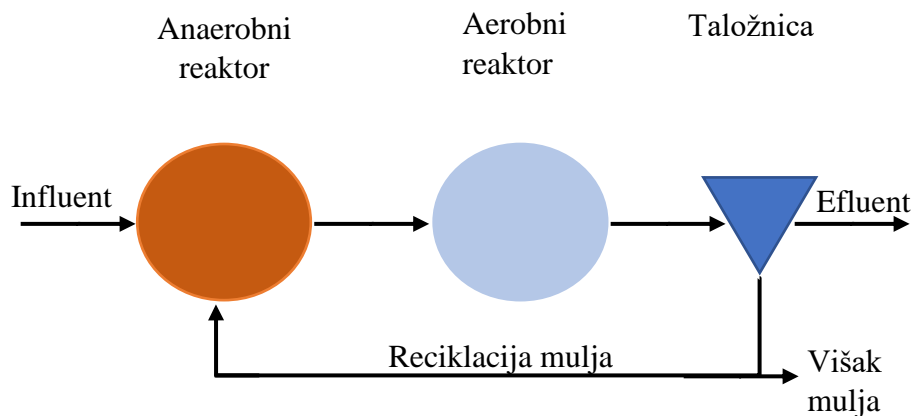
SRT je veličina koja može imati značajan utjecaj na kompeticiju između PAO i GAO. Kod viših vrijednosti SRT-a GAO se može uspješno boriti s PAO što dovodi do smanjenja uklanjanja fosfora u EBPR sustavima. S druge strane, kod nižih SRT vrijednosti otkriveno je da PAO ima povećani udio u aktivnom mulju, a samim time je i EBPR proces uspješniji (Rodrigo i sur., 1999).

1.2.10. Optimizacija i razvoj konfiguracija EBPR sustava

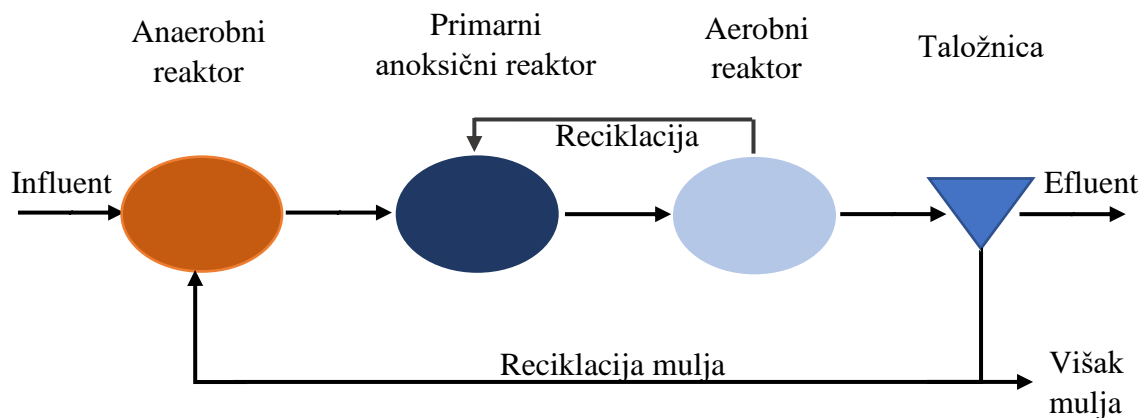
Poboljšano uklanjanje fosfora pomoću aktivnog mulja otkriveno je sredinom 20. stoljeća nakon čega je krenuo razvoj EPBR sustava. Tijekom godina sastavljene su mnoge konfiguracije koje pokazuju dobro uklanjanje fosfora iz otpadne vode. Neke od konfiguracija prikazane su na slici 6.

Principi optimizacije EBPR sustava i uklanjanja P iz otpadne vode mogu se podijeliti u 6 osnovnih kategorija (Wentzel i sur., 2008):

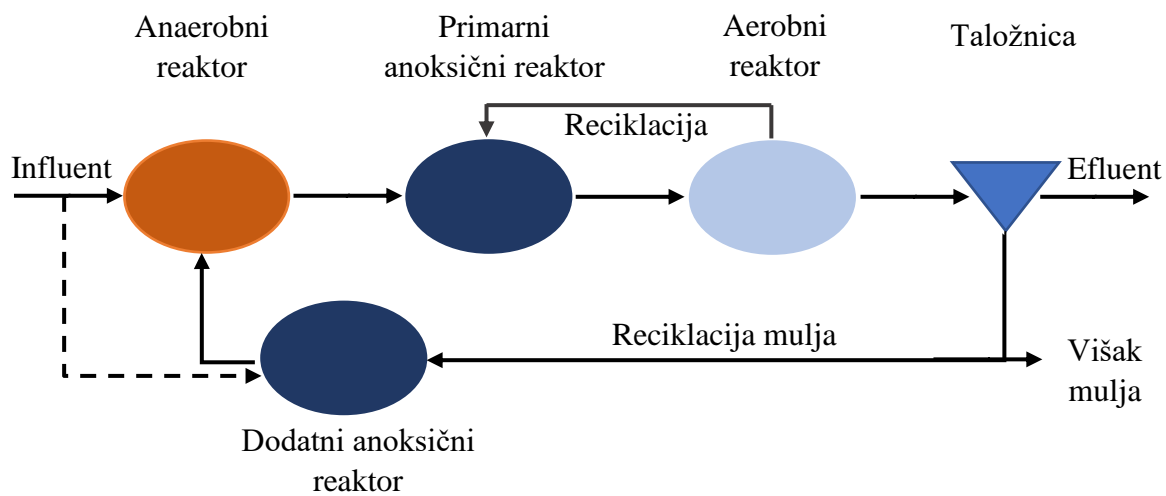
1. Prisutnost kisika u anaerobnom i anoksičnom reaktoru mora biti minimalizirana
2. Prisutnost nitrata i nitrita u anaerobnom reaktoru mora biti što manja kako bi se izbjegao proces denitrifikacije
3. U anaerobnom reaktoru PAO treba unijeti što više VFA u stanice
4. Iz efluenta treba uspješno ukloniti sav mulj koji sadrži čestice s fosforom
5. U efluentu treba biti što manje otopljenih spojeva s fosforom
6. Unos fosfora u stanice kako bi se povećala biomasa mora biti maksimalizirana što se može postići smanjenjem SRT-a



a) Phorodex



b) 3-stupanjski modificirani Bardenpho



c) Johannesburg (JHB)

Slika 5. Konfiguracije EBPR sustava (preuzeto od Wentzel i sur. (2008))

Phorodex sustav za uklanjanje fosfora specifičan je po tome što nema anoksičnog reaktora u kojem bi se odvijala denitrifikacija pa u takvom sustavu ne dolazi do uklanjanja dušika iz otpadne vode. Konfiguracija Phorodex sustava sastoji se samo od dva reaktora od kojih je prvi anaerobni reaktor u koji ulazi influent i reciklirani aktivni mulj nakon čega slijedi aerobni reaktor. U anaerobnom reaktoru događaju se dvije bitne stvari: (i) dolazi do konverzije fermentabilnog KPK do VFA pomoću heterotrofnih mikroorganizama i (ii) PAO unosi VFA i pohranjuje ga u obliku PHA kada OHO nije sposoban za to. Na taj način se PAO u aerobnim uvjetima ne mora boriti za supstrat s OHO. Cijelo postrojenje je dizajnirano i kontrolirano tako da se spriječi nitrifikacija, najčešće nametanjem kratkog SRT pri kojem se nitrifikanti ne mogu namnožiti u mulju. Cilj je da u aktivnom mulju prevladava biomasa PAO koja će u anaerobnim uvjetima unositi VFA i ispustiti nešto fosfora, dok će u aerobnim uvjetima unijeti sav fosfor prisutan u otpadnoj vodi i na taj način ukloniti fosfor iz otpadne vode. U Phorodex sustavu najčešće je u aktivnom mulju, uz biomasu PAO, prisutna i biomasa GAO.

S druge strane, modificirani Bardenpho i Johannesburg sustavi za poboljšano biološko uklanjanje fosfora iz otpadne vode osim spojeva s fosforom uklanjaju i spojeve s dušikom. 3-stupanjski Bardenpho sustav se sastoji redom od anaerobne, anoksične i aerobne zone. Takva konfiguracija omogućuje uklanjanje fosfora i djelomično uklanjanje dušika iz otpadne vode kao i KPK. Otpadna voda s visokom koncentracijom spojeva s ugljikom, spojeva s fosforom te amonijaka (s malo ili bez nitrata i nitrita) ulazi u anaerobni reaktor u kojem aktivni mulj ispušta fosfate pri čemu unosi VFA. Osim otpadne vode u anaerobni reaktor ulazi i reciklirani aktivni mulj pri čemu se uspostavlja stabilna koncentracija mikroorganizama u reaktoru. Nakon obrade u anaerobnom reaktoru sav sadržaj se pumpa u anoksični reaktor te se dodaje još i dio sadržaja iz aerobnog reaktora koji sadrži visoku koncentraciju nitrata. U anoksičnom reaktoru otpadna voda sadrži visoke koncentracije fosfora, amonija i nitrata te ostatak KPK koji se nije potrošio u anaerobnom reaktoru. Ukoliko je preniska koncentracija KPK u anoksičnom reaktoru, dio influenta se može direktno dodavati u toj fazi. U anoksičnoj zoni koncentracija otopljenog kisika je minimalna te se odvija denitrifikacija. Kao što je već spomenuto denitrifikacija je proces redukcije nitrata do plinovitog dušika. Zatim se sav sadržaj iz anoksičnog tanka prebacuje u aerobni tank u kojem vladaju potpuno aerobni uvjeti. Otpadna voda u ovoj zoni bogata je sa spojevima s fosforom te amonijakom, dok nitrata više nema. U aerobnoj zoni događaju se dvije osnovne promjene: uklanjanje fosfora pomoću PAO te nitrifikacija. Frakcija PAO u aktivnom mulju unosi fosfor u svoje stanice te ga pohranjuje u obliku polifosfata. Na taj način se dobiva mulj bogat na fosforu koji se djelomično uklanja iz procesa na kraju aerobne zone. Osim toga,

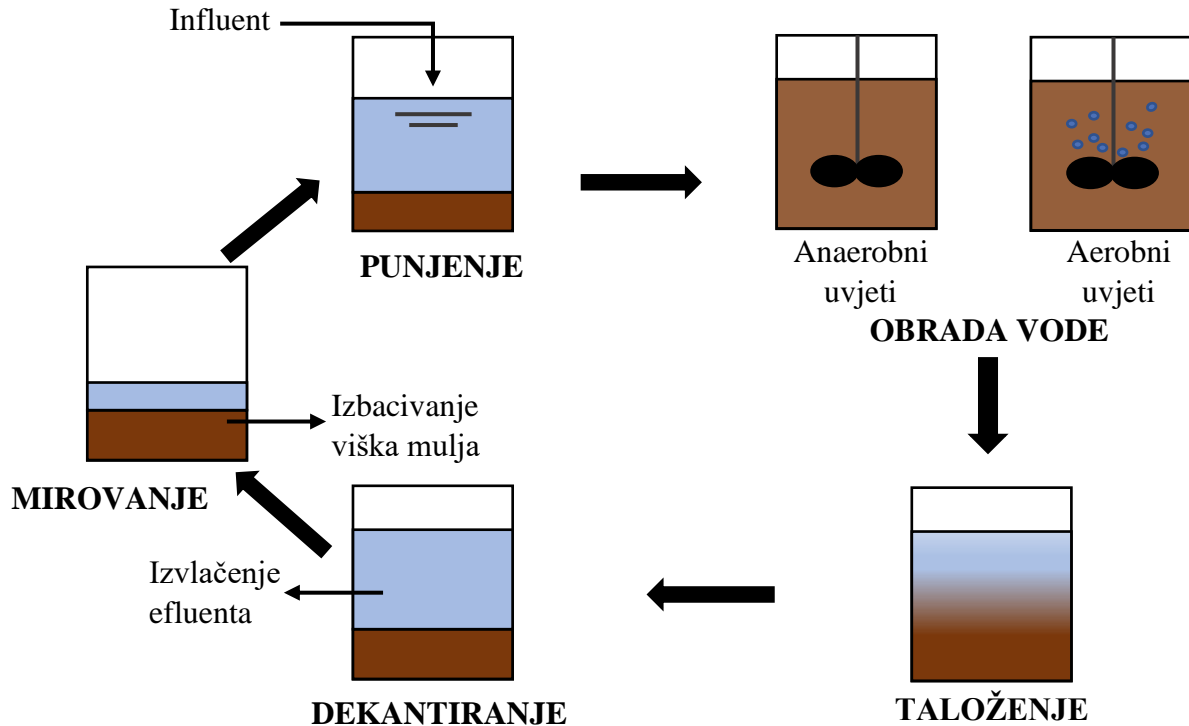
odvija se i nitrifikacija, odnosno oksidacija amonijaka do nitrata kao što je već objašnjeno. Problem kod 3-stupanjskog modificiranog Bardenpho sustava je to što se reciklacijom mulja u anaerobni reaktor mogu promijeniti anaerobni uvjeti u samom reaktoru, odnosno može se povećati koncentracija otopljenog kisika i koncentracija nitrata. Taj problem je djelomično riješen u Johannesburg sustavu u koji je dodan još jedan anoksični reaktor kao što je prikazano na slici 5 c). U dodatni anoksični reaktor ulazi reciklirani mulj koji sadrži nitrata i moguću nisku koncentraciju otopljenog kisika te dio sirovog efluenta. U takvim uvjetima se događa denitrifikacija u kojem je sav nitrat preveden u plinoviti dušik dok je kisik potrošen kao akceptor elektrona u metabolizmu OHO. Obradena suspenzija iz anoksičnog reaktora ulazi u anaerobni reaktor te se dalje obrada odvija po principu Bardenpho sustava.

1.3. SBR uređaj

Obrada otpadne vode u SBR uređaju razlikuje se od ostalih klasičnih postrojenja po tome što su svi koraci obrade odvijaju u jednom reaktoru. Kod klasičnog postrojenja za uklanjanje organskih tvari potreban je aeracijski bazen za biološko pročišćavanje i sekundarna taložnica za taloženje aktivnog mulja, dok se kod SBR tehnologije oba procesa odvijaju u istom reaktoru. SBR se određeno vrijeme koristi kao bioaeracijski bazen, a nakon obrade vode kao sekundarna taložnica. Tijekom obrade vode moguće je reguliranjem aeracije izmjenjivati aerobnu i anaerobnu, odnosno anoksičnu fazu čime se mogu postići uvjeti za odvijanje nitrifikacije i denitrifikacije te za biološko uklanjanje fosfora. To se postiže korištenjem programa kojim se programira odgovarajući vremenski i funkcionalni slijed koji se naziva SBR-ciklus. Na taj se način može izvršiti fina regulacija procesa pročišćavanja u cilju postizanja bolje kvalitete pročišćene otpadne vode. Uređaj za biološko pročišćavanje SBR djeluje šaržno, što se pokazalo posebno efikasnim kod manjih jedinica. Budući da dotok otpadne vode nikad ne prestaje kod svih SBR uređaja u praksi mora postojati više reaktora tako da kad se jedan puni otpadnom vodom u drugom se može odvijati obrada vode (Poltak, 2005).

SBR tehnologija za obradu otpadne vode ima svoje prednosti pred konvencionalnom biološkom obradom otpadne vode. Kao što je već spomenuto cijeli proces se odvija u jednom reaktoru što dovodi do značajno manje potrebe za prostorom s obzirom na klasična postrojenja. Osim toga, stara postrojenja za obradu vode mogu se lako prilagoditi u SBR tehnologiju te se

primjenom mehaničke opreme i programa može postići automatizacija što dovodi do manje potrebe za ručnim radom, a time i do manje mogućnosti ljudske pogreške.



Slika 6. Osnovne faze u SBR-u koji provodi EBPR

Korištenje SBR uređaja temelji se na 5 osnovna koraka kao što je prikazano na slici 6 i detaljnije objašnjeno u nastavku:

- **Punjenje**

Tijekom ove faze u reaktor se dodaje influent, odnosno otpadna voda. Influent sadrži hranu za mikroorganizme u aktivnom mulju pri čemu nastaje okolina pogodna za odvijanje biokemijskih reakcija. Tijekom ove faze može biti uključeno miješalo i provoditi se aeracija ovisno o željenim efektima.

Kod provođenja EBPR u SBR uređaju tijekom punjenja obavezno je isključena aeracija zato što je za provođenje metabolizma PAO prvo potrebna anaerobna faza, odnosno uvjeti bez otopljenog kisika. Tijekom punjenja može biti uključeno miješalo što dovodi do početka obrade već u ovoj fazi.

- **Obrada**

U ovoj fazi se odvija obrada otpadne vode pomoću mikroorganizama u aktivnom mulju. Tijekom ove faze više nema dodavanja influenta, a mješalo je uključeno kao i aeracija prema potrebi.

Kruženjem između anaerobne i aerobne faze može se postići uklanjanje dušika i fosfora iz otpadne vode. Kako bi se provodio EBPR u SBR uređaju potrebno je tijekom obrade prvo postići anaerobne uvjete kako bi PAO iskoristio VFA iz otpadne vode i preveo ih u PHA. Nakon potrošnje VFA iz otpadne vode, može se uključiti aeracija u SBR uređaju. PAO zatim u aerobnim uvjetima uklanja fosfor iz otpadne vode kao što je već opisano ranije.

- **Taloženje**

U ovoj fazi se taloži aktivni mulj u mirnim uvjetima bez miješanja i aeracije. Aktivni mulj se slegne na dno u obliku flokula, a iznad ostaje supernatant, odnosno obrađena voda. U ovom koraku je bitno da se mulj dobro istaloži kako ne bi bio izvučen iz reaktora zajedno s efluentom i na taj način pokvario kvalitetu obrađene vode.

- **Dekantiranje**

Nakon što završi proces taloženja slijedi dekantiranje, odnosno izbacivanje efluenta. Cilj dekantiranja je što bolje odvojiti pročišćenu vodu od aktivnog mulja. Pročišćena voda izbacuje se iz SBR-a pomoću pumpe ili preljevne cijevi (cijev koja se uranja u sloj čiste vode te se gravitacijski odvodi iz postrojenja).

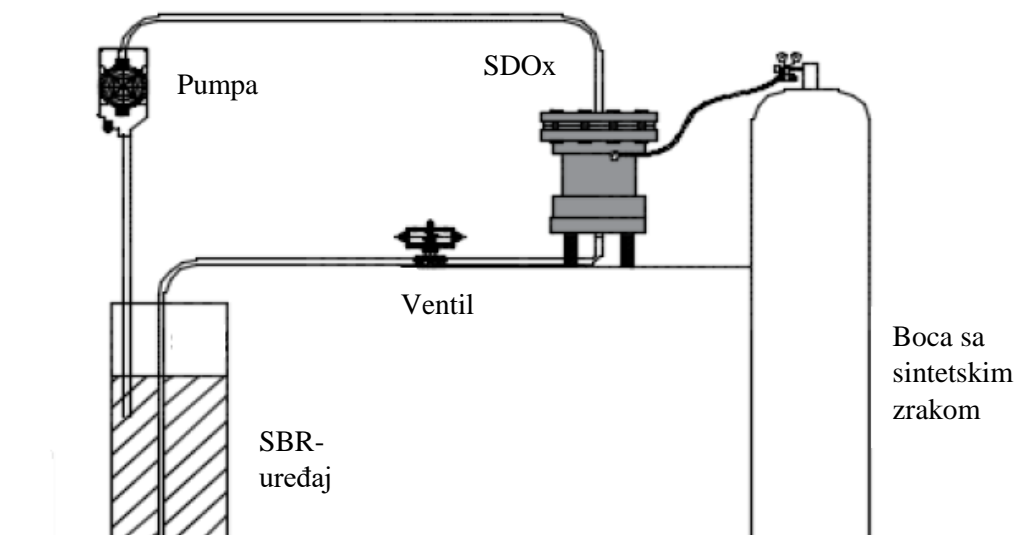
- **Mirovanje**

Vrijeme mirovanja predviđeno je za uklanjanje viška mulja kako bi se u reaktoru održao određeni SRT, odnosno starost mulja. Kao što je već spomenuto SRT je prosječno vrijeme koje aktivni mulj provede u sustavu, a računa se kao omjer između ukupne mase mulja u uređaju i mase viška mulja koja se dnevno izvadi iz uređaja. Starost mulja je važan parametar tijekom biološke obrade otpadne vode jer o njemu ovisi sastav aktivnog mulja. Nakon mirovanja se SBR ponovno puni s otpadnom vodom.

1.4. SDOx sustav

SDOx (eng. Supersaturated Dissolved Oxygen) je nova tehnologija razvijena od američke kompanije BlueInGreen. Temelji se na principu da se dio otpadne vode iz bioreaktora odvođi te se obogaćuje kisikom nakon čega se „injektira“ pod visokim tlakom natrag u bioreaktor što dovodi do efikasnog miješanja i povećane koncentracije otopljenog kisika (Libran-Vazquez, 2015).

U procesu, kisik ili zrak se uvodi u tlačenu komoru nakon čega se tekućina (suspenzija aktivnog mulja) raspršuje kroz tlačeni plin gdje voda trenutno postaje „super“ zasićena s otopljenim kisikom koji se u optimalnim uvjetima može otopiti u koncentraciji do 350 mg/L što ovisi o upotrebljenom tlaku. Takva zasićena voda s kisikom se pod visokim tlakom vraća u reaktor. Na povećanje koncentracije otopljenog kisika moguće je utjecati povećanjem tlaka u reaktor. Na povećanje koncentracije otopljenog kisika moguće je utjecati povećanjem tlaka u samom SDOx uređaju ili korištenjem čistog kisika umjesto zraka kao plina koji se koristi. Zbog toga se može koristiti manji protok kao recirkulacijski tok kroz SDOx uređaj (BlueInGreen, 2017).



Slika 7. Shema korištenja SDOx-a u obradi otpadne vode u SBR-uređaju

Na slici 7 prikazana je pojednostavljena shema korištenja SDOx uređaja u obradi otpadne vode u SBR uređaju. Pomoću pumpe se izvlači dio otpadne vode s muljem iz SBR uređaja te se odvodi u SDOx gdje se obogaćuje kisikom. Kao plin za tlačenje se može koristiti zrak ili čisti kisik. Korištenje čistog kisika je skupo pa se zato najčešće koristi zrak iako se postižu niže vrijednosti otopljenog kisika. Ispuštanje suspenzije mulja natrag u bioreaktor je regulirano pomoću ventila čijim se otvaranjem aerirani mulj pod visokim tlakom ispušta u SBR.

Neke od prednosti SDOx uređaja su sljedeće (BlueInGreen, 2017):

1. Visoka efikasnost otapanja kisika što snižava operativne troškove
2. Koristi do 40% manje kisika od tipične aeracije pomoću difuzora
3. Velika mogućnost primjene tijekom duljeg vremenskog razdoblja u biološkoj obradi otpadne vode
4. Nema otplinjavanja kisika koji ostaje dostupan mikroorganizmima

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Znanstvene, mikrobiološke i tehničke karakteristike procesa EBPR u fokusu su istraživanja u zadnjih nekoliko desetljeća. Konkretno, naponi su usmjereni na razvijanje boljeg razumijevanja stvarnih metaboličkih mehanizama EBPR kako bi se utvrdio mikrobnii identitet uključenih organizama i optimizirale konfiguracije procesa, a sve kako bi se unaprijedila i povećala učinkovitost te pouzdanost procesa EBPR (Lopez-Vazquez i sur., 2009). Također, da bi se omogućilo što brže i potpunije otapanje kisika u suspenziji aktivnog mulja, uvode se i istražuju novi procesi koji troše manje energije. Proces SDOx koji u aktivnom mulju pod tlakom otapa kisik je novi proces koji je nazvala tvrtka BlueInGreen. SDOx ima potencijal za upotrebu pri aeraciji aktivnog mulja, ali je još nedovoljno poznato kakav utjecaj ima na aktivnost i karakteristike mulja. Glavno pitanje na koje pokušava dati ovaj rad je kako utječe visok tlak na aktivni mulj s PAO.

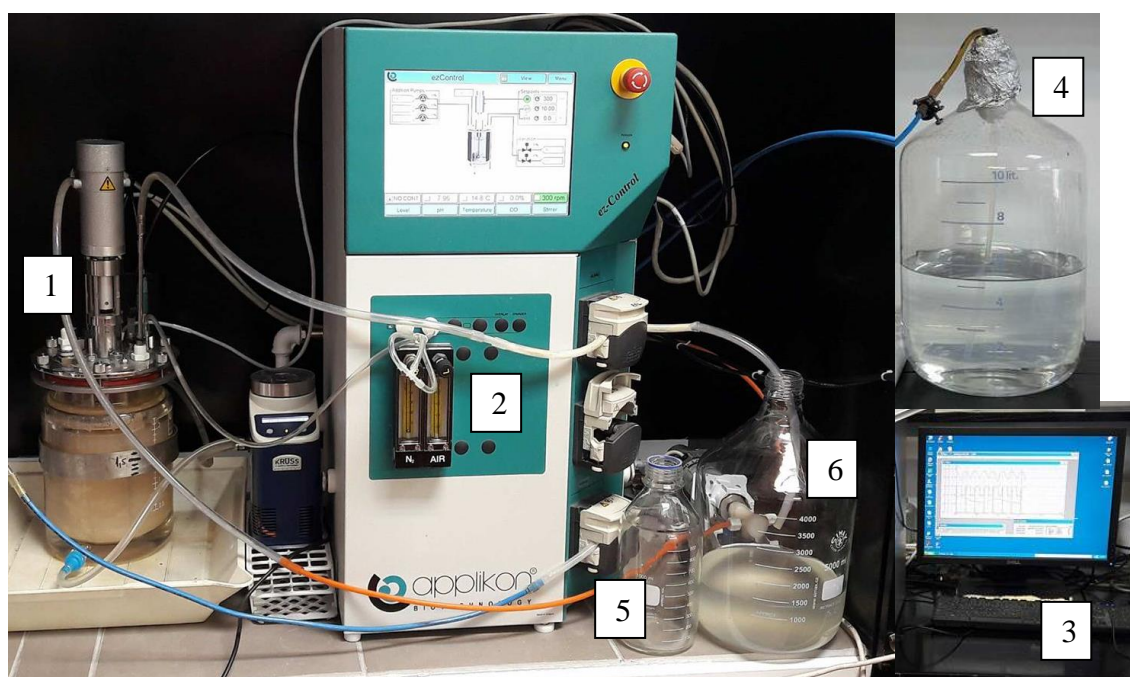
Dakle, opći cilj eksperimenta bio je provjera utjecaja visokog tlaka tijekom aerobne faze na biomasu PAO i na aktivni mulj kako bi se provjerilo ima li proces SDOx potencijalnu primjenu u aeraciji aktivnog mulja pri obradi otpadnih voda.

Specifični ciljevi eksperimenta bili su provjera utjecaja visokog tlaka sustava SDOx na uklanjanje fosfora iz sintetičke otpadne vode, taloživost mulja i uklanjanje organskih tvari da se utvrdi specifičan utjecaj na različite vrste mikroorganizama i karakteristike aktivnog mulja.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzgoj PAO u laboratorijskom SBR uređaju

Pokus je proveden u SBR uređaju tvrtke Applikon koji je prikazan na slici 8. U reaktoru (1) proveden je uzgoj PAO. Reaktor je imao dvostruki plašt kroz koji je konstantno ulazila hladna vodovodna voda s ciljem održavanja optimalne temperature za uzgoj PAO. Kontrolno-upravljačka jedinica (2) je služila za vođenje procesa obrade i radi praćenja parametara kao što su pH, temperatura, broj okretaja mješala i koncentracija otopljenog kisika. Navedene parametre bilo je potrebno pratiti radi neprestanog uvida o stanju u reaktoru jer su se svakih nekoliko sati izmjenjivale faze rada kao što je prikazano u tablici 2. Računalni program za kontrolu i vođenje procesa bio je instaliran na računalu (3) na kojem su se pohranjivale povratne informacije o stanju u reaktoru. Sintetska otpadna voda, odnosno influent je bio čuvan u boci (4) te je pomoću peristaltičke pumpe uvođen u reaktor. Suspenzija aktivnog mulja je izuzimana iz reaktora nakon aerobne faze te je skupljana u boci (5) nakon čega je služila za analizu mulja. Nakon taloženja pomoću usisne cijevi izvlačena je obrađena otpadna vode, odnosno efluent koji je skupljan u zasebnoj boci (6) te je korišten za analize.



Slika 8. Laboratorijski SBR uređaj

Korisni volumen bioreaktora iznosio je 2 L, a sintetička otpadna voda koja se obrađivala pripremljena je da joj sastav bude kao što je prikazan u tablici 3. Sintetička otpadna voda se pripremala u zasebnoj boci u kojoj se sterilizirala u autoklavu kako se ne bi promijenio sastav uslijed rasta različitih mikroorganizama prije upotrebe. Protok sintetičke vode iznosio je 1 L na dan, a kako bi se održao konstantni volumen u reaktoru korištena je usisna cijev koja je bila namještena na 2 L. Aktivni mulj koji je korišten dopremljen je s Postojenja za prečišćavanje otpadne vode grada Sarajeva jer se smatra da su na tom uređaju uvjeti takvi da bi aktivni mulj trebao sadržavati PAO.



Slika 9. Postrojenje za prečišćavanje otpadne vode grada Sarajeva

Procesi u reaktoru bili su pod kontrolom zadanog računalnog programa koji je povezan s Applikonom. S ciljem što bolje kontrole procesa obrade sintetičke otpadne vode u reaktoru su ugrađene kisikova i pH elektroda te je ugrađen senzor za mjerenje temperature. Elektrode i senzor su bile spojene na računalni sustav preko kontrolno-upravljačke jedinice koja je na temelju izmjerenih vrijednosti otopljenog kisika regulirala aeraciju. Za aeraciju prvih 56 dana pokusa se koristio zrak koji se upuhivao na dnu bioreaktora ispod mješala pomoću kompresora, dok se nakon toga pa do kraja pokusa koristio SDOx uređaj.

Tablica 2. Trajanje svih faza u ciklusu obrade sintetičke otpadne vode

FAZE OBRADJE	TRAJANJE
1. Punjenje SBR uređaja sintetičkom otpadnom vodom	120 min
2. Anaerobna faza obrade	570 min
3. Aerobna faza obrade	600 min
4. Izuzimanje mulja	30 min
5. Taloženje	90 min
6. Izuzimanje efluenta	30 min
<u>UKUPNO</u>	1440 min (24 sata)

U reaktoru se dnevno provodio jedan ciklus koji je trajao 24 sata. Svaki ciklus se sastojao od 6 faza koje su prikazane u tablici 2. Zavisno u kojoj fazi se ciklus nalazio, kontrolno-upravljačka jedinica je regulirala broj okretaja mješala. Tijekom aerobne faze miješanje je bilo postavljeno na 300 okretaja u minuti kako bi aeracija bila što uspješnija, dok je tijekom anaerobne faze broj okretaja mješala iznosio 100 okretaja u minuti. Miješanje je bilo provedeno upotrebom dvostrukog lopatastog mješala. Kasnije, kada se aeracija provodila u SDOx uređaju tijekom aerobne faze, mješalo je bilo isključeno. Razlog tome je što se suspenzija mulja vraćala u bioreaktor pod visokim tlakom što je provodilo miješanje. Naravno, ni tijekom taloženja i izuzimanja efluenta se nije odvijalo miješanje. Obradena voda, odnosno efluent je izuziman iz reaktora nakon faze taloženja mulja pomoću peristaltičke pumpe. Dnevno se izuzimalo 800 mL efluenta koji se koristio za različite analize. Također, dnevno je izuzimano i 200 mL miješane suspenzije mulja kako bi se uspješno održavala stalna starost mulja koja je iznosila 10 dana. Važno je napomenuti da se SRT počeo održavati tek 35. dan pokusa kako bi se mulj do tog dana prilagodio na novonastale uvjete kakvi su vladali u laboratoriju.

Za provođenje EBPR-a koristi se SRT od oko 10 dana, odnosno svaki dan se iz bioreaktora izuzima 10% suspenzije mulja. Uklanjanjem aktivnog mulja iz SBR uređaja uklanja se i fosfor zato što mulj sadrži biomasu PAO s pohranjenim intracelularnim polifosfatima. U principu, za dobro uklanjanje fosfora SRT bi trebao iznositi nekoliko dana jer se na taj način iz reaktora izbacuje više mulja, a time i više fosfora. Osim toga, viši SRT može omogućiti odumiranje stanica PAO te otpuštanja fosfora iz stanica natrag u obrađenu vodu. Međutim, kod

pre niskih vrijednosti SRT-a može doći do prestanka rasta biomase u uređaju zbog nedovoljno vremena da se provede metabolizam PAO (Bond i sur., 1995).

Tablica 3. Sastav sintetičke otpadne vode

Komponente	Koncentracija spoja u sintetičkoj vodi γ [mgL ⁻¹]		
	0-26	27-34	35-66
CH ₃ COONa	650	1300	
NaHCO ₃	30		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	80		
CaCl ₂	20		
NH ₄ Cl	76,41	152,83	
KH ₂ PO ₄	131,81		
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,6		
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,048		
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,024		
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,012		
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,048		
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,06		
H ₃ BO ₃	0,06		
KI	0,072		
EDTA	4		

U staklenoj boci od 10 L pripremana je otopina koja je služila kao sintetička otpadna voda. Sastav influenta je naveden u tablici 3, a njene karakteristike u tablici 4. Sastav i koncentracije određenih sastojaka sintetičke otpadne vode odabrane su pomoću usporedbe komponenata i priprema sintetičke otpadne vode prema Oehmen i sur., (2006). Radi lakše pripreme, unaprijed je pripremljeno po jedna litra šest koncentriranih mineralnih otopina koje su potom u određenom volumenu dodavane u bocu za pripremu influenta koja je prethodno napunjena s oko 8 L destilirane vode. Ukupno je napravljeno po 9 L influenta koji se koristio

tijekom 9 dana. Zadnji sastojak kod pripreme influenta bio je natrijev acetat (bezvodni, Fisher Bioreagents, Fisher Scientific International Inc., New Jersey, SAD) koji je dodavan u obliku krutine izravno u bocu s prethodno dodanim mineralnim otopinama i destiliranom vodom. Influent je prije upotrebe autoklaviran.

Važno je spomenuti kako se tijekom provođenja biološke obrade pripremljenog influenta, svaki dan od 35. dana pokusa direktno u reaktor dodavalo 2 mL N-alil tiouree (98% ATU; Acros organics, Fisher Scientific International Inc., Pittsburgh, SAD) koji je poznat inhibitor rasta i aktivnosti nitrificirajućih bakterija.

Tablica 4. Karakteristike sintetičke otpadne vode

Karakteristike	Vrijednosti			Mjerna jedinica
	0-26	27-34	35-66	
Dan pokusa	0-26	27-34	35-66	
pH	6,32			-
KPK	532,98	963,6		mgO ₂ L ⁻¹
PO ₄ -P	32,07			mgP L ⁻¹
NH ₄ -N	21,82		40,15	mgN L ⁻¹

Sadržaj šest koncentriranih mineralnih otopina:

Otopina 1 - Elementi u tragovima:

FeSO₄x7H₂O ili FeCl₃x2H₂O (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

NiSO₄x7H₂O p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

ZnSO₄x7H₂O p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

Na₂MoO₄ p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

CuSO₄ p.a. (Merck – Alkaloid, Skopje, Makedonija)

MnCl₂x4H₂O p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

CoCl₂x6H₂O (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

H₃BO₃ p.a. (Gram – mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)

KI (Gram – mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)

EDTA (Acros organics, Fisher Scientific International Inc., New Jersey, SAD)

Otopina 2: FeSO₄x7H₂O p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

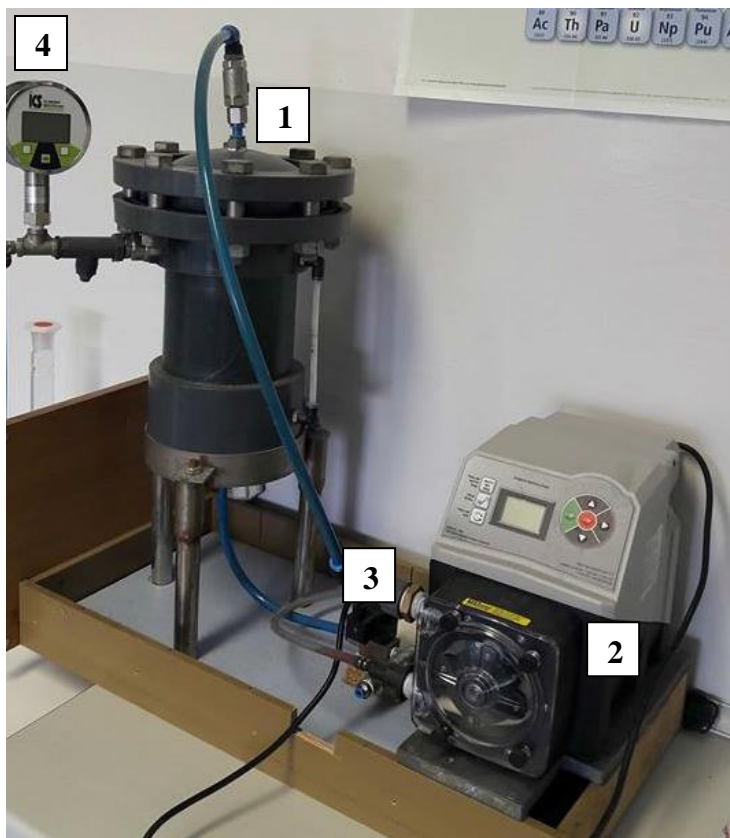
- Otopina 3: NH_4Cl p.a. (Gram – mol d.o.o., Črnovečka 4, Zagreb, Hrvatska)
- Otopina 4: NaHCO_3 p.a. (Lach-Ner, Tovarni 157 ·277 11 Neratovice, Češka)
- Otopina 5: CaCl_2 p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Otopina 6: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ p.a. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

3.2. Aeracija u SDOx uređaju

SDOx uređaj koji je korišten prikazan je na slici 10. SDOx (1) sastoji se od tlačene posude od 2 L koja se konstantno punila s muljem pomoću peristaltičke pumpe (2). Pumpa je konstantno pumpala suspenziju mulja u komoru gdje se mulj tlačio pomoću sintetskog zraka. Na ulazu u SDOx nalazio se nepovratni ventil koji je onemogućavao povrat suspenzije mulja. Tijekom tlačenja dolazilo je do otapanja visokih koncentracija kisika, a tlak kojim se djelovalo na suspenziju mulja iznosio je 7 bara. Za tlačenje se koristio komprimirani sintetski zrak. Izlazni ventil koji se koristio je bio elektromagnetski ventil i na slici 10 je označen brojem 3. Takav ventil se otvarao svakih 15 sekundi pri čemu se mulj pod visokim tlakom vraćao u SBR. Protok peristaltičke pumpe i otvaranje elektromagnetskog ventila bilo je usklađeno tako da je u komori tijekom aerobne faze konstantno bilo 0,5 L suspenzije mulja. Komprimirani sintetski zrak je ulazio u SDOx te se je na manometru (4) mogao očitati tlak u samoj tlačenoj komori.

SDOx se počeo koristiti 56. dana pokusa u aerobnoj fazi nakon što se u aktivnom mulju namnožila i ustalila određena masa PAO.

Pribor: SDOx
Peristaltička pumpa Flex Pro A2, tvrtka Blue-White Industries Ltd.
Elektromagnetski ventil, tvrtka Festo
Manometar, tvrtka Schneider Messtechnik
Sintetski zrak, tvrtka Messer



Slika 10. SDOx uređaj s manometrom i pumpom

3.3. Određivanje koncentracije otopljenog kisika

Koncentracija otopljenog kisika određivana je pomoću elektrode tipa AppliSens DO koju proizvodi tvrtka Applikon. Elektroda je spojena na kontrolno-upravljačku jedinicu laboratorijskog SBR uređaja te je uronjena u reaktor. Koncentracija otopljenog kisika je konstantno mjerena te su praćene promjene koje su se dešavale. Elektroda je prije korištenja kalibrirana na način da je otopina kroz koju se propuhao dušik predstavljala 0% zasićenja kisikom, dok se za 100% zasićenja kisikom koristila otopina kroz koju je propuhan zrak.

Pribor: AppliSens DO elektroda, Applikon



Slika 11. AppliSens DO elektroda

3.4. Određivanje pH vrijednosti

Za određivanje pH vrijednosti vode u reaktoru korištena je staklena elektroda tipa AppliSens pH+ koja je bila spojena na kontrolno-upravljačku jedinicu SBR uređaja. Elektroda je bila uronjena u reaktor te je konstantno praćena pH vrijednost. Prije upotrebe, elektroda je kalibrirana uranjanjem u pufer otopinu pH 7.

Pribor: AppliSens pH+ elektroda, Applikon

Kemikalije: Pufer otopina CertiPUR, Buffer solution pH 7, Merck



Slika 12. AppliSens pH+ elektroda

3.5. Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK)

Kemijska potrošnja kisika određivana je pomoću kisvetnih testova LCK 514 i LCK 314 tvrtke Hach Lange. U kivetu je varijabilnom ručnom pipetom tvrtke Eppendorf s nastavcima dodavano 2 mL uzorka te je dobro zatvorena čepom i promiješana. Provedena je digestija u digestoru tvrtke Hach Lange kroz 15 minuta pri temperaturi od 175 °C. Nakon završetka digestije, kiveta je dobro promiješana i ostavljena da se ohladi na sobnu temperaturu i zatim je određena KPK vrijednost pomoću spektrofotometra HACH Lange DR900.

Pribor: kivetni testovi LCK 314 (15 – 150 mgO₂ L⁻¹) i LCK 514 (100 – 2000 mgO₂ L⁻¹) za mjerenje KPK, tvrtka Hach Lange

Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima

Digestor, tvrtka Hach Lange

Spektrofotometar HACH Lange DR900

3.6. Određivanje koncentracije ukupnog fosfora

Fosfatni ioni uzorka određuju se kivetnim testom LCK 350. Fosfatni ioni reagiraju s molibdatom i antimonijskim ionima u kiseljoj otopini kako bi se formirao kompleks antimon fosfomolibdat koji se zatim reducira askorbinskom kiselinom do fosfomolibdena plave boje.

0,4 mL razrijeđenog uzorka otpipetirano je u kivetu, LCK 350 tvrtke Hach Lange, varijabilnom ručnom pipetom tvrtke Eppendorf s nastavcima i zatvoreno s DosiCap Zip čepom i dobro promiješano. Zatim se provodila digestija kroz 15 minura u digestoru tvrtke Hach Lange na temperaturi od 175 °C. Nakon digestije, kiveta je ostavljena da se ohladi i zatim je dodano 0,5 mL reagensa B i zatvorena je DosiCap čepom te je nakon miješanja ostavljena da miruje 10 minuta. Nakon toga, određena je koncentracija ukupnog fosfora pomoću spektrofotometra HACH Lange DR900.

Pribor: Kivetni test LCK 350 (2.0 -20.0 mgP L⁻¹) za mjerenje koncentracije ukupnog fosfora i otopljenog fosfora, tvrtka Hach Lange
Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima
Digestor, tvrtka Hach Lange
Spektrofotometar HACH Lange DR900

3.7. Određivanje koncentracije otopljenog fosfora

Kao i ukupni fosfor, otopljeni fosfor se određuje pomoću kivetnog testa LCK 350 tvrtke Hach Lange. Varijabilnom ručnom pipetom (tvrtka Eppendorf) s nastavcima otpipetirano je 0,4 mL razrijeđenog uzorka u kivetu, a potom je dodano 0,5 mL reagensa B i zatvorena je DosiCap čepom te je nakon miješanja ostavljena da miruje 10 minuta. Nakon toga, koncentracija otopljenog fosfora određena je pomoću spektrofotometra HACH Lange DR900.

Pribor: Kivetni test LCK 350 (2.0 -20.0 mgP L⁻¹) za mjerenje koncentracije ukupnog fosfora i otopljenog fosfora, tvrtka Hach Lange
Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima
Spektrofotometar HACH Lange DR900

3.8. Određivanje koncentracije ukupnog dušika

Koncentracija ukupnog dušika određivana je pomoću kivetnog testa LCK 238 LATON tvrtke Hach Lange. Tijekom određivanja provodi se proces digestije i prevođenje organskog i anorganskog dušika do nitrata pomoću preoksidisulfata kao oksidansa. Nitratni ioni reagiraju s 2,6-dimetilfenolom u otopini sumporne i fosfatne kiseline te nastaju nitrofenoli koji daju crveno obojenje.

U reakcijsku kivetu dodano je varijabilnom ručnom pipetom (tvrtka Eppendorf) s nastavcima 0,5 mL uzorka, 2 mL reagensa A (natrijev hidroksid) i jedna tableta B (dinatrijev peroksidisulfat, dinatrijev tetraborat). Nakon toga se provodila digestija u kiveti kroz 15 minura pri temperaturi od 175 °C u digestoru tvrtke Hach Lange. Zatim je kiveta ostavljena da se ohladi na sobnu temperaturu te je u nju dodan MicroCap C čep s natrijevim azidom. Iz reakcijske kivete je izuzeto 0,5 mL digestiranog uzorka i otpipetirano u kivetu (60% sumporna kiselina i 33% fosfatna kiselina) zajedno s reagensom D (2-propanol). Nakon 15 minura mirovanja određena je koncentracija ukupnog dušika na spektrofotometru HACH Lange DR900.

Pribor: Kivetni test LCK 238 LATON (5-40 mgN L⁻¹) za mjerenje koncentracije ukupnog dušika, tvrtka Hach Lange
Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima
Digestor, tvrtka Hach Lange
Spektrofotometar HACH Lange DR900

3.9. Određivanje koncentracije nitrata

U uzorku su određivani nitratni ioni pomoću kivetnog testa LCK 339 tvrtke Hach Lange. Nitratni ioni u otopini sumporne i fosfatne kiseline reagiraju s 2,6-dimetilfenolom i tvore 4-nitro-2,6-dimetilfenol koji daje crveno obojenje.

Varijabilnom ručnom pipetom (tvrtka Eppendorf) s nastavcima uzeto je 1 mL uzorka i zajedno s 0,2 mL reagensa A (2-propanol) otpipetirano u kivetu. Koncentracija nitrata određena je pomoću spektrofotometra HACH Lange DR9000 nakon 15 minuta mirovanja.

Pribor: Kivetni test LCK 339 (0,23 – 13,50 mgNO₃-N L⁻¹) za mjerenje koncentracije nitrata, tvrtka Hach Lange
Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima
Spektrofotometar HACH Lange DR900

3.10. Određivanje koncentracije amonijaka

Koncentracija amonijevih iona određivala se pomoću kivetnog testa LCK 304 tvrtke Hach Lange. Amonijevi ioni u uzorku reagiraju s hipokloritnim ionima pri pH 12,6 u prisutstvu natrijeva nitroprusida i tvore plavo obojenje.

Varijabilnom ručnom pipetom (tvrtka Eppendorf) s nastavcima u kivetu s natrijevim hidroksidom dodano je 0,2 mL uzorka i zatvoreno s DosiCap Zip čepom u kojem se nalaze reagensi troklozen natrij i natrijev nitroprusid. Pomoću spektrofotometra HACH Lange određena je koncentracija amonijaka nakon 15 minuta mirovanja.

Pribor: Kivetni test LCK 304 (0,015 – 2 mgNH₄-N L⁻¹) za mjerenje koncentracije amonijaka, tvrtka Hach Lange
Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima
Spektrofotometar HACH Lange DR900

3.11. Određivanje ukupne suspendirane tvari (TSS) i ukupne organske suspendirane tvari (VSS)

Kako bi se uspješno odredila ukupna suspendirana tvar (TSS – eng. Total Suspended Solids) prije samog postupka potrebno je izvagati filter papir na analitičkoj vagi (Mettler, Type H 15) kako bi se precizno odredila njegova masa. Filtracija se provodila na staklenom filter papiru (1µm, GF/C, Whatman) točno određenog volumena uzorka. Nakon filtracije, filter papir s uzorkom osušen je u sušioniku na 105 °C do konstantne mase te je potom ponovno izvagan. Iz razlike mase filter papira s talogom i čistog filter papira izračunata je TSS vrijednost.

$$TSS = \frac{m(\text{osušeni filter papir}) - m(\text{čisti filter papir})}{V(\text{uzorak})} \quad [g L^{-1}]$$

Ukupna organska suspendirana tvar (VSS – eng. Volatile Suspended Solids) određuje se nakon što je određena TSS vrijednost. Koristio se isti filter papir s talogom od određivanja TSS pri čemu je talog spaljen na plameniku te nakon toga žaren u mufolnoj peći na 500 °C oko 3 sata. Nakon žarenja u peći, filter papir je ohlađen u eksikatoru prije samog vaganja kako ne bi povukao vlagu iz zraka. Razlika masa filter papira nakon žarenja i čistog filter papira jednaka je ukupnoj anorganskoj suspendiranoj tvari (ISS – eng. Inorganic Suspended Solids). Ukupna organska suspendirana tvar jednaka je razlici dobivenih koncentracija TSS i ISS.

$$ISS = \frac{m(\text{žareni filter papir}) - m(\text{čisti filter papir})}{V(\text{uzorak})} \quad [g L^{-1}]$$

$$VSS = TSS - ISS \quad [g L^{-1}]$$

Pribor:

- Analička vaga, Mettler, Type H 15
- Porculanska zdjelica
- Filter papirići (1µm, GF/C, Whatman)
- Vakuum sisaljka
- Sušionik
- Eksikator

3.12. Određivanje SVI vrijednosti

Indeks mulja (SVI – eng. Sludge Volume Index) je važan pokazatelj uspješnosti taloženja mulja. To je parametar kontrole procesa koji određuje brzinu recikliranja mulja i služi za procjenu sposobnosti taloženja taloga mulja u biološkim procesima obrade otpadnih voda pomoću aktivnog mulja.

SVI vrijednost se određuje kao volumen (u mL) zauzet s 1 gram aktivnog mulja nakon taloženja tekućine 30 minuta u Imhoff-ovoj lijevkastoj čaši. Važno je provoditi SVI analizu u mirnoj okolini, izvan izravnog sunčevog vjetla, gdje neće doći do naglih udaraca ili vibracija koji bi mogli poremetiti točnost mjerenja.

SVI vrijednost se dobiva na način da se u menzuru doda određen volumen mulja te se ostavi kroz 30 minuta da se istaloži nakon čega se očita volumen koji zauzima sam mulj. Volumen istaloženog mulja (u mL) se podijeli s volumenom suspenzije (u L) te se dobivena vrijednost podijeli s TSS vrijednosti pri čemu se dobiva SVI vrijednost u mL g⁻¹.

$$SVI = \frac{V(\text{istaložen mulj nakon 30 minuta})}{V(\text{suspenzija uzeta za analizu}) \cdot TSS} \quad [mL \ g^{-1}]$$

3.13. Određivanje maksimalne specifične brzine anaerobnog otpuštanja fosfora, maksimalne specifične brzine asimilacije KPK i neto uklonjenog fosfora

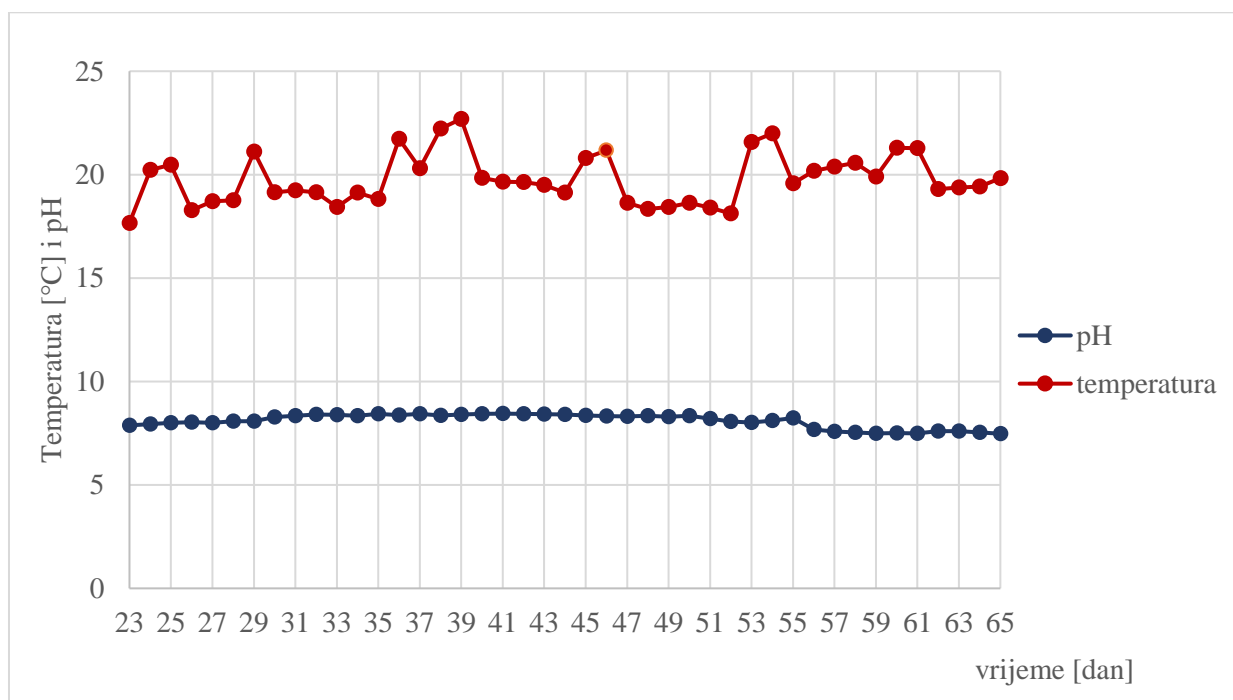
Odabranih dana provođeno je testiranje pri kojem se svakih sat vremena izuzimao uzorak mulja izravno iz SBR bioreaktora. U izuzetom uzorku određivala se VSS vrijednost već opisanim postupkom. Dobiveni filtrat se koristio za određivanje KPK vrijednosti i koncentracije ortofosfata (PO₄³⁻) prikazanog kao fosfor. Iz grafičkog prikaza ovisnosti koncentracije fosfora u suspenziji mulja o vremenu, pomoću računalnog programa MS Office, određen je koeficijent smjera krivulje iz podataka na početku mjerenja kada je brzina otpuštanja fosfora bila maksimalna. Na ovaj način dobivena maksimalna brzina anaerobnog otpuštanja

fosfora u $\text{mgP-PO}_4 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ podijeljena je s koncentracijom VSS kako bi se dobila specifična maksimalna brzina anaerobnog otpuštanja fosfora u $\text{mgP-PO}_4/\text{gVSS h}$.

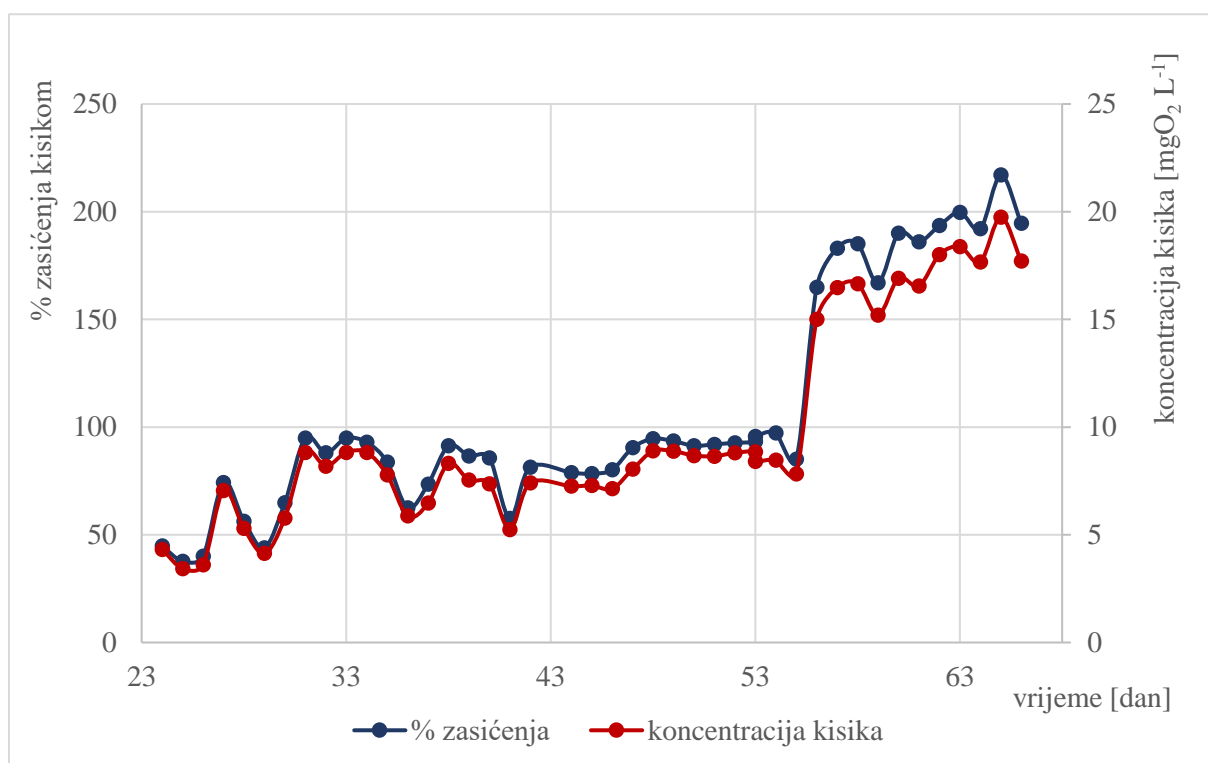
Na isti način određivana je i maksimalna specifična brzina asimilacije KPK u mgKPK/gVSS h . Također, tijekom ovakvih testiranja određivana je i vrijednost NETO uklonjenog fosfora koja se dobila iz razlike početne koncentracije fosfora po dodatku acetata za taj dan testiranja i konačne koncentracije fosfora na kraju aerobne faze u $\text{mgP-PO}_4/\text{L}$ te je tako dobivena vrijednost podijeljena s koncentracijom VSS s ciljem dobivanja vrijednosti neto uklonjenog fosfora u $\text{mgPO}_4\text{-P/gVSS}$.

4. REZULTATI

Već je spomenuto da na kompeticiju između PAO i GAO utječe temperatura i pH vrijednost. Uvjeti pokusa bili su postavljeni tako da budu optimalni za rast PAO. Na slici 13 se može vidjeti da se temperatura održavala između 17 i 22 °C što je idealno za prevladavanje biomase PAO u odnosu na GAO s obzirom da GAO odgovaraju više temperature. Na istoj slici prikazana je i vrijednost pH tijekom pokusa koji se također održavao u optimalnim vrijednostima koje su iznosile između 7,5 i 8,5. Poznato je da pH ima velik utjecaj na kompeticiju između PAO i GAO te da više vrijednosti pH mogu poboljšati uklanjanje fosfora iz otpadnih voda u EBPR sustavima uslijed obogaćivanja mulja sa fosfat akumulirajućim organizmima. Krična granica vrijednosti pH je 7,25 iznad koje pH može biti štetan za GAO, pogotovo u anaerobnoj fazi pa se sugerira da pH može biti parametar kojim se može manipulirati (ne)prisutnost GAO u SBR sustavima (Filipe i sur., 2009). Kao što je već spomenuto, tijekom cijelog eksperimenta pH vrijednost je bila iznad te granične vrijednosti.



Slika 13. Vrijednosti temperature i pH tijekom pokusa

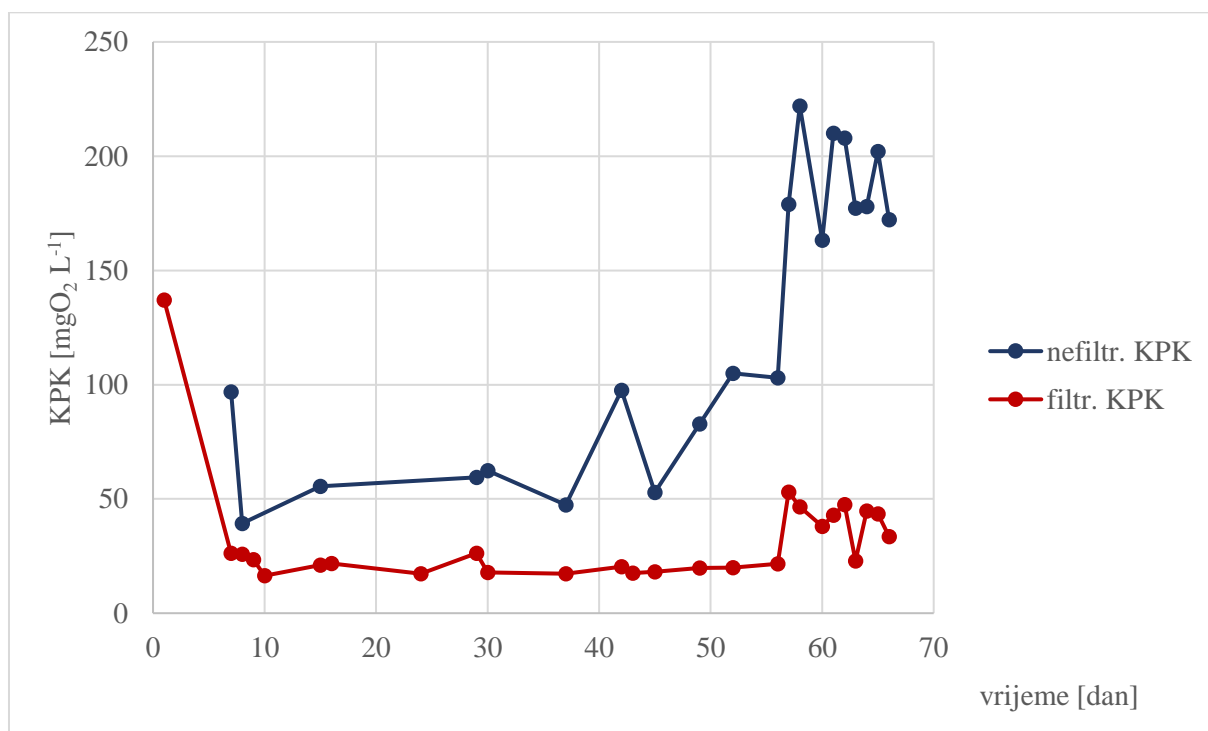


Slika 14. Koncentracija otopljenog kisika i % zasićenja otpadne vode kisikom tijekom aerobne faze po danima

Na slici 14 prikazana je koncentracija otopljenog kisika u aerobnoj fazi tijekom pokusa. Do 56. dana, odnosno do dana početka korištenja SDOx uređaja koncentracija otopljenog kisika u aerobnoj fazi iznosila je u rasponu 40% do 90% zasićenja kisika što je pri datim uvjetima iznosilo između 5 i 8 mgO₂ L⁻¹, dok je kasnije uz korištenje SDOx uređaja koncentracija kisika iznosila između između 150% i 220% zasićenja kisikom što odgovara koncentraciji otopljenog kisika između između 15 i 20 mgO₂ L⁻¹. Za preračunavanje % zasićenja kisika u koncentraciju kisika u obzir je uzeta temperatura i tlak, dok je utjecaj otopljenih tvari zanemaren zbog relativno male koncentracije otopljenih tvari. Na slici je vidljivo da je SDOx uspješno otupio visoke koncentracije kisika uslijed djelovanja visokog tlaka na suspenziju mulja.

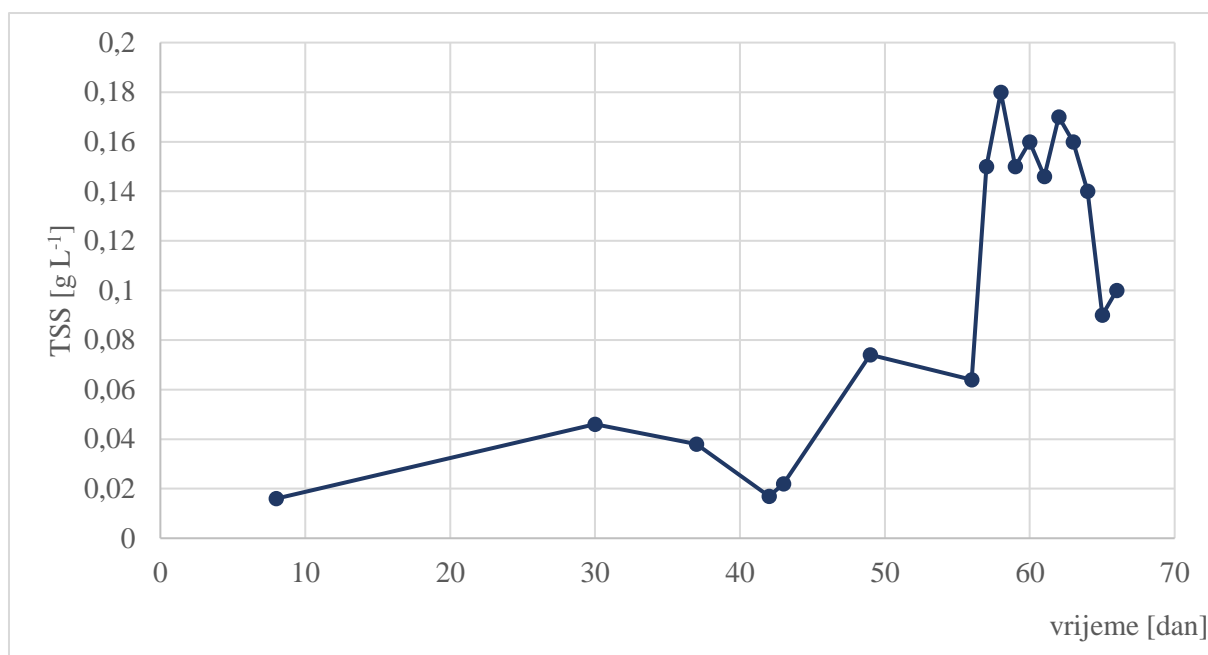
Važan pokazatelj otpadne vode, odnosno influenta je kemijska potrošnja kisika (KPK) koji se koristi za jednostavno i brzo određivanje količine oksidirajućih spojeva koji se nalaze u samoj vodi. Što je vrijednost KPK veća, to je veća količina organskog materijala u otpadnoj vodi. Zbog toga je potrebno provesti obradu otpadne vode s ciljem smanjenja vrijednosti KPK kako bi bilo moguće ispustiti vodu u prirodne recipijente. Sintetička voda koja se koristila kao influent u ovom pokusu imala je KPK vrijednost tijekom prvih 26 dana 500 mgO₂ L⁻¹, dok je

kasnije vrijednost povećana na $1000 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ i na toj vrijednosti je bila do kraja pokusa. Ovakve vrijednosti KPK onemogućuju ispuštanje ove otpadne vode u okoliš zato što je prema regulativi Republike Hrvatske maksimalna dozvoljena vrijednost KPK za ispuštanje u prirodne recipijente $125 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ (Pravilnik, 2013). Zbog toga postoji potreba za uklanjanjem dijela organskih tvari kako bi se smanjila KPK vrijednost.



Slika 15. Vrijednost KPK u nefiltriranom i filtriranom efluentu

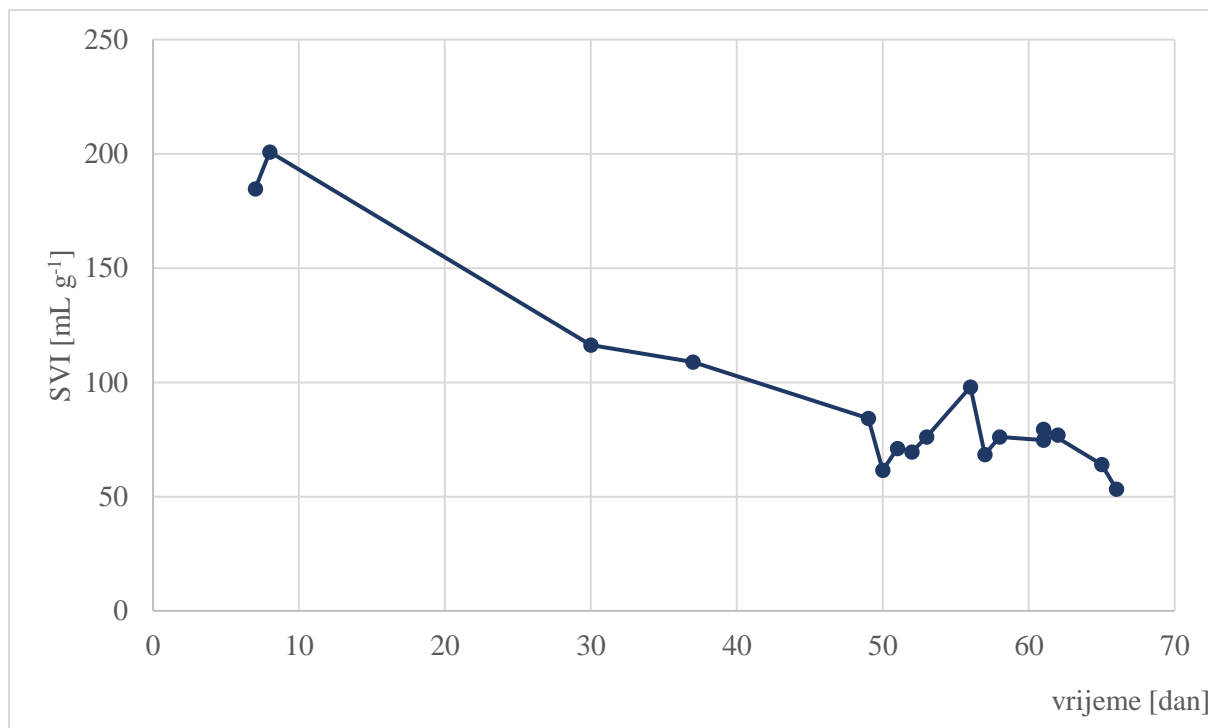
Iz rezultata prikazanih na slici 15 vidljivo je da je KPK vrijednost u filtriranom uzorku konstantno bila ispod vrijednosti $125 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ osim u prvom danu kad je bila nešto viša, a čemu je razlog neprilagođenost mulja novim uvjetima. Kod nefiltriranog uzorka, KPK je također bio ispod granice od $125 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ sve do trenutka kad se u aerobnim uvjetima počeo mulj tretirati u SDOx uređaju 56. dana. Naravno, KPK filtriranog efluenta je manji nego što je to slučaj kod nefiltriranog jer se filtracijom uklanja dio suspendiranih organskih tvari. Zanimljivo je da je ta razlika puno veća od kad se mulj počeo tretirati u SDOx uređaju u aerobnoj fazi. Razlog zašto je to tako moguće je pronaći u činjenici da je visoki tlak razbio flokule mulja i da je došlo do odumiranja biomase te su se netopljivi ostaci stanica nalazili u većim količinama u efluentu zbog čega se povećao i KPK.



Slika 16. Vrijednost TSS u nefiltriranom efluentu

Tu hipotezu potvrđuje i slika 16 na kojoj je prikazana vrijednost TSS u nefiltriranom efluentu. Jasno se može vidjeti da je nakon 56. dana i početka korištenja SDOx uređaja za aeraciju TSS porastao na vrijednost između 0,15 i 0,18 g L⁻¹, dok je prije toga ta vrijednost bila znatno manja i kretala se u rasponu od 0,02 i 0,08 g L⁻¹. Može se zaključiti da se stanice u aktivnom mulju nisu mogle prilagoditi visokom tlaku u SDOx uređaju te je došlo do razbijanja flokula mulja i masivnog odumiranja stanica. To je za posljedicu imalo ispuštunje staničnog materijala u vodu koji je velikim dijelom ostao suspendiran te je povećao TSS vrijednost.

Indeks mulja, odnosno SVI vrijednost važan je parametar u procesima biološke obrade otpadne vode. Bez dobre taloživosti mulja, obrada otpadne vode ne može biti učinkovita. SVI vrijednost od 50 do 150 mL g⁻¹ ili manja smatra se dovoljno dobrom za uspješnu obradu otpadne vode (Lopez-Vazquez i sur., 2016). Na početku pokusa, kada se mulj još nije prilagodio na novonastale uvjete, SVI vrijednost iznosila je nešto više od 150 mL g⁻¹. No, nakon prilagodbe i početka održavanja stalne SRT vrijednosti SVI je iznosio u intervalu od 50 do 120 mL g⁻¹ kao što se može vidjeti na slici 17. Takve vrijednosti indiciraju da je biomasa PAO bila u povoljnom okruženju i da nije bilo prepreka uspješnom uklanjanju fosfora. Također, tijekom provođenja SVI testa, aktivni mulj se brzo taložio i bio je gust, a flokule su bile granulirane. Efluent koji se izdvojio iznad mulja je bio bistar i dobre kvalitete te nije bilo plivajućeg mulja. Nakon 56. dana, odnosno nakon provođenja aeracije u SDOx uređaju došlo je do pojave plivajućeg mulja koji je iznimno nepoželjan jer može završiti u efluentu čime pogoršava kvalitetu obrađene vode.



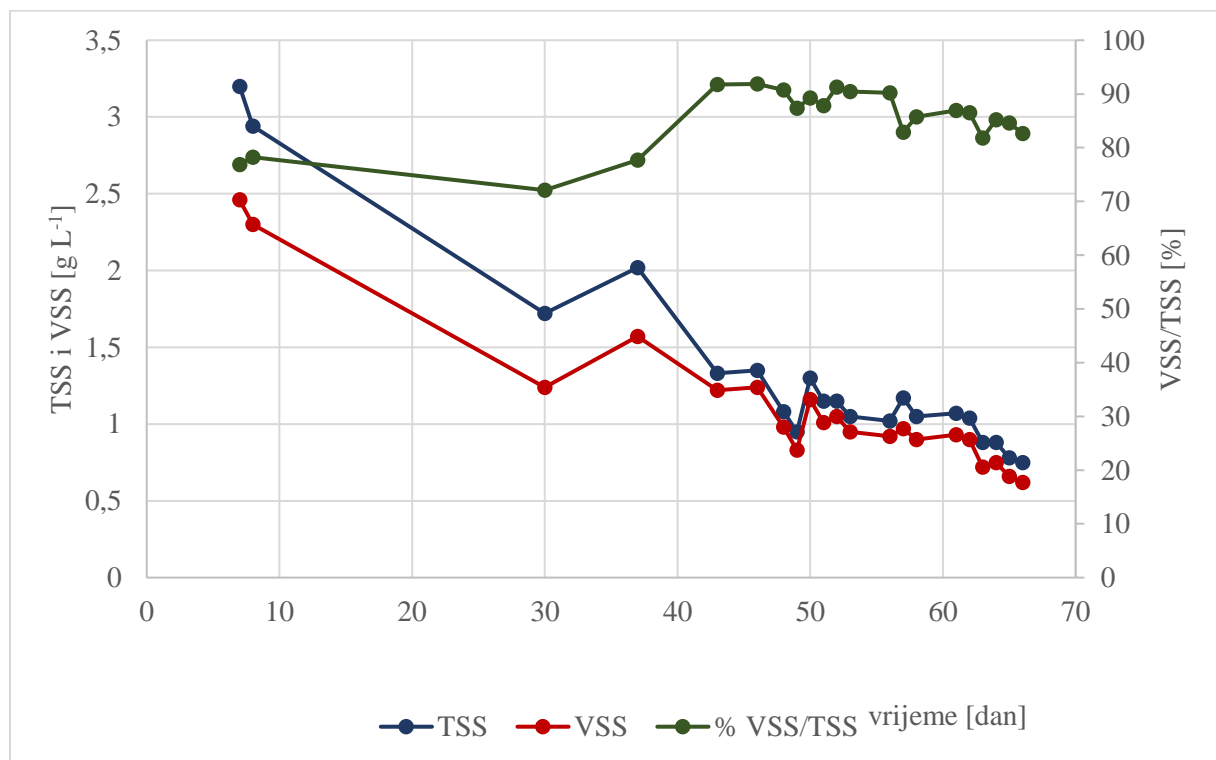
Slika 17. SVI vrijednost mulja tijekom pokusa

Koncentracija mulja ima utjecaj na nekoliko faktora kao što su volumen bioreaktora, učinkovitost biološke obrade i prijenos kisika. Volumen bioreaktora ovisi obrnuto proporcionalno o koncentraciji mulja. Odnosno, što je veća koncentracija mulja, volumen bioreaktora u kojem se provodi sam proces obrade otpadne vode može biti manji. Također, primijećeno je da je pri višim koncentracijama mulja učinkovitost biološke obrade otpadne vode veća do 2 g L^{-1} nakon čega daljnje povećanje koncentracije nema utjecaj (Matošić, 2015).

Prijenos kisika je ključan faktor o kojem ovisi koncentracija mulja u bioreaktoru jer je kisik neophodan za odvijanje metabolizma mikroorganizama u mulju uključujući i PAO. Na prijenos kisika utječe nekoliko faktora kao što su parcijalni tlak kisika, temperatura te otopljene i suspendirane tvari. Glavni problem koji se javlja u biološkoj obradi otpadne vode je taj da aktivni mulj i njegove komponente negativno utječu na brzinu otapanja kisika. Dakle, za otapanje iste količine kisika u aktivnom mulju treba više zraka za aeraciju (i energije) nego za njegovo otapanje u čistoj vodi (Matošić, 2015). Tijekom pokusa, prvih 56 dana aeracija se provodila pomoću upuhivanja zraka na dnu bioreaktora ispod mješala, dok se nakon toga aeracija provodila u SDOx uređaju. Aeracijom u SDOx uređaju moguće je otopiti puno veće koncentracije kisika u mulju jer se proces provodi pri visokim tlakovima. Konkretno, u ovom pokusu je korišten tlak od 7 bara. Na slici 14 se može vidjeti da je tijekom korištenja SDOx

uređaja koncentracija otopljenog kisika bila otprilike dvaput veća nego prije kad se zrak upuhivao direktno u bioreaktor.

TSS (eng. Total Suspended Solids) se koristi za označavanje koncentracije ukupne suspendirane tvari u aktivnom mulju te za procjenu koncentracije mulja zato što su te dvije veličine proporcionalne (Cano i sur, 2014). Pod TSS spadaju sve suspendirane organske razgradive i nerazgradive tvari koje su došle otpadnom vodom, žive bakterije, ostaci odumrlih bakterija i anorganske suspendirane tvari koje su došle otpadnom vodom (Matošić, 2015). VSS (eng. Volatile Suspended Solids) je organski dio ukupne suspendirane tvari. Određuje se jer predstavlja točniju koncentraciju biomase u aktivnom mulju od TSS. U VSS spadaju žive bakterije, ostaci odumrlih bakterija i organske razgradive i nerazgradive tvari koje su došle otpadnom vodom (Matošić, 2015).

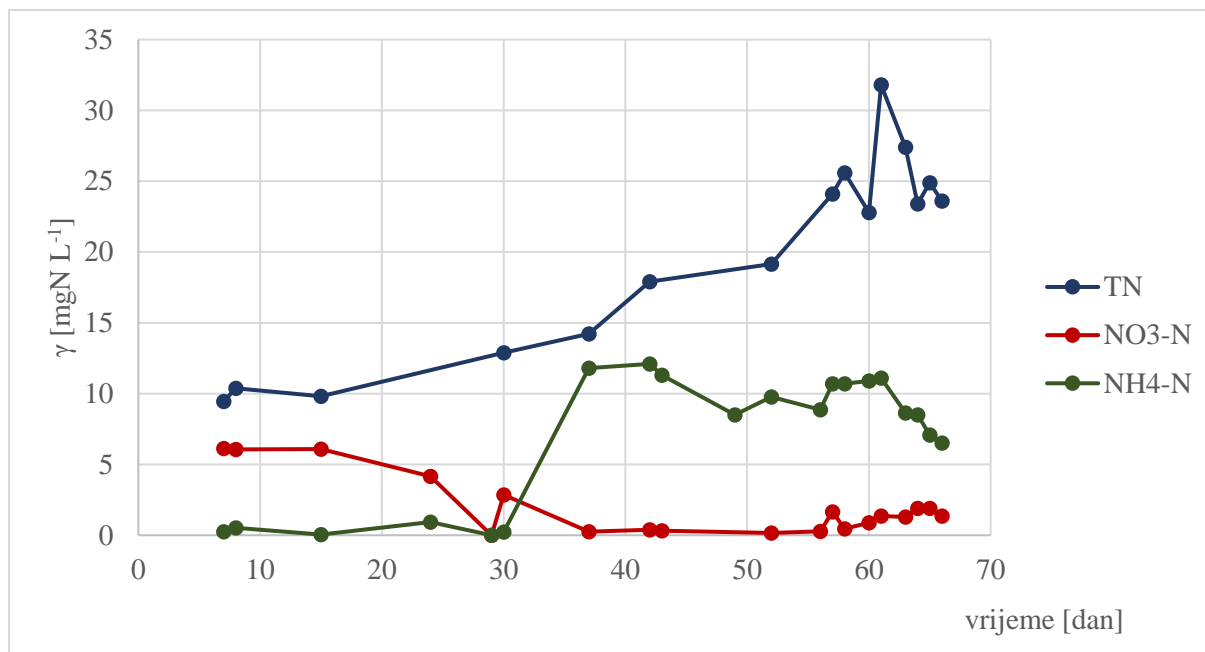


Slika 18. Koncentracija TSS i VSS u suspenziji mulja te postotak VSS u TSS tijekom vremena

TSS vrijednost je važan parametar procesa obrade otpadne vode aktivnim muljem kako bi se osiguralo da postoji dostatna količina aktivne biomase koja će koristiti organske sastojke otpadne vode i na taj način provoditi uspješnu obradu otpadne vode. Previsoka vrijednost TSS znači da je proces sklon nakupljanju krutih tvari i sustav za obradu se preopterećuje. Visoke

vrijednosti TSS mogu dovesti do smanjenja učinkovitosti otapanja kisika što za posljedicu ima povećanu potrebu za aeraciju čime se troši dodatna električna energija i stvara se debela pjena u gornjem sloju otpadne vode. Također, smanjuje se učinkovitost taloženja mulja i uklanjanja fosfora. S druge strane, preniske vrijednosti TSS za posljedicu mogu imati nedovoljno uklanjanje organskih tvari iz otpadne vode, a taj problem se može riješiti povećanjem SRT vrijednosti. Poznato je da je optimalna TSS vrijednost u SBR uređajima između 2 i 4 g L⁻¹.

Na slici 18 prikazana su kretanja TSS i VSS vrijednosti mulja te postotak VSS u TSS tijekom pokusa. Može se vidjeti da je na početku vrijednost TSS iznosila iznad 3 g L⁻¹ te je počela opadati i prije početka održavanja stalne SRT vrijednosti jer je došlo do odumiranja stanica i njihove razgradnje što je bila posljedica gladi zbog nedovoljne koncentracije organskih tvari u influentu. Zbog toga je 26. dana pokusa povećana koncentracija acetata u influentu pri čemu je KPK povećan s 500 na 1000 mgO₂ L⁻¹. Ovo povećanje KPK u influentu prati i povećanje TSS i VSS vrijednosti, međutim nakon što se 35. dana počeo održavati SRT, vrijednost TSS se dodatno smanjila te se ustalila između 1 i 1,4 g L⁻¹. Također, u tom razdoblju je došlo do promjene udjela VSS u TSS koji se povećao sa 75% na oko 90% te se ustalio na toj vrijednosti. Razlog tome je što je u prvoj fazi bila veća koncentracija suspendiranih anorganskih tvari koja je došla zajedno s muljem iz sarajveskog uređaja i tipična je za mulj koji obrađuje komunalne otpadne vode. Nakon što se višak mulja počeo odvoditi kako bi se održavao SRT od 10 dana, udio VSS je rastao jer je i anorganska suspendirana tvar odvođena iz uređaja, a umjesto nje su u mulju rasle žive bakterije čiji je udio VSS u TSS oko 87% (Henze i sur., 2008). Nakon 56. dana, odnosno nakon što se aeracija počela provoditi u SDOx uređaju TSS vrijednost je počela linearno padati što je bio pokazatelj da se mulj ovakvog sastava ne može prilagoditi visokom tlaku u SDOx uređaju tijekom aerobne faze te je biomasa počela odumirati. Na slici je prikazana i VSS vrijednost koja je točniji pokazatelj koncentracije biomase u aktivnom mulju i može se vidjeti da krivulja prati krivulju TSS vrijednosti.



Slika 19. Koncentracija TN, NO₃-N i NH₄-N u efluentu tijekom vremena

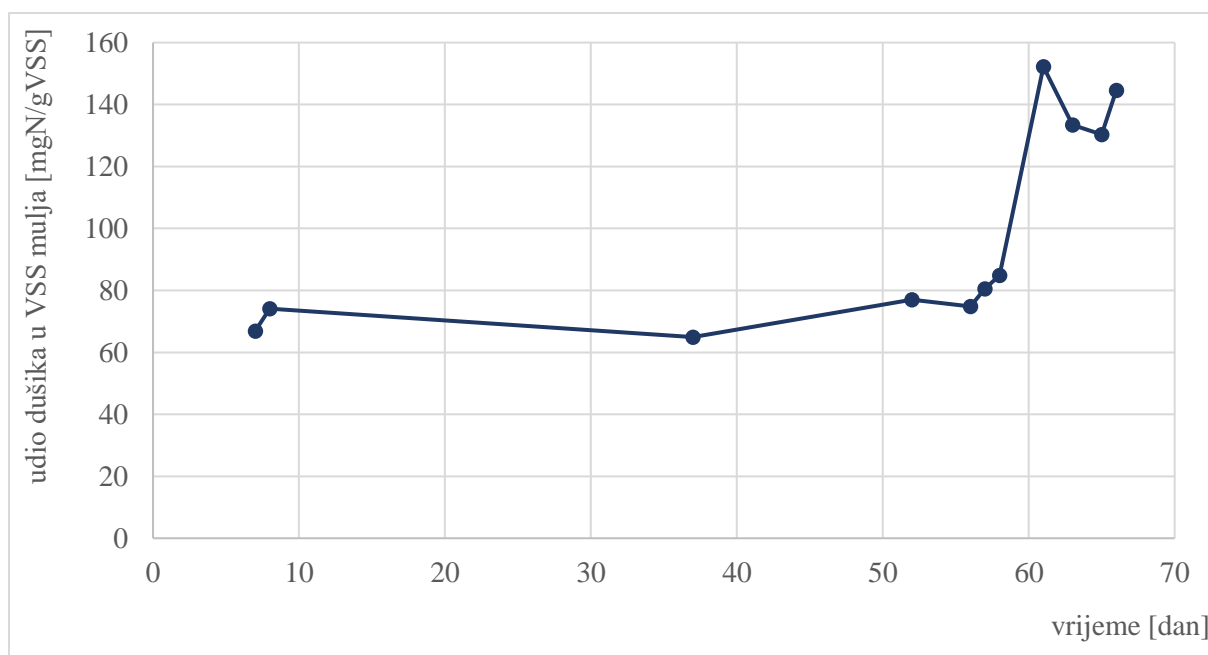
Iako su tijekom provođenja pokusa uvjeti bili prilagođeni uspješnom rastu PAO, na slici 19 moguće je vidjeti da se provodila nitrifikacija koja je bila nepoželjna. Razlog tome je što se tijekom aklimatizacijskog perioda od 35 dana nije odvodio mulj pa su bile prisutne nitrificirajuće bakterije koje su stigle s originalnim muljem. Tijekom tog vremena koncentracija nitrata iznosila je oko 6 mg L⁻¹ što je dokaz prisutnosti nitrificirajućih bakterija. Kako je bilo nitrata onda se može zaključiti da je bilo i OHO koje su u anaerobnoj fazi izvor ugljika trošile za denitrifikaciju koja je brži proces od procesa asimilacije acetata koji provode PAO (Wang i sur., 2011). Kada je aklimatizacijski period završio i započelo se s održavanjem SRT, nitrificirajuće su bakterije uklanjane iz procesa što je vidljivo po padu koncentracije nitrata. Da bi se u potpunosti spriječila nitrifikacija, odnosno rast nitrificirajućih bakterija u bioreaktor je od 35. dana svakodnevno dodavan N-alil tiourea (ATU) koji je inhibitor ovih bakterija. Može se zaključiti da se na ovaj način spriječio rast nitrificirajućih bakterija jer je gotovo do kraja pokusa u efluentu koncentracija nitrata bila 0 mg L⁻¹. Međutim, početkom korištenja SDOx uređaja u aerobnoj fazi ponovno se pojavila niska koncentracija nitrata. Razlog tome je ponovna pojava nitrificirajućih bakterija kojima odgovaraju visoke koncentracije kisika koje su bile prisutne u tom periodu provođenja pokusa. Nitrifikacija je iznimno aeroban proces jer je potrebno puno kisika kako bi se amonij oksidirao do nitrata (Ekama i Wentzel, 2008).

Održavanjem SRT vrijednosti, iz bioreaktora su se uklanjali i OHO, no oni sojevi koji su se zadržali u aktivnome mulju su rasli i asimilirali određeni dio izvora ugljika pri čemu su koristili kisik kao akceptor elektrona u aerobnoj fazi, a ne više nitrat u anaerobnoj. OHO se ne bi nalazili u aktivnom mulju samo ako bi PAO asimilirao sav acetat u anaerobnoj fazi što očito nije bio slučaj.

Koncentracija amonija u efluentu je bila minimalna tijekom faze aklimatizacije, a razlog tome je što se sav amonij oksidirao u nitrat što su provodile već spomenute nitrificirajuće bakterije. Nakon aklimatizacijskog perioda, koncentracija amonija se povećala na oko 12 mgN L⁻¹ čemu je razlog prestanak provođenja nitrifikacije te povećanje koncentracije amonija u influentu s 20 mgN L⁻¹ na 40 mgN L⁻¹. Razlog za povećanje koncentracije amonija u influentu je to što se smatralo da PAO nema dovoljno dušika za rast jer je koncentracija amonija bila jako niska. Također, na slici 19 se može vidjeti da je od 56. dana kada se počeo koristiti SDOx u aerobnoj fazi koncentracija amonija pala što je slijedila pojava nitrata u efluentu.

Koncentracija ukupnog dušika (TN – eng. Total Nitrogen) u efluentu je iznosila između 10 mgN L⁻¹ i 32 mgN L⁻¹. Tijekom cijelog pokusa koncentracija TN je postepeno rasla što je posljedica povećanja koncentracije amonija u influentu, ali i zbog organskog dušika prisutnog u originalnom mulju. Maksimalna koncentracija bila je tijekom korištenja SDOx uređaja jer je u tom periodu već došlo do odumiranja aktivne biomase i izlivanja citoplazmatskog sadržaja liziranih stanica. Također, zbog smanjenja koncentracije živih stanica u aktivnom mulju bila je i smanjena potreba za dušikom koji bi ga trošili na svoj rast.

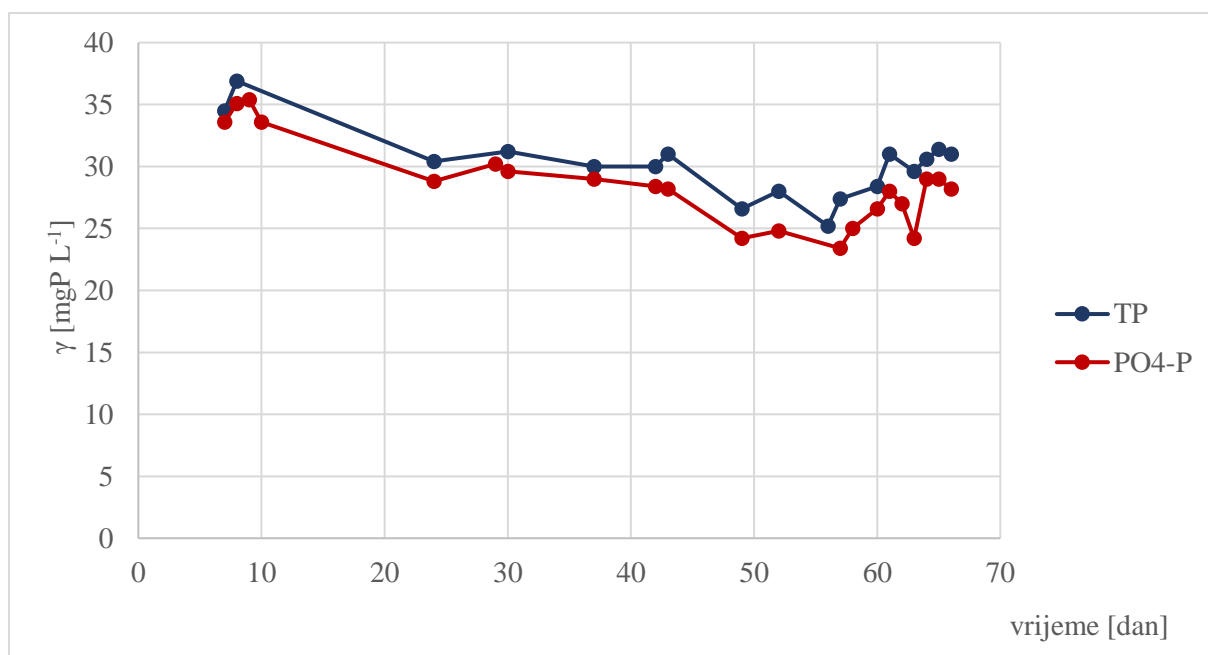
Dobiveni efluent ne bi zadovoljavao zakonske odredbe za maksimalnu koncentraciju TN u obrađenoj otpadnoj vodi uređaja 3. stupnja pročišćavanja za otpuštanje u površinske vode od 15 mg/L. Međutim, zadovoljio bi kriterije za ispuštanje u sustav javne odvodnje gdje je maksimalna dozvoljena koncentracija 50 mg/L, te za uređaje kojima je propisan samo 2. stupanj pročišćavanja bez ograničenja za dušik i fosfor (Pravilnik, 2013).



Slika 20. Udio dušika u VSS mulja tijekom pokusa

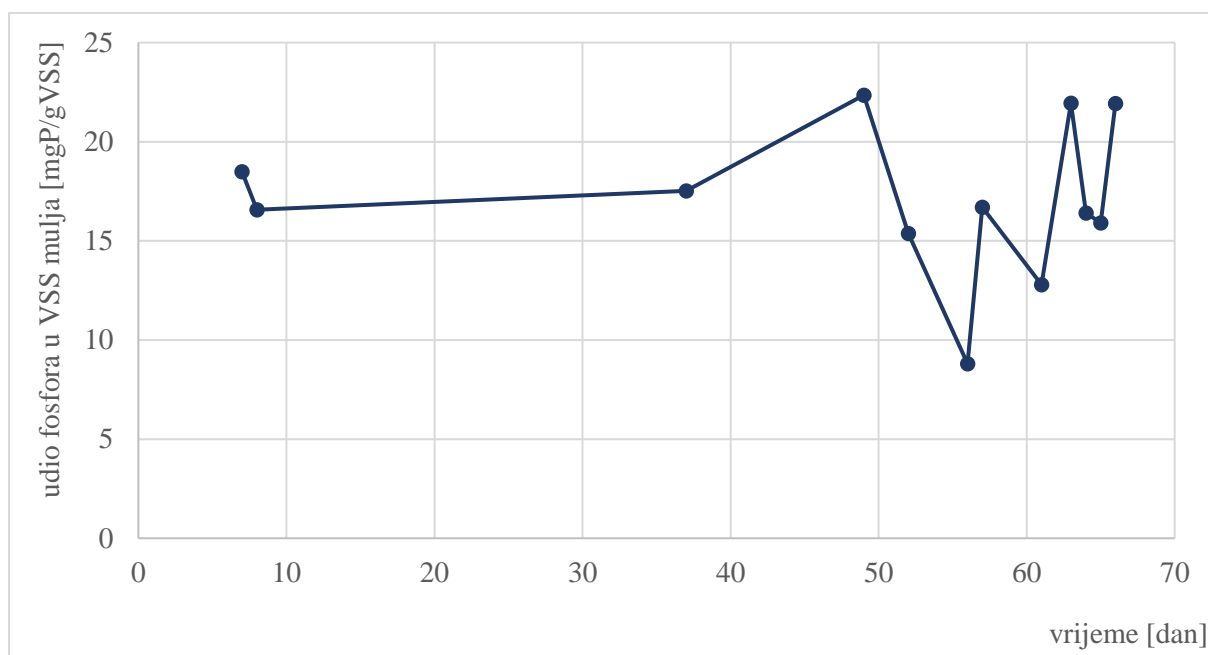
Na slici 20 moguće je vidjeti da je udio dušika u mulju prije korištenja SDOx uređaja iznosio oko 70 mgN/gVSS što odgovara literaturi prema kojoj bakterijske stanice imaju oko 10% dušika u VSS (Henze i sur., 2008). Kasnije, kada je korišten SDOx u aerobnoj fazi udio dušika u biomasi iznosio je do 150 mgN/gVSS za što u ovom trenutku nema odgovarajućeg objašnjenja.

Koncentraciju fosfora u otpadnoj vodi moguće je prikazati kao ukupni fosfor (TP – eng. Total Phosphorus) i kao ortofosfat (PO_4^{3-}) stoga su se tijekom pokusa pratila oba parametra. U sintetičku otpadnu vodu kao izvor fosfora dodavan je KH_2PO_4 u visokim koncentracija kako ne bi bio limitirajući faktor za uzgoj biomase PAO. Pošto se dodavala fosfatna sol kao izvor fosfora, u influentu je koncentracija TP otprilike jednaka koncentraciji ortofosfata i iznosila je u rasponu od 30 do 40 mgP L⁻¹. Spomenuto je da omjer niži od 50 mgKPK/mgP u influentu pogoduje rastu PAO (Mino i sur., 1998.) pa je takav omjer održavan u sintetskoj otpadnoj vodi tijekom pokusa. Kada je KPK influenta iznosio 500 mgO₂ L⁻¹ taj omjer je iznosio 14,3 mgKPK/mgP, a kasnije kad se KPK influenta povećao na 1000 mgO₂ L⁻¹ taj omjer se povećao na 28,6 mgKPK/mgP što još uvijek pogoduje rastu PAO i negativno utječe na rast GAO.



Slika 21. Koncentracija TP u nefiltriranom i PO₄-P u filtriranom efluentu tijekom vremena

Na slici 21 prikazana je koncentracija ukupnog fosfora u nefiltriranom efluentu i ortofosfata u filtriranom efluentu. Može se vidjeti da je koncentracija ukupnog fosfora uvijek veća od ortofosfata u efluentu čemu je razlog što sav fosfor nije u obliku ortofosfata te što su se suspendirani izvori fosfora uklonili filtracijom. Tijekom prvih deset dana pokusa koncentracija fosfora u obrađenoj vodi je identična koncentraciji fosfora u sintetičkoj otpadnoj vodi. To je i logično s obzirom da je to bilo aklimatizacijsko razdoblje u kojem se nije uspjela namnožiti biomasa PAO koja bi uklanjala fosfor i nije došlo do povećanja mase aktivnog mulja pri čemu bi bakterije koristile fosfor za svoj rast. Oko 50. dana koncentracija fosfora u efluentu je bila najmanja jer je u tom razdoblju bio maksimalni udio PAO u aktivnom mulju koji je uklanjao fosfor. Na slici se može vidjeti da je koncentracija ortofosfata u efluentu iznosila manje od 25 mgP L⁻¹, a s obzirom da je koncentracija u influentu u tom periodu iznosila oko 35 mgP L⁻¹ može se zaključiti da se dnevno uklanjalo oko 10 mgP L⁻¹. Također, na slici 22 u kojem je prikazana promjena udjela fosfora u biomasi tijekom vremena je vidljivo da je 50. dana udio fosfora u biomasi iznosio oko 23 mgP/gVSS. Iz literature je poznato da OHO imaju oko 2% fosfora u VSS dok PAO u praksi mogu imati i do 13% (Henze i sur., 2008). Iz rezultata na slici vidljivo je da je 50. dana udio fosfora u VSS nešto veći od 2% zbog čega se može zaključiti da je PAO bio prisutan u aktivnom mulju, ali u malom udjelu.

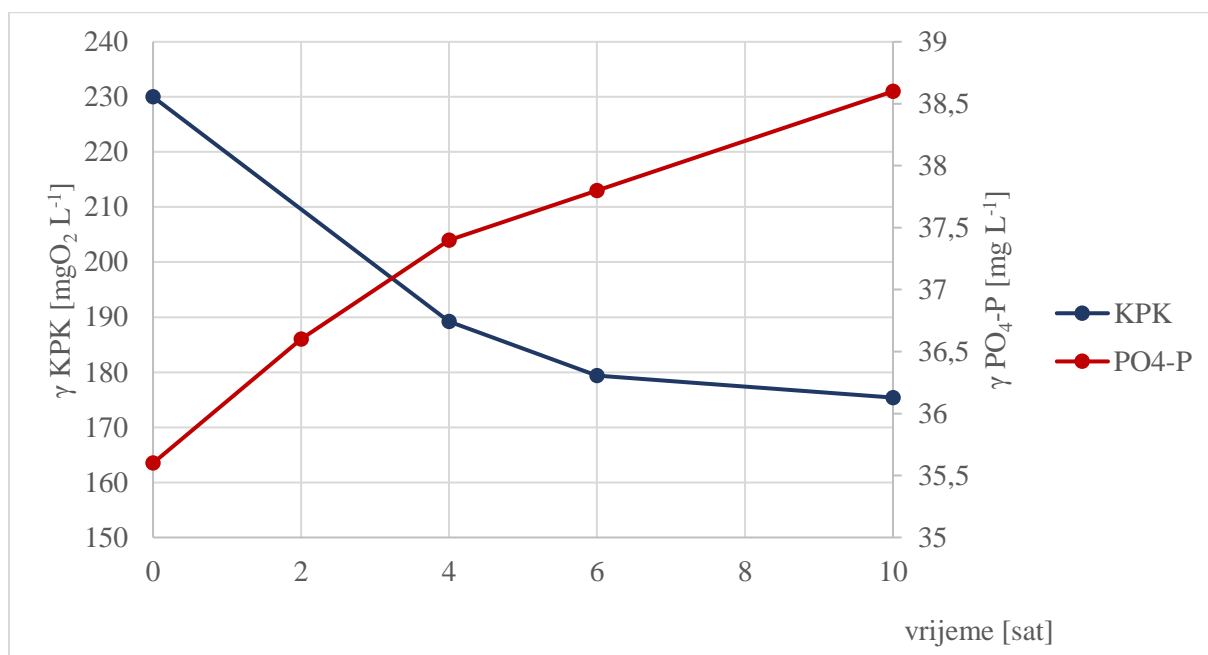


Slika 22. Udio fosfora u VSS mulja tijekom pokusa

Nakon početka korištenja SDOx uređaja za aeraciju u aerobnoj fazi 56. dana pokusa, udio fosfora biomasi je naglo pao čime možemo dodatno potvrditi da je visok tlak negativno utjecao na aktivni mulj, a pogotovo na PAO. Kasnije se aktivni mulj djelomično prilagodio na novonastale uvjete te je ponovo povećan udio fosfora u biomasi, ali su te vrijednosti jako fluktuirale kao što se može vidjeti na slici 22.

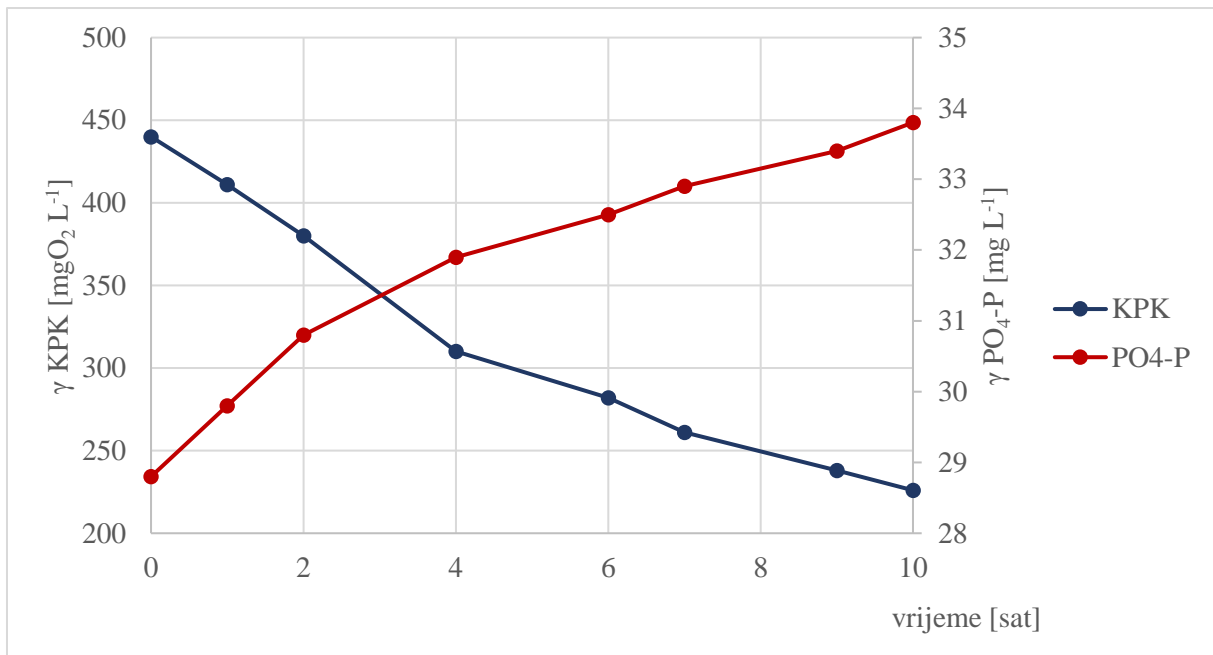
Da bi se nedvojbeno potvrdila i dokazala prisutnost i aktivnost PAO u mulju tijekom pokusa su napravljena anaerobna testiranja biološke aktivnosti PAO. Testiranje anaerobne aktivnosti PAO provedeno je s ciljem da se odrede maksimalne specifične brzine otpuštanja fosfora, asimilacije KPK i neto uklonjenog fosfora. Tijekom pokusa napravljeno je 19 testiranja anaerobne biološke aktivnosti PAO i to: 1., 2., 3., 4., 9., 15., 22., 24., 32., 39., 46., 56., 57., 61., 62., 63., 64., 65. i 66. dana pokusa. Na slikama su prikazana testiranja tijekom 3 dana i to 9. dana kako bi se dokazalo da je u aktivnom mulju sa sarajevskog uređaja prisutna biomasa PAO. Zatim, 46. dana kad se održavao SRT te se biomasa prilagodila na nove uvjete i ustabilila. I posljednje prikazano testiranje je 57. dana kako bi se prikazao utjecaj SDOx uređaja na aktivnost biomase PAO.

Kao što je već spomenuto testiranja su provođena tijekom anaerobne faze pa je bilo za očekivati ukoliko je u mulju prisutna biomasa PAO da će doći do povećanja koncentracije ortofosfata i smanjenja koncentracije KPK u otpadnoj vodi.



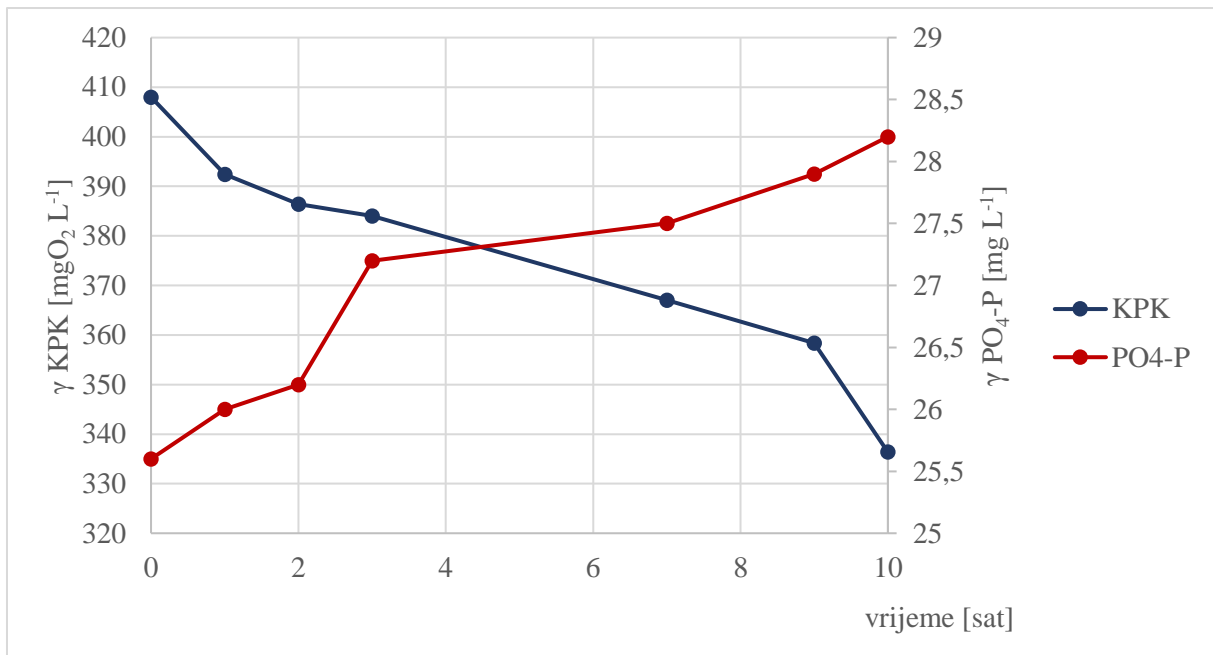
Slika 23. Rezultati anaerobnog testiranja biološke aktivnosti PAO 9. dana pokusa

Na slici 23 prikazano je anaerobno testiranje aktivnosti PAO 9. dana pokusa. Tijekom 10 sati anaerobne faze došlo je do potrošnje oko $55 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ KPK pri čemu je ispušteno u vodu $3 \text{ mgPO}_4\text{-P L}^{-1}$. Prema ovim rezultatima, definitivno je ustanovljena prisutnost PAO koji je otpuštao ortofosfat i pohranjivao acetat iz vode kao poli- β -hidroksialkanoat. Zato je u aerobnoj fazi PAO imao na raspolaganju dovoljno pohranjenog PHA koji mu je služio kao izvor ugljika i energije potrebnog za rast novih stanica, pa je biomasa rasla brže nego što je odumirala te je PAO asimilirao fosfor iz influenta kojeg je koristio za sintezu polifosfata.



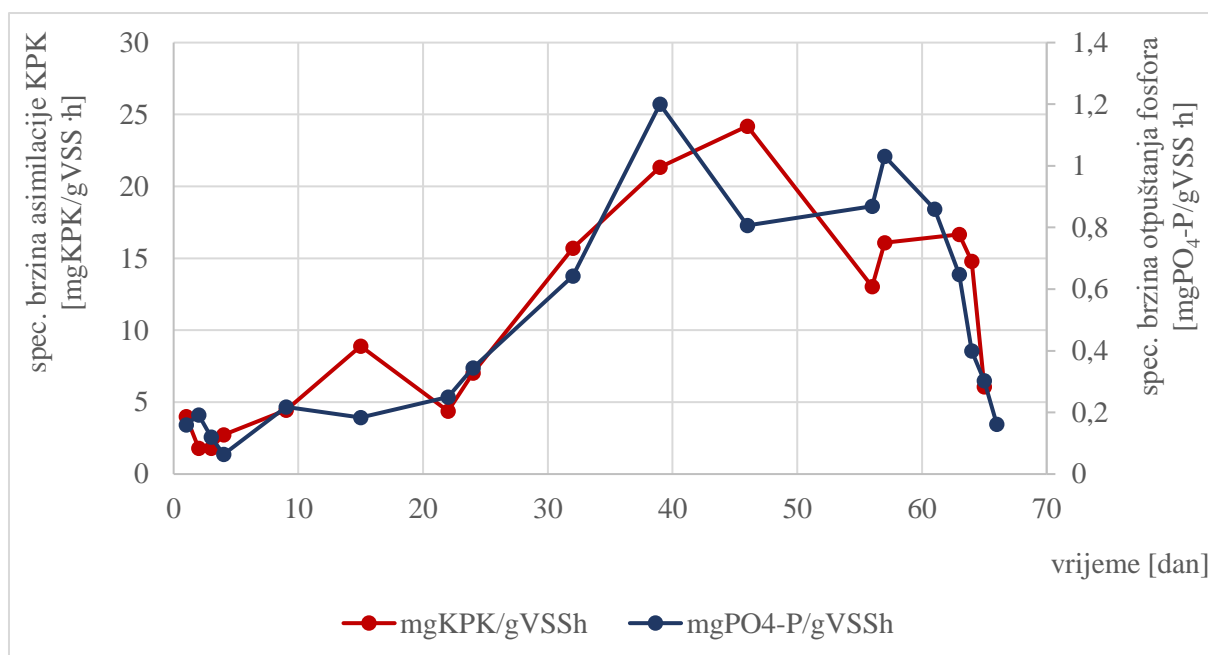
Slika 24. Rezultati anaerobnog testiranja biološke aktivnosti PAO 46. dana pokusa

Na slici 24 prikazano je anaerobno testiranje aktivnosti PAO 46. dana pokusa. Prikazano je upravo ovo testiranje jer se biomasa u ovom periodu prilagodila novonastalim uvjetima nakon što se krenuo održavati stalni SRT od 10 dana. Na slici je vidljivo da je aktivni mulj tijekom 10 sati anaerobne faze ispustio 5 mgPO₄-P L⁻¹. Ovakav rezultat posljedica je održavanja optimalnih uvjeta tijekom procesa te održavanja optimalne SRT vrijednosti za PAO što je omogućilo njihov veći udio u aktivnom mulju.



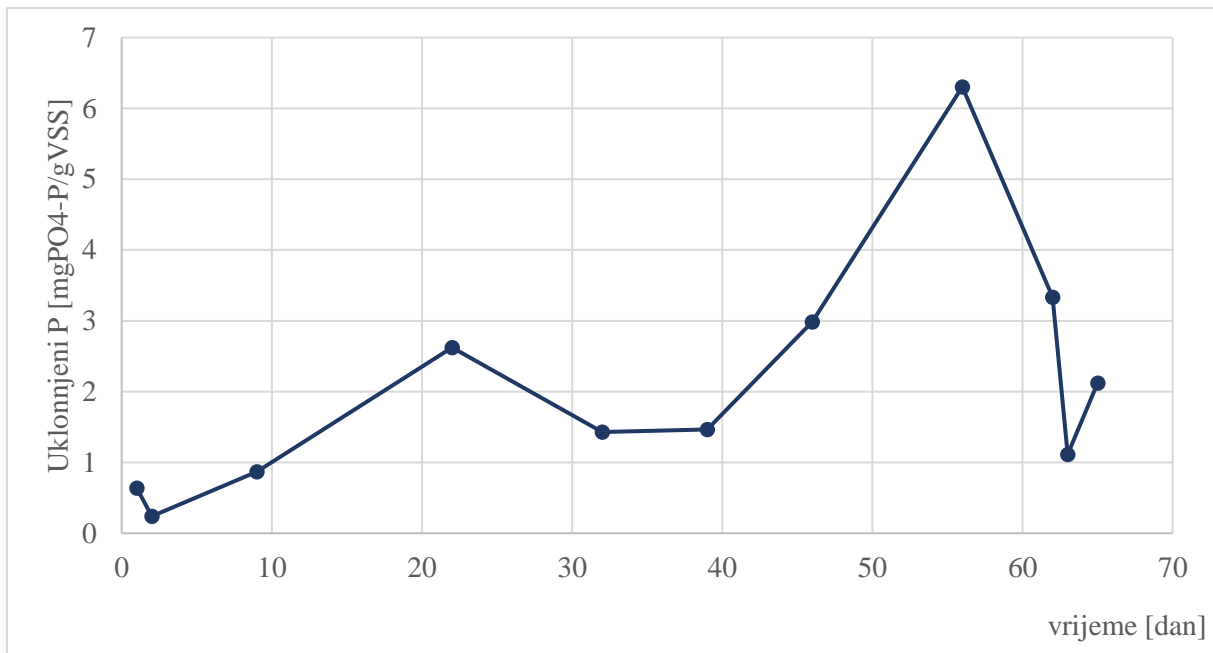
Slika 25. Rezultati anaerobnog testiranja biološke aktivnosti PAO 57. dana pokusa

Na slici 25 prikazano je anaerobno testiranje aktivnosti PAO 57. dana pokusa. Kao što je već prije spomenuto aktivni mulj, a pogotovo PAO se nije uspio prilagoditi na visoki tlak u aerobnoj fazi što potvrđuju i ovi rezultati. Već drugi dan korištenja SDOx uređaja vrijednost ispuštenog ortofosfata iznosi samo $3 \text{ mgPO}_4\text{-P L}^{-1}$ što je gotovo upola manje nego prije početka korištenja SDOx uređaja. Također, tijekom testiranja potrošeno je oko $70 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ KPK dok je kod testiranja 46. dana pokusa potrošeno $210 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ KPK.



Slika 26. Maksimalna specifična brzina otpuštanja fosfora i asimilacije KPK tijekom testiranja aktivnosti PAO u anaerobnoj fazi

Na slici 26 grafički su prikazane izračunate maksimalne specifične brzine otpuštanja fosfora i asimilacije KPK tijekom anaerobne faze pokusa. Iz slike je vidljivo da veća asimilacija organskih tvari prati veće ispuštanje ortofosfata, odnosno da se krivulje dosta dobro poklapaju. Iz toga možemo zaključiti da je gotovo sav izvor ugljika, odnosno acetat u anaerobnoj fazi trošila biomasa PAO i pohranjivala ga u obliku PHA. Energiju potrebnu za ovaj proces PAO je dobivao razgradnjom polifosfata do ortofosfata kojeg je zatim transportirao izvan stanica u vodu. Što je veća specifična brzina ispuštanja ortofosfata to je veći udio PAO u biomasi (Pijuan i sur., 2005). Na slici je vidljivo da se tijekom aklimatizacijskog perioda povećavao udio PAO u aktivnom mulju što se nastavilo i tijekom održavanja stalne SRT vrijednosti. Nagli pad specifične brzine ispuštanja fosfora, a time i asimilacije KPK, dogodio se kada se počeo koristiti SDOx uređaj u aerobnoj fazi. Time još jednom možemo potvrditi rezultate da je visok tlak u SDOx uređaju u aerobnoj fazi negativno djelovao na biomasu PAO koja je odumirala i prestala provoditi svoj metabolizam.



Slika 27. Neto uklonjeni fosfor pri testiranjima aktivnosti PAO

Kako bi se točno provjerilo koliko je fosfora PAO uklanjao tijekom procesa određen je neto uklonjeni fosfor po gramu VSS mulja. Rezultati su tijekom vremena prikazani na slici 27 i može se primjetiti da se maksimalna količina fosfora uklanjala nešto prije početka korištenja SDOx uređaja u aerobnoj fazi što znači da su uvjeti bili optimalni za povećanje mase PAO u aktivnom mulju. U tom trenutku uklanjalo se više od 6 mgPO₄-P/gVSS. Nakon toga je masa neto uklonjenog fosfora po gramu VSS mulja naglo pala što potvrđuje dosadašnje rezultate da je udio PAO u mulju naglo pao, a samim time se smanjila sposobnost uklanjanja fosfora iz otpadne vode.

5. RASPRAVA

Kako bi se uspješno uklanjao fosfor iz otpadne vode potrebno je u mulju uzgojiti biomasu PAO u što većoj koncentraciji. Mulj koji se koristio za pokus dopremljen je s Postrojenja za prečišćavanje otpadne vode grada Sarajeva. To je postrojenje u kojem se provodi klasična biološka obrada otpadne vode za koju nije tipična biomasa PAO u aktivnom mulju. Međutim, postrojenje zbog svoje konstrukcije sadrži aerobne i anaerobne dijelove koji odgovaraju PAO te se vjerovalo da će u aktivnom mulju biti prisutna barem minimalna koncentracija PAO. Ta je pretpostavka bila točna što dokazuje i slika 23 na kojoj su prikazani rezultati anaerobnog testiranja 9. dana pokusa. Na slici se može vidjeti da je došlo do ispuštanja fosfora iz stanica u otpadnu vodu što je tipično za metabolizam PAO. Osim toga došlo je do smanjenja KPK vrijednosti u otpadnoj vodi što u anaerobnoj fazi mogu prouzročiti samo PAO, GAO ili denitrificirajuće bakterije ukoliko je prisutan nitrat koji im služi kao akceptor elektrona u respiratornom lancu.

Hranjiva podloga je bila pripremana kako bi se omogućio što bolji rast PAO i njegova kompetitivna prednost ispred GAO. Prema literaturi kao izvor ugljika i energije potrebno je koristiti hlapive masne kiseline pa je tako u ovom pokusu upotrebljavan acetat koji preferira PAO (Oehmen i sur., 2006). Osim toga, temperatura i pH su bili postavljeni tijekom cijelog eksperimenta tako da odgovaraju PAO kao što je i vidljivo na slici 13.

S ciljem povećanja udjela PAO u biomasu te prilagodbe aktivnog mulja na nove uvjete prvih 35 dana pokusa provodjen je aklimatizacijski period. U tom periodu nije održavan SRT, odnosno nije se izdvajao mulj te su postavljeni optimalni uvjeti za rast PAO. U tom periodu se znatno poboljšala taloživost mulja koja je iznimno bitna za uspješno provođenje obrade otpadne vode. Na slici 17 vidljivo je da se SVI vrijednost s početnih 200 mL g⁻¹ smanjila na oko 100 mL g⁻¹ što je preporučena vrijednost. Također, važno je spomenuti da se u ovom periodu mulj brzo taložio i da je bio gust, a efluent koji se izdvojio iznad je bio bistar. To znači da je mulj bio u povoljnom okruženju te da nije bilo prepreka uspješnom rastu PAO.

U aktivnom mulju sa sarajevskog uređaja bili su prisutni nitrifikanti koji su se uspjeli održati u aktivnom mulju tijekom aklimatizacijskog perioda. Nitrifikanti su spororastuće bakterije pa su im odgovarali uvjeti u kojima se nije održavao SRT. Njihovu prisutnost u tom periodu moguće je dokazati pomoću slike 19. Na toj slici je vidljivo da je koncentracija amonija u efluentu tijekom aklimatizacijskog perioda bila minimalna te da je bila prisutna određena

koncentracija nitrata. Iz toga se može zaključiti da su u aktivnom mulju bile prisutne nitrificirajuće bakterije koje su u aerobnoj fazi provodile oksidaciju amonija do nitrata. To je imalo negativnu posljedicu na PAO zato što u takvim uvjetima OHO, odnosno denitrificirajuće bakterije, mogu u anaerobnim uvjetima koristiti izvor ugljika i trošiti ga za denitrifikaciju koji je brži proces od asimilacije acetata koji provode PAO.

Od 35. dana počeo se održavati stalni SRT od 10 dana što je optimalna vrijednost za rast PAO (Carrera i sur., 2001). To je dovelo do uklanjanja nitrificirajućih bakterija iz aktivnog mulja koje više nisu provodile nitrifikaciju. Osim toga, u bioreaktor je započeto svakodnevno dodavanje 2 mL N-alil tiouree koji je inhibitor nitrificirajućih bakterija. Kako su se nitrifikanti uspješno uklonili iz aktivnog mulja može se zaključiti time što više nije bilo nitrata u efluentu što je vidljivo na slici 19. Također, u tom periodu je došlo do povećanja koncentracije amonija u efluentu što je posljedica prestanka procesa nitrifikacije, ali i povećanje koncentracije izvora dušika u influentu.

Na slici 18 prikazane su vrijednosti TSS i VSS te postotak VSS u TSS tijekom pokusa i vidljivo je da je za vrijeme aklimatizacijskog perioda došlo do smanjenja TSS i VSS vrijednosti iako se nije uklanjao mulj iz reaktora. To je posljedica odumiranja stanica uslijed nedovoljne količine izvora ugljika (KPK) u influentu. Odumiranjem stanice ispuštaju svoj intracelularni materijal u okolinu gdje druge bakterije razgrađuju njihov stanični materijal i koriste ga kao izvor ugljika, dušika i fosfora. 26. dana pokusa povećana je vrijednost KPK u influentu što je dovelo do povećanja TSS i VSS vrijednosti mulja. Međutim, 35. dana pokusa počeo se održavati stalni SRT zbog čega je izdvajano 10% mulja svaki dan te je posljedično došlo do smanjenja VSS i TSS koji se ustalio na vrijednosti između 1 i 1,4 g L⁻¹. Također, u ovom periodu je došlo do značajnog povećanja VSS u TSS zato što su se iz reaktora izbacile anorganske suspendirane tvari, a umjesto nje su u reaktoru rasle žive stanice.

U periodu pokusa kad se održavao stalni SRT došlo je do porasta udjela biomase PAO u aktivnom mulju. To dokazuje povećani udio fosfora u VSS mulja koji je bio maksimalan 50. dana pokusa kao što je vidljivo na slici 22. Osim toga, jasan dokaz prisutnosti biomase PAO u aktivnom mulju moguće je pronaći na slici 24 na kojoj su prikazani rezultati anaerobnog testiranja biološke aktivnosti PAO 46. dana pokusa. Tijekom anaerobne faze, aktivni mulj je ispustio u okolinu 5 mgPO₄-P L⁻¹ što je gotovo dvostruko više nego 9. dana pokusa. Iz ovakvih rezultata možemo zaključiti da su uvjeti pokusa i SRT odgovarali biomasi PAO koji je povećao svoj udio u aktivnom mulju što je bio i cilj.

Do 56. dana pokusa aeracija se provodila upuhivanjem zraka na dno bioreaktora ispod mješala. U takvim uvjetima koncentracija otopljenog kisika tijekom aerobne faze iznosila je između 5 i 8 mgO₂ L⁻¹. Nakon toga se za aeraciju koristio SDOx uređaj koji je postigao koncentraciju kisika u reaktoru tijekom aerobne faze između 15 i 20 mgO₂ L⁻¹ što se može vidjeti i na slici 14. Teoretski, tako visoke koncentracije otopljenog kisika trebale bi djelovati pozitivno na rast i metabolizam aerobnih mikroorganizama. Međutim, dogodilo se upravo suprotno, uslijed visokog tlaka kojem je mulj bio podvrgnut u SDOx uređaju došlo je do razbijanja flokula mulja i odumiranja stanica te do značajnog smanjenja uklanjanja fosfora iz otpadne vode. SVI vrijednost, kao što se može vidjeti na slici 17, bila je u preporučenim vrijednostima, no, došlo je do pojave plivajućeg mulja. Plivajući mulj činile su razbijene flokule aktivnog mulja. To potvrđuje i slika 16 na kojoj je prikazana TSS vrijednost nefiltriranog efluenta. Od početka korištenja SDOx uređaja TSS nefiltriranog efluenta je porasla s 0,06 g L⁻¹ na 0,18 g L⁻¹. Utjecaj na povećanje TSS vrijednosti nefiltriranog efluenta imali su ostaci flokula koji se nisu uspjeli istaložiti za vrijeme faze taloženja.

Tijekom cijelog eksperimenta KPK vrijednost nefiltriranog efluenta je veća od filtriranog što je i logično jer se filtracijom ukloni dio suspendiranih tvari. Međutim, ta razlika je puno veća od početka korištenja SDOx uređaja za aeraciju kao što je vidljivo na slici 15. Kao što je već spomenuto zbog visokog tlaka došlo je do odumiranja stanica koje su ispuštale svoj intracelularni materijal u okolinu. Velik dio ispuštene tvari bio je netopljiv i organskog podrijetla što je dovelo do povećanja KPK vrijednosti u nefiltriranom efluentu. KPK vrijednost u filtriranom efluentu je čitavo vrijeme trajanja pokusa bila zadovoljavajuća za ispuštanje otpadnih voda tj. manja od 125 mgO₂ L⁻¹. Došlo je do vidljivog povećanja otopljenog KPK nakon prelaska na aeraciju sustavom SDOx, ali je i takav efluent još uvijek bio zadovoljavajuće kvalitete pa se može ustvrditi da visoki tlak nije imao značajan utjecaj na uklanjanje otopljenog KPK.

Na slici 25 prikazani su rezultati anaerobnog testiranja aktivnosti PAO 57. dana pokusa, odnosno 2. dana od kad je započeto korištenje SDOx uređaja u aerobnoj fazi. Može se vidjeti da je još uvijek prisutna biomasa PAO u mulju koja provodi uklanjanje fosfora, međutim tijekom anaerobne faze ispušteno je dva puta manja koncentracija fosfora nego prije korištenja SDOx uređaja. Negativan utjecaj visokog tlaka vidljiv je i na slici 26 gdje su prikazane maksimalne specifične brzine otpuštanja fosfora i asimilacije KPK tijekom testiranja biološke aktivnosti PAO u anaerobnoj fazi. Moguće je vidjeti da su od 56. dana maksimalne specifične brzine otpuštanja fosfora i asimilacije KPK naglo pale te su na kraju pokusa bile gotovo 0. Iz

toga možemo još jednom potvrditi rezultate da je SDOx, odnosno visok tlak negativno djelovao na biomasu PAO koja je gotovo prestala provoditi svoj metabolizam. Također, i na slici 27 je vidljivo da je SDOx negativno utjecao i da je došlo do naglog smanjenja neto uklonjenog fosfora.

6. ZAKLJUČCI

1. U pokusu je detektirana prisutnost i aktivnost PAO koja je rasla tijekom vremena do početka korištenja SDOx uređaja u aerobnoj fazi. Možemo zaključiti da su postavljeni uvjeti procesa bili optimalni te da se iz sarajevskog mulja uspješno uzgojila biomasa PAO koja nije bila u velikom udjelu u aktivnom mulju, ali je definitivno bila prisutna te djelomično provodila napredno biološko uklanjanje fosfora.
2. SDOx uređaj je uspješno otopio visoke koncentracije kisika u suspenziji mulja, međutim visoki tlak potreban za otapanje kisika negativno je djelovao na aktivni mulj, a pogotovo na biomasu PAO koja je odumrla i prestala provoditi napredno biološko uklanjanje fosfora.
3. Zbog djelovanja visokog tlaka tijekom aerobne faze došlo je do razbijanja flokula aktivnog mulja te je došlo do pojave plivajućeg mulja koji je iznimno nepoželjan u obradi otpadne vode.
4. Visoki tlak nije imao značajnijeg utjecaja na uklanjanje otopljenih organskih tvari aktivnim muljem.
5. Prema rezultatima istraživanja može se ustvrditi da bi primjena SDOx sustava bila moguća kod procesa obrade aktivnim muljem koji ne upotrebljavaju taloženje kao metodu razdvajanja mulja od obrađene vode, kao što je slučaj kod membranskih bioreaktora te da nije primjenjiva kod EBPR.

7. ZAHVALE

Najljepše se zahvaljujem mojem mentoru prof.dr.sc. Marinu Matošiću sa Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta koji me je stručno i strpljivo vodio kroz sve faze izrade ovog rada te svojim savjetima, znanjem, iskustvom i riječima podrške uvijek bio spreman pomoći pri izradi ovog rada.

Također se zahvaljujem mag.ing. Vladi Crneku na pomoći i savjetima kod izvođenja eksperimentalnog dijela rada.

8. POPIS LITERATURE

1. Barnard, J. L. (1975) Nutrient removal in biological systems. *Water Pollut. Control* **74**, 143-154.
2. Barnard, J. L. (1976) A review of biological phosphorus removal in the activated sludge process. *Water SA* **2**, 136-144.
3. BlueInGreen (2017, 11. listopada) Oxygenation Brochure, Fayetteville, <<http://blueingreen.com/oxygenation/>>. Pristupljeno 15. travnja 2018.
4. Bond P., Hugenholtz P., Keller J. and Blackall L. (1995) Bacterial community structures of phosphate-removing and non-phosphate-removing activated sludge from sequencing batch reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 1910-1916.
5. Carrera, J., Sarra, M., Lafuente, F., Vicent, T. (2001) Effect of different operational parameters in the enhanced biological phosphorus removal process. Experimental design and results. *Environ Technol* **22**, 1439–1446.
6. Comeau, Y., Hall, K. J., Hancock, R. E. W., Oldham, W. K. (1986) Biochemical model for biological enhanced phosphorus removal. *Wat. Res.* **20**, 1511-1521.
7. Ekama, G. A., Wentzel, M. C. (2008) Nitrogen Removal. U: Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design, IWA Publishing, London, str. 87-134.
8. Filipe, C. D., Daigger, G. T., Grady, Jr. C. L. (2001) pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms. *Water Environment Research* **73(2)**, 223-232.
9. Glancer-Šoljan, M., Landeka Dragičević, T., Šoljan, V., Ban, S. (2001) Biološka obrada otpadnih voda – interna skripta, Kugler d.o.o., Zagreb

10. Guerrero, J., Guisasola, A., Baeza, J. A. (2011) The nature of the carbon source rules the competition between PAO and denitrifiers in systems for simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal. *Water Res* **45**, 4793–4802.
11. Hollender, J., van der Krol, D., Kornberger, L., Gierden, E., Dott, W. (2002) Effect of different carbon sources on the enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor. *World J Microb Biot* **18**, 355-360.
12. Hu, Z., Wentzel, M. C., Ekama G. A. (2002) Anoxic growth of phosphate-accumulating organisms (PAOs) in biological nutrient removal activated sludge systems. *Water Res* **36**, 4927–4937.
13. Hu, Z., Houweling, D., Dold, P. (2012) Biological nutrient removal in municipal wastewater treatment: new directions in sustainability. *J Environ Eng* **138**, 307-317.
14. Kuba, T., Wachtmeiser, A., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1994) Effect of nitrate on phosphorus removal systems. *Wat. Sci. and Tech.* **30(6)**, 263-269.
15. Librán-Vázquez, B. (2015) Influence of concentrated oxygen delivery technology in solid/liquid separation of aerobic systems. UNESCO-IHE, Delft
16. Liu, Y., Chen, Y., Zhou, Q. (2007) Effect of initial pH control on enhanced biological phosphorus removal from wastewater containing acetic and propionic acids. *Chemosphere* **66**, 123-129.
17. Lopez-Vazquez, C. M., Oehmen, A., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., Yuan, Z., van Loosdrecht, M. C. M. (2009) Modeling the PAO-GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature. *Water Research* **43(2)**, 450-462.
18. Lopez-Vazquez, C. M., Welles, L., Lotti, T., Ficara, E., Rene, E. R., van den Brand, T. P. H., Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M. (2016) Testovi aktivnosti aktivnog mulja. U: Eksperimentalne metode u obradi otpadnih voda, IWA Publishing, London, str. 7-133

19. Matošić, M. (2015) *Membranski bioreaktori u zaštiti okoliša*, Interna skripta PBF, Zagreb
20. Mino, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1998) Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Research* **32(11)**, 3193-3207.
21. Oehmen, A., Saunders, A. M., Vives, M. T., Yuan, Z., Keller, J. (2006) Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. *Journal of Biotechnology* **123(1)**, 22-32.
22. Oehmen, A., Lemos, P. C., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Blackall, L. L., Reis, M. A. (2007) Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale. *Water Research* **41(11)**, 2271-2300.
23. Panswad, T., Dounghai, A., Anotai, J. (2003) Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Res.* **37(2)**, 409–415.
24. Pijuan M., Guisasola A., Baeza J.A., Carrera J., Casas C., Lafuente J. (2005) Aerobic phosphorus release linked to acetate uptake: influence of PAO intracellular storage compounds. *Biochem Eng J* **26**, 184–90.
25. Pijuan, M., Ye, L., Yuan, Z. (2010) Free nitrous acid inhibition on the aerobic metabolism of poly-phosphate accumulating organisms. *Water Research* **44(20)**, 6063-6072.
26. Poltak, R. F. (2005) *Sequencing Batch Reactor Design and Operational Considerations*, NEIWPC, Massachusetts.
27. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (2013) *Narodne novine* **80**, Zagreb

28. Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (2016) *Narodne novine* **3**, Zagreb
29. Rodrigo M. A., Seco A., Ferrer J., Penya-Roja J. M. (1999) The effect of the sludge age on the deterioration of the enhanced biological phosphorus removal process. *Environ Tech* **20(10)**, 1055-1063.
30. Saito, T., Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M. (2004) Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Res* **38**, 3760–3768.
31. Schindler, D. W. (2006) Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography* **51(1)**, 356-363.
32. Schönborn, C., Bauer, H. D., Röske, I. (2001) Stability of enhanced biological phosphorus removal and composition of polyphosphate granules. *Water Res* **35**, 3190–3196.
33. Smolders, G. J. F., van der Meij, J., van Loosdrecht, M. C. M. i Heijnen, J. J. (1994) Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence. *Biotechnology and Bioengineering* **43(6)**, 461-470
34. Song, K. G., Cho, J., Ahn, K. H. (2009) Effects of internal recycling time mode and hydraulic retention time on biological nitrogen and phosphorus removal in a sequencing anoxic/anaerobic membrane bioreactor process. *Bioprocess Biosyst Eng* **32**, 135–142.
35. Tchobanoglous, G., Burton, F. L., Stensel, H. D. (2003) *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, Metcalf & Eddy, 4. izdanje
36. Wang, Y., Geng, J., Ren, Z., He, W., Xing, M., Wu, M. (2011) Effect of anaerobic reaction time on denitrifying phosphorus removal and N₂O production. *Bioresour Technol* **102**, 5674–5684.

37. Wentzel, M. C., Lötter, L. H., Loewenthal, R. E., Marais, G. R. (1986) Metabolic behaviour of *Acinetobacter spp.* in enhanced biological phosphorus removal - a biochemical model. *Water SA* **12(4)**, 209-224.
38. Wentzel, M. C., Comeau, Y., Ekama, G., van Loosdrecht, C. M., Brđanovic, D., (2008) Enhanced Biological Phosphorus Removal. U: *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*, IWA Publishing, London, str. 155-220.
39. Ye, L., Pijuan, M., Yuan, Z. (2010) The effect of free nitrous acid on the anabolic and catabolic processes of glycogen accumulating organisms. *Water Res* **44**, 2901–2909.
40. Zeng, R. J., van Loosdrecht, M. C. M., Yuan, Z. and Keller, J. (2003) Metabolic model for glycogen-accumulating organisms in anaerobic/aerobic activated sludge systems. *Biotechnology and Bioengineering* **81(1)**, 92-105.

9. SAŽETAK

Naziv rada: Utjecaj aeracije pod tlakom na uspješnost poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode

Autor: Karlo Koraj

Poboljšano biološko uklanjanje fosfora (EBPR) mikrobni je proces za uklanjanje većih količina fosfora iz otpadne vode tako što se omogućuje uvjeti za rast mikroorganizama koji nakupljaju fosfor (PAO) u obliku unutarstaničnih polifosfata. Prvi dio pokusa bio je uzgoj aktivnog mulja obogaćenog s PAO iz originalnog mulja sa sarajevskog uređaja. Tijekom uzgoja postavljeni su optimalni uvjeti (pH, temperatura, supstrat) koji omogućuju rast PAO i njihovu kompetitivnu prednost ispred ostalih mikroorganizama u mulju. Također, provodile su se izmjene aerobnih i anaerobnih uvjeta što je nužno za provođenje metabolizma PAO i uklanjanja fosfora. Kako bi se omogućilo što brže i potpunije otapanje kisika u supenziji aktivnog mulja, istražuju se novi procesi koji troše manje energije. SDOx je nova tehnologija koja ima mogućnost otapanja kisika pod visokim tlakom, ali je nedovoljno poznato kakav utjecaj ima na aktivnost i karakteristike aktivnog mulja s PAO. Zato je u ovom radu odlučeno provjeriti ima li SDOx potencijalnu primjenu u aeraciji aktivnog mulja. Nakon što je uzgojen aktivni mulj s PAO koji je provodio poboljšano biološko uklanjanje fosfora, provjeren je utjecaj korištenja SDOx uređaja tijekom aerobne faze. Rezultati su pokazali da visoki tlak potreban za otapanje kisika negativno djeluje na aktivni mulj, a pogotovo na biomasu PAO koja je odumrla i prestala provoditi napredno biološko uklanjanje fosfora. Osim toga, uslijed visokog tlaka došlo je do razbijanja flokula aktivnog mulja te se pojavio plivajući mulj koji je iznimno nepoželjan u obradi otpadne vode.

Ključne riječi: PAO, SDOx, SBR, aktivni mulj, uklanjanje fosfora

10. SUMMARY

Naziv rada: The effect of aeration under pressure on efficacy of enhanced biological phosphorus removal from wastewater

Author: Karlo Koraj

Enhanced biological phosphorus removal (EBPR) is a microbial process for removing larger quantities of phosphorus from wastewaters by setting conditions for growth of microorganisms that accumulate phosphorus (PAO) in the form of intracellular polyphosphates. The first part of the experiment was cultivation of activated sludge enriched with PAO from the original sludge from the Sarajevo wastewater treatment plant. During the cultivation, optimal conditions (pH, temperature, sludge age, fatty acid concentration, etc.) have been established which favor PAO over other microorganisms in sludge and their successful growth. During the experiment, activated sludge has been cycled between anaerobic and aerobic conditions which is crucial for PAO metabolism and phosphorus removal. In order to enable better oxygen dissolution in activated sludge suspension, new processes are explored which would reduce energy consumption. SDOx is a new technology that has the ability to dissolve oxygen under high pressure, but it is not well known what impact it has on the activity and characteristics of activated sludge with PAO. Therefore, it is decided to test if SDOx has potential application in aeration of the activated sludge. After the activated sludge with PAO has been cultivated, the effect of using SDOx in aerobic phase on the activated sludge was tested. The results have shown that the high pressure required to dissolve oxygen has negatively affected the activated sludge and that PAO biomass has died and stopped conducting phosphorus removal. In addition, high pressure broke flocs in activated sludge and a floating sludge appeared which is extremely unwanted in wastewater treatment.

Keywords: PAO, SDOx, SBR, activated sludge, phosphorus removal