

# Organski otpad kao dodatni izvor ugljika za denitrifikaciju otpadne vode

---

**Karić, Antonija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:760385>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-06**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Antonija Karić**  
0058213280

**ORGANSKI OTPAD KAO DODATNI IZVOR UGLJIKA  
ZA DENITRIFIKACIJU OTPADNE VODE**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biološka razgradnja organskih spojeva

**Mentor:** prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević

**Zagreb, 2022.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam

## Organski otpad kao dodatni izvor ugljika za denitrifikaciju otpadne vode

Antonija Karić, 0058213280

**Sažetak:** Onečišćenje vodnih tijela može imati ozbiljne posljedice za okoliš i ljudsko zdravlje, jedna od kojih je eutrofikacija rijeka. Dušikovi se spojevi iz otpadne vode najčešće uklanjaju biološkom denitrifikacijom, koja zahtijeva izvor ugljika kao donor elektrona. Odabir izvora ugljika važan je zbog svojeg utjecaja na stopu denitrifikacije, učinkovitosti uklanjanja nitrata i strukturu mikrobiološke zajednice. Komercijalno dostupni izvori ugljika predstavljaju značajan trošak, stoga se istražuju alternativni izvori. Potencijalni povoljniji alternativni izvori ugljika su organski otpad i otpadna voda prehrambene industrije, obzirom na visok sadržaj organskih spojeva.

**Ključne riječi:** denitrifikacija, izvori ugljika, organski otpad

**Rad sadrži:** 29 stranica, 7 slika, 2 tablice, 38 literaturnih navoda, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević

**Datum obrane:** 7. rujna 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Nutrition

Department of Food Engineering  
Laboratory for the Biological Waste Water Treatment

Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Nutrition

**Organic waste as an additional source of carbon for wastewater denitrification**

**Antonija Karić, 0058213280**

**Abstract:** Water pollution can have serious consequences for the environment and human health, one of which is river eutrophication. Nitrogen compounds are most often removed from wastewater by the process of biological denitrification, which requires a carbon source as an electron donor. The choice of carbon source is important because of its influence on the rate of denitrification, the efficiency of nitrate removal and the structure of the microbial community. Commercially available carbon sources present a significant cost, which is why alternative sources are being explored. Organic waste and wastewater from the food industry are potential more favorable alternative sources of carbon, given their high content of organic compounds.

**Keywords:** denitrification, carbon sources, organic waste

**Thesis contains:** 29 pages, 7 figures, 2 tables, 49 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** Tibela Landeka Dragičević, PhD, Full Professor

**Thesis defended:** September 7, 2022

## SADRŽAJ

1.UVOD .....	1
2.TEORIJSKI DIO.....	2
2.1.ONEČIŠĆENJE VODE DUŠIKOVIM SPOJEVIMA .....	2
2.2.DENITRIFIKACIJA.....	3
2.3.MIKROORGANIZMI .....	4
2.4.ČIMBENICI DENITRIFIKACIJE .....	5
2.4.1. TEMPERATURA.....	6
2.4.2. PH .....	6
2.4.3. KONCENTRACIJA OTOPLJENOG KISIKA .....	6
2.4.4. IZVOR UGLJIKA.....	8
2.5.DONORI ELEKTRONA .....	9
2.6.OTPAD HRANE KAO ALTERNATIVNI IZVOR UGLJIKA .....	14
3.ZAKLJUČCI.....	25
4.LITERATURA.....	26

## 1. UVOD

Onečišćenje različitih vodnih tijela može imati ozbiljne posljedice za okoliš i ljudsko zdravlje. Spojevi koji sadrže dušik primjeri su onih zagađivača koji mogu stvoriti ozbiljne probleme kada se ispuste u okoliš, kao što su eutrofikacija rijeka, pogoršanje kvalitete vode i potencijalna opasnost za zdravlje ljudi ili životinja (Ghafari i sur., 2008).

Pročišćavanje otpadnih voda provodi se energetski i financijski intenzivnim biološkim procesima, a najčešće korištena metoda uklanjanja nitrata iz otpadnih voda je biološka denitrifikacija. Prilikom ovog se procesa u anoksičnim uvjetima provodi redukcija nitrata i nitrita do plinovitog dušika, uz prisutnost donora elektrona. Reakcije redukcije provode denitrificirajuće bakterije, od kojih je najčešći rod *Pseudomonas*.

Više je čimbenika koji utječu na proces denitrifikacije, a jedan od njih je izvor ugljika - donora elektrona. Zbog nedovoljnih se količina donora elektrona može nakupljati  $\text{NO}_2^-$ , što zatim može djelovati toksično na denitrifikacijske enzime ili uzrokovati povećanu emisiju stakleničkog plina  $\text{N}_2\text{O}$ .

U vodama s niskom koncentracijom organskih spojeva potrebno je osigurati donore elektrona dodavanjem vanjskog izvora ugljika. Najčešće korišteni vanjski izvor za provedbu denitrifikacije u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda je metanol, budući da je najpovoljniji.

Organski otpad i otpadna voda prehrambene industrije imaju potencijal biti povoljniji u pogledu cijene procesa i utjecaja na zaštitu okoliša.

Cilj ovog rada je kroz pregled novije literature pružiti uvid u mogućnost korištenja organskog otpada kao alternativnog izvora ugljika za proces denitrifikacije u pročišćavanju otpadnih voda.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. ONEČIŠĆENJE VODE DUŠIKOVIM SPOJEVIMA

Onečišćenje vode smatra se sve većim ekološkim problemom koji, uz klimatske promjene i sve veći rast stanovništva, zbog smanjenja pouzdane opskrbe vodnim resursima predstavlja izazov znanstvenicima. Tijekom prošlog se stoljeća unos dušika u kopnene ekosustave približno udvostručio (Manning i sur., 2006). Velik dio kontaminacije voda nitratima potječe od primjene gnojiva u poljoprivredi, nepropisnog odlaganja otpadnih voda te od otpadnih voda kućanstva i industrije, kao i od životinjskog otpada, posebice sa životinjskih farmi. Posljedice ovakvog onečišćenja su brojne, uključujući smanjenje raznolikosti biljnih vrsta te nemogućnost izravne upotrebe resursa podzemnih voda za ljudsku potrošnju. Također, nekoliko se štetnih učinaka na okoliš kao i na ljudsko zdravlje pripisuje onečišćenju izvora voda dušikom i njegovim spojevima. Stoga su u mnogim zemljama na snazi strogi propisi o koncentracijama dušikovih spojeva u otpadnim vodama. Prema Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda određene su granične vrijednosti emisija ukupnog dušika na 15 mg/L, amonija na 10 mg/L, nitrita na 1 mg/L te nitrata na 2 mg/L (NN 26/2020).

Zahvaljujući svojoj ulozi u biosintezi nukleinskih kiselina, proteina i drugih sastavnica stanice, dušik (N) se smatra jednim od najvažnijih nutrijenata u biosferi. Uz fosfor je poznat kao nutrijent. U prirodi se pojavljuje u više oksidacijskih stanja koja živi organizmi imaju sposobnost mijenjati. Dodatno, oksidacijska stanja koja bakterije mijenjaju mogu biti pozitivna ili negativna, ovisno o uvjetima (aerobni/anaerobni) pri kojima se ta promjena događa. U otpadnim se vodama dušik najčešće pojavljuje u obliku amonijaka ( $\text{NH}_3$  - oksidacijski broj III), amonijeva iona ( $\text{NH}_4^+$  - oksidacijski broj III), plinovitog dušika ( $\text{N}_2$  - oksidacijski broj 0), nitritnog iona ( $\text{NO}_2^-$  - oksidacijski broj +III) te nitratnog iona ( $\text{NO}_3^-$  - oksidacijski broj +V) (Metcalf i Eddy, 2003). Različita oksidacijska stanja čine proces njegovog uklanjanja složenim i izazovnim.

Povećane koncentracije dušika u vodnim tijelima rezultiraju raznim ekološkim problemima, kao što su atmosferski aktivni plinovi koji pridonose globalnom zatopljenju, eutrofikacija rijeka i cvjetanje toksičnih algi. Stoga je u cilju zaštite okoliša potrebno kontrolirati onečišćenje

te ukloniti dušikove spojeve iz otpadnih voda. U ovu su svrhu razvijene i primjenjivane različite tehnologije pročišćavanja koje se prema značajkama procesa mogu podijeliti na fizikalne, biološke i kemijske. Uklanjanje nitrata metodama kao što su adsorpcija ili metoda sutaloženja nije izvedivo zbog njihove stabilnosti i visoke topivosti, što rezultira visokom potrošnjom energije i cijenom obrade onečišćene vode. S druge strane, biološke metode poput nitrifikacije, denitrifikacije i anaerobne oksidacije amonijaka (Anammox) smatraju se učinkovitima u poboljšanju kvalitete vode.

## 2.2. DENITRIFIKACIJA

Denitrifikacija je anoksičan heterotrofan respiracijski proces kojeg provode denitrificirajuće bakterije, u kojem se provodi redukcija nitrata ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) preko međuprodukata nitrita ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), dušikovog monoksida ( $\text{NO}$ ) i didušikovog oksida ( $\text{N}_2\text{O}$ ) do plinovitog dušika ( $\text{N}_2$ ) (Metcalf i Eddy, 2003; Gerardi, 2002). Osim što se kao jedan od procesa za postizanje biološkog uklanjanja hranjivih tvari (BNR, engl. *Biological Nutrient Removal*) koristi za poboljšanje kvalitete voda, predstavlja glavnu granu biogeokemijskog ciklusa dušika koja vraća reaktivni dušik u atmosferu i održava ravnotežu njegovog globalnog proračuna.

Biološka denitrifikacija odvija se u četiri koraka katalizirana s četiri mikrobne reduktaze: nitrat reduktaza (Nar), nitrit reduktaza (Nir), reduktaza dušikovog (II) oksida (Nor) i reduktaza dušikovog (I) oksida (Nos) (Metcalf i Eddy, 2003; Gerardi, 2002).

Nar katalizira reakciju redukcije nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ) do nitrita ( $\text{NO}_2^-$ ), jednačba [1], a ovisno o denitrificirajućem organizmu ovaj se disimilacijski tip enzima nalazi vezan za membranu ili u periplazmatskom prostoru.



Nir je enzim odgovoran za redukciju nitrita do dušikovog monoksida ( $\text{NO}$ ), jednačba [2]. Postoje dva disimilacijska oblika obzirom na kofaktor, oba smještena u periplazmatskom prostoru.



Nor provodi redukciju  $\text{NO}$  do didušikovog oksida ( $\text{N}_2\text{O}$ ), jednačba [3], te je posljednji identificiran enzim koji sudjeluju u procesu denitrifikacije. U stanici se nalazi vezan za membranu.





Zatim reakciju redukcije N<sub>2</sub>O u molekularni dušik (N<sub>2</sub>) katalizira Nos, jednadžba [4], homodimer s neuobičajeno dugačkim N-terminalnim krajem usmjerenim prema periplazmatskom prostoru.



U redoks reakciji respiracije nitrata elektroni se prenose od organskog spoja koji djeluje kao elektron donor do nitrata i nitrita koji imaju ulogu akceptora elektrona. Redukcija nitrita do dušikovog monoksida ključan je korak procesa denitrifikacije koji ograničava njegovu brzinu. Ova je reakcija katalizirana nitrit reduktazom (Nir) koju inhibira visoka koncentracija nitrita. Kao posljedica inhibicije Nir dolazi do smanjenja brzine denitrifikacije nitrita te didušik oksid reduktaze (Nos), što zatim dovodi do povećanja emisije N<sub>2</sub>O (Zhou i sur., 2008; Soto i sur., 2007). N<sub>2</sub>O je snažan staklenički plin koji se ispušta kao rezultat nepotpune heterotrofne denitrifikacije kada se završni korak ne provodi učinkovito. Obzirom da ima 300 puta veći potencijal globalnog zagrijavanja od ugljikovog dioksida (CO<sub>2</sub>) te da mu je životni vijek u atmosferi otprilike 150 godina, opisan je kao najveći pojedinačni uzročnik oštećenja ozona. Jedini poznati biološki način za smanjenje N<sub>2</sub>O je njegova redukcija u N<sub>2</sub> pomoću reduktaze dušikovog monoksida (Nos).

### 2.3. MIKROORGANIZMI

Iako se širok spektar potencijala za denitrifikaciju nalazi u bakterijama, arhejama i nekim eukariotima (npr. gljivama), redukciju nitrata u prirodnim i projektiranim ekosustavima prvenstveno provode bakterije (Lu i sur., 2014; Cabello i sur. 2004; Knowles 1996; Shoun i sur. 1992; Knowles 1982).

Većina denitrifikacijskih bakterija fakultativni su anaerobi sa sposobnošću dušikovih oksida kao akceptora elektrona u odsutnosti kisika. Ovisno o tome radi li se o heterotrofima ili autotrofima, donori elektrona mogu biti izvedeni iz organskih spojeva ili anorganskih spojeva poput vodika (H<sub>2</sub>). U reaktorima se također mogu pronaći miksotrofne bakterije, poput nekih vrsta rodova *Paracoccus* i *Presudomonas*, koje mogu koristiti i organske i anorganske supstrate. Trenutno je poznat ograničen broj kemolitoautotrofa sa sposobnošću provođenja denitrifikacije, dok su kemoorganoheterotrofni denitrifikatori raspoređeni u velikom broju fizioloških i taksonomskih skupina (Knowles 1982). Većina denitrifikanata svrstava se u rodove *Alcaligenes*, *Bacillus* i *Pseudomonas*, a dosad je identificirano više od 50 rodova i 130 vrsta. Neki od njih su *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*,

*Arthrobacter*, *Halobacterium*, *Hypomicrobium*, *Kingella*, *Methanonas*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Axotobacter*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Denitrobacillus*, *Propionicbacterium*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Spirillum*, *Thiobacillus*, *Xanthomonas* (Grgas i sur., 2021; Shapleigh, 2006). Bakterije roda *Pseudomonas* najčešći su i najrasprostranjeniji denitrifikanti te kao donore elektrona mogu koristiti širok spektar organskih molekula, uključujući metanol, ugljikohidrate, organske kiseline, alkohole, itd.

Neki od autotrofnih organizama sposobnih za denitrifikaciju su *Thiobacillus denitrificans*, *Paracoccus denitrificans* i *Rhodopseudomonas sphaeroides*.

U miješanoj bakterijskoj populaciji, dva različita bakterijska fenotipa imaju mogućnost utjecati na ravnotežu nitrata i nitrita: (i) nitrat respirirajuće bakterije koje ne mogu reducirati nitrit, i (ii) prave denitrificirajuće bakterije koje reduciraju nitrat i nitrit do plinovitog dušika (Szekeres i sur., 2002; Glass i Silversten, 1998). Od ta dva tipa nitrat respirirajuće bakterije ubrzo postanu dominantne zahvaljujući velikoj brzini rasta, što posljedično uzrokuje akumulaciju nitrita. Korištenjem nitrita se zatim pravi denitrifikanti nastavljaju razvijati te postaju dominantni tip. Brojnost i raznolikost denitrifikacijskih zajednica varira ovisno o reaktoru te uglavnom ovisi o donorima elektrona, uvjetima rada i karakteristikama ulazne vode (Pang i sur., 2021). Tako se prethodno spomenute miksotrofne bakterije rodova *Paracoccus* i *Pseudomonas* mogu pronaći u autotrofnim denitrifikacijskim reaktorima na bazi vodika, rodovi *Thiobacillus* i *Sulfurimonas* u autotrofnim denitrifikacijskim reaktorima na bazi sumpora, dok je u autotrofnim reaktorima za denitrifikaciju na bazi  $Fe^{2+}$  *Gallionellaceae* dominantan rod.

Na regulaciju denitrifikacije, odnosno načina rada denitrificirajućih organizama, utjecaj imaju dostupnost kisika, nitrata, nitrita i dušikovog monoksida. Djeluju na transkripciju i kasniju izgradnju denitrifikacijskih enzima, što je intenzivno proučavano na sojevima *Paracoccus denitrificans* i *Pseudomonas aeruginosa*. Svaki od denitrificirajućih enzima različito reagira na prisutnost ovih signala.

## 2.4. ČIMBENICI DENITRIFIKACIJE

Proces denitrifikacije ovisi o nizu čimbenika, uključujući koncentraciju otopljenog kisika, koncentracije nitrata i nakupljanje nitrita tijekom procesa te okolišne uvjete poput temperature i pH vrijednosti. No kritično važan među čimbenicima denitrifikacije je prisutnost i priroda donora elektrona (Grgas i sur., 2021; Zhang i Zhang, 2018; Dhamole i sur., 2015; Strong i sur., 2011; Gerardi 2002; Oh i Silverstein, 1999; Metcalf i Eddy, 2003).

### **2.4.1. TEMPERATURA**

Brzina denitrifikacije povećava se porastom temperature, a usporava njenim smanjenjem. Optimalni temperaturni raspon za denitrifikaciju je 20-30 °C, a pri <5 °C denitrifikacija je inhibirana. Međutim, usporena se stopa denitrifikacije pri niskim temperaturama može kompenzirati povećanjem koncentracije mikrobne biomase (MLVSS, engl. *Mixed Liquor Volatile Suspended Solids*) (Gerardi, 2002). Osim što direktno utječe na stopu denitrifikacije, temperatura može imati i indirektne utjecaje obzirom da o njoj ovise faktori poput mikrobiološke aktivnosti i topivosti plinova (kisika). Temperature izvan optimalnih vrijednosti mogu inhibirati rast i aktivnost denitrifikanata, dok se njenim porastom smanjuju koncentracije otopljenog kisika (DO, engl. *Dissolved Oxygen*).

### **2.4.2. pH**

Većina neutrofilnih denitrifikacijskih bakterija ima optimalni pH u rasponu između 7,5 i 9,5, obzirom da pH ima utjecaj na sve enzime koji ispravno djeluju pri svojoj optimalnoj vrijednosti. U procesu denitrifikacije utječe na reduktaze ili transportere elektrona, koji mogu preferirati specifične reduktaze kao akceptore njihovih elektrona. Pri suboptimalnim je pH vrijednostima opaženo nakupljanje intermedijera procesa, dok je pri niskim pH brzina denitrifikacije usporena. Optimalnom vrijednosti smatra se raspon 7,0 – 7,5 (Grgas i sur., 2021; Gerardi, 2002).

### **2.4.3. KONCENTRACIJA OTOPLJENOG KISIKA**

Proces denitrifikacije proizvodi manji doprinos energije od aerobne respiracije, zbog čega denitrificirajuće bakterije u aerobnim uvjetima preferiraju kisik kao krajnji akceptor elektrona. Kisik djeluje kao alternativni, energetski povoljniji akceptor za fakultativne denitrifikacijske bakterije te se posljedično denitrifikacija većinom odvija u anaerobnim uvjetima. Kisik također djeluje na regulaciju sinteze enzima nitrat reduktaze, a aktivnost skoro svih dušikovih oksid reduktaza suprimirana je u njegovoj prisutnosti. Stoga, kisik kontrolira denitrifikaciju na dvije razine: reverzibilna inhibicija aktivnosti denitrifikacijskih enzima i regulacija ekspresije gena. Zbog razlika u doprinosu energije procesa aerobne respiracije i anoksične respiracije BPK (BPK, *Biokemijska Potrošnja Kisika*) denitrificirajuće bakterije pri visokoj koncentraciji otopljenog kisika (> 1,0 mg/L) aktiviraju enzimski sustav za korištenje slobodnog

molekularnog kisika i deaktiviraju enzimski sustav za korištenje nitritnih i nitratnih iona.

Kisik inhibira proces denitrifikacije u čistim kulturama fakultativnih denitrifikacijskih bakterija tako da supstratni elektroni mogu prolaziti do kisikovih citokroma.

U literaturi je predloženo kako bi model ovisnosti inhibicije denitrifikacije o koncentraciji otopljenog kisika mogao pratiti model praga, odnosno kako se denitrifikacija odvija vrlo slabo ili u potpunosti izostaje ukoliko koncentracija u ekosustavu dosegne vrijednost praga od samo 0,2 mg/L.

Eckenfelder (1989) je predložio jednostavan model inhibicije kisika, koji predviđa da će denitrifikacija prestati kada se otopljeni kisik poveća na više od 1 mg/L, prema jednadžbi [5]:

$$r_D = r_{D, \max} \times 1.09^{(T-20)} (1-DO) \quad [5]$$

U jednadžbi  $r_D$  označava opaženu specifičnu brzinu denitrifikacije (g-NO<sub>3</sub>-N /g-MLVSS /d),  $r_{D, \max}$  anoksičnu specifičnu brzinu denitrifikacije (g-NO<sub>3</sub>-N /g-MLVSS /d), T temperaturu vode (8 °C), a DO otopljenu miješanu tekućinu.

Ova jednadžba predložena je u svrhu objašnjenja pojave denitrifikacije pri smanjenoj stopi u aerobnoj miješanoj tekućini. Ipak, ne postoje dokazi da je inhibicija brzine denitrifikacije kisikom linearna obzirom na koncentraciju DO.

Dodatno, zabilježene su stope istovremene nitrifikacije i denitrifikacije pri koncentraciji od čak 3 mg/L, iako su stope bile manje od 25 % anoksične stope. U nekoliko je istraživanja objavljeno kako čisti sojevi denitrifikacijskih bakterija rastu istovremeno koristeći i kisikove i nitratne akceptore elektrona.

Anoksična područja mogu postojati u flokulama aktivnog mulja, posebice većim od 100 μm, te takva mikrokruženja mogu omogućiti istovremenu nitrifikaciju u vanjskom području u kontaktu s vodenim DO i denitrifikaciju u unutarnjem anoksičnom području.

Oh i Silverstein (1999) istražili su učinak DO na denitrifikaciju aktivnog mulja u sekvencijalnom šaržnom reaktoru (SBR, engl. *Sequencing Batch Reactors*) uz acetat kao izvor ugljika. Ispitani raspon iznosio je od 0,09 do 5,6 mg/L DO te je primjećeno smanjenje stope denitrifikacije od 35 % kada je DO iznosio 0,09 mg/L. Ipak, pri koncentracijama od 5,6 mg/L primjećena je stopa denitrifikacije jednaka 4 % anoksične stope te je utvrđeno kako nelinearni model s jednim parametrom odgovara ovakvim rezultatima. Stopa denitrifikacije u flokulama mulja bila je reducirana za 85 % pri koncentraciji 2 mg/L, što ukazuje da je aerobna denitrifikacija postojanija u aktivnom mulju nego što je zabilježeno u dispergiranim kulturama bakterija u vodi i tlu, vjerojatno zbog ograničene difuzije kisika u flokule.

#### 2.4.4. IZVOR UGLJIKA

Prisutnost izvora ugljika preduvjet je za uspješan proces biološke denitrifikacije, kao i kontrolni faktor za strukturu i funkciju denitrificirajuće zajednice. Izvori ugljika (elektron donor) za denitrifikaciju mogu biti: (i) razgradivi organski sastojci prisutni u otpadnoj vodi, (ii) vanjski dodani (egzogeni) izvor ugljika, i (iii) unutarstanične rezerve ugljika (KPK, *Kemijska Potrošnja Kisika*) poput polihidroksi alkanoata (Grgas i sur., 2021; Bernat i Wojnowska-Baryła, 2007; Metcalf i Eddy, 2003).

Ukoliko količine raspoloživog ugljika nisu dovoljne za uklanjanje dušika, potrebno je uvesti vanjski izvor kako bi se nadomjestio protok elektrona te zadovoljile potrebe energije za stanični rast. Neki od glavnih zahtjeva za odabir odgovarajućeg vanjskog izvora ugljika osim niskih troškova su netoksična/neopasna priroda, dostupnost, niski doprinos mulja i sposobnost stimuliranja potpune denitrifikacije (Dhamole i sur., 2015).

Osim vrste izvora, bitna je i količina dodanog ugljika. Omjer C/N upotrebljava se za označavanje količine dodanog ugljika u odnosu na količinu raspoloživog dušika. Na temelju dostupnih podataka, Sun i sur. (2010) definirali su omjer C/N tipične otpadne vode kućanstva niskim ukoliko je omjer  $C/N < 8,0$ . Kim i sur. (2017) navode kako bi za postizanje potpune denitrifikacije dotok vode trebao imati omjer  $C/N \geq 13$ , što je više od uobičajenog omjera u otpadnim vodama.

Nedovoljne količine donora elektrona mogu uzrokovati nakupljanje intermedijera  $\text{NO}_2^-$ , što kao posljedicu ima toksični učinak na denitrifikacijske enzime ili može rezultirati povećanom emisijom stakleničkog plina  $\text{N}_2\text{O}$ . Međutim, ukoliko se tekući izvor ugljika dodaje prirodnim vodnim tijelima, također je potrebno pažljivo izračunati dozu budući da previsoke koncentracije mogu rezultirati organskim onečišćenjem te se može uzrokovati sekundarno onečišćenje. Također, količina raspoloživog ugljika veća od optimalne ograničava porast brzine denitrifikacije pa se smatra da je za proces denitrifikacije odgovarajući omjer organskog ugljika izraženog kao omjer topivog BPK i/ili nitratnog i nitritnog iona oko 3 (Grgas i sur., 2021).

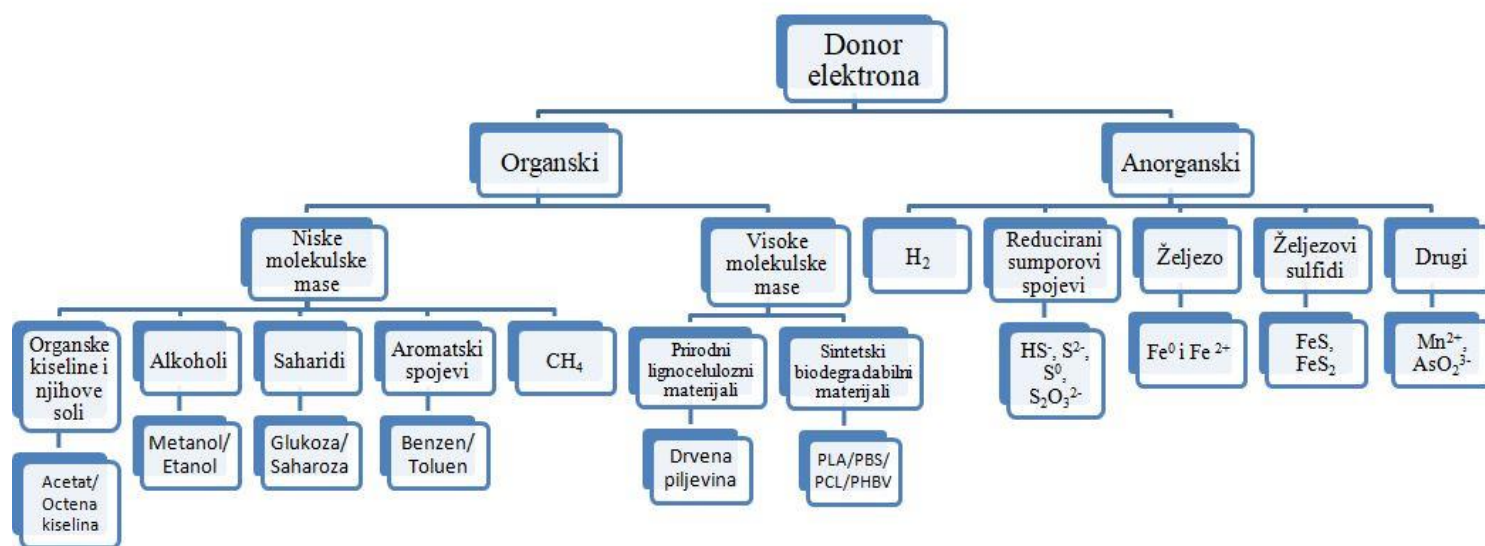
Omjer KPK/N u komunalnim vodama je nizak te često nije dovoljno učinkovit za uklanjanje dušika, zbog čega dodavanje velikih količina vanjskog izvora ugljika predstavlja značajan trošak. Opskrba ugljikom putem metanola, acetata i etanola koristi se kao prvi izbor za rješenje ovog problema. Ti se izvori većinom koriste u laboratorijskim i industrijskim procesima biološke obrade otpadne vode, no zbog troškova se istražuju i drugi, alternativni izvori ugljika poput otpadne vode iz mljekarske industrije, iz procesa konzerviranja ribe, mesne industrije,

mulja, drvenih peleta, pšenične slame, drvenih strugotina, biorazgradive plastike (Grgas i sur., 2021; Zhang i Zhang, 2018).

Odabir izvora ugljika za denitrifikaciju mora uzeti u obzir mnoge aspekte, uključujući učinak uklanjanja dušika, troškove, operativne zahtjeve i značajke te mogući učinak na kvalitetu efluenta i proizvodnju mulja (Cherchi i sur., 2009; Nyberg i sur., 1996).

## 2.5. DONORI ELEKTRONA

Donori elektrona osnovno se dijele na organske i anorganske (Slika 1). Organski donori elektrona sastoje se od organskih tvari niske molekulske mase i organskih tvari visoke molekulske mase. Anorganski se donori elektrona uglavnom sastoje od vodika, reduciranih spojeva sumpora, željeza i željeznih sulfida, ali se također mogu koristiti drugi spojevi poput  $Mn^{2+}$ .



**Slika 1.** Klasifikacija donora elektrona za denitrifikaciju (preuzeto i prilagođeno iz Pang i Wang, 2021).

Među organskim donorima elektrona niske molekulske mase najčešće se koriste metanol, etanol, acetat i glukoza. Ostali izvori uključuju organske kiseline, alkohole, saharide, aromatske spojeve i metan ( $CH_4$ ) (Pang i Wang, 2021; Xu i sur., 2018; Dhamole i sur., 2015).

Stopa denitrifikacije s acetatom veća je od stopa metanola i etanola, što objašnjava činjenica da se octena kiselina izravno asimilira u metabolički proces (Elefsiniotis i sur., 2004) (Tablica 1).

**Tablica 1.** Uobičajene brzine denitrifikacije jednostavnih izvora ugljika (preuzeto i prilagođeno iz Dhamole i sur., 2015).

Supstrat	Brzina denitrifikacije
Metanol	4,4 mg NO <sub>x</sub> -N/g VSS, d
Etanol	12–24 mg NO <sub>3</sub> -N/g biomase, d
Acetat /octena kiselina	17–36 mg NO <sub>3</sub> -N/g VSS, d

Etanol se prvo mora prevesti u acetat kako bi se mogao metabolizirati te je u visokim koncentracijama toksičan mikroorganizmima. Acetat se koristi tako što se prvo prevede u acetil-CoA, koji denitrifikatori zatim mogu koristiti uvrštavanjem u ciklus trikarboksilnih kiselina (TCA, engl. *Tricarboxylic Acid Cycle*) (Pang i Wang, 2021; Elefsiniotis i sur., 2004). Metanol i etanol također se usmjeravaju prema TCA na način da se prvo prevede u formaldehid i acetaldehid, koji se zatim pretvaraju u glioksilnu i octenu kiselinu. Obije se zatim pretvaraju u acetil-CoA koji ulazi u TCA (Pang i Wang, 2021).

Metanol se kao izvor ugljika s velikom brzinom denitrifikacije i najnižom cijenom najčešće upotrebljava, što je istaknuto relativno nižim omjerom metanola i nitrita te širokom dostupnošću na tržištu. Glavni nedostatak upotrebe metanola predstavljaju sigurnosni problemi povezani s njegovim transportom, rukovanjem i skladištenjem, jer je reaktivan i toksičan spoj. Procijenjeno je da je dodatnih 25 do 31 % troškova kapitalne izgradnje za sustave za skladištenje, pumpanje i isporuku metanola potrebno za ispunjavanje sigurnosnih standarda u odnosu na korištenje nezapaljivog, bezopasnog proizvoda (Cherchi i sur., 2009; CDM, 2007). Dodatno, potrebna su duga razdoblja prilagodbe u procesu pokretanja izgradnje specifičnih denitrifikacijskih bakterija koje koriste metanol (metilotrofa) te postoje izvješća o pogoršanoj izvedbi denitrifikacije pri hladnim uvjetima kao rezultat potencijalnog ispiranja metilotrofa iz sustava.

Iz ovih su razloga, kao i zbog potrebnih velikih količina ovoga izvora, provedena istraživanja koja razmatraju druge, jednako ili više povoljne alternativne opcije poput pamuka, pšenične slame, novinskog papira, piljevine, škroba te povrtnog ulja (Park i Yoo, 2009; Kim i sur., 2002; Hunter i sur., 2001; Soares i sur., 2000; Volokita i sur., 1996). Među njima, pamuk se smatra najviše ostvarljivim zbog visokog sadržaja celuloze i stope denitrifikacije u usporedbi s drugim

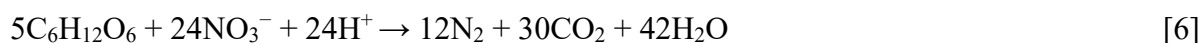
netopivim ugljicima. Cijena ovog izvora slična je metanolu, no obzirom na stopu denitrifikacije nije uspio zamijeniti metanol (Park i Yoo, 2009).

Tam i sur. (1994) proučili su učinak metanola, natrijeva acetata i natrijeva propionata na denitrifikaciju i općenito uklanjanje dušika iz otpadne vode domaćinstva u modificiranom sustavu SBR. Navedeni su spojevi u reaktore dodani prije anoksičnog stupnja u koncentracijama ekvivalentnim teorijskim KPK vrijednostima od 50, 100 i 150 mg O<sub>2</sub>/L. Rezultati su pokazali kako je dodatak niske koncentracije natrijevog propionata uzrokovao pad sadržaja nitrata od 89 % na kraju anoksičnog stadija, što ovaj izvor ujedno čini najuspješnijim u istraživanju. Slijedi ga acetat, a najmanje učinkovitim pokazao se metanol. Autori su zaključili kako je dodatak natrijeva acetata ili propionata u koncentraciji ekvivalentnoj teoretskim vrijednostima KPK od 100 mg O<sub>2</sub>/L najekonomičnija i najpouzdanija opcija (Tam i sur., 1994).

Hlapljive masne kiseline (VFA, engl. *Volatile Fatty Acids*) alternativni su izvori za denitrifikatore, a uključuju acetat, propionat, butirat i valerat. Stope denitrifikacije korištenjem mješovitog supstrata VFA znatno su veće od onih koje koriste pojedinačne VFA (pr. acetat, propionat, butirat i valerat) (Pang i Wang, 2021; Xu, 1996).

Elefsiniotis i sur. (2004) proučili su sposobnost prirodno proizvedenih VFA da djeluju kao izvor ugljika za uklanjanje nitrata i dušikau rasponu koncentracija od 20 do 200 mg/L. Dodani su nitrati u obliku 1 M otopine kalijevog nitrata te je uočeno kako populacija denitrifikatora najbrže iscrpljuje octenu kiselinu. Kada su koncentracije octene kiseline počele opadati, slijedile su maslačna i propionska, a treći je izbor bio valerijanska kiselina. Rezultati su ukazali na sekvencijalnu preferenciju za VFA te preferenciju VFA u odnosu na druge složenije topive oblike organskog ugljika. Redoslijed preferencije moguće je objasniti jednostavnošću metaboličkog puta razgradnje acetata u odnosu na druge VFA (Elefsiniotis i sur., 2004).

Utjecaj VFA na kinetiku denitrifikacije istražili su Li i sur. (2015), gdje su octena i propionska kiselina postigle najviše stope uklanjanja nitrata, s time da je stopa octene bila skoro dvostruko veća od propionske. Kratkolančane VFA (mravlja, octena i propionska) prema reakcijskoj kinetičkoj analizi pokazale su dva stupnja denitrifikacije (brzi i spori), čemu bi uzrok mogao biti suradnja denitrifikatora i mikroorganizama odgovornih za razgradnju dugolančanih VFA. Kao donori elektrona mogu se koristiti mono- (glukoza, ksiloza, manoza) i disaharidi (laktoza, saharoza). Glukoza je najčešće korišten saharid te elektrone predaje sljedećom reakcijom (Pang i Wang, 2021), jednadžba [6]:





Međutim, korištenjem glukoze kao donora elektrona zabilježeno je veće nakupljanje  $\text{NO}_2^-$  i stvaranje  $\text{N}_2\text{O}$  u odnosu na acetat i etanol. Dodatno, put disimilacijske redukcije nitrata u amonijak postaje od važnosti te rezultira nakupljanjem amonijaka.

Wang i sur. (2007) ispitali su učinke glukoze, saharoze, krumpirovog škroba i natrijeva acetata na denitrifikaciju te su primjetili veću učinkovitost uklanjanja dušika kod acetata i škroba. Koncentracije nitrata u sustavima glukoze i saharoze bile su niže od kontrolnih te su u prvih 8 sati dostigle maksimum od 5,2 i 4,7 mg/L, a zatim su se naglo smanjile. U istraživanju se koncentracija amonijaka smanjila ispod granica detekcije u 48 h, što ukazuje da monosaharidni i disaharidni donori elektrona mogu stimulirati anerobne transformacije dušika. Saharidi su stimulirali redukciju nitrata u nitrit, a acetat redukciju nitrata u amonij, što je bilo pod utjecajem pH vrijednosti.

Usporedbu etanola, acetata i saharoze kao vanjskih izvora ugljika napravili su Lorrain i sur. (2004). Na lokaciji zračne luke onečišćene nitratima zbog primjene uree za odleđivanje prikupljeni su uzorci tla i podzemne vode te suplementirani ovim izvorima ugljika. U svim su uzorcima nitrati bili uklonjeni, a brzina denitrifikacije i potrebna količina izvora ugljika ovisile su o izboru supstrata. Etanol i acetat dali su najbržu stopu denitrifikacije (1,4 -1,6 mg-N/L d), dok je saharoza dala znatno sporiju stopu (0,6 - 0,9 mg-N/L d) i zahtijevala veću koncentraciju izvora ugljika.

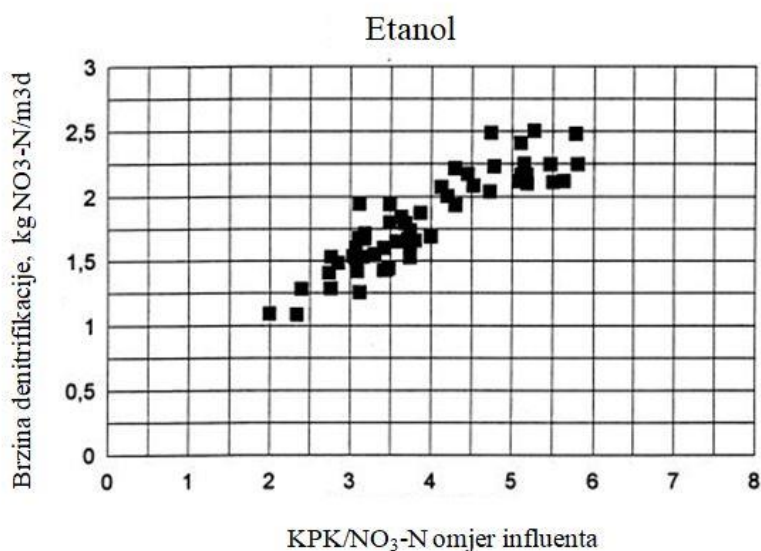
Vanjski se izvori ugljika prema fizičkom obliku mogu podijeliti na tekuće i čvrste organske tvari. Tekući oblici su tradicionalno primjenjivani u praksi i već su nabrojani, odnosno uključuju acetat, etanol, metanol, saharide, itd. Čvrsti izvori ugljika mogu ujedno djelovati kao izvori ugljika i kao fizička potpora za stvaranje biofilma u denitrifikacijskom sustavu čvrste faze, a uključuju spojeve poput polihidroksialkanoata (PHA, engl. *Polyhydroxyalkanoates*), polivinilnih alkohola (PVA, *Polyvinyl Alcohol*), polikaprolaktona (PCL, *Polycaprolactone*) te polibutilen sukcinata (PBS, *Polybutylene Succinate*).

Xu i sur. (2018) kao izvore ugljika koristili glukozu, natrijev acetat i poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat)/poli-(mliječna kiselina) polimer (PHBV/PLA). Iako su maksimalne stope denitrifikacije bile niže u sustavu koji podržava PHBV/PLA nego u sustavima koji podržavaju glukozu i natrijev acetat, istraživanje je također pokazalo kako bi tekući izvori ugljika pogoršali kvalitetu efluenta zbog neodgovarajućeg doziranja, dok je rad s PHBV/PLA denitrifikacijskim sustavom bio mnogo jednostavniji i praktičniji. Takvi rezultati imaju smisla jer je mehanizam iskorištavanja polimera PHBV/PLA kompleksniji od onoga za iskorištavanje tekućih izvora. Polimer se morao prvo razgraditi na spojeve manje molekulske mase te je većina

denitrifikacijskih bakterija kao dostupni izvor ugljika koristila isključivo te međuproizvode niske molekularne mase.

Vanjski izvor ugljika može biti kemijski (octena kiselina ili metanol), primarno taloženi hidrolizirani mulj ili proizvodi anaerobne fermentacije iz organske frakcije krutog komunalnog otpada (Bolzonella i sur., 2001).

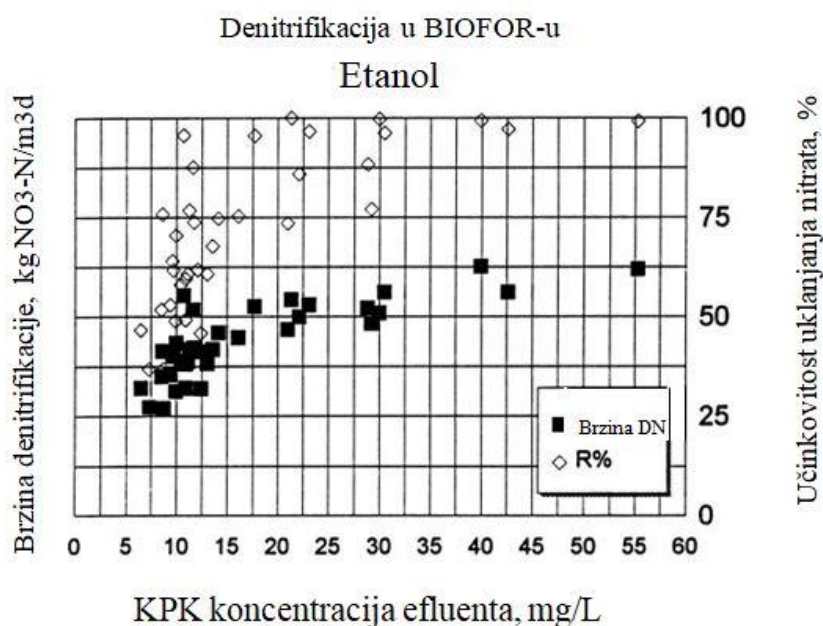
ÆsØy i sur. (1998) istražili su učinkovitost hidroliziranog mulja i krutog organskog otpada kao izvora ugljika za denitrifikaciju u BIOFOR filterima te radne uvjete pod kojima bi ovaj proces najbolje funkcionirao. Etanol je korišten kao referentna tvar, a pokusi su provedeni u dva paralelno vođena reaktora pri temperaturnom rasponu 9-11 °C, s koncentracijom kisika 11-12 mg/L. Hidrolizat proizveden toplinskom obradom (180 °C, 30 min) organskog otpada i mulja dao je istu maksimalnu brzinu denitrifikacije kao etanol, koja je iznosila oko 2,5 kg NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>×d. Međutim, bio je potreban omjer od 8-10 g KPK/g NO<sub>3</sub>-N, za razliku od etanola, čiji je potrebni omjer bio blizu 4,5 g KPK/g NO<sub>3</sub>-N (Slika 2).



**Slika 2.** Brzina denitrifikacije u ovisnosti o omjeru KPK/NO<sub>3</sub>-N influenta s etanolom kao izvorom ugljika (preuzeto i prilagođeno iz ÆsØy i sur., 1998).

Potrebni ulazni omjer KPK/NO<sub>3</sub>-N za postizanje maksimalne stope denitrifikacije ovisi i o kinetici obzirom na koncentraciju KPK, što je u istraživanju bilo vidljivo kada je utvrđena smanjena stopa pri koncentracijama KPK u eluentu nižim od 15 mg KPK/L (Slika 3). S

hidrolizatom je koncentracija eluenta od 75 mg KPK /L bila potrebna za postizanje maksimalne brzine, u usporedbi s 15 mg KPK/L s etanolom. Količina biomase koja je bila promatrana padom tlaka pokazala je najveći utjecaj na brzinu.



**Slika 3.** Brzina denitrifikacije i učinkovitost uklanjanja nitrata u odnosu na koncentraciju KPK u efluentu (mg/L) s etanolom kao izvorom ugljika (preuzeto i prilagođeno iz *ÆsØy* i sur., 1998).

## 2.6. OTPAD HRANE KAO ALTERNATIVNI IZVOR UGLJIKA

Upotreba otpada hrane kao alternativnog izvora ugljika prilikom denitrifikacije mogla bi biti korisna u pogledu cijene procesa te utjecaja na zaštitu okoliša. Također, postoji i rizik od unošenja organskog dušika i otopljene organske tvari u otpadnu vodu. Provedena su mnoga istraživanja, međutim, broj studija proveden za primjenu u praktičnim postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda je ograničen. Stoga se nastavlja potraga za jeftinim i lako dostupnim izvorom ugljika.

Otpadna voda prehrambene industrije ima neke povoljne karakteristike kao što su čistoća (tj. relativno bez metala i drugih kontaminanata), stabilnost u smislu sastava i sadržaja lako biorazgradivih organskih spojeva i dostupnost u potrebnim količinama (Zhang i sur., 2016).

Otpadne vode od recikliranja otpada od hrane (FRW, engl. *Food Waste-Recycling Wastewater*)

nastaju tijekom procesa recikliranja otpada hrane za proizvodnju stočne hrane ili gnojiva. FRW sadrži visoke razine organskih materijala i stoga može biti dobar izvor ugljika (Kim i sur., 2017; Shin i sur., 2015). Biorazgradivost FRW u anaerobnoj digestiji procijenjena je na 90,0 %, što znači da bi korištenje FRW od strane anaerobnih ili anoksičnih heterotrofa u procesu biološke denitrifikacije moglo postići smanjenje organskog otpada i pretvaranje otpada u resurse. Međutim, FRW još nije dovoljno istražena te zasad nema dovoljno informacija o njenom utjecaju na mikrobiološku zajednicu heterotrofnih denitrifikatora.

Iz tog su razloga Kim i sur. (2017) proveli istraživanje u kojem su procijenili FRW kao alternativni izvor ugljika za biološku denitrifikaciju otpadne vode grada, s pozornošću na mikrobnu zajednicu. Istraživanje se odvijalo tijekom sedam mjeseci u potpunom sustavu za obradu otpadnih voda koji je kao vanjski izvor ugljika koristio 2 tone/dan komercijalnog proizvoda bogatog butanolom i metanolom pod nazivom obnovljeni izvor ugljika 45 (RCS45, engl. *Recovery Carbon Source*). Izvor ugljika diverzificirali su korištenjem 8 tona na dan FRW proizvedene u lokalnom postrojenju koje se bavi recikliranjem otpadne hrane u stočnu hranu. U tablici 2 prikazana su fizikalna i kemijska svojstva otpadne vode i FRW koja ukazuju kako FRW ima značajan sadržaj organske tvari. Izračunato je kako se otprilike 1 tona RCS45 može zamijeniti s 11 tona FRW na temelju informacija prosječnih vrijednosti KPK od 597,7 g KPK/L u RCS45 i 51,7 g KPK/L u FRW).

**Tablica 2.** Fizikalna i kemijska svojstva otpadne vode i FRW (preuzeto i prilagođeno iz Kim i sur., 2017).

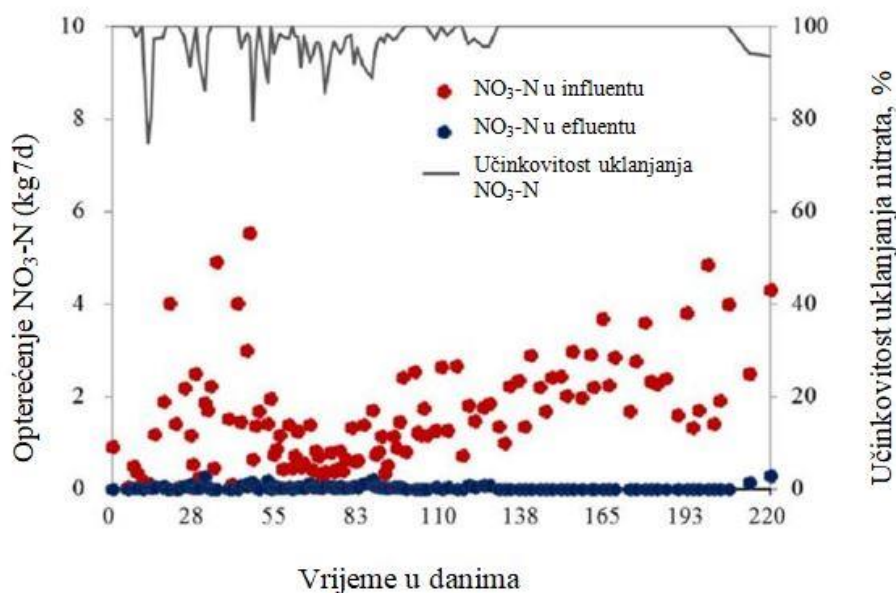
Parametar	Mjerna jedinica	Vrijednost	
		Otpadna voda	FRW
pH	-	7,2	5,9
KPK	g-COD <sub>cr</sub> /L	0,16 ± 0,03	51,7 ± 17,3
TS	g/L	0,3 ± 0,1	24,6 ± 8,2
VS	g/L	0,13 ± 0,03	14,8 ± 7,0
VS/TS	g/L	-	60,2
SS	g/L	0,08 ± 0,01	7,9 ± 8,9
VSS	g/L	0,08 ± 0,01	7,2 ± 8,0
Ugljikohidrati	g/L	0,01 ± 0,01	2,1 ± 5,2
Proteini	g/L	0,04 ± 0,02	5,4 ± 6,0
Lipidi	g/L	0,11 ± 0,01	3,5 ± 5,6
TN	g/L	0,02 ± 0,01	1,9 ± 1,0
TP	g/L	0,01 ± 0,01	0,5 ± 0,4

**Tablica 2.** Fizikalna i kemijska svojstva otpadne vode i FRW (preuzeto i prilagođeno iz Kim i sur., 2017). - nastavak

TVFA + etanol	g/L	0,0 ± 0,0	11,7 ± 5,3
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	12,8 ± 1,7	596,6 ± 219,6
NO <sub>3</sub> -N	mg/L	0,32 ± 0,1	0,1 ± 0,2
NO <sub>2</sub> -N	mg/L	0,31 ± 0,1	1,3 ± 2,0

TS – ukupne tvari; VS- hlapljive tvari; SS- suspendirane tvari; VSS- hlapljive suspendirane tvari; TN- ukupni dušik; TP- ukupni fosfor; TVFA- ukupne hlapljive masne kiseline

Učinkovitost denitrifikacije u anoksičnom spremniku uz RCS45 kao izvor ugljika (dan 0) iznosila je 100 %, a uz FRW kao vanjski izvor ugljika tijekom sedam mjeseci (dani 1-220) bila je stabilna (Slika 4). Tijekom razdoblja rada se opterećenje nitratima povećalo, međutim, srednja učinkovitost denitrifikacije prvo je porasla na 97,2 %, a zatim na 99,3 % nakon 98 dana (Kim i sur., 2017).



**Slika 4.** Učinkovitost uklanjanja nitrata i ukupnih topivih masnih kiselina u anoksičnom spremniku (preuzeto i prilagođeno iz Kim i sur., 2017).

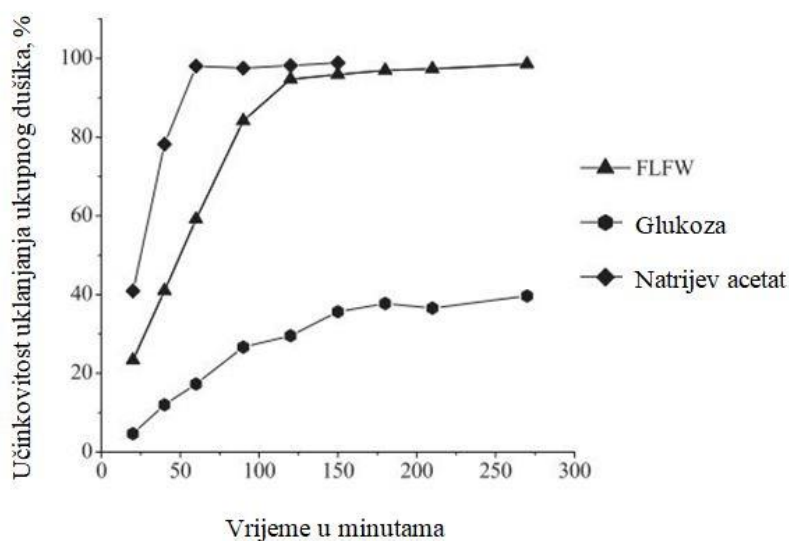
Iz anoksičnog je spremnika ukupno prikupljeno sedam uzoraka 0., 47., 96., 131., 164., 185. i 203. dana, u svrhu praćenja dinamike bakterijske populacije prije i nakon promjene izvora ugljika. Rezultati su pokazali kontinuiranu promjenu strukture bakterijske zajednice, najznačajniju u tri puta: od 0. do 47. dana, od 47. do 164. dana i od 164. do 185. dana. Prvi

pomak (0. do 47. dan) bio je s porodice *Methylococceae* na *Eubacteriaceae* (37,5 %) i *Saprosiraceae* (36,9 %), što može objasniti promjena izvora ugljika s RCS45 na FRW. *Eubacteriaceae* u anaerobnim uvjetima razgrađuju celulozu, koja je glavna komponenta organskog otpada (Kim i sur., 2017; Keating i sur., 2012). *Saprosiraceae* čine jednu od temeljnih mikrobnih zajednica u uređajima za pročišćavanje otpadnih voda, u kojima velika zastupljenost ove porodice poboljšava hidrolizu složenih organskih spojeva kao što su polimeri ugljika, posebice proteina, tijekom pročišćavanja otpadnih voda (Kim i sur., 2017; Chen i sur., 2016). Drugi pomak (47. do 164. dan) karakteriziran je supresijom ovih porodica, a treći (164. do 185. dan) dramatičnim porastom porodice *Rhodocyclaceae*. Ove porodice bile su glavne tijekom obrade FRW te su se smatrale se odgovornima za hidrolizu (*Eubacteriaceae* i *Saprosiraceae*) i uklanjanje nitrata (*Rhodocyclaceae* i *Comamonadaceae*) FRW-a. Zaključak autora glasi da FRW može biti učinkovit vanjski izvor ugljika te da je stabilizacija procesa bila povezana s prilagodbom i funkcijom bakterijskih populacija na promjenu izvora ugljika (Kim i sur., 2017; Lu i sur., 2014).

Zhang i sur. (2016) koristili su otpad hrane iz javnih restorana poput studentskih menza na sveučilišnim kampusima za anaerobnu fermentaciju u svrhu pripreme izvora ugljika za poboljšanje uklanjanja dušika u pročišćavanju otpadnih voda. Za usporedbu su se kao izvori ugljika koristili glukoza i natrijev acetat. Otpad je nakon selekcije usitnjen i homogeniziran na veličinu čestica manju od 5 mm, a uglavnom se sastojao od ostataka kuhane hrane, poput riže, rezanaca, mesa, jaja i povrća. Zatim je pod anaerobnim uvjetima, bez podešavanja pH te pri temperaturi 25 °C proizvedena fermentirana tekućina otpada hrane (FLFW, engl. *Fermentation Liquid From Food Wastes*) s visokim udjelom organskih kiselina. Ugljikohidrati, proteini i lipidi bili su glavni konstituenti otpada hrane, a činili su 61,5 %, 9,8 % te 9,2 % ukupnog KPK. Objavljeno je kako ugljikohidrati biološkom fermentacijom proizvode najviše organskih kiselina, a organske komponente produkata fermentacije bile su sljedeće: do 75 % mliječne kiseline, 21 % octene kiseline i oko 4 % propionske kiseline. Visok sadržaj mliječne kiseline objašnjiv je prisutnošću autohtonih bakterija mliječne kiseline u otpadu hrane. Mliječna kiselina se smatra prekursorom za proizvodnju propionske i octene kiseline. Stoga, iako denitrifikatorima nije tako lako iskoristiva kao propionska kiselina, može biti učinkovita za denitrifikaciju (Zhang i sur., 2016; Sage i sur., 2006).

Nepotpuna denitrifikacija karakterizirana je velikim udjelom zaostalog nitrata i blagim nakupljanjem nitrita na kraju procesa, a često se događa kada je ugljik ograničen. Pri omjeru

KPK/N 6-8 došlo je do znatnog povećanja akumulacija nitrita, što je pokazalo da je riječ o ograničenju denitrifikacije količinom ugljika, a ne dostupnošću ugljika. Maksimalna stopa denitrifikacije zabilježena je pri omjeru KPK/N 6. Prema ovoj studiji, produktivnost izvora ugljika iz otpada od hrane iznosila je 0,096 g ukupnog KPK/g otpada hrane, a izračunat je potencijal denitrifikacije FLFW u vrijednosti od 0,174 g N/g KPK (Zhang i sur., 2016). Ukupna učinkovitost uklanjanja dušika uspoređena je na slici 5, gdje je vidljivo kako je uz FLFW postignuto ukupno uklanjanje dušika od čak 98 %, otprilike isto kao i za natrijev acetat (Zhang i sur., 2016).



**Slika 5.** Učinak izvora ugljika na učinkovitost uklanjanja TN pri omjeru KPK/N od 6 (preuzeto i prilagođeno iz Zhang i sur., 2016).

Međutim, za približavanje stabilnom uklanjanju bilo je potrebno dulje vrijeme. S druge strane, konačna učinkovitost uklanjanja bila je samo 39,6 % za glukozu pa se može zaključiti da se FLFW može koristiti kao alternativni izvor ugljika natrijevom acetatu u procesu denitrifikacije (Zhang i sur., 2016).

Isto su istaknuli Qi i sur. (2020), ne nalazeći očitu razliku u karakteristikama efluenata prilikom usporedbe FLFW i natrijevog acetata kao izvora ugljika.

Slične rezultate postigli su Bolzonella i sur. (2001) koristeći produkte anaerobne fermentacije iz organske frakcije krutog komunalnog otpada. Naime, u BNR postrojenje su doveli tekuću frakciju iz koraka anaerobne fermentacije zajedno s dolaznom strujom otpadne vode kako bi povećali dostupnosti lako biorazgradivih organskih spojeva za promicanje biološkog uklanjanja dušika i fosfora. Zatim su sukladno AF-BNR-SCP (engl. *Anaerobic Fermentation–*

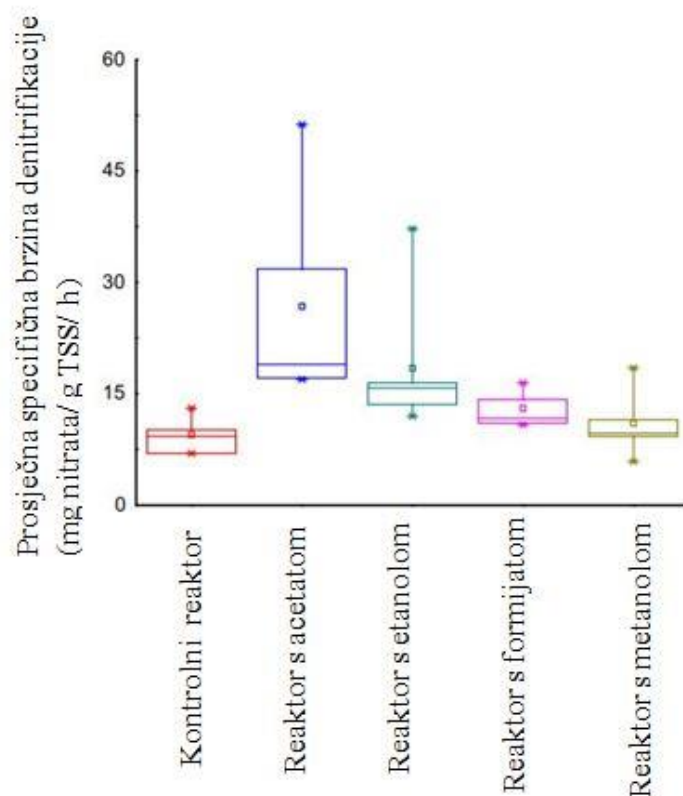
*Biological Nutrient Removal–Struvite Crystallization Process*) procesu krutu frakciju miješali s viškom aktivnog mulja iz BNR postrojenja i doveli u jedinicu za anaerobnu kodigestiju. Zahvaljujući proizvodima fermentacije, potencijal denitrifikacije porastao je sa 6 na 17 mg NO<sub>3</sub>-N/L.

Strong i sur. (2011) su istražili učinak 4 različita izvora ugljika: acetata, formijata, metanola i etanola, u usporedbi s tekućinom dobivenom kao nusproizvod mokre oksidacije (WO, engl. *Wet Oxidation*) otpadnog aktivnog mulja na biološku denitrifikaciju otpadne vode grada. Mokra oksidacija je proces kojim se otpad, uključujući krute organske biokrutine, pretvara u ugljikov dioksid i niz topivih produkata, pri oksidativnim uvjetima pri povišenim temperaturama (Strong i sur., 2011; Mishra i sur., 1995). Aktivni mulj iz sustava za pročišćavanje otpadnih voda grada s dodatkom etanola bio je kondicioniran za svaki pojedinačni izvor ugljika. Etanol je dodan kako bi se osiguralo adekvatno uklanjanje nitrata. Postavljeno je pet denitrifikacijskih reaktora laboratorijskih razmjera (radnog volumena 4 L) te su svi zasijani povratnim aktivnim muljem (2,2 g/L). Za reaktore se kao sirovina koristila otpadna voda nakon primarne obrade pohranjena pri 4 °C. U 4 su reaktora dodani ispitivani čisti izvori ugljika (300 mg/L) u 10 %-tnu otpadnu vodu nakon primarne obrade (razrijeđenu vodovodnom vodom). Peti je reaktor služio kao kontrolni, održavan samo sa 100 %-tnom pročišćenom vodom nakon primarne obrade te je svaki dan bio punjen sirovom otpadnom vodom grada kao jedinim izvorom ugljika.

Proces WO je dao 0,15 g topljivog organskog ugljika po gramu suhe biokrutine. Octena (6,25 g/L) i mravlja kiselina (0,8 g/L) proizvedene su u najvećem udjelu te je proizveden mali udio propionske i maslačne kiseline te metanola (manje od 0,4 g/L). Octena kiselina identificirana je kao vrlo otporna unutar WO i stabilan intermedijer prije potpune oksidacije u ugljikov dioksid (Strong i sur., 2011; Shende i Levee, 1999). Obzirom na zastupljenost octene i mravlje kiseline, bili su logičan izbor za komparativnu studiju različitih dodataka ugljika.

Slika 6 pokazuje kako su najveće specifične brzine denitrifikacije (SDR, engl. *Specific Denitrification Rate*) dobivene prilikom korištenja acetata i etanola kao dodataka ugljika.



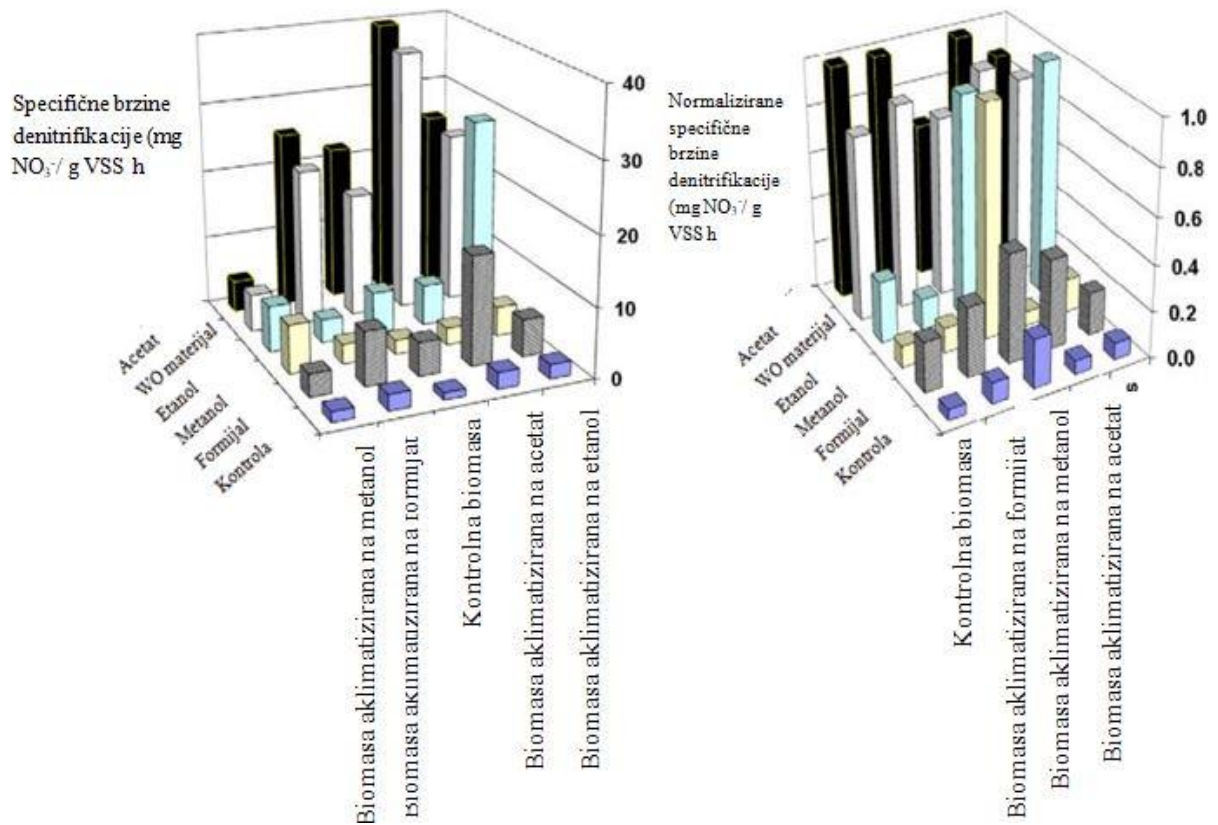


**Slika 6.** Prosječne specifične brzine denitrifikacije uz acetat, etanol, formijat i metanol, motreno tijekom 4 tjedna (preuzeto i prilagođeno iz Strong i sur., 2011).

Obzirom da je korišteni inokulum potjecao iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda dopunjenog etanolom, bile su očekivane veće brzine denitrifikacije pri korištenju etanola. Međutim, nešto su veće brzine denitrifikacije postignute pri korištenju acetata, što se pripisuje utjecaju razlike u pH za više od jedne pune jedinice unutar 2 sata nakon dodavanja nitrata i ugljika. Specifična brzina denitrifikacije je pri korištenju metanola ili formijata puno niža od onih s acetatom i etanolom, ali nešto malo viši od kontrole (Slika 6).

U reaktorima s dodatkom acetata primijećeno je znatno povećanje pH tijekom prva dva sata te zatim smanjenje nakon sljedeća 22 sata. U reaktorima s dodatkom formijata pH je u prva 2 sata porastao te nastavio rasti tijekom 24 sata. Kod dodatka etanola pH se znatno smanjio u 24 sata, a kod metanola je primijećeno blago smanjenje pH između obroka. Promjene pH sustava za obradu mogu imati značajne utjecaje ne samo na brzinu denitrifikacije, već i na prinos i sastav biomase te uklanjanje BPK.

U slici 7 prikazani su normalizirani i SDR dobiveni u istraživanju za svaku aklimatiziranu biomasu sa svakim izvorom ugljika.



**Slika 7.** Specifične brzine denitrifikacije uz određeni izvor ugljika s biomasom aklimatiziranom na SBR korištenjem šaržnog testa (lijevo) i normalizirane specifične brzine denitrifikacije u odnosu na najveću vrijednost dobivenu određenom vrstom biomase (desno) (preuzeto i prilagođeno iz Strong i sur., 2011).

U usporedbi s kontrolom (Slika 7), dodatkom izvora ugljika poboljšane su sve brzine denitrifikacije. Najveća SDR dobivena je s etanolom i biomasom aklimatiziranom na acetat. Najučinkovitiji su izvori ugljika bili acetat i materijal WO. Najveća SDR od  $40 \pm 0,4$  mg NO<sub>3</sub> g/VSS h postignuta je s biomasom aklimatiziranom na acetat i acetatom te SDR od  $38 \pm 0,1$  mg NO<sub>3</sub>g/VSS h s materijalom WO. Također, visoka SDR postignuta je dodavanjem etanola biomasi aklimatiziranoj na etanol ( $29 \pm 0,9$  mg NO<sub>3</sub> g/VSS h). Općenito, svi aklimatizirani tipovi biomase učinkovito su iskoristili acetat i WO tekućinu, dok su postignute niske brzine s metanolom i formijatom. Usporedba normaliziranih SDR vrijednosti s SDR vrijednostima dobivenim određenom biomasom ukazala je da je acetat šire korišten od ostalih izvora čistog ugljika. Dodatno, SDR dobivene s tekućinom WO pokazale su sličnost vrijednostima za acetat, što ukazuje da je također izvrstan izvor ugljika zahvaljujući prisutnosti velikog broja organskih

spojeva (osobito octene kiseline) (Strong i sur., 2011).

Čini se kako su neke otpadne vode prehrambene industrije zbog karakteristika visokih omjera C/N i visokog sadržaja lako biorazgradivih organskih frakcija potencijalno dobri kandidati za alternativne izvore ugljika. Ipak, problemi u radu s otpadnim vodama prehrambene industrije javljaju se u obliku varijacije u njihovoj kvaliteti i količini zbog proizvodnih ciklusa.

Među otpadnim spojevima koji se najčešće koriste kao alternativni izvori ugljika nalaze se oni koji sadrže hlapljive masne kiseline, sa specifičnom brzinom denitrifikacije između 0,46 i 20,25 mg NO<sub>3</sub>-N/g VSS h, ovisno o studiji (Fernández-Nava i sur., 2010).

Swinarski i sur. (2009) istražili su učinke otpadnih voda iz destilerije, pivovare i tvornice za kiseljenje ribe na sposobnost denitrifikacije procesne biomase koja potječe iz postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda grada i industrije “Wschod” u Gdanjsku. Rezultati su pokazali kako otpadne vode destilerije, pivovare i tvornice za kiseljenje ribe mogu biti potencijalni vanjski izvor ugljika, budući da su određene pojedinačne brzine iskorištenja nitrata (NUR, engl. *Nitrate Utilisation Rate*) bile u rasponu od 2,4 do 6,0 g N/kg VSS h, odnosno usporedive sa brzinama povezanim s iskorištavanjem lako biorazgradivog KPK u otpadnoj vodi nakon primarne obrade. Najviše su stope do 6,0 g N/kg VSS h postignute korištenjem otpadne vode iz pivovare i tvornice za kiseljenje ribe kao izvora ugljika, a nešto niže, prilično konzistentne stope (4,80 – 5,15 g N/kg VSS h) zabilježene su s otpadnom vodom destilerije.

Fernández-Nava i sur. (2010) usporedili su tri alternativna izvora ugljika u denitrifikaciji otpadnih voda koje sadrže 2500 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L u SBR reaktoru. Radilo se o otpadnoj vodi nastaloj pri čišćenju reaktora koji se koriste u proizvodnji slatkiša, ostatku iz proizvodnje bezalkoholnih pića bogatom saharozom i ostatku iz tvornice mlijeka bogatom mliječnom kiselinom. Autori su istražili različite omjere KPK/N te odredili kinetiku denitrifikacije. Pokusi su provedeni u anoksičnim uvjetima pri sobnoj temperaturi (20 ± 1 °C) te pri pH vrijednostima u rasponu 7,5-8. Otpadna voda iz tvornice slatkiša bila je vrlo bogata šećerima te je u suhoj tvari sadržavala 53,6–57 % glukoze i 32,1–46,4 % saharoze, kao i laktozu i sirutku u manjim količinama. KPK vrijednost iznosila je 155 g/L. Ostatak iz tvornice bezalkoholnih pića bio je bogat saharozom (98-99 % saharoze na suhoj osnovi) te je imao visok sadržaj organske tvari (850 g KPK/L). Ostatak iz tvornice mlijeka bio je bogat mliječnom kiselinom (2,8-4,2 %) te je sadržavao 16,1-16,8 % laktoze i masti i bjelančevine u malim količinama. KPK vrijednost iznosila je 370 g/L.

Za aklimatizaciju biomase kao izvor ugljika je korišten natrijev acetat.

Tri linearne faze redukcije nitrata odvijaju se istovremeno tijekom procesa denitrifikacije upotrebom aktivnog mulja iz denitrifikacijskih sustava koji djeluju na složene izvore ugljika kao što su industrijske otpadne vode. Najveću brzinu denitrifikacije osigurava najlakše biorazgradivi KPK; sporiju brzinu osigurava sporije biorazgradivi KPK, koji prije denitrifikacije treba hidrolizirati; dok najnižu brzinu denitrifikacije osigurava endogeni ugljik (Fernández-Nava i sur., 2016).

Pri korištenju otpadne vode iz tvornice slatkiša u prva su dva sata postignute maksimalne brzine denitrifikacije (30,4-41,6 mg NO<sub>x</sub>-N/g VSS h) i najveća potrošnja organske tvari (5,6-7,2 mg KPK utrošenog/mg NO<sub>x</sub>-N uklonjenog), koja odgovara lako biorazgradivnoj frakciji. Nakon 6 sati reakcije primjećene su vrijednosti niže od 90 mg KPK/L u tretiranom efluentu. Pri omjeru KPK/N 5-5,5 uočeno je nakupljanje nitrita, što nije bio slučaj pri višim razinama KPK. Na temelju pokusa je određen optimalni KPK/N omjer u vrijednosti 6,5 za ovaj izvor, uz koji se postiže maksimalna brzina denitrifikacije od 41,6 mg NO<sub>x</sub>-N/g VSS h (Fernández-Nava i sur., 2016).

Korištenje ostatka iz tvornice bezalkoholnih pića kao izvora ugljika dovelo je do brže redukcije nitrata, s time da se maksimalna stopa denitrifikacije postigla za 1,5 h i iznosila je 31,8-48,1 mg NO<sub>x</sub>-N/g VSS h. Tijekom procesa nije uočeno nakupljanje nitrita, a određeni optimalni omjer KPK/N iznosio je 5,5 (Fernández-Nava i sur., 2016).

Korištenjem ostatka iz tvornice mliječnih proizvoda u prva 2 sata reakcije postignuta je maksimalna brzina denitrifikacije između 36,2 i 44,1 mg NO<sub>x</sub>-N/g VSS h. Također je primjećeno nakupljanje nitrita pri najnižem testiranom omjeru KPK/N 4,3, koje bi vjerojatno dovelo do inhibicije procesa. Za ovaj izvor ugljika optimalni omjer KPK/N pri kojem se postiže maksimalna brzina denitrifikacije iznosi 4,6. Dodatno, potrošnja organske tvari bila je sporija nego pri korištenju druga dva izvora ugljika. Pokazalo se kako su postignute brzine denitrifikacije veće od onih dobivenih u drugim studijama koje su koristile metanol kao izvor ugljika. Međutim, nedostatak korištenja izvora ugljika bogatih šećerom su visoke vrijednosti koeficijenta iskorištenja. To znači da se mulj mora češće ispuštati iz reaktora, čime se povećavaju troškovi upravljanja tim muljem (Fernández-Nava i sur., 2016).

Czerwionka i sur. (2012) su kao moguće alternativne izvore ugljika istražili nusproizvode proizvodnje alkohola - fuzilno ulje, sirup i otpadnu vodu. Fuzilno je ulje već istraženo i u više studija objavljeno kao uspješno za poboljšanje procesa denitrifikacije. Pretežno se sastoji od spojeva nastalih metabolizmom kvasaca u procesu fermentacije, odnosno viših alkohola,

masnih kiselina, estera te nekih specifičnih aldehida. U istraživanju su uočene brzine iskorištavanja nitrata sirupa i otpadne vode 3,2-3,3 g N/(kg VSS h) u usporedbi s 1,0 g N/(kg VSS h) dobivenih za fuzilna ulja iz dvije različite destilerije. Zaključeno je kako su nusproizvodi destilerije održive alternative komercijalnim vanjskim izvorima ugljika, poput etanola, u svrhu poboljšanja denitrifikacije u komunalnim uređajima za pročišćavanje otpadnih voda.

### 3. ZAKLJUČCI

1. Biološka denitrifikacija je usprkos svojim ograničenjima najprikladnija metoda za uklanjanje hranjivih tvari iz otpadne vode, odnosno za provedbu procesa biološkog uklanjanja hranjivih tvari (BNR, engl. *Biological Nutrent Removal*).
2. Komunalne vode imaju nizak omjer KPK/N koji često nije učinkovit za uklanjanje dušika, stoga je od velike važnosti dodavanje vanjskog izvora ugljika. Budući da su potrebne velike količine, znatan je financijski trošak.
3. Neke otpadne vode prehrambene industrije zbog karakteristika visokih omjera C/N i visokog sadržaja lako biorazgradivih organskih frakcija potencijalno čine dobre kandidate za alternativne izvore ugljika za proces denitrifikacije.
4. Izvori ugljika koji su lako biorazgradivi rezultirat će većom brzinom reakcije denitrifikacije od teško biorazgradivih izvora.
5. Broj studija proveden za primjenu mnogih alternativnih izvora ugljika u procesu denitrifikacije u praktičnim postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda je ograničen.
6. Otpadne vode od recikliranja otpada od hrane zahvaljujući visokim razinama organskog materijala potencijalno su dobri izvori ugljika za denitrifikaciju. Njihovim korištenjem količina organskog otpada bi se mogla smanjiti te postići pretvaranje otpada u resurse. Potrebna su daljnja istraživanja, posebice o utjecaju otpadnih voda od recikliranja otpada od hrane na mikrobiološku zajednicu heterotrofnih denitrifikatora.
7. Izvor ugljika osim na brzinu i učinkovitost denitrifikacije utječe i na mikrobni sastav biomase.

#### 4. LITERATURA

- Bolzonella D, Innocenti L, Pavan P, Cecchi F (2001) Denitrification potential enhancement by addition of anaerobic fermentation products from the organic fraction of municipal solid waste. *Water Sci Technol***44**, 187–194. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0046>
- Cherchi C, Onnis-Hayden A, El-Shawabkeh I, Gu AZ (2009) Implication of using different carbon sources for denitrification in wastewater treatments. *Water Environ Res***81**, 788–799. <https://doi.org/10.2175/106143009x12465435982610>
- Czerwionka K, Makinia J, Kaszubowska M, Majtacz J, Angowski M (2012) Distillery wastes as external carbon sources for denitrification in municipal wastewater treatment plants. *Water Sci Technol***65**, 1583–1590. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.050>
- Dhamole PB, D'Souza SF, Lele SS (2015) A review on alternative carbon sources for biological treatment of nitrate waste. *J Inst Eng (India): E***96**, 63–73. <https://doi.org/10.1007/s40034-014-0055-8>
- Dlamini JC, Chadwick D, Hawkins JM, Martinez J, Scholefield D, Ma Y, i sur. (2020) Evaluating the potential of different carbon sources to promote denitrification. *J Agric Sci***158**, 194–205. <https://doi.org/10.1017/s0021859620000520>
- Eilersen AM, Henze M, Kløft L, (1995) Effect of volatile fatty acids and trimethylamine on denitrification in activated sludge. *Water Res***29**, 1259–1266. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00292-f](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00292-f)
- Einsle O, Kroneck PMH (2004) Structural basis of denitrification. *Biol Chem***385**. <https://doi.org/10.1515/bc.2004.115>
- Elefsiniotis P, Wareham DG, Smith MO (2004) Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification. *J Biotechnol***114**, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.02.016>
- Fan L, Brett MT, Jiang W, Li B (2017) Dissolved organic nitrogen recalcitrance and bioavailable nitrogen quantification for effluents from advanced nitrogen removal wastewater treatment facilities. *Environ Pollut***229**, 255–263. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.093>
- Ferguson SJ (1994) Denitrification and its control. *Antonie Van Leeuwenhoek***66**, 89–110. <https://doi.org/10.1007/bf00871634>
- Fernández-Nava Y, Marañón E, Soons J, Castrillón L (2010) Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources. *J Hazard Mater***173**, 682–688. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.08.140>

- Gaimster H, Alston M, Richardson DJ, Gates AJ, Rowley G (2017) Transcriptional and environmental control of bacterial denitrification and N<sub>2</sub>O emissions. *FEMS Microbiol Lett***365**. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx277>
- Gerardi MH (2002) Nitrification and denitrification in the activated sludge process, 1. izd., New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Ghafari S, Hasan M, Aroua MK (2008) Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater—A review. *Bioresour Technol***99**, 3965–3974. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.026>
- Kim E, Shin SG, Jannat MA, Tongco JV, Hwang S (2017) Use of food waste-recycling wastewater as an alternative carbon source for denitrification process: A full-scale study. *Bioresour Technol* **245**, 1016–1021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.168>
- Li C, Cao J, Ren H, Li Y, Tang S (2015) Comparison on kinetics and microbial community among denitrification process fed by different kinds of volatile fatty acids. *Process Biochem***50**, 447–455. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.01.005>
- Lorrain M-J, Tartakovsky B, Peisajovich-Gilkstein A, Guiot SR (2004) Comparison of different carbon sources for ground water denitrification. *Environ Technol***25**, 1041–1049. <https://doi.org/10.1080/09593330.2004.9619397>
- Lu H, Chandran K, Stensel D (2014) Microbial Ecology of Denitrification in biological wastewater treatment. *Water Res***64**, 237–254. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.042>
- Manning P, Newington JE, Robson HR, Saunders M, Eggers T, Bradford MA, i sur. (2006) Decoupling the direct and indirect effects of nitrogen deposition on ecosystem function. *Ecol***9**, 1015–1024. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00959.x>
- Metcalf & Eddy Inc. (2003) Tchobanoglous G, Burton FL, Stensel HD, Wastewater Engineering: Treatment and Reuse; McGraw-Hill: New York, NY, USA.
- Oh J, Silverstein J (1999) Oxygen inhibition of activated sludge denitrification. *Water Res***33**, 1925–1937. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(98\)00365-0](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(98)00365-0)
- Pang Y, Wang J (2021) Various electron donors for biological nitrate removal: A Review. *Sci Total Environ***794**, 148699.
- Park JY, Yoo YJ (2009) Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment: Which electron donor we can choose. *Appl Microbiol Biotechnol***82**, 415–429. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1799-1>
- Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/2020). Narodne Novine 2020, 26.



- Qi S, Wang Y, Chu X, Wang W, Zhan X, Hu Z-H (2020) Food waste fermentation for carbon source production and denitrification in sequencing batch reactors. *J Clean Prod***253**, 119934. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119934>
- Rahimi S, Modin O, Mijakovic I (2020) Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. *Biotechnol Adv***43**, 107570. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107570>
- Strong PJ, McDonald B, Gapes DJ (2011) Enhancing denitrification using a carbon supplement generated from the wet oxidation of waste activated sludge. *Bioresour Technol***102**, 5533–5540. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.025>
- Sun S-P, Nàcher CP, Merkey B, Zhou Q, Xia S-Q, Yang D-H, i sur. (2010) Effective biological nitrogen removal treatment processes for domestic wastewaters with low C/N Ratios: A Review. *Environ Eng Sci***27**, 111–126. <https://doi.org/10.1089/ees.2009.0100>
- Swinarski M, Makinia J, Czerwionka K, Chrzanowska M (2009) Industrial wastewater as an external carbon source for optimization of nitrogen removal at the “Wschod” WWTP in Gdansk (Poland). *Water Sci Technol***59**, 57–64. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.774>
- Szekeres S, Kiss I, Kalman M, Soares MIM (2002) Microbial population in a hydrogen-dependent denitrification reactor. *Water Res***36**, 4088–4094. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(02\)00130-6](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(02)00130-6)
- Tam NF, Leung GL, Wong YS (1994) The effects of external carbon loading on nitrogen removal in sequencing batch reactors. *Water Sci Technol***30**, 73–81. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0254>
- Wang D, Huang Q, Wang C, Ma M, Wang Z (2007) The effects of different electron donors on anaerobic nitrogen transformations and denitrification processes in Lake Taihu sediments. *Hydrobiologia***581**, 71–77. <https://doi.org/10.1007/s10750-006-0499-z>
- Xu Z, Dai X, Chai X (2018) Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes. *Sci Total Environ***634**, 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.348>
- Ye Y, Ngo HH, Guo W, Chang SW, Nguyen DD, Varjani S, i sur. (2021) Bio-membrane based integrated systems for nitrogen recovery in wastewater treatment: Current applications and future perspectives. *Chemosphere***265**, 129076. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129076>
- Zhang Y, Wang XC, Cheng Z, Li Y, Tang J (2016) Effect of fermentation liquid from food waste as a carbon source for enhancing denitrification in wastewater treatment. *Chemosphere***144**,

689–696.

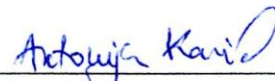
Zhang X, Zhang J (2018) Effect of dissolved oxygen on biological denitrification using biodegradable plastic as the carbon source. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science***121**, 032015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/121/3/032015>

Zhou Y, Pijuan M, Zeng RJ, Yuan Z (2008) Free nitrous acid inhibition on nitrous oxide reduction by a denitrifying-enhanced biological phosphorus removal sludge. *Environ Sci Technol***42**, 8260–8265. <https://doi.org/10.1021/es800650j>

ÆsØy A, Ødegaard H, Bach K, Pujol R, Hamon M (1998) Denitrification in a packed bed biofilm reactor (BIOFOR) — experiments with different carbon sources. *Water Res***32**, 1463–1470. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(97\)00358-8](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(97)00358-8)

## Izjava o izvornosti

Ja, ANTONIJA KARIĆ izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



---

Antonija Karić