



Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Prehrambena tehnologija

Vlado Crnek

**UTJECAJ AERACIJE PRI POVIŠENOM  
TLAKU NA BIOLOŠKU OBRADU  
OTPADNIH VODA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:  
izv. prof. dr. sc. Josip Čurko

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu

The Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Food Technology

Vlado Crnek

**THE INFLUENCE OF PRESSURIZED  
AERATION ON BIOLOGICAL  
WASTEWATER TREATMENT**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:  
Assoc. Prof. Josip Čurko, Ph. D

Zagreb, 2024.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

DOKTORSKI RAD

Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottieva 6, Zagreb

Sveučilišni poslijediplomski studij:

Prehrambeno inženjerstvo

Znanstvenom područje:

Biotehničke znanosti

Znanstveno polje:

Prehrambena tehnologija

UDK: 543.272.31:621.039.583:628.3:628.356(043.3)

### UTJECAJ AERACIJE PRI POVIŠENOM TLAKU NA BIOLOŠKU OBRADU OTPADNIH VODA

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju vode na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu sveučilišta u Zagrebu

Mentor: izv. prof. dr. sc. Josip Ćurko

**Sažetak:** Kod biološke obrade otpadnih voda velik utjecaj ima aeracija suspenzije otpadne vode i aktivnog mulja u reaktorima, odnosno, učinkovitost prijenosa kisika iz plinovite faze u suspenziju. Konvencionalni sustavi aeracije suspenzije aktivnog mulja i otpadne vode, u reaktorima s difuzorima koji raspršuju zrak u fine mjehuriće, pokazuju relativno neučinkovit prijenos kisika iz plinovite faze u suspenziju aktivnog mulja jer se većina dobavljenog kisika ne otopi nego odlazi neiskorišten u atmosferu. Stoga je sustav aeracije pod tlakom (engl. *Supersaturated Dissolved Oxygen*, SDOX) predložen kao alternativa za opskrbu otopljenim kisikom. Cilj ovog rada je istražiti kako aeracija pri povišenom tlaku utječe na proces uklanjanja dušika iz otpadnih voda kroz procese nitrifikacije i denitrifikacije, na napredno biološko uklanjanje fosfora iz otpadnih voda (EBPR), na začepeljivanje uronjivih membrana u membranskom bioreaktoru (MBR), na taloživost aktivnog mulja i veličinu čestica aktivnog mulja. Provedeno istraživanje će doprinijeti boljem razumijevanju utjecaja aeracije pri povišenom tlaku na biološku aktivnost aktivnog mulja u obradi otpadnih voda, na efikasnost odvajanja aktivnog mulja od obrađene vode taloženjem u taložnicama, kao i na bolji uvid u probleme začepeljivanja membrana u MBR-u.

**Broj stranica:** 145

**Broj slika:** 59

**Broj tablica:** 9

**Broj literarnih navoda:** 121

**Jezik izvornika:** Hrvatski jezik

**Ključne riječi:** Otpadna voda, aeracija, SDOX, MBR, SBR, membrane

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo:** 1. prof. dr. Tibela Landeka Dragičević (PBF)

2. doc. dr. Dijana Grgas (PBF)

3. prof. dr. Marija Vuković Domanovac (FKIT)

**Rad je pohranjen u:** Knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu, Kačićeva 23; Nacionalnoj i sveučilišnoj biblioteci u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice b.b.; Sveučilištu u Zagrebu, Trg Republike Hrvatske 14

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**University of Zagreb**

**PhD THESIS**

**Faculty of Food and Biotechnology, Pierottieva 6, Zagreb**

**University postgraduate studies: Food Technology**

**Scientific field: Biotechnical sciences**

**Scientific field: Food technology**

UDK: 543.272.31:621.039.583:628.3:628.356(043.3)

### **THE INFLUENCE OF PRESSURIZED AERATION ON BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT**

**Thesis performed in Laboratory of Water technology, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb**

**Supervisor: associate professor Ph.D. Josip Ćurko**

**Abstract:** A major factor in biological wastewater treatment is the aeration of wastewater and activated sludge suspensions in reactors, focusing on oxygen transfer efficiency. Conventional aeration systems with diffusers that disperse air into fine bubbles are relatively inefficient, as most supplied oxygen escapes into the atmosphere. The pressurized aeration system (Supersaturated Dissolved Oxygen, SDOX) is proposed as an alternative. This research investigates how elevated pressure aeration affects nitrogen removal through nitrification and denitrification, advanced biological phosphorus removal (EBPR), membrane clogging in membrane bioreactors (MBR), sedimentation of active sludge, and sludge particle size. The study aims to enhance understanding of elevated pressure aeration's impact on biological activity in wastewater treatment, improve efficiency of sludge separation by sedimentation, and provide insights into membrane clogging issues in MBR. The research will contribute to a better understanding of the impact of aeration at elevated pressure on the biological activity of activated sludge in wastewater treatment, on the efficiency of separating activated sludge from treated water by sedimentation in settling tanks, as well as a better insight into the problems of membrane clogging in MBR.

**Number of pages: 145**  
**Number of images: 59**  
**Number of tables: 9**  
**Number of literary references: 121**  
**Original language: Croatian**

**Keywords:** Waste water, aeration, SDOX, MBR, SBR, membranes

**Defense date:**

**Expert committee:** **1. prof. dr. Tibela Landeka Dragičević (PBF)**  
**2. doc. dr. Dijana Grgas (PBF)**  
**3. prof. dr. Marija Vuković Domanovac (FKIT)**

**The work is archived in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology in Zagreb, Kačićeva 23; National and University Library in Zagreb, Hrvatske bratske zajednice b.b.; University of Zagreb, Trg Republike Hrvatske 14

Ova disertacija je izrađena u Laboratoriju za tehnologiju vode pri Zavodu za Prehrambeno inženjerstvo na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Josipa Ćurka, u sklopu doktorskog studija Prehrambena tehnologija pri Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

## Zahvale

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Josipu Ćurku na primjedbama i sugestijama te na pruženoj potpori prilikom oblikovanja ovoga rada koja je doprinijela kvaliteti ove disertacije.

Od srca hvala i mojim kolegama iz Laboratorija za tehnologiju vode, prof. dr. sc. Marinu Matošiću i Luciji Surać, mag. ing. na stručnoj i kolegijalnoj podrški.

Velika hvala prof. dr. sc. Ivanu Mijatoviću s kojim je cijela ova priča i započela.

Najveća hvala mojoj supruzi Jeleni, koja mi je uvijek davala vjetar u leđa kad bih stao, te vremena i prostora da s velikim zadovoljstvom završim ovo važno poglavlje u životu.

## **Životopis:**

Vlado Crnek rođen je 13. kolovoza 1963. godine u Sarajevu (Bosna i Hercegovina). Osnovnu i srednju školu završio je u Zagrebu. Preddiplomski studij završio je 2009. godine na Veleučilištu u Karlovcu, smjer Prehrambena tehnologija gdje je stekao zvanje Inženjera Prehrambene tehnologije. Sveučilišni diplomski studij završio je 2012. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Agroekologija, s prosječnom ocjenom studija 4,41, s diplomskim radom pod naslovom „Procjena pogodnosti primjene mulja otpadnih voda u poljoprivredi“ i s time stekao zvanje Magistra inženjera agronomije.

Od 1983. do 1988. je radio u „Elektroprivredi“, radna jedinica Elektrana – Toplana Zagreb“ kao rukovalac pogona kemijske pripreme vode. Od 1988. godine radi na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u Laboratoriju za tehnološke i otpadne vode (sada Laboratorij za tehnologiju vode) pri Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, prvo kao tehnički suradnik, a od 2009. kao viši tehnički suradnik gdje nadalje od 2018. godine radi u svojstvu asistenta. U tom razdoblju aktivno sudjeluje u izvođenju studentskih vježbi i izradi brojnih znanstvenih i stručnih radova. Također, sudjeluje na više domaćih i međunarodnih znanstvenih skupova kao i na izradi više stručnih projekata.

## **Radovi u časopisima**

Znanstveni i pregledni radovi:

**Crnek, V.**, Tomić Mrkonjić, V., Vuković, M., Ćurko, J., Matošić, M. (2024) Influence of high acetate concentrations on enhanced biological phosphorus removal. Int J Environ Sci Technol.(2024). <https://doi.org/10.1007/s13762-024-05555-2>

Grgas, Dijana; Rukavina, Matea; Bešlo, Drago; Štefanac, Tea; **Crnek, Vlado**; Šikić, Tanja; Habuda- Stanić, Mirna; Landeka Dragičević, Tibela , *The Bacterial Degradation of Lignin—A Review*. // Water, **15** (2023), 7; 1272, 17 doi:10.3390/w15071272

Gregov, Marija; Jukić, Anita; Ćurko, Josip; Matošić, Marin; Gajšak, Filip; **Crnek, Vlado**; Ujević Bošnjak, Magdalena, *Bromide occurrence in Croatian groundwater and*

*application of literature models for bromate formation. // Environmental monitoring and assessment*, **194** (2022), 544, 12 doi:10.1007/s10661-022-10240-3

Kim, Sang Yeob; Ćurko, Josip; Kljusurić, Jasenka Gajdoš; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; López-Vázquez, Carlos M.; Garcia, Hector A.; Brdjanović, Damir; Valinger, Davor, *Use of near-infrared spectroscopy on predicting wastewater constituents to facilitate the operation of a membrane bioreactor. // Chemosphere*, **272** (2021), 129899, 10 doi:10.1016/j.chemosphere.2021.129899

Šikić, Tanja; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Horvat, Sanja; Matošić, Marin, *Feasibility of wastewater treatment plant upgrade by enhanced biological phosphorus removal: case study Koprivnica, Croatia. // Fresenius environmental bulletin*, **25** (2016), 6; 1811-1819

Ćurko, Josip; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Stulić, Višnja; Mijatović, Ivan *Adsorption Characteristics of Different Adsorbents and Iron(III) Salt for Removing As(V) from Water. // Food technology and biotechnology*, **54** (2016), 2; 250-255 doi:10.17113/ft b.54.02.16.4064

Ćurko, Josip; Mijatović, Ivan; Rumora, Dean; **Crnek, Vlado**; Matošić, Marin; Nežić, Mladen, *Treatment of spent filter backwash water from drinking water treatment with immersed ultrafiltration membranes. // Desalination and Water Treatment*, **51** (2013), 25/27; 4901-4906 doi:10.1080/19443994.2013.774142

Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Korajlija Jakopović, Helena; Mijatović, Ivan, *Municipal Wastewater Treatment in a Membrane Bioreactor. // Fresenius environmental bulletin*, **18** (2009), 12; 2275-2281. (<https://www.bib.irb.hr/450668>)



## **Radovi u zbornicima skupova**

### Znanstveni radovi u zbornicima skupova

Gregov, Marija; Ujević Bošnjak, Magdalena; Ćurko, Josip; Matošić, Marina; Surać, Lucija; **Crnek, Vlado**, *Utjecaj klimatskih promjena na vodu koja se koristi za ljudsku potrošnju*. // XXVI. Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Ujević Bošnjak, Magdalena (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2022. str. 39-45

Matošić, Marin; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Surać, Lucija; Gregov, Marija *Upotreba i odobravanje tehnoloških postupaka obrade prirodnih mineralnih i prirodnih izvorskih voda*. // XXV. Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Ujević Bošnjak, Magdalena (ur.).

Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2021. str. 42-50

Gregov, Marija; Jukić, Anita; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Ujević Bošnjak, Magdalena; Gajšak, Filip; Jaguš, Emanuela; Matošić, Marin, *Prisutnost bromida u vodocrpilištima hrvatske*. // XXIV. Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Ujević Bošnjak, Magdalena (ur.).

Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2020. str. 115-123

Ćurko, Josip; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Surać, Lucija; Zorko, Sonja; Brozić, Bojana; Cotić, Sean; Nežić, Mladen, *Laboratorijsko testiranje nastajanja bromata pri ozoniranju vode na postrojenju Butoniga*. // XXIII. Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Ujević Bošnjak, Magdalena (ur.).

Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2019. str. 163-172

Mijatović, Ivan; Kocbek, Eva; Medved, Zlatko; Dumbović, Darinko; Matošić, Marin; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**, *Praktična iskustva na primjeni procesa ultrafiltracije u pripremi vode za ljudsku potrošnju za potrebe grada Petrinje*. // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).

Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2016. str. 37-37

Ćurko, Josip; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Mijatović, Ivan, Ukalanjanje As(V) iz vode procesom filtracije uronjivim membranama uz prethodnu adsorpciju na Fe(OH)<sub>3</sub>. // XX Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, 2016. str. 201-209

Matošić, Marin; Librán, Brenda; Garcia Hernandez, Hector; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Brdjanović, Damir, *Upotreba procesa ubrizgavanja otopine prezasićene kisikom pri aeraciji u biološkoj obradi otpadnih voda.* // XX Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, 2016. str. 218-224

**Crnek, Vlado**; Matošić, Marin; Ćurko, Josip; Mijatović, Ivan, *Odlaganje muljeva otpadnih voda i mogućnost daljnje uporabe.* // XX Znanstveno – stručni skup voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, 2016. str. 218-224

Ćurko, Josip; Mijatović, Ivan; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Rumora, Dean; Nežić, Mladen; Banko, Dean, *Obrada otpadnih voda od pranja pješčanih filtera uronjivim ultrafiltracijskim membranama na vodocrpilištima Gradole i Rakonek.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, 2015. str. 118-126

Kim, Sang Yeob; Garcia, Hector; Lopez- Vazquez, Carlos; Matošić, Marin; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Mijatović, Ivan; Brdjanović, Damir, *Comparision of a super-oxygenation system and a conventional aeration system.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2015. str. 127-131

Ćurko, Josip; Trontl, Nikolina; Matošić, Marin; Korajlija Jakopović, Helena; **Crnek, Vlado**; Mijatović, Ivan, *Mehanizmi začepļivanja membrana u membranskom bioreктору.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.). Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2009. str. 213-222

Korajlija Jakopović, Helena; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Matošić, Marin; Mijatović, Ivan, *Obrada otpadne vode industrije za preradu mlijeka u membranskom bioreaktoru s uronjenom membranom.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).  
Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2009. str. 206-212

Stulić, Višnja; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Korajlija Jakopović, Helena; Matošić, Marin; Mijatović, Ivan, *Uklanjanje željeza i mangana katalitičkom oksidacijom.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).  
Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 221-226

Ćurko, Josip; Matošić, Marin; Korajlija Jakopović, Helena; **Crnek, Vlado**; Mijatović, Ivan, *Obrada otpadne vode u membranskom bioreaktoru u funkciji očuvanja prirodnih resursa vode za piće.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).  
Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 99-106

Novoselec, Maja; Sato, Adriana; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Korajlija Jakopović, Helena; Matošić, Marin; Mijatović, Ivan, *Uklanjanje organskih tvari flokulacijom i filtracijom kroz uronjenu membranu.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).  
Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 199-210

Radanović, Anita; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Korajlija Jakopović, Helena; Matošić, Marin; Mijatović, Ivan, *Obrada vode reverznom osmozom i zbrinjavanje koncentrata.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).  
Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 107-117

Korajlija Jakopović, Helena; Šaler, Petra; Krnjeta, Tea; Ćurko, Josip; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Mijatović, Ivan, *Uklanjanje huminskih kiselina iz vode ozoniranjem.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).  
Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 89-98

Vukušić, Tomislava; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Korajlija Jakopović, Helena;

Matošić, Marin; Mijatović, Ivan, *Uklanjanje organskih tvari nanofiltracijom.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).

Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 119-127

Vidić, Bože; Ćurko, Josip; Matošić, Marin; Korajlija Jakopović, Helena; **Crnek, Vlado**; Mijatović, Ivan, *Uklanjanje nitrata iz vode ionskom izmjenom i regeneracija ionskog izmjenjivača.* // Voda i javna vodoopskrba / Dadić, Željko (ur.).

Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2008. str. 211-219

### **Sažetci sa skupova**

Gregov, Marija; Valinger, Davor; Ćurko, Josip; **Crnek, Vlado**; Surać, Lucija; Matošić, Marin; Ujević Bošnjak, Magdalena, *Optimization of laboratory treatments in drinking water production.* // Book of Abstracts WATER FOR ALL 2022 / Habuda-Stanić, Mirna ; Lauš, Ivana ; Šuvak-Pirić, Ivana (ur.).

Osijek, 2022. str. 68-68

Gregov, Marija; Ćurko, Josip; Benković, Maja; Valinger, Davor; **Crnek, Vlado**; Matošić, Marin; Ujević Bošnjak, Magdalena, *Bromate formation during ozonation and effect of ammonium addition.* // Book of abstracts of 1st international conference Food & Climate Change / Šamec, Dunja ; Šarkanj, Bojan ; Sviličić Petrić, Ines (ur.).

Koprivnica, 2021. str. 77-77

Ćurko, Josip; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Stulić, Višnja; Mijatović, Ivan, *Adsorption characteristics of different adsorbents for As(V) removal from water.* // 8th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists / Frece, Jadranka (ur.).

Zagreb, 2014. str. 84-84

Ćurko, Josip; Mijatović, Ivan; Rumora, Dean; **Crnek, Vlado**; Matošić, Marin; Nežić, Mladen, *Treatment of spent filter backwash water from drinking water treatment with immersed ultrafiltration membranes.* // Membranes in drinking and industrial water production

Leeuwarden: European Desalination Society and Wetsus, 2012. str. 117-118

**Druga sudjelovanja na skupovima**

Ćurko, Josip; Matošić, Marin; **Crnek, Vlado**; Nežić, Mladen; Rumora, Dean;  
Mijatović, Ivan, *Treatment of spent filter backwash water from drinking water  
production with immersed ultrafiltration membranes. // XXII Conferencia  
Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Havana, Kuba, 2016.*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b>	<b>3</b>
2.1. Biološka obrada otpadnih voda	4
2.2. Sustavi aeracije pri biološkoj obradi otpadnih voda	6
2.3. Uređaji za obradu otpadnih voda	9
2.3.1. Klasični uređaj za obradu otpadnih voda	9
2.3.2. Šaržni bioreaktor (SBR)	10
2.3.3. Membranski bioreaktor (MBR)	13
2.4. Biološko uklanjanje fosfora	18
2.4.1. Metabolizam PAO-a	19
2.4.2. Metabolizam GAO	22
2.4.3. Kompeticija između mikroorganizama u aktivnom mulju	23
2.4.4. Utjecaj različitih čimbenika na EBPR proces	24
2.5. Biološko uklanjanje dušika	26
2.5.1. Nitrifikacija	27
2.5.2. Denitrifikacija	30
3.1. SDOX uređaj	34
3.2. Šaržni bioreaktor (SBR)	35
3.2.1. Aktivni mulj za proces EBPR	37
3.2.2. Sintetička otpadna voda	37
3.2.3. Postava uređaja za istraživanje utjecaja SDOX-a na proces biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode u SBR-u	39
3.2.4. Testiranje biološke aktivnosti PAO u aktivnom mulju	41
3.2.5. Testiranje inhibicije visokim koncentracijama KPK na EBPR proces	42

3.3.	Membranski bioreaktor (MBR)	43
3.3.1.	Aktivni mulj za proces uklanjanja dušika iz otpadne vode putem nitrifikacije i denitrifikacije u MBR-u	45
3.3.2.	Komunalna otpadna voda	45
3.3.3.	Postava uređaja za istraživanje utjecaja SDOX-a na proces biološkog uklanjanja dušika iz otpadne vode i začepljivanja membrana u MBR-u	47
3.3.4.	Testiranje biološke aktivnosti aktivnog mulja u uklanjanju dušika iz otpadne vode putem nitrifikacije i denitrifikacije	48
3.3.5.	Određivanje specifične brzine oksidacije amonija u procesu nitrifikacije i specifične brzine denitrifikacije	50
3.4.	Primjena matematičkog modela za procjenu frakcija otpadne vode	50
3.5.	Predviđanje rasta aktivnog mulja	51
3.6.	Mjerenje pH-vrijednosti	53
3.7.	Mjerenje koncentracije otopljenog kisika	53
3.8.	Određivanje i regulacija temperature	54
3.9.	Određivanje ukupne suspendirane tvari (TSS), ukupne organske suspendirane tvari (VSS) i ukupne anorganske tvari (ISS)	54
3.10.	Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK)	55
3.11.	Određivanje koncentracije ukupnog fosfora	56
3.12.	Određivanje koncentracije otopljenog fosfora	56
3.13.	Određivanje koncentracije ukupnog dušika (TN)	57
3.14.	Određivanje koncentracije nitrata	58
3.15.	Određivanje koncentracije amonija	58
3.16.	Mikroskopiranje uzorka aktivnog mulja	58
3.17.	Određivanje indeksa taloživosti mulja (SVI)	59

3.18.	Određivanje starosti mulja (SRT)	60
3.19.	Određivanje specifične brzine oksidacije amonija u procesu nitrifikacije i specifične brzine denitrifikacije	60
3.20.	Određivanje distribucije veličina suspendiranih čestica	61
3.21.	Računanje fluksa (J) i permeabilnosti (K) membrana	63
3.22.	Računanje ukupnog otpora filtraciji (Rt)	65
3.23.	Čišćenje membrana	66
<b>4.</b>	<b>REZULTATI I RASPRAVA</b>	<b>67</b>
4.1.	Uzgoj PAO	68
4.2.	Testovi inhibicije EBPR-a s visokim koncentracijama acetata	73
4.3.	Prilagodba SBR za pokus rada s SDOX-m	79
4.4.	Utjecaj SDOX sustava aeracije na proces naprednog biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode (EBPR)	87
4.4.1.	Utjecaj SDOX sustava aeracije na indeks taloživosti aktivnog mulja (SVI) na EBPR	89
4.4.2.	Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na koncentracije i omjer suspendiranih tvari aktivnog mulja (TSS, VSS, ISS) u EBPR	91
4.4.3.	Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na uklanjanje organskih tvari tijekom EBPR	92
4.4.4.	Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na uklanjanje dušikovih spojeva u EBPR	93
4.4.5.	Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na uklanjanje fosfora u EBPR	95
4.4.6.	Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na distribuciju veličine čestica aktivnog mulja u EBPR	96
4.4.7.	Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na biološku aktivnost PAO-a u aktivnom mulju	98
4.5.	Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u	99
4.5.1.	Koncentracije suspendiranih tvari u suspenziji aktivnog mulja (TSS, VSS, ISS)	101



4.5.2.	Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na uklanjanje organskih tvari tijekom obrade u MBR-u	103
4.5.3.	Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na SVI u MBR-u	106
4.5.4.	Distribucija veličine čestica aktivnog mulja	108
4.5.5.	Utjecaj na uklanjanje dušika iz otpadne vode procesima nitrifikacije i denitrifikacije	110
4.5.6.	Testovi biološke aktivnosti aktivnog mulja u procesu uklanjanja dušika iz otpadne vode tijekom trajanja eksperimenta s konvencionalnom aeracijom i aeracijom pri povišenom tlaku u SDOX-u.	113
4.5.7.	Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na začepljivanje uronjivih membrana u MBR-u	116
4.5.8.	Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na ukupni otpor filtraciji u MBR-u	120
4.6.	Mogućnost povrata permeabilnosti membrana kemijskim čišćenjem	123
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČCI</b>	<b>126</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA</b>	<b>129</b>
<b>7.</b>	<b>PRILOG</b>	<b>143</b>
7.1.	Popis i objašnjenje skraćenica korištenih u ovom radu	144



# 1. UVOD

Povećanje svjetske populacije i urbanizacija sa sobom donose probleme nedostatka vode za piće, za proizvodnju hrane te za industrijski razvoj. Izazov je to današnjice koji zahtijeva nove pristupe u upravljanju i obradi otpadnih voda. Velik pritisak stavljen je na postojeće vodene resurse jer svakim danom raste količina generirane komunalne otpadne vode u svijetu. Kako bi spriječili nastanak još veće vodene krize te zaštitili vodeni ekosustav, a posljedično i ljudsko zdravlje, potrebno je povećati iskorištenje i kvalitetu obrade komunalnih otpadnih voda. Biološka obrada aktivnim muljem najčešći je način obrade otpadne vode. Pioniri njene primjene su Ardern i Lockerr (1914) i ova je metoda već dugo vremena najzastupljenija zbog svoje učinkovitosti i niske cijene obrade. Provodi se u aeracijskim bioreaktorima gdje mikroorganizmi svojom biokemijskom aktivnošću oksidiraju organske tvari prisutne u otpadnoj vodi. Mikroorganizmi za potrebe svog rasta koriste organske tvari iz otpadne vode pri čemu se ugljik iz organskih tvari prevodi do ugljikovog dioksida; amonij preko nitrita i nitrata u plinoviti dušik. Voda se zatim odvaja od aktivnog mulja u taložnici te ide na daljnju obradu ili u ispušt, dok se dio aktivnog mulja vraća u reaktor, a ostatak se ispušta kao višak mulja. Kod biološke obrade otpadnih voda velik utjecaj ima aeracija suspenzije otpadne vode i aktivnog mulja u reaktorima, odnosno, učinkovitost prijenosa kisika iz plinovite faze u suspenziju. Konvencionalni sustavi aeracije suspenzije aktivnog mulja i otpadne vode, u reaktorima s difuzorima koji raspršuju zrak u fine mjehuriće, pokazuju relativno neučinkovit prijenos kisika iz plinovite faze u suspenziju aktivnog mulja jer se većina dobavljenog kisika ne otopi nego odlazi neiskorišten u atmosferu (Judd, 2008). Zbog navedenog, prijenos kisika u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda troši najveći dio energije u obradi istih, a osobito pri koncentracijama aktivnog mulja višim od  $5 \text{ gL}^{-1}$ . Stoga je sustav aeracije pri povišenom tlaku (engl. *Supersaturated Dissolved Oxygen*, SDOX) predložen kao alternativa za opskrbu otopljenim kisikom pri visokim koncentracijama suspendiranih čvrstih tvari u suspenziji aktivnog mulja (engl. *Mixed Liquor Suspended Solids*, MLSS) jer su nedavne studije pokazale da SDOX ima veće brzine prijenosa kisika i učinkovitost prijenosa kisika u odnosu na difuzore s finim mjehurićima (Kim i sur., 2021) (Kim i sur., 2020a). Ova istraživanja su rađena na sintetičkim otpadnim vodama u strogo

kontroliranim uvjetima, ipak nije dovoljno poznato može li aeracija pri povišenom tlaku utjecati na učinkovitost obrade realne komunalne otpadne vode koja dolazi na uređaje za pročišćavanje otpadnih voda, odnosno na učinkovitost uklanjanja dušika i organskih tvari iz komunalnih otpadnih voda. Cilj ovog rada je istražiti utjecaj aeracije pri povišenom tlaku (SDOX) na proces uklanjanja dušika iz otpadnih voda kroz procese nitrifikacije i denitrifikacije, te na napredno biološko uklanjanje fosfora iz otpadnih voda (EBPR), istražiti utjecaj aeracije pri povišenom tlaku (SDOX) na začepljenje uronjivih membrana u membranskom bioreaktoru (MBR), te istražiti utjecaj aeracije pri povišenom tlaku (SDOX) na taloživost aktivnog mulja i veličinu čestica aktivnog mulja. Postavljene hipoteze su da aeracija pri povišenom tlaku neće utjecati na biološku aktivnost aktivnog mulja pri biološkom uklanjanju dušika i fosfora iz otpadnih voda i negativno utjecati na brzinu taloženja i veličinu čestica aktivnog mulja i da će aeracija pri povišenom tlaku negativno utjecati na brzinu začepljenja uronjivih membrana u MBR-u.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Biološka obrada otpadnih voda

U biološkoj aerobnoj obradi otpadnih voda mikroorganizmi u aktivnome mulju najčešće su obični heterotrofni organizmi ili OHO (engl. *Ordinary Heterotrophic Organisms*) (Chen i sur., 2021). 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 kojima 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 (Ekama i Wentzel, 2020). Kisik je potreban za respiraciju kao akceptor elektrona, a aerobni uvjeti se postižu aeracijom bioaeracijskog bazena ili reaktora.

Zbog prilično raznolike mješavine biološki razgradivih i nerazgradivih organskih spojeva, kemijska potrošnja kisika (KPK) najčešće se koristi za procjenu njihove ukupne koncentracije. KPK je ukupna količina kisika koja se potroši na razgradnju neke tvari, najčešće organske, a ekvivalentna je koncentraciji iste. Potreban omjer nutrijenata KPK : N : P potrebnih za provođenje metabolizma OHO iznosi 100 : 5 : 1 (Mohamed i sur., 2021; Labelle i sur., 2017; Freitas i sur., 2009a).

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) (Sözen i sur., 2014; Tian i sur., 2017a; Ginige i sur., 2013; Guerrero i sur., 2011; Zhao i sur., 2019a). Primjerice, denitrificirajući mikroorganizmi koriste biološki razgradive organske tvari za potrebe denitrifikacije koristeći nitrat ili nitrit kao akceptor elektrona (Rubio-Rincón i sur., 2017). Isto tako, kod naprednog biološkog uklanjanja fosfora (engl. *Enhanced Biological Phosphorus Removal*, EBPR) biomasa obogaćena fosfor-akumulirajućim organizmima (engl. *Polyphosphate Accumulating Organisms*, PAO) u anaerobnim uvjetima apsorbira hlapive masne kiseline (engl. *Volatile Fatty Acids*, VFA) kao što su acetat i propionat iz otpadne vode (Zhao i sur., 2019a).

Kako bi se pročišćena voda odvojila 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 tijekom procesa održavati uvjete koji onemogućavaju pojavu nitastih bakterija zato što one značajno otežavaju taloženje mulja (Li i sur., 2016). Osim sekundarne taložnice, za razdvajanje pročišćene vode od aktivnog mulja mogu se koristiti i membranski sustavi. Dio istaloženog mulja vraća se u bioreaktor, a višak priraslog mulja odvodi se iz procesa. Produkti biološke obrade vode su pročišćena voda te višak mulja. Dobivena pročišćena voda najčešće se vraća u površinske vode kao što su jezera, rijeke ili mora. Prema Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20) 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. U Tablici 1. i Tablici 2. prikazane su vrijednosti onečišćujućih pokazatelja ispod kojih se otpadna voda mora obraditi u određenom stupnju pročišćavanja s obzirom na broj stanovnika izražen kao “ekvivalent stanovnika” (ES). Vrijednost od 1 ES odgovara opterećenju otpadne vode onečišćenjem za koje je odgovoran jedan stanovnik, odnosno organskom biorazgradivom opterećenju čija petodnevna biokemijska potrošnja kisika (BPK<sub>5</sub>) iznosi 60 grama na dan.

**Tablica 1.** Granične vrijednosti koje moraju zadovoljavati otpadne vode pročišćene drugim (II) stupnjem pročišćavanja (Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20))

Pokazatelji	Granična vrijednost	Najmanji postotak smanjenja onečišćenja
Ukupne suspendirane tvari	35 mgL <sup>-1</sup>	90
Biokemijska potrošnja kisika BPK <sub>5</sub> (20 °C)	25 mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	70
Kemijska potrošnja kisika KPK	125 mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	75

**Tablica 2.** Granične vrijednosti koje moraju zadovoljavati otpadne vode pročišćene trećim (III) stupnjem pročišćavanja s obzirom na broj ES (Pravilnik o graničnim

vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20)

Pokazatelji	Granična vrijednost	Najmanji postotak smanjenja onečišćenja
Ukupni fosfor	2 mgPL <sup>-1</sup> (10 000 – 100 000 ES) 1 mg PL <sup>-1</sup> (> 100 000 ES)	80
Ukupni dušik (organski N + NH <sub>4</sub> -N + NO <sub>2</sub> -N + NO <sub>3</sub> -N)	15 mg NL <sup>-1</sup> (10 000 – 100 000 ES) 10 mg NL <sup>-1</sup> (> 100 000 ES)	70

Višak aktivnog mulja nastalog u procesu obrade otpadne vode se zbrinjava odlaganjem na deponije ili se koristi kao gnojivo u poljoprivredi, a često se i spaljuje s drugim otpadom u spalionicama.

## 2.2. Sustavi aeracije pri biološkoj obradi otpadnih voda

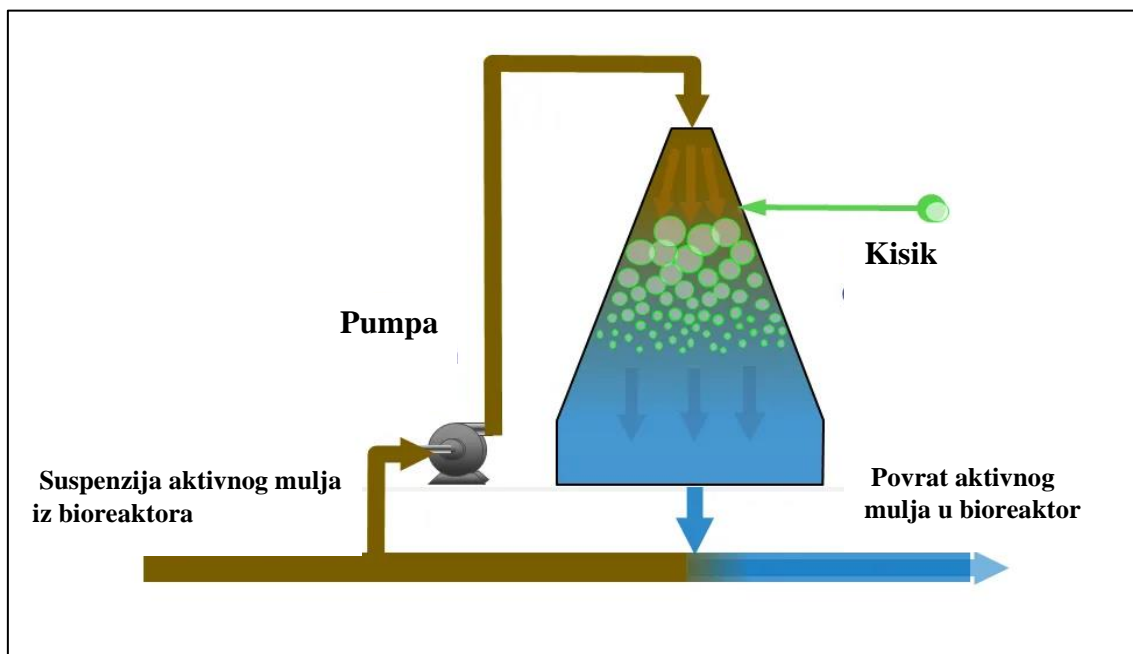
Kod biološke obrade otpadnih voda velik utjecaj ima aeracija suspenzije otpadne vode i aktivnog mulja u reaktorima, odnosno, učinkovitost prijenosa kisika iz plinovite faze u suspenziju. Konvencionalni sustavi aeracije suspenzije aktivnog mulja i otpadne vode, u reaktorima s difuzorima koji raspršuju zrak u fine mjehuriće (Slika 1.), pokazuju relativno neučinkovit prijenos kisika iz plinovite faze u suspenziju aktivnog mulja jer se većina dobavljenog kisika ne otopi nego odlazi neiskorišten u atmosferu (Kim i sur., 2020a); Zhang i sur., 2014).



**Slika 1.** Prikaz konvencionalne aeracije otpadne vode i difuzora za fine mjehuriće zraka (preuzeto s <https://www.blueingreen.com>, preuzeto: rujan, 2018.)



Zbog navedenog, prijenos kisika u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda troši najveći dio energije u obradi istih, a osobito pri koncentracijama aktivnog mulja višim od  $15 \text{ gL}^{-1}$ . Stoga je sustav aeracije pri povišenom tlaku (engl. *Supersaturated Dissolved Oxygen*, SDOX) predložen kao alternativa za opskrbu otopljenim kisikom pri visokim koncentracijama suspendiranih tvari u suspenziji aktivnog mulja (engl. *Mixed Liquor Suspended Solids*, MLSS) (Kim i sur., 2020a) (Kim i sur., 2021). Nedavne studije pokazale su da SDOX ima veće brzine prijenosa kisika i učinkovitost prijenosa kisika u odnosu na difuzore s finim mjehurićima (Kim i sur., 2020b). Ovaj način aeracije aktivnog mulja zasićuje suspenziju aktivnog mulja kisikom u tlačnoj komori pri povišenom tlaku (od 2 do 10 bara) te tako zasićenu otopinu naglo ubrizgava natrag u glavni tok obrade vode, odnosno u bioreaktor. Budući da SDOX prethodno otapa kisik izvan bioreaktora ne stvaraju se mjehurići, što omogućuje da se skoro cijeli kisik otopi bez gubitaka i bez nastajanja mjehurića koji se dižu kroz vodeni stupac u bioreaktoru (Slika 2.). Prednosti takve tehnologije uključuju mogućnost rada uređaja za pročišćavanje otpadnih voda na puno višim koncentracijama MLSS od uobičajenih ( $2 \text{ do } 6 \text{ gL}^{-1}$ ) (Kim i sur., 2020a), čime se povećava ukupni kapacitet obrade otpadne vode, zadržavajući postojeće gabarite bioreaktora.



**Slika 2.** Prikaz SDOX aeracije otpadne vode (preuzeto s <https://www.blueingreen.com>, preuzeto: rujan, 2018.)

O mogućem utjecaju aeracije pri povišenom tlaku na učinkovitost biološke obrade otpadne vode, dosadašnja istraživanja pokazuju da SDOX nema velikog utjecaja na procese uklanjanja organske tvari i dušika kroz procese nitrifikacije i denitrifikacije (Kim i sur., 2020b), te na začepljivanje membrana u MBR-u (Kim i sur., 2021), ali to je pokazano istraživanjima koja su provedena na aktivnom mulju uzgojenom na sintetičkoj otpadnoj vodi točno određenog sastava i uz kontrolirane uvjete koji favoriziraju rast određenih mikroorganizama (Schuler i Jenkins, 2002); Panswad i sur., 2003; Carvalheira i sur., 2014; Kim i sur., 2020b; Kim i sur., 2021). Ipak, nije dovoljno poznato može li aeracija pri povišenom tlaku utjecati na učinkovitost obrade realne komunalne otpadne vode koja dolazi na uređaje za pročišćavanje otpadnih voda, odnosno na učinkovitost uklanjanja dušika i organskih tvari iz komunalnih otpadnih voda. S obzirom na to da je za uspješnu biološku obradu otpadnih voda, osim biološke aktivnosti aktivnog mulja, odnosno uklanjanja organskih tvari, dušika i fosfora, također vrlo važno brzo i efikasno odvajanje aktivnog mulja od suspenzije koje ovisi o veličini čestica aktivnog mulja i brzini taloženja aktivnog mulja u suspenziji. Do sada nije dovoljno istraženo kako aeracija pri povišenom tlaku utječe na veličinu čestica mulja i na indeks taloživosti mulja (engl. *Sludge Volume Indeks*, SVI) pri obradi komunalnih otpadnih voda, odnosno na uspješnost taloženja mulja u klasičnim uređajima i šaržnom bioreaktoru (SBR-u) te na začepljivanje membrana u MBR uređajima. Također, do sada nije dovoljno istraženo kako će ovaj tip aeracije utjecati na EBPR pomoću aktivnog mulja obogaćenog PAO koji akumuliraju polifosfat u svoju biomasu i koji izdvajanjem viška aktivnog mulja vrše uklanjanje fosfora iz otpadne vode (Oehmen i sur., 2007a). Za uspješan EBPR, uz dobru biološku aktivnost PAO-a, također je vrlo važno brzo i efikasno odvajanje aktivnog mulja od suspenzije koje ovisi o veličini čestica aktivnog mulja i brzini taloženja aktivnog mulja u suspenziji. Niti u ovom procesu do sada nije dovoljno istraženo kako aeracija pri povišenom tlaku utječe na veličinu čestica mulja i na SVI pri uklanjanju fosfora iz komunalnih otpadnih voda te na uspješnost taloženja mulja. 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 zasićena s otopljenim kisikom koji se u optimalnim uvjetima može otopiti u koncentraciji do  $350 \text{ mgL}^{-1}$  što ovisi o upotrijebljenom tlaku (Kim i sur., 2021). Takva kisikom zasićena suspenzija vraća se 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, 2018). Na Slici 2. 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. Ispuštanje suspenzije mulja natrag u bioreaktor regulirano je pomoću ventila čijim se otvaranjem aerirani mulj pri povišenom tlaku ispušta u bioreaktor.

Neke od prednosti SDOX uređaja su sljedeće (Jones, 2010):

- Visoka efikasnost otapanja kisika što snižava operativne troškove
- Koristi se do 40 % manje kisika od tipične aeracije pomoću difuzora
- Nema otplinjavanja kisika koji ostaje dostupan mikroorganizmima

## 2.3. Uređaji za obradu otpadnih voda

### 2.3.1. Klasični uređaj za obradu otpadnih voda

U klasičnoj obradi, primarna obrada uključuje odstranjivanje zrnatih, pahuljastih i drugih čestica veće gustoće koje se talože, kao i čestica manje gustoće koje isplivavaju na površinu.



**Slika 3.** Shema konvencionalne obrade otpadne vode (preuzeto iz Metcalf i Eddy, 2014)

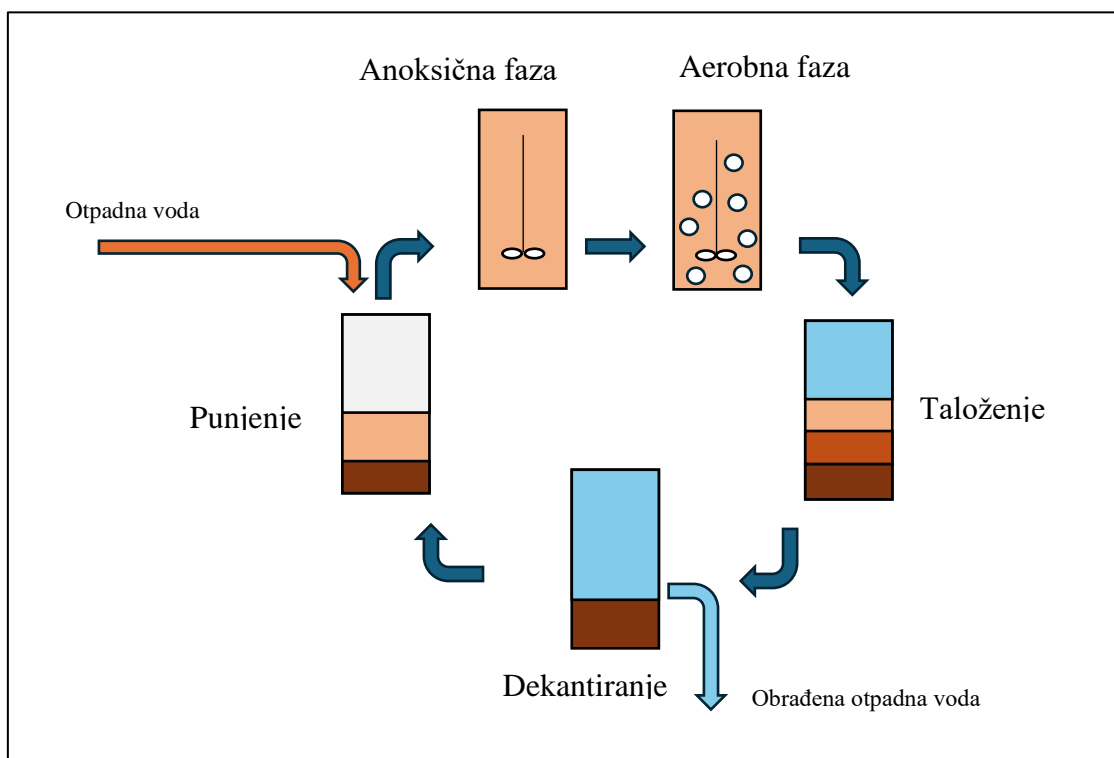
Prije primarne obrade može se provesti i prethodna obrada u kojoj se iz otpadne vode uklanjaju grube nečistoće pomoću rešetaka ili sita nakon čega slijedi proces egalizacije. To je proces koji omogućuje razrjeđenje toksičnih sastojaka te izjednačavanje pH-vrijednosti otpadne vode. Kao dio sustava primarne obrade može se koristiti pjeskolov u kojem se odstranjuju zrnate čestice (pijesak i šljunak), mastolov u kojem se odstranjuju plivajuće čestice (masti i ulja) te primarna taložnica u kojoj se uklanjaju suspendirane čestice pod nazivom primarni mulj. Rezultat primarne obrade je smanjenje ukupnog organskog onečišćenja za 30 – 50 % (Henze i sur., 2008a)

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. Za uklanjanje otopljenih sastojaka primjenjuju se biološki aerobni i anaerobni postupci. 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 (van Loosdrecht i sur., 2016a). Svi mikroorganizmi zajedno sa suspendiranim česticama tvore flokule na temelju različitih naboja pri čemu nastaje aktivni mulj.

### **2.3.2. Šaržni bioreaktor (SBR)**

Općenito, obrada otpadne vode u SBR uređaju razlikuje se od ostalih klasičnih postrojenja po tome što se 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 oba procesa odvijaju u istom bazenu (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 (Freitas i sur., 2009b). 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. Budući da dotok otpadne vode nikad ne prestaje kod svih SBR, u praksi mora postojati više reaktora tako da kad se jedan puni otpadnom vodom u drugom se može odvijati obrada vode (Zeng i sur., 2013). 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 na 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. Korištenje SBR-uređaja temelji se na 5 osnovnih koraka: punjenje, obrada (anaerobna/aerobna), taloženje, dekantiranje i mirovanje (Slika 4.).



**Slika 4.** Osnovne faze u SBR-u koji provodi EBPR (preuzeto iz Metcalf i Eddy, 2014)

- **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 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 miješalo je uključeno, kao i aeracija, prema potrebi. Budući da nema dodavanja influenta, a time i povećanja organskog opterećenja, stopa uklanjanja organskih tvari se značajno povećava. Mikroorganizmi koji se nalaze u reaktoru provode razgradnju organskih tvari iz otpadne vode. Kruženjem između anaerobne i aerobne faze može se postići uklanjanje dušika i fosfora iz otpadne vode.

- **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 održala određena starost mulja (SRT), odnosno prosječno vrijeme koje aktivni mulj provede u sustavu a računa se kao omjer između ukupne količine mulja u uređaju i količine 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 SBR se ponovno puni s influentom.

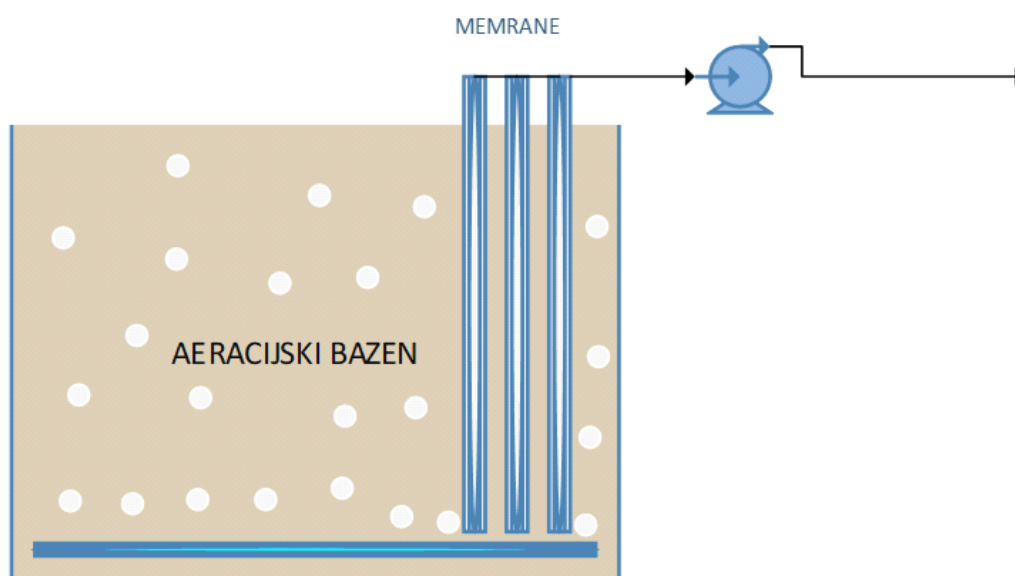
### **2.3.3. Membranski bioreaktor (MBR)**

Rješenja nekih problema klasične tehnologije obrade aktivnim muljem (Van Loosdrecht i sur., 2020); (Cano i sur., 2014a; (Matošić i sur., 2009; Henze i sur., 2008b) dokazala su uspješnost kombiniranja biološke obrade vode i membranske tehnologije kod kojih bi membrana zamijenila sekundarnu taložnicu u odvajanju aktivnog mulja od obrađene vode. Ovim pristupom moguće je postići zamjetno višu koncentraciju biomase u reaktoru što dovodi do povećane učinkovitosti obrade, a time i do smanjenja potrebnog volumena bioreaktora, odnosno sekundarne taložnice. Zbog smanjenog omjera supstrat/biomasa ( $S/X$ ), ukupan rast biomase značajno je usporen tako da su i količine otpadnog mulja smanjene. Zbog produžene starosti mulja spororastući mikroorganizmi se zadržavaju u bioreaktoru pa je razgradnja teže razgradivih tvari bolja. Mikrobiološka kvaliteta obrađene vode je visoka zbog zadržavanja mikroorganizama filtracijom na membrani, pa se obrađena voda može koristiti za više primjena koje uključuju ponovnu upotrebu vode (Van Loosdrecht i sur., 2020).

Ideja o kombiniranju biološke obrade vode i membranske tehnologije nije nova i MBR tehnologija se konstantno proučava i usavršava. Primjena u praksi se uglavnom koristi za obradu industrijskih, teško razgradivih otpadnih voda (Cano i sur., 2014a; Xiao i sur., 2020) te procjednih voda deponija (Judd, 2008). Kod primjene MBR-a za obradu industrijskih otpadnih voda postiže se visoka učinkovitost obrade. U Sjevernoj Americi česta je upotreba MBR-a za obradu otpadnih voda opterećenih sintetskim uljima (Yang i sur., 2006). Kod ovakvih primjena potrebno je duže vrijeme zadržavanja vode (24 – 55 h) u usporedbi s obradom komunalnih otpadnih voda (2 – 8 h) zbog teže razgradivosti. Uklanjanje organskog opterećenja izraženog kao kemijska potrošnja kisika (KPK), koji predstavlja kisik potreban za oksidaciju organske tvari u vodi i biološka potrošnja kisika (BPK) koja predstavlja količinu kisika otopljenog u vodi koju potroše mikroorganizmi prisutni u vodi za 5 dana, je viša od 90 %. Kod primjene MBR-a za obradu industrijskih otpadnih voda u načelu treba provesti prethodno istraživanje za svaku pojedinu primjenu zbog velike različitosti u sastavu i biorazgradivosti otpadnih voda koje često nisu pogodne

za biološku obradu (Henze i sur., 2008b).

Konfiguracijom MBR-a s uronjenom membranom začepljenje se sprječava turbulentnom aeracijom zrakom oko membrane jer se filtracija odvija pod vakuumom pri čemu nema turbulentnog strujanja tekućine oko membrane. Kod konfiguracije s uronjenom membranom iskorištenje vode na samoj membrani je vrlo visoko, a upotrijebljeni potlak mnogo niži, pa je potrošnja energije i do dva reda veličine niža nego kod konfiguracije s tangencijalnom filtracijom (Gander i sur., 2000). U isto vrijeme uronjene membrane rade pri nižem specifičnom protoku vode (fluksu) pa stoga moraju imati veću površinu od tangencijalnih membrana (Judd, 2008; Cano i sur., 2014b).



**Slika 5.** Membranski bioreaktor (MBR) s uronjenim membranama (preuzeto iz Metcalf i Eddy 2014)

Kod MBR-a upotrebljavaju se mikrofiltracijske ili ultrafiltracijske membrane veličina pora 0,01-0,5  $\mu\text{m}$ . Veličina pora uglavnom ovisi o željenom stupnju separacije mikroorganizama. Membrane manjih pora bolje zadržavaju mikroorganizme pri čemu se dobiva bolja mikrobiološka kvaliteta filtrirane vode, no takve su membrane općenito podložnije začepljivanju. Bioreaktor s uronjenom membranom omogućuje rad pri velikim koncentracijama suspendiranih tvari, te nema potrebe za stvaranje flokula i taloženje mulja. Takav sistem omogućava obradu otpadne vode u puno manjem volumenu za istu količinu otpadne vode i za istu produktivnost. Uvođenje uronjene membrane bila je ključna inovacija u obradi otpadne vode u MBR-u (Yang i sur., 2006).



Zahvaljujući višim koncentracijama aktivnog mulja u MBR-u (do  $40 \text{ g L}^{-1}$ ) (Kim i sur., 2021); Barreto i sur., 2017) u usporedbi s klasičnom tehnologijom, prirast mulja u procesu značajno je smanjen. Razlog smanjenja prirasta mulja uglavnom se pripisuje ulasku biomase u stacionarnu fazu rasta zbog smanjenog omjera supstrata i biomase (S/X) (Gernaey i sur., 2004). Smanjeni omjer S/X uzrokuje da stanice troše većinu raspoložive energije supstrata za održavanje, a ne za rast. Stvarna vrijednost prirasta biomase varira kod različitih autora što ovisi o starosti mulja, ali je u praksi vrijednost prirasta mulja uvijek ispod  $0,3 \text{ kg (kg BPK}_5\text{)}^{-1}$  što je otprilike dvostruko manje od prirasta kod klasičnog uređaja (Li i sur., 2016; (Lopez-Vazquez, 2009); (Chang i sur., 1996).

Unatoč svim prednostima ovog procesa postoje i određena ograničenja i nedostaci (Yang i sur., 2006) koji se očituju u slijedećem:

1. začepjenja membrane
2. relativno velike potrošnje energije
3. troškovi izgradnje postrojenja zbog skupoće opreme.

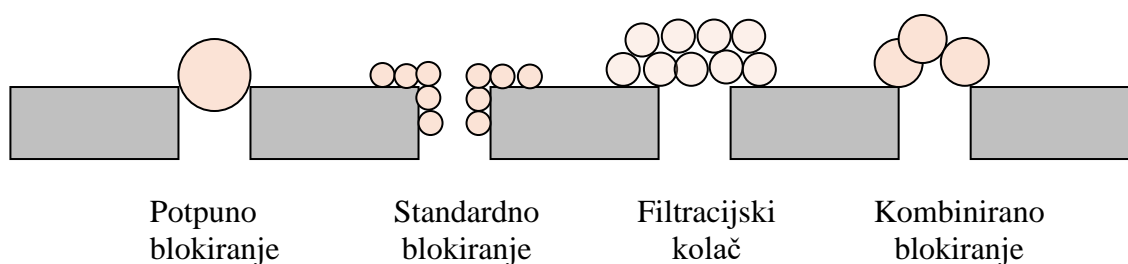
Razvoj tehnologije membranskih bioreaktora usporen je zbog problema začepjivanja membrana koji dovodi do smanjenja fluksa i potrebe za čestim čišćenjem i zamjenom membrane što poskupljuje proces. Utvrđeno je da nivo i priroda začepjenja ovise o tri faktora (Ahmed i sur., 2008):

1. karakteristikama biomase
2. uvjetima rada
3. karakteristikama membrane.

Mnogo je radova o MBR-ima stoga posvećeno otkrivanju, istraživanju i kontroli problema začepjivanja membrana te razvijanju matematičkih modela koji bi objasnili taj fenomen (Du i sur., 2020; Sun i Liu, 2013; Chang i sur., 2002). Do začepjenja dolazi zbog interakcije između membrane i komponenata aktivnog mulja kao što su otpadna voda, stanice, ostatci stanica i izvanstanični polimeri (engl.- *Extracellular polymeric substances*, EPS). Budući da sastav aktivnog mulja uvelike ovisi o različitim utjecajima (ulaznoj vodi, starosti mulja, omjeru S/X i konfiguraciji membrane) vrlo je teško doći do jednoznačnih objašnjenja i pravila o začepjivanju membrana u MBR-u.

Sukladno prihvaćenim mehanizmima začepljenja membrana (Slika 6.) taloženje tvari na membrani izaziva:

1. Potpuno blokiranje koje je izazvalo zatvaranje pora česticama koje nemaju prekrivanje čestica.
2. Kombinirano blokiranje koje je izazvalo zatvaranje pora česticama bez stvaranja filtracijskog kolača.
3. Standardno blokiranje gdje se čestice manje od veličine pora membrane polažu na stijenke pora, te tako smanjuju veličinu pora.
4. Filtracija kolača gdje se čestice veće od veličine pora membrane polažu na stijenke membranske površine.



**Slika 6.** Mehanizmi začepljivanja membrana

Biomasa, odnosno aktivni mulj, sastoji se od flokula koje sadrže bakterijske i druge stanice, suspendiranu tvar i izvanstanične polimere (engl. *Extracellular polymeric substances*, EPS) koji često služe kao vezivo unutar flokule. Sastav i karakteristike aktivnog mulja ovise o različitim utjecajima. Koncentracija aktivnog mulja izražena kao suspendirana tvar (MLSS) u početku se smatrala glavnim razlogom začepljivanja membrana (Judd, 2008), međutim, kasnija istraživanja pokazala su da je biomasa uzrok uglavnom reverzibilnog, a ne ireverzibilnog začepljenja koje se mora uklanjati kemijskim čišćenjem (Cano i sur., 2014b).

Na začepljivanje membrane utječu i uvjeti rada, a to su: brzina tangencijalne filtracije kod membrana s tangencijalnom filtracijom odnosno aeracija kod uronjenih membrana, zatim upotrijebljeni fluks, hidrauličko vrijeme zadržavanja i starost mulja (Zhang i sur., 2022a); Ginige i sur., 2013).

Kod MBR-a s uronjenom membranom, uočeno je smanjenje stupnja začepljenja u sustavima koji rade pri visokom stupnju aeracije. Uloga aeracije nije samo pribavljanje kisika za biomasu već i stvaranje turbulentnog strujanja oko membrane. Pomicanje vlakana membrane uslijed aeracije pozitivno utječe na uklanjanje nečistoća koje se nalaze na membrani i ima najznačajniji utjecaj na smanjivanje začepljenja (Kim i sur., 2021). Brzina strujanja kreće se između 0,3 i 0,5 m s<sup>-1</sup>. Nakon postizanja neke kritične vrijednosti protoka zraka svako daljnje povećanje brzine protoka zraka nema utjecaj na uklanjanje nečistoća (Cano i sur., 2014a).

Određivanje prikladnog fluksa vjerojatno je najznačajnije za sprječavanje začepljenja membrane. Pri višim fluksevima dolazi do bržeg taloženja čestica iz suspenzije aktivnog mulja i do bržeg stvaranja filtracijskog kolača te je povećano prodiranje i taloženje čestica koloida u pore membrane, što uzrokuje ireverzibilno začepljivanje. Prema tzv. konceptu kritičnog fluksa, do začepljivanja membrane ne dolazi ako se fluks održava ispod vrijednosti kritičnog fluksa koji je definiran kao najviši fluks pri kojem tlak ostaje stabilan. Vrijednost kritičnog fluksa je ovisna o karakteristikama procesa kao što su koncentracija biomase, hidrodinamički parametri procesa ili materijal membrane (Yang i sur., 2006).

Starost mulja značajno utječe na karakteristike i koncentraciju mulja u bioreaktoru. Održavanje veće starosti mulja dovodi do više koncentracije mulja, sporijeg rasta te smanjenja koncentracije izvanstraničnih polimera (EPS), a s time i do manjeg začepljivanja membrane (Lay i sur., 2010). Iz navedenog se može zaključiti da hidrauličko vrijeme zadržavanja i SRT nemaju direktan utjecaj na začepljivanje membrana nego svojim utjecajem na koncentraciju i karakteristike biomase indirektno utječu na začepljivanje. Nadalje, veličina pora membrane, naboj površine membrane, konfiguracija površine i hidrofobnost membrane također utječu na začepljivanje. S obzirom na taj problem razvijeno je nekoliko postupaka kojima se sprječava začepljenje membrane te produljenje trajnosti same membrane, a to su: raspršivanje zraka, povratno pranje, pranje s dodatkom kemikalija, smanjenje vakuuma, te povremeno uključivanje vakuuma uz prisutnost raspršivača zraka (Kim i sur., 2021).

Fizičko čišćenje membrana u MBR-ovima normalno se obavlja ili postupkom ponovnog potapanja ili relaksacije, koja je jednostavno zaustavljanje propusnog protoka i daljnje čišćenje membrane sa zračnim mjehurićima. Fizičko čišćenje je jednostavna i kratka

metoda za suzbijanje začepjenja (koja uobičajeno traje manje od dvije minute), a koja ne zahtijeva nikakve kemikalije i uglavnom ne utječe na materijal membrane. Najnoviji objavljeni podaci (Rocco i sur., 2023; Yu i sur., 2022) o postupku čišćenja kompletnih postrojenja upućuju da trenutačno većina postrojenja koriste relaksacijsku metodu, a ne metodu ponovnog potapanja. Međutim, fizičko čišćenje ne može ukloniti sav materijal nataložen na membrani. Kemijsko čišćenje je učinkovitija metoda koja može ukloniti jače adsorbirane naslage na materijalu membrane. Kemijsko čišćenje se uglavnom provodi s natrijevim hipokloritom i natrijevim hidroksidom za uklanjanje organskih naslaga ili kiselim otopinama za uklanjanje vapnenca ili drugih anorganskih naslaga. Naslage koje se ne mogu ukloniti dostupnim metodama čišćenja zovu se ireverzibilno začepljenje. Ono se taloži godinama i u konačnici određuje vijek trajanja membrane.

#### **2.4. Biološko uklanjanje fosfora**

Biološko uklanjanje fosfora mikrobnim je proces za uklanjanje većih količina fosfora iz otpadne vode tako što PAO nakuplja fosfate u obliku polifosfata u granule unutar stanica. Na taj se način uklanja znatno više fosfora nego što se uklanja s potpuno aerobnim muljem kojem fosfor služi samo za rast biomase. S obzirom na to da ovaj proces ima visoku učinkovitost uklanjanja P iz otpadnih voda, manju proizvodnju mulja, niže operativne troškove te potencijalni povrat fosfora u prirodu, široko je rasprostranjen u sustavima za obradu otpadne vode. Izbacivanje viška aktivnog mulja obogaćenog s PAO iz bioreaktora dovodi do uklanjanja fosfora iz otpadne vode. PAO ima potencijalnu sposobnost vezanja čak  $0,38 \text{ mgP/mgVSS}^{-1}$ , dok s druge strane OHO imaju sposobnost vezanja samo  $0,03 \text{ mgP/mgVSS}$  (Lopez-Vazquez i sur., 2020); Ekama i Wentzel, 2020). Međutim, u praksi se koncentracija fosfora u mulju obogaćenom s PAO kreće između  $0,06$  i  $0,15 \text{ mgP/mgVSS}^{-1}$ . To je zato što pri EBPR biomasa PAO koegzistira sa 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 (Ginige i sur., 2013); Carucci i sur., 1999; Barnard, 1976). Cilj dizajniranja postrojenja za EBPR je povećati koncentraciju PAO u mulju s obzirom na OHO i GAO pa će na taj način sam EBPR biti efikasniji i uklonit 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-a biti veća. U dobro postavljenim postrojenjima PAO može činiti oko 40 % aktivne biomase; (Oehmen i sur., 2007a; (Hu i sur., 2002). Postoji više izvedbi EBPR procesa od kojih neki služe samo za uklanjanje KPK i P iz otpadne vode. Međutim, postoje razvijeni procesi i za istovremeno uklanjanje KPK, N i P o čemu će u nastavku biti više riječi.

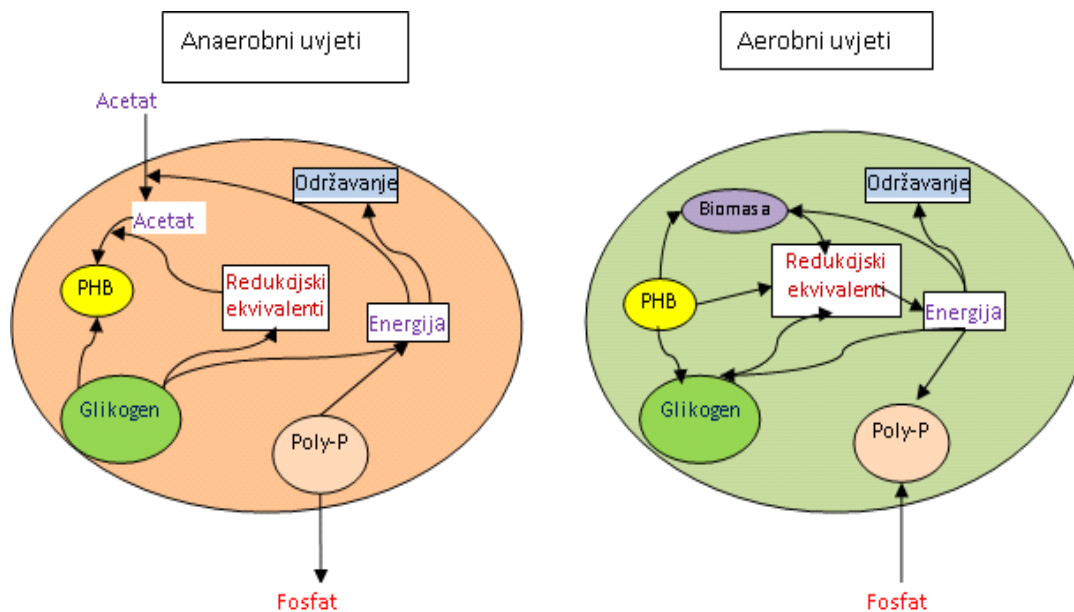
Polifosfate mogu nakupljati razne vrste bakterija, no većina tih bakterija stvara rezerve fosfora u relativno malim količinama. Samo mali broj bakterija ima sposobnost korištenja energije spremljene u polifosfatima kako bi u anaerobnim uvjetima unosile VFA i skladištile ih u obliku PHA. Takva vrsta bakterija je poznata pod nazivom poli-fosfat akumulirajući organizmi ili fosfat akumulirajući organizmi (PAO). Iako još uvijek nije izoliran fosfor akumulirajući organizam, molekularnim tehnikama otkriveno je da *Candidatus Accumulibacter phosphatis* iz roda *Rhodocyclus* pokazuje metabolizam PAO. Također, otkriveno je da postoje 2 osnovna soja *Accumulibacter* poznata kao PAO I i PAO II među kojima postoje određene razlike (Martín i sur., 2006).

#### **2.4.1. Metabolizam PAO-a**

PAO ima veliku kompetitivnu prednost ispred OHO kada mulj kruži kroz aerobnu i anaerobnu fazu. U anaerobnoj fazi, za razliku od mnogih drugih mikroorganizama, PAO ima sposobnost korištenja lako razgrađive organske tvari kao što su masne kiseline poput acetata (HAc) i propionata (HPr) te njihovog intracelularnog nakupljanja u obliku poli- $\beta$ -hidroksialkanoata koji se skraćeno nazivaju PHA (Carucci i sur., 1999). Ovisno o tipu izvora ugljika i njegovom stupnju redukcije, mogu se javiti različiti oblici PHA kao što su poli- $\beta$ -hidroksibutirat (PHB), poli- $\beta$ -hidroksivalerat (PHV), poli- $\beta$ -hidroksi-2-metilvalerat (PH2MV) i poli- $\beta$ -hidroksi-2-metilbutirat (PH2MB). Ovakav specifičan metabolizam im daje kompetitivnu prednost ispred organizama koji nemaju sposobnost nakupljanja organske materije u anaerobnoj fazi. Za nakupljanje masnih kiselina u obliku poli- $\beta$ -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 za ove biotransformacije uglavnom se osigurava razgradnjom polifosfata i otpuštanjem fosfata iz stanice, a energija redukcije, potrebna za sintezu PHA, većinski se proizvodi glikolizom intracelularno skladištenog glikogena (Mino i sur., 1998). Za

dobivanje redukcijskog potencijala i dodatne energije predloženi su različiti metabolički putevi kao što je glikoliza intracelularnoga glikogena (Smolders i sur., 1994b) i Krebsov ciklus (Wentzel i sur., 1990) te njihova kombinacija. Na taj način anaerobna apsorpcija masnih kiselina koju provodi PAO dovodi do nakupljanja PHA, a istovremeno dolazi i do hidrolize polifosfata i glikogena.

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 6. Već je spomenuto da anaerobnom hidrolizom polifosfata dolazi do ispuštanja ortofosfata ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) 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  $\text{PO}_4$  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 (Lanham i sur., 2014); Zhang i sur., 2008).



**Slika 7.** Metabolizam PAO – u anaerobnim i aerobnim uvjetima (preuzeto iz Henze i sur., 2008b)

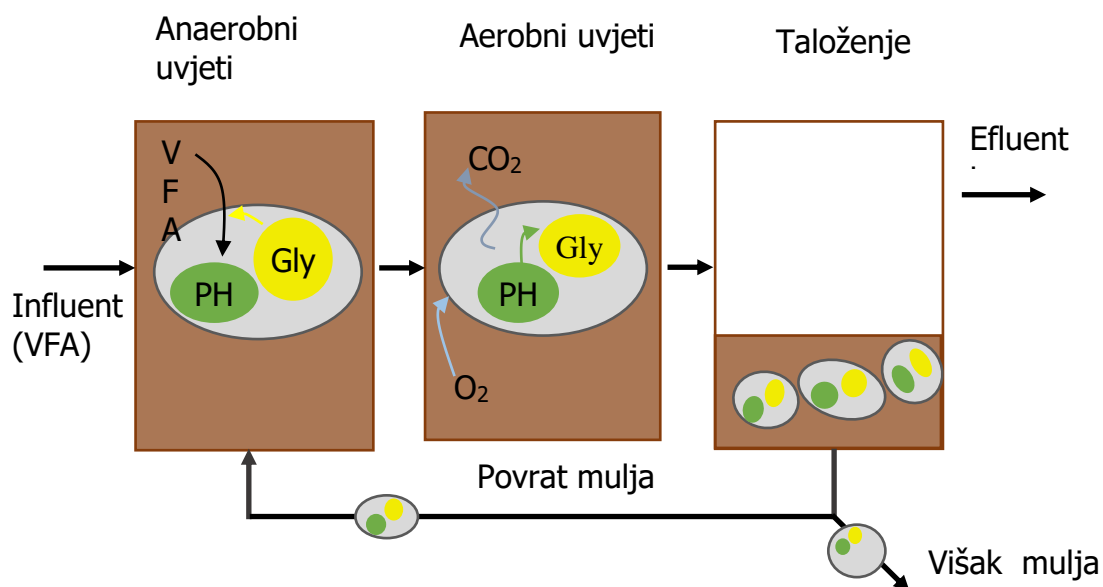
Zbog rasta biomase PAO te nakupljanja fosfora unutar stanica, aerobni unos fosfora u stanicu je veći od anaerobnog ispuštanja fosfora što dovodi do uklanjanja fosfora iz otpadne vode. Uklanjanje fosfora iz otpadne vode postiže se izdvajanjem aktivnog mulja na kraju aerobne faze kad mulj sadrži visoku koncentraciju fosfora, odnosno polifosfata. Metabolizam PAO dovodi do dva osnovna preduvjeta kako bi EBPR bio moguć, a ta 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 mogu se smatrati denitrificirajući fosfat akumulirajući organizmi ili DPAO (engl. *Denitrifying Phosphate Accumulating Organisms*). DPAO se razlikuje od običnih PAO po tome što, uz kisik, mogu koristiti i nitrata 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. Iako imaju slabiju sposobnost uklanjanja fosfora iz otpadne vode, ekonomski su isplativi za provođenje EBPR procesa zato što zahtijevaju manje aeracije i manje ugljika kao izvora energije (Lanham i sur., 2014).

## 2.4.2. Metabolizam GAO

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 iz otpadnih voda (Chen i sur., 2022; Lopez-Vazquez i sur., 2009c). 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 (Slika 9.). 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. U anaerobnoj fazi, kao i PAO, GAO nakuplja masne kiseline i prevodi ih u PHA. Međutim, energija potrebna 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 pohranjenoga glikogena, ali djelomično doprinosi i Krebsov ciklus (Zeng i sur., 2013); Tu i Schuler, 2014). 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 da nema sinteze intracelularnog polifosfata. GAO bakterije, isto kao i PAO, još uvijek nisu uspješno izolirane, no poznato je da *Candidatus Competibacter phosphatis* i *Defluviicoccus vanus* imaju metabolizam GAO. Također, poznato je da neki podsojevi PAO mogu u određenim uvjetima pokazivati metabolizam GAO.





**Slika 8.** Shematski prikaz metabolizma GAO u uređaju za obradu otpadnih voda (preuzeto iz Henze i sur., 2008b)

### **2.4.3. 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. Zbog specifičnog metabolizma PAO, važno je da mulj bude izložen striktno anaerobnim uvjetima u otpadnoj vodi koja sadrži otopljene VFA nakon čega treba slijediti 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 nitrati ili kisik 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) te se u aktivnom mulju oni namnože umjesto PAO-a (Rubio-Rincón i sur., 2017; Bassin i sur., 2012; Pijuan i sur., 2010). Za uspješnost EBPR procesa najbitnija je mikrobiološka kompeticija između PAO i GAO. Istraživanja su pokazala da i drugi faktori utječu na kompeticiju PAO i GAO kao što su temperatura u bioreaktorima (Wang i sur., 2020a) (Lopez-Vazquez, 2009); Panswad i sur., 2003), pH otpadne vode (Lopez-Vazquez i sur., 2009c; Oehmen i sur., 2005; Schuler i Jenkins, 2002; Zhang i sur., 2022a) kao i izvor ugljika (Chen i sur., 2022) (Zhang i sur., 2022a) (Qiu i sur., 2019) (Zeng i sur., 2013) (Lopez-Vazquez i sur., 2009c). Osim toga, poznato je da na kompeticiju utječe još i SRT (Li i sur., 2016), omjer fosfora i organskog ugljika u influentu (Zhang i sur., 2022a) (Chuang i sur., 2011), te prisutnost slobodne nitritne kiseline može negativno utjecati na metabolizam PAO jer veća koncentracija te kiseline povećava udio GAO u aktivnom mulju što dovodi do smanjenja učinkovitosti EBPR (Pijuan i sur., 2010). Zato je važno poznavati kako koji faktor utječe na kompeticiju kako bi se u postrojenjima za obradu vode mogao spriječiti rast GAO i na taj način poboljšati učinkovitost samog EBPR procesa.

#### 2.4.4. Utjecaj različitih čimbenika na EBPR proces

Kako bi PAO mogli uspješno uklanjati fosfor iz otpadnih voda u EBPR sustavu, uvjeti obrade i rada sustava moraju biti prilagođeni njihovim zahtjevima da bi se izbjegao gubitak aktivnosti i populacije mikrobne PAO zajednice. Stoga su provedena brojna ispitivanja s ciljem spoznaje koji su to odlučujući čimbenici o kojima ovisi rad EBPR sustava i uspješnost uklanjanja fosfora iz otpadnih voda. Cirkulacija aktivnog mulja iz aerobnog reaktora u anaerobni reaktor dovodi do moguće pojave nitrata i kisika u anaerobnom reaktoru što ima za posljedicu smanjenje efikasnosti EBPR-a. Zbog toga je bitno spriječiti unos kisika i nitrata u anaerobni reaktor. Osim toga, otkriveno je da visoke koncentracije otopljenog kisika u aerobnoj fazi (4,5-5 mg/L) pogoršavaju uklanjanje fosfora, dok niske koncentracije otopljenog kisika (2,5-3 mg/L) dovode do povećanja udjela PAO u aktivnom mulju. Također, i 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 suradnici su (Panswad i sur., 2003) otkrili da povećanjem temperature od 20 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 pospješuju rast PAO, dok više temperature pogoduju rastu (Wang i sur., 2020a; Lopez-Vazquez i sur., 2009a). Međutim, stabilni EBPR sustavi mogu raditi i pri temperaturama višim od 25 °C. Na to velik utjecaj 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 (Lopez-Vazquez i sur., 2009c). Važnu ulogu na stabilnost EBPR-a ima sastav i koncentracija kationa u influentu. Svaka otpuštena molekula ortofosfata ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) 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 (Xie i sur., 2017; Gürtekin, 2014; Meinhold i sur., 1999). Nadalje, pH-vrijednost utječe na aerobni i anaerobni metabolizam PAO i GAO na različite načine. Smolders i suradnici (1994) su otkrili 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 dodatno potrebna energija dobivena je povećanom hidrolizom polifosfata. Međutim, unos VFA, razgradnja glikogena i nakupljanje PHA konstantna je u pH rasponu od 6,5 do 8 (Filipe i sur., 2001b), 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. 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 suradnici su 2001. godine otkrili 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 fosfor akumulirajućim organizmima (Gürtekin, 2014); Lopez-Vazquez i sur., 2009c; Schuler i Jenkins, 2002). 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 (Chuang i sur., 2011). 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 da su to 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 butirat, valerat 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 HAc jednakom učinkovitosti kao i PAO, dok HPr skladišti u zanemarivim količinama. GAO može unositi HPr jednakom brzinom kao i PAO, dok HAc unosi i prevodi u PHA 50 % sporije od PAO (Lopez-Vazquez i sur., 2020); Lanham i sur., 2014). 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. Starost mulja (SRT- engl. *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. Viši SRT omogućava da neke stanice odumru u uređaju i otpuste nakupljeni fosfor u vodu čime se smanjuje učinkovitost uklanjanja fosfora (Li i sur., 2016). Ipak, ne može se ići ispod neke granice SRT zato što 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. Zbog toga se najčešće upotrebljava SRT od oko 10 dana (Valverde-Pérez i sur., 2016a). 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 (Li i sur., 2016).

## **2.5. Biološko uklanjanje dušika**

Ispuštanje otpadnih voda bogatih spojevima s dušikom u prirodne prijemnike pogoduje pojavi eutrofikacije, a dušikovi ioni su i toksični za vodene organizme (Ginige i sur.,

2013). Biološka obrada vode kojom se uklanjaju spojevi s ugljikom i spojevi s dušikom, temelji se na procesu aerobne razgradnje organske tvari iz otpadne vode, te nitrifikacije dušika u nitrat i denitrifikacije nastalog nitrata u plinoviti dušik. Nitrifikacija je aeroban proces prevođenja otopljenog amonija do nitrata preko nitrita, a denitrifikacija je anoksični proces prevođenja nitrata do plinovitog dušika uz istovremenu oksidaciju organske tvari. U komunalnoj otpadnoj vodi, dušik je najčešće u obliku iona amonija ( $\text{NH}_4^+$ ). Ovisno o udjelu industrijskih otpadnih voda, influent može sadržavati i organski dušik (DNK, RNK, proteini, urea) te nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) i nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) (Gerardi, 2002). Ukupni dušik predstavlja sve oblike dušika u otpadnoj vodi, amonij, nitrate, nitrite i organski dušik (Zeng i sur., 2016; Matošić i sur., 2009).

### 2.5.1. Nitrifikacija

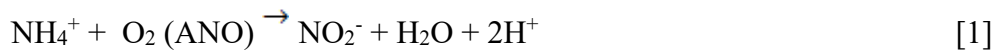
Nitrifikacija je aerobni biološki proces oksidacije otopljenog amonija ( $\text{NH}_4^+$ ) u nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) i konačno do nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ) koji provode aerobni autotrofni mikroorganizmi. Potreba za nitrifikacijom otpadne vode (uklanjanje amonija) proizlazi iz njegovog utjecaja na:

1. Koncentraciju otopljenog kisika u prirodnim vodotokovima
2. Njegove toksičnosti prema ribama
3. Kontrolu eutrofikacije vodotokova
4. Podzemne vode, jer je maksimalna koncentracija nitrata, nitrita i amonija u vodi za piće propisana Pravilnikom o parametrima sukladnosti, metodama analiza i monitorinzima vode namijenjene za ljudsku potrošnju (Narodne novine 64/2023, 2023).

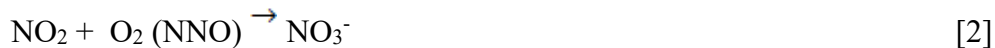
Nitrifikacija je preduvjet za denitrifikaciju jer bez nje biološko uklanjanje dušika nije moguće. Nitrifikacija će se u nekim slučajevima dogoditi spontano i pri niskim starostima mulja ako je temperatura dovoljno visoka da omogući razvoj nitrifikanata u mulju.

Nitrifikacija se provodi u dva oksidacijska koraka :

1. Amonij oksidirajuće bakterije (ANO), kao što su bakterije iz roda *Nitrosomonasp.*, *Nitrosococussp.*, *Nitrospirasp.*, *Nitrosolobussp.* i *Nitrosovibriosp.*, oksidiraju amonij do nitrita prema reakciji:



2. Nitrit oksidirajuće bakterije (NNO), kao što su bakterije iz roda *Nitrobactersp.*, *Nitrococussp.*, *Nitrospinasp.* i *Nitrosovibriosp.*, oksidiraju nitrit do nitrata prema reakciji:



Ukupna reakcija oksidacije amonija do nitrata preko nitrita pomoću *Nitroso* – bakteija i *Nitro*– bakterija poprima oblik:



Iz jednadžbi 1, 2 i 3 je vidljiva potreba za kisikom za provedbu nitrifikacije. Za potpunu oksidaciju amonija do nitrata, potrebno je ukupno 4,57 mgO<sub>2</sub>/mg NH<sub>3</sub>-N. Za oksidaciju amonija do NO<sub>2</sub>-N je potrebno 3,43 mg O<sub>2</sub> mg NH<sub>3</sub>-N<sup>-1</sup>, a za oksidaciju NO<sub>2</sub>-N do NO<sub>3</sub>-N 1,14 mg O<sub>2</sub> mgNO<sub>2</sub>-N<sup>-1</sup>. S obzirom na to da se dio amonija asimilira u biomasu aktivnog mulja za potrebe rasta i razmnožavanja, stvarna potrošnja kisika je nešto manja, oko 4,2 mgO<sub>2</sub> mgNH<sub>3</sub>-N<sup>-1</sup>. To potvrđuje da su nitrifikanti obvezatni aerobi, te se pri koncentraciji otopljenog kisika ispod 0,5 mgO<sub>2</sub>/L nitrifikacija odvija zanemarivom brzinom. Pri koncentraciji otopljenog kisika ispod 1,0 mgO<sub>2</sub>/L, veća je aktivnost i brzina rasta amonij oksidirajućih bakterija (AOB) od nitrit oksidirajućih bakterija (NOB) (Ekama i Wentzel, 2020; Henze i sur., 2008b), pa dolazi do akumulacije nitrita. Za učinkovitu nitrifikaciju koncentracija otopljenog kisika u aerobnoj zoni bi trebala biti između 2 i 3 mg/L. Kod određivanja potrebne koncentracije otopljenog kisika tijekom aerobne faze obrade otpadne vode potrebno je voditi računa i o koncentraciji biorazgradivih organskih tvari u otpadnoj vodi koje aerobni heterotrofni mikroorganizmi oksidiraju, te tako konkuriraju nitrifikantima za raspoloživi kisik. S obzirom da su nitrifikanti strogi aerobi, dulja razdoblja bez kisika, više od 4 sata, nepovoljno utječu na njihovu aktivnost (Wu i sur., 2014). Nitrit oksidirajućim bakterijama (NOB) je potrebno dulje vrijeme za ponovnu uspostavu aktivnosti nakon perioda bez kisika od AOB (Henze i sur., 2008b). Prilikom izgradnje UPOV-a potrebno je razmotriti mogućnost nestanka električne energije tijekom dužeg razdoblja, te predvidjeti agregate ukoliko je potrebno da ne bi došlo do odumiranja

mikrobne populacije nitrifikanata. Optimalna pH-vrijednost za provedbu nitrifikacije iznosi od 7,2 do 8,0 (Tu i Schuler, 2013). Brzina nitrifikacije će se značajno usporiti ispod pH 6,8 (Pijuan i sur., 2010).

Tijekom nitrifikacije dolazi do smanjenja alkaliteta (potreba za 2  $\text{HCO}_3^-$  vidljiva u jednadžbi 3) i pH-vrijednosti (nastajanje  $\text{H}^+$  iona u jednadžbi 1). Za svaki gram oksidiranog  $\text{NH}_4\text{-N}$  je potrebno 7,14 g alkaliteta (izraženog kao  $\text{CaCO}_3$ ). Kada je alkalitet niži od 50 g  $\text{CaCO}_3/\text{m}^3$  (= 1 mol  $\text{HCO}_3^-/\text{m}^3$ ), postoji opasnost naglog pada pH-vrijednosti, što negativno utječe na nitrifikaciju. Ukoliko alkalitet otpadne vode nije dostatan, moguće ga je nadoknaditi dodatkom vapna, natrijeva karbonata ili natrijeva bikarbonata (Metcalf i Eddy, 2003).

Nitrifikanti su spororastući mikroorganizmi pa je minimalan SRT potreban za provedbu nitrifikacije 12 dana. S obzirom na to da je pri niskim temperaturama smanjena aktivnost i razmnožavanje mikroorganizama, u zimskim je periodima potrebno obratiti posebnu pozornost na duljinu SRT (Valverde-Pérez i sur., 2016b); Sugawara i Nikaido, 2014; Wang i sur., 2013). Optimalna temperatura za provedbu nitrifikacije je 25 – 30 °C (Lopez-Vazquez i sur., 2009a; Panswad i sur., 2003). Pri temperaturama od oko 10 °C dolazi do inhibicije AOB i NOB (Zheng i sur., 2013). Budući da se brzina nitrifikacije značajno smanjuje s temperaturom (Pijuan i sur., 2010), Pravilnikom o graničnim vrijednostima otpadnih voda propisano je da se granične vrijednosti za ukupni dušik u efluentu moraju zadovoljiti ukoliko je temperatura influenta veća od 12 °C. Nitrifikanti su osjetljiviji od heterotrofnih bakterija na mnoge organske i anorganske sastojke u otpadnim vodama poput organskih otapala, fenola, teških metala (Freitas i sur., 2009b; Metcalf i Eddy, 2003a).

Iz toga proizlazi da je mnogo faktora koji utječu na proces nitrifikacije, na postizanje minimalne starosti mulja i konačno na samu koncentraciju amonija u izlaznoj pročišćenoj otpadnoj vodi (van Loosdrecht i sur., 2020b):

1. Veličina kinetičke konstante maksimalne specifične brzine rasta nitrifikanata, zato što varira u različitim otpadnim vodama
2. Temperatura sustava jer i male promjene temperature imaju za posljedicu velike promjene u vrijednosti koeficijenta maksimalne specifične brzine rasta nitrifikanata i konstanta poluzasićenja nitrifikanata
3. Neaerirane zone u reaktoru jer su amonij oksidirajući organizmi (ANO) obligatni aerobi te su im za rast potrebni aerobni uvjeti

4. Količina otopljenog kisika, zato što Monodova kinetika uzima u obzir amonij kao limitirajući faktor rasta te se podrazumijeva da se u sustavu nalazi adekvatna količina kisika
5. Ciklički tok i uvjeti protoka, jer amonij treba zaostati neko vrijeme u reaktoru, to jest na njegovo prevođenje do nitrata utječe hidrauličko vrijeme zadržavanja, pa se u slučaju naglog povećanja protoka može desiti da se smanji stvarno hidrauličko vrijeme zadržavanja i amonij se ne stigne oksidirati do nitrata
6. pH-vrijednost jer vrijednost maksimalne specifične brzine rasta nitrifikanata se znatno smanjuje izvan pH-vrijednosti od 7 do 8.

### 2.5.2. Denitrifikacija

Denitrifikacija je proces redukcije nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ) do plinovitog dušika ( $\text{N}_2$ ) i odvija se u četiri stupnja ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ ), a provode je obični heterotrofni mikroorganizmi (OHO – *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, itd. (Rubio-Rincón i sur., 2017; Lemaire i sur., 2008). Oni imaju sposobnost koristiti nitrat i nitrit kao elektron akceptore (u nedostatku kisika) koji nastaju tijekom procesa nitrifikacije. To su najčešće fakultativni aerobi i oni čine većinu mikroorganizama aktivnog mulja (Kim i sur., 2021; Yuan i Blackall, 2002). Sastav populacije denitrifikanata uvelike ovisi o izvoru ugljika (Zeng i sur., 2016). Kako je za proces denitrifikacije potreban izvor ugljika i anoksični uvjeti, stoga brzina denitrifikacije prvenstveno ovisi o dostupnosti i biorazgradivosti izvora ugljika, koncentraciji otopljenog nitrata (nitrita) i kisika, te udjelu denitrificirajućih heterotrofnih mikroorganizama u aktivnom mulju (Liu i sur., 2024).

Za samu provedbu denitrifikacije potrebno je  $2,86/(1-Y_H)$  g izvora ugljika izraženog kroz KPK po g dušika (Lopez-Vazquez i sur., 2009c). Pod pretpostavkom da je  $Y_H$  0,67, teoretska potreba za biorazgradivim izvorom ugljika potrebnim za redukciju 1 g nitrata iznosi 8,67 g ugljika izraženog kroz KPK. Ukoliko uključimo i dušik potreban za rast i razmnožavanje denitrifikanata, vrijednost potrebnog biorazgradivog izvora ugljika iznosi 3,5 - 4,5 gBPK<sub>5</sub>/gN (Hollender i sur., 2002). Brzina denitrifikacije je veća kada je izvor ugljika otopljen i biorazgradiv poput acetata, metanola, glukoze (Henze i sur., 2008b).



Izvor ugljika za denitrifikaciju najčešće se nalazi u samoj otpadnoj vodi. Ako su izvori ugljika u influentu nedovoljni za sve potrebne procese obrade otpadne vode, potrebno ih je dodati u sustav. Izvori ugljika tada mogu biti vanjski (kemijski spojevi poput metanola, etanola, industrijski nusproizvodi itd.) ili unutarnji (dobiveni fermentacijom otpadne vode, primarnog ili viška aktivnog mulja). Najčešće korišteni vanjski izvor ugljika je metanol, no za njega je potreban određen period privikavanja biomase aktivnog mulja. Ukoliko je potreba za dodatnim izvorom ugljika izražena samo tijekom određenih perioda (s niskim temperaturama, puno oborina), potrebno je odabrati supstrat za koji nije potreban period privikavanja poput etanola ili acetata (van Loosdrecht i sur., 2020b; van Loosdrecht i sur., 2016b).

Brzina denitrifikacije (redukcije nitrata) ovisi o brzini asimilacije izvora ugljika, a ona se može opisati jednadžbom 4.

$$r_{Ss} = \frac{1}{Y_H} * \left( \frac{\mu_{\max} Ss}{K_S + Ss} \right) \left( \frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} \right) \left( \frac{K_{O,H}}{S_O + K_{O,H}} \right) (\eta) X_H \quad [4]$$

gdje je:

$r_{Ss}$  = brzina asimilacije izvora ugljika (supstrata) [ $\text{mgL}^{-1} \times \text{dan}$ ]

$Y_H$  = prirast heterotrofne biomase po utrošenom KPK [ $\text{gVSSgKPK}^{-1}$ ]

$\mu_{\max}$  = maksimalna specifična brzina rasta denitrificirajućih heterotrofa [ $\text{gVSSgVSS}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ]

$S_S$  = koncentracija otopljenog biorazgradivog izvora ugljika - supstrata [ $\text{mgL}^{-1}$ ]

$K_S$  = konstanta zasićenja supstratom (koncentracija supstrata pri polovini maksimalne specifične brzine rasta) [ $\text{mgL}^{-1}$ ]

$S_{NO}$  = koncentracija nitrata [ $\text{mg/L}$ ]

$K_{NO}$  = konstanta zasićenja nitratom [ $\text{mgL}^{-1}$ ]

$K_{O,H}$  = konstanta inhibicije redukcije nitrata kisikom [ $\text{mgL}^{-1}$ ]

$S_O$  = koncentracija otopljenog kisika [ $\text{mgL}^{-1}$ ]

$\eta$  = udio heterotrofnih bakterija koje mogu provoditi denitrifikaciju

$X_H$  = koncentracija heterotrofnih bakterija [ $\text{mgL}^{-1}$ ]

Iz jednadžbe 4 se vidi da brzina asimilacije izvora ugljika, a s time i brzina denitrifikacije slijedi Monodovu kinetiku, te da je ovisna o prisutnosti izvora ugljika, kisika, nitrata, te

udjelu denitrifikanata u biomasi. Većina denitrifikanata su fakultativni anaerobi koji oksidacijom izvora ugljika uz prisustvo kisika dobivaju više energije u odnosu na oksidaciju uz prisustvo nitrata i nitrita, stoga preferiraju aerobnu oksidaciju (Gerardi, 2002). Prisustvo kisika iznad  $0,2 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  tako ima nepovoljan utjecaj na proces denitrifikacije (Izadi i sur., 2022; Zhang i sur., 2014). Optimalna temperatura za provedbu denitrifikacije je  $20 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$ , a pH vrijednost  $7 - 9$ . Brzina denitrifikacije opada sa smanjenjem temperature, a pri temperaturama nižim od  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  ona je zanemariva (Gerardi, 2002). Tijekom denitrifikacije dolazi do obnove alkaliteta (oko  $3,57 \text{ g}$  izraženog kao  $\text{CaCO}_3$  po gramu reduciranog nitrata (Ciešlik i sur., 2015), te povećanja pH-vrijednosti zbog otpuštanja hidroksid iona (Holman i Wareham, 2005), stoga je poželjno da se na UPOV-ima gdje postoji mogućnost odvijanja nitrifikacije predvidi i denitrifikacija radi obnove alkaliteta i pH-vrijednosti, te redukcije nitrata do plinovitog dušika. Cao i suradnici su proučavali (Cao i sur., 2012) utjecaj pH-vrijednosti na proces denitrifikacije i zaključili da pri pH  $6,5$  dolazi do nakupljanja nitrita zbog smanjene brzine redukcije nitrita u odnosu na brzinu redukcije nitrata. S povećanjem pH vrijednosti taj se utjecaj smanjuje.

S obzirom na slijed procesa denitrifikacije i nitrifikacije, UPOV-e možemo podijeliti na preddenitrifikacijske, postdenitrifikacijske, te s izmjeničnom nitrifikacijom – denitrifikacijom. Kod preddenitrifikacijske konfiguracije UPOV-a, spremnik za denitrifikaciju se nalazi ispred spremnika za nitrifikaciju, te se nitrati nastali tijekom nitrifikacije recirkuliraju u denitrifikacijski spremnik gdje dolazi influent bogat organskim tvarima. Specifična brzina denitrifikacije je u tom slučaju najbrža i iznosi od  $0,03$  do  $0,20 \text{ gNO}_3\text{-N/gMLVSS x dan}$  (Ekama i Wentzel, 1999). Kod postdenitrifikacijske konfiguracije UPOV-a, denitrifikacijski spremnik se nalazi nakon nitrifikacijskog. U tom slučaju heterotrofni mikroorganizmi oksidiraju lako biorazgradive organske tvari iz influenta istovremeno s procesom nitrifikacije, te su za denitrifikaciju preostali sporo biorazgradivi izvori ugljika i oni dobiveni endogenom respiracijom. Specifična brzina odvijanja denitrifikacije je u tom slučaju značajno niža u odnosu na preddenitrifikaciju i iznosi  $0,01\text{-}0,03 \text{ gNO}_3\text{-N/gMLVSSx dan}$ . Izmjenična nitrifikacija – denitrifikacija se provodi u istom spremniku izmjenjujući razdoblja s aeracijom i bez nje pri čemu se postižu specifične brzine denitrifikacije između prethodne dvije.

### **3. MATERIJALI I METODE**

### 3.1. SDOX uređaj

SDOX uređaj koji je korišten u ovom radu (Slika 9.) sastoji se od komore za tlačenje ukupne zapremine 4 L, visokotlačne peristaltičke pumpe za konstantno pumpanje suspenzije mulja u komoru, spremnika komprimiranog kisika koji je ujedno služio i za postizanje željenog tlaka u komori te izlaznog elektromagnetskog ventila spojenog na prethodno programirani PLC koji mu je davao impuls za frekvenciju otvaranja i zatvaranja. Na ulazu u SDOX nalazio se nepovratni ventil koji je onemogućavao povrat suspenzije mulja u SBR zbog razlike tlakova. Tlak u komori gdje se tlačila suspenzija mulja mjereno je instaliranim manometrom i iznosio je 5 bara.



**Slika 9.** Laboratorijski SDOX uređaj (vlastita fotografija)

Pribor: 1. Tlačna komora SDOX-a

2. Peristaltička pumpa Flex Pro A2, Blue-White Industries Ltd.

3. Spremnik sintetski zraka, Messer

4. Elektromagnetski ventil, Festo
5. Nepovratni ventil
6. Manometar, Schneider Messtechnik
7. Kontroler

Izlazni elektromagnetski ventil se otvarao svakih 15 sekundi pri čemu se mulj pri povišenom tlaku vraćao u SBR, a vrijeme otvorenosti je bio 0,5 sekundi. 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.

### 3.2. Šaržni bioreaktor (SBR)

Laboratorijski šaržni bioreaktor (SBR) tvrtke „Applikon“ (Slika 10.) koristio se za potrebe uzgoja i obogaćivanja PAO organizama u aktivnom mulju, a nakon uspješnog uzgoja i ustaljenja procesa, za provedbu testiranja biološke aktivnosti aktivnog mulja u procesima uklanjanja dušika i fosfora iz otpadne vode, što će biti objašnjeno u daljnjem tekstu.



**Slika 10.** SBR tvrtke „Applikon“ (vlastita fotografija)

Šaržni bioreaktor je bio zapremine 2 L i imao je duplu stijenku kroz koju je konstantno

cirkulirala rashladna voda iz protočnog termostata tvrtke „Kruss“ s ciljem održavanja optimalne temperature za uzgoj PAO. U posudi bioreaktora su, za potrebe praćenja i regulacije procesa obrade sintetičke otpadne vode, ugrađene elektrode za mjerenje koncentracije otopljenog kisika, pH-vrijednosti, senzor za mjerenje temperature i električna miješalica s regulacijom intenziteta miješanja suspenzije aktivnog mulja. Također su ugrađene cijevi za dovođenje influenta u reaktor, dovođenje sintetskog zraka ili kisika za aeraciju, cijev za odvođenje efluenta i cijev za odvođenje viška aktivnog mulja. Kontrolnoupavljačka jedinica, zajedno s računalnim sustavom, služila je za praćenja i regulaciju zadanih parametara radi neprestanog uvida u stanje u reaktoru, s obzirom na to da su se svakih nekoliko sati izmjenjivale faze rada, kao što je prikazano u Tablici 7. Na računalnom je sustavu instaliran program za kontrolu i vođenje procesa, odnosno intervali i veličine svakog pojedinog parametra i svake pojedine faze procesa, a ujedno su se konstantno pohranjivale povratne informacije o stanju u reaktoru.

Također, SBR uređaj imao je ugrađene tri peristaltičke pumpe kojima se regulirao intenzitet protoka influenta te protoci efluenta i uzimanje viška mulja nakon obrade vode. Obrađena voda i višak aktivnog mulja su se odvodili u pripremljene spremnike iz kojih su se uzimali uzorci za daljnju kemijsku analizu. Po završetku jednog ciklusa obrade otpadne vode, obrađena voda (efluent) se, nakon taloženja mulja, pomoću peristaltičke crpke odvodila u posudu predviđenu za njeno prikupljanje iz koje se uzimao uzorak za analizu. Za postizanje ciljane starosti mulja (SRT) od 10 dana, jednom dnevno na kraju aerobne faze, uzimao se odgovarajući volumen mulja koji je izračunat pomoću Ekama i Wentzel modela (van Loosdrecht i sur., 2020a).

Pribor:

1. SBR-reaktor s ugrađenim elektrodama za mjerenje temperature, pH-vrijednosti, koncentracije otopljenog kisika (DO) i elektromotor na kojem je instalirana dvostruka lopatasta miješalica
2. Protočni termostat za cirkuliranje rashladne vode u plaštu reaktora
3. Kontrolnoupavljačka jedinica
4. Računalo
5. Spremnik influenta
6. Spremnici efluenta i viška mulja

### 3.2.1. Aktivni mulj za proces EBPR

U bioreaktor SBR uređaja (Slika 11.) nacijepljen je aktivni mulj dopremljen s lokalnog uređaja za obradu otpadnih voda. Na tom su uređaju uvjeti rada takvi da aktivni mulj sadržava malu količinu PAO-a koju je za potrebe uspješnog eksperimenta potrebno dodatno uzgojiti, odnosno dodatno obogatiti PAO-ima. To je omogućeno favoriziranjem uvjeta za rast i razvoj PAO-a opisanih u poglavlju 2.4., i kontroliranim unosom hranjivih tvari putem sintetičke otpadne vode.



**Slika 11.** Aktivni mulj proces uklanjanja fosfora (vlastita fotografija)

### 3.2.2. Sintetička otpadna voda

Uzgoj PAO-a provođen je sa sintetičkom otpadnom vodom čiji je sastav prikazan u Tablici 3. (Smolders i sur., 1994a) u 6-satnim ciklusima, kontinuiranim dodavanjem 0,25 litara sintetičke otpadne vode (1 L / dan) tijekom anaerobne faze u trajanju od 165 minuta. U ovisnosti o koncentraciji aktivnog milja u suspenziji (MLSS), za postizanje željenih koncentracija KPK vrijednosti u sintetičkoj otpadnoj vodi (influentu) korišten je bezvodni natrijev acetat kao jedini izvor ugljika tijekom pokusa, uz dodatak nutritivnih

mikroelemenata dušika, fosfora, kalcija, magnezija, natrija i kalija (Tablica 3.). Koncentracije nutritivnih mikroelemenata u sintetičkoj otpadnoj vodi su kroz cijelo vrijeme bili isti i iznosili su: 0,6 mg/L  $\text{FeSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ , 0,048 mg/L  $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0,024 mg/L  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,012 mg/L  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ , 0,048 mg/L  $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$ , 0,060 mg/L  $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ , 0,060 mg/L  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0,072 mg/L KI.

**Tablica 3.** Ciljane koncentracije spojeva u sintetičkoj otpadnoj vodi (influenta) prema odgovarajućoj KPK vrijednosti.

ORGANSKI DIO				
KPK [ $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1}$ ]	600	1000	1400	1800
ANORGANSKI DIO [ $\text{mg L}^{-1}$ ]				
$\text{NaHCO}_3$	30,0	50,0	70,0	90,0
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	80,0	133,3	186,7	240,0
$\text{CaCl}_2$	20,0	33,3	46,7	60,0
$\text{NH}_4\text{Cl}$	168,0	280,0	392,0	504,0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	131,8	219,7	307,6	395,4

Nakon pripreme 10 litara sintetičke otpadne vode, ista je sterilizirana u staklenoj posudi s čepom i mikrobiološkim filterom radi sprječavanja mikrobiološke kontaminacije tijekom rada. Svakodnevno se u reaktor, ručno, dodavalo još 2 mL 98 % alil-N tiouree (ATU) kao inhibitora rasta nitrificirajućih bakterija. Koncentracija KPK i nutritivnih makroelemenata u sintetičkoj otpadnoj vodi se postupno povećavala pazeći da KPK vrijednost u efluentu (na kraju anaerobne faze) ne prelazi  $100 \text{ mgL}^{-1}$ . U slučaju kad bi koncentracija KPK nakon anaerobne faze prelazila  $100 \text{ mgL}^{-1}$ , koncentracija u influentu bi se vratila na nižu vrijednost iz prethodnog perioda uzgoja da bi osigurali nesmetanu asimilaciju fosfora u aerobnoj fazi ciklusa. Satnica odvijanja svake faze u ciklusu prikazana je u Tablici 7. Ovisno o fazi ciklusa, miješalica reaktora programirana je da radi pri brzinama od  $100 \text{ o min}^{-1}$  tijekom aerobne, odnosno  $200 \text{ o min}^{-1}$  tijekom anaerobne faze.

Pribor:1. Natrijev acetat acetat (bezvodni, Fisher Bioreagents, Fisher Scientific International Inc., New Jersey, SAD)

2. Otopine mikro i makro-nutrijenata
3. Boca 10 L
4. Autoklav



5. Alil-N tiourea (98 % ATU, Fisher Scientific International, Inc., Pittsburgh, SAD).

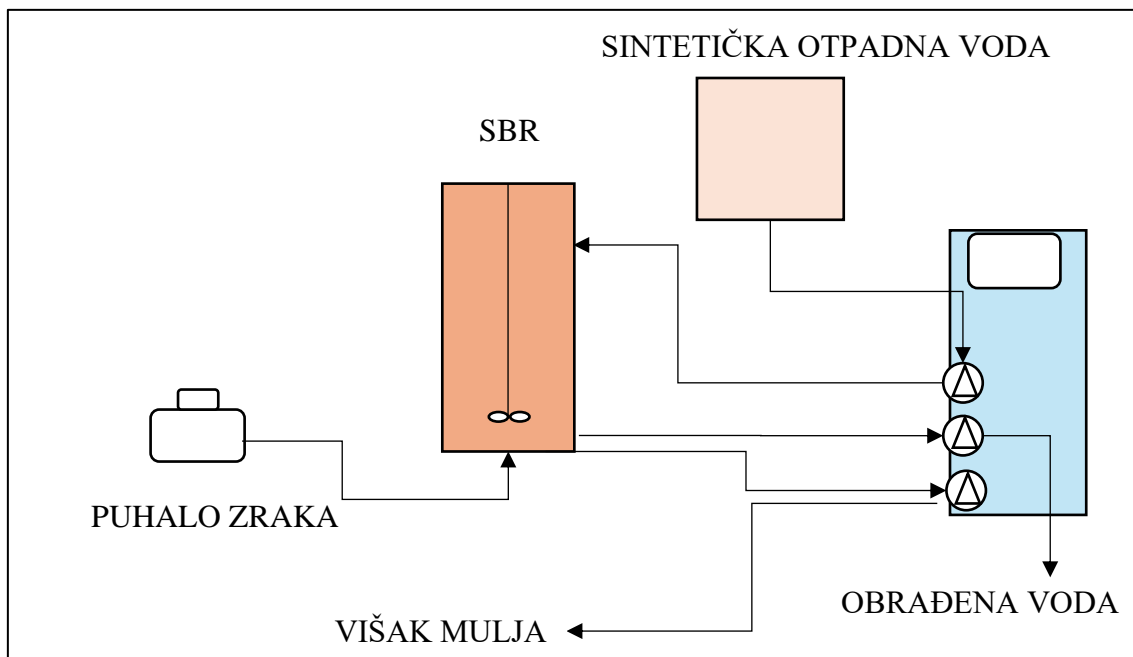
### 3.2.3. Postava uređaja za istraživanje utjecaja SDOX-a na proces biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode u SBR-u

Proces biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode odvijao se u laboratorijskom SBR-u diskontinuirano odnosno u fazama. Ulazna sintetička otpadna voda se pomoću peristaltičke pumpe uvodila u SBR uređaj u prvoj anaerobnoj fazi procesa. Nakon toga slijede ostale faze obrade otpadne vode u laboratorijskom SBR-u, a vremenski period svake faze prikazan je u Tablici 4.

**Tablica 4.** Satnica odvijanja jednog ciklusa u SBR uređaju u trajanju 6 h

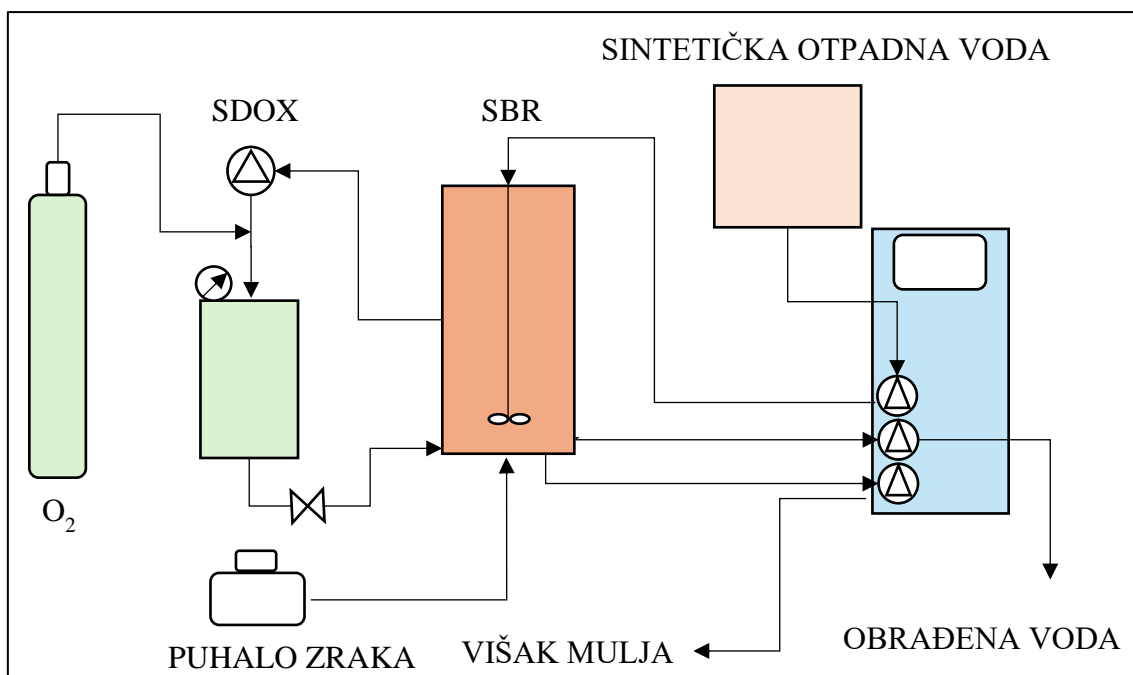
<b>AKTIVNOST</b>	<b>VRIJEME (min.)</b>
<b>Anaerobna faza uz dodavanje influenta</b>	165
<b>Aerobna faza</b>	165
<b>Odvođenje suviška aktivnog mulja</b>	5
<b>Taloženje</b>	20
<b>Odvođenje efluenta</b>	5

U prvom dijelu ekperimenta, aeracija otpadne vode se odvijala uz konvencionalnu aeraciju pomoću puhala zraka preko difuzura ugrađenog na dno bioreaktora (Slika 12.).



**Slika 12.** Shema EBPR procesa u laboratorijskom SBR-u pri konvencionalnoj aeraciji

Po završetku uzgoja PAO-a, uspostavljanja stabilnosti procesa obrade i izvršenim laboratorijskim ispitivanjima, uspostavljena je aeracija u SDOX jedinici uz istovremeno isključivanje puhalo zraka, odnosno konvencionalne aeracije (Slika 13.).



**Slika 13.** Shema EBPR procesa u laboratorijskom SBR-u pri aeraciji pri povišenom tlaku

U obradi otpadne vode pri obje vrste aeracije, obrađena voda i višak aktivnog mulja su se odvodili u pripremljene spremnike iz kojih su se uzimali uzorci za daljnju kemijsku analizu. Po završetku jednog ciklusa obrade otpadne vode, obrađena voda (efluent) se, nakon taloženja mulja, pomoću peristaltičke crpke odvodila u posudu predviđenu za njeno prikupljanje iz koje se uzimao uzorak za analizu. Za postizanje ciljane starosti mulja (SRT) od 10 dana, jednom dnevno, na kraju aerobne faze, uzimao se odgovarajući volumen viška mulja koji je izračunat pomoću Ekama&Wentzel modela (van Loosdrecht i sur., 2020a).

#### **3.2.4. Testiranje biološke aktivnosti PAO u aktivnom mulju**

Kako bi se analizirala biološka aktivnost PAO provedena su testiranja u bioreaktoru (Slika 14.), pri kojima je u vrijeme dodavanja influenta (anaerobna faza) dodavan ukupni volumen influenta za taj ciklus (250 mL) u kojem je otopljen acetat u količini koja je potrebna za ostvarivanje željene KPK vrijednosti u reaktoru. Svakih 30 min uzimao se uzorak mulja izravno iz SBR-a. U nefiltriranom uzorku određivana je TSS i VSS vrijednost. Uzorak iz reaktora je profiltriran te je u tako filtriranom uzorku određivana KPK vrijednost i vrijednost fosfora ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ). Podaci su bilježeni grafički u MS Excel programu. Iz grafičkog prikaza ovisnosti koncentracije fosfora o vremenu te iz podataka na početku mjerenja otpuštanja fosfora kada je brzina bila najveća, određen je koeficijent smjera krivulje. Koeficijent smjera jednak je maksimalnoj brzini anaerobnog otpuštanja fosfora. Tako dobivena maksimalna brzina anaerobnog otpuštanja fosfora izražena u  $\text{mgP-PO}_4\text{L}^{-1}\text{h}^{-1}$  podijeljena je s koncentracijom VSS, te je dobivena specifična maksimalna brzina anaerobnog otpuštanja fosfora izražena u  $\text{mg P-PO}_4 \text{gVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$ . Maksimalna specifična brzina asimilacije acetata izražena u  $\text{mgKPK}(\text{gVSS})^{-1}\text{h}^{-1}$  je dobivena na isti način kao i maksimalna specifična brzina anaerobnog otpuštanja fosfora.



**Slika 14.** Bioreaktor tvrtke “Applikon” za određivanje biološke aktivnosti PAO-a  
(vlastita fotografija)

Svakih 30 min uziman je uzorak mulja izravno iz SBR-a. U nefiltriranom uzorku određivana je TSS i VSS vrijednost. Uzorak iz reaktora je profiltriran te je u tako filtriranom uzorku određivana KPK vrijednost i vrijednost ortofosfata ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Podaci su bilježeni grafički u MS Excel programu. Iz grafičkog prikaza ovisnosti koncentracije fosfora o vremenu te iz podataka na početku mjerenja otpuštanja fosfora kada je brzina bila najveća, određen je koeficijent smjera krivulje. Tako je izračunata maksimalna specifična brzina anaerobnog otpuštanja fosfora izražena kao  $\text{mg P-PO}_4(\text{gVSS})^{-1}\text{h}^{-1}$ . Maksimalna specifična brzina asimilacije KPK izražena kao  $\text{mgKPK gVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$ . Vrijednost NETO uklonjenog fosfora,  $\text{mgP-PO}_4 \text{gVSS}^{-1}$ , dobivena je iz razlike koncentracije fosfora na početku testiranja u trenutku kada je dodan influent s acetatom u reaktor i konačne koncentracije na kraju aerobne faze.

### **3.2.5. Testiranje inhibicije visokim koncentracijama KPK na EBPR proces**

U svakom biološkom sustavu obrade otpadne vode potrebno je ocijeniti, definirati i razumjeti uspješnost uređaja po pitanju uklanjanja određenih kontaminanata i ponašanje aktivnog mulja na inhibitorne ili toksične spojeve od interesa. Štoviše, s gledišta

modeliranja, zanimljivo je i ocijeniti i odrediti stehiometriju i kinetičke brzine procesa konverzije koje provode specifične mikrobne populacije (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Nakon što se uzgojio aktivni mulj obogaćen PAO-ima u željenoj koncentraciji od  $4 \text{ gL}^{-1}$ , napravljeni su pokusi inhibicije sa visokim koncentracijama KPK na učinkovitost EBPR-a. Održavanje aktivnog mulja obogaćenog PAO-ima, također se odvijao u 6-satnim ciklusima, a satnica odvijanja svake faze u ciklusu je prikazana u Tablici 7. Uvjeti u biorektoru su praćeni i regulirani, s ciljem održavanja uvjeta pogodnih za rast PAO mikroorganizama tako da temperatura bude ispod  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , a pH-vrijednost iznad 7. Tijekom pokusa inhibicije provedeno je testiranje biološke aktivnosti aktivnog mulja, a procedura je opisana u prethodnom poglavlju, ali ovaj put s povišenim koncentracijama KPK vrijednosti influenta (Tablica 5.).

**Tablica 5.** Koncentracije spojeva u sintetičkoj otpadnoj vodi (influenta) tijekom pokusa inhibicije

Test (dan)	1 test	2 test	3 test	4 test	5 test
KPK [ $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ ]	250	500	750	250	1000
PO <sub>4</sub> -P [ $\text{mgL}^{-1}$ ]	30	55	73,75	62	46

### 3.3. Membranski bioreaktor (MBR)

Laboratorijski membranski bioreaktor (MBR) modificirani je uređaj tvrtke „Kubota“ zapremine 20 litara s ugrađenom klipnom pumpom i manometrom. U biorektoru se nalazila uronjena membrana tipa „plate&frame“, modul XJ3, s veličinom pora od  $0,4 \text{ }\mu\text{m}$  i ukupne površine  $0,11 \text{ m}^2$  (Slika 15.) . U njemu je proveden pokus utjecaja konvencionalne aeracije i SDOX aeracije tijekom biološke obrade otpadne vode grada Zagreba, odnosno uklanjanja dušika iz otpadne vode putem nitrifikacije i denitrifikacije shematski prikazan na Slici 15. Postava eksperimenta se sastojala od membranskog bioreaktora (MBR) u kojemu se odvijao aerobni proces nitrifikacije ukupnog volumena 20 L, spremnika otpadne vode volumena 100 L, uronjene pločaste membrane koja je filtrirala obrađenu otpadnu vodu, vakuum manometra (Ashcroft) za praćenje podtlaka na

membrani, puhala koje je pomoću crijeva i difuzora uvodilo zrak na dno MBR-a ispod same membrane protokom od  $1,8 \text{ Lmin}^{-1}$  u svrhu aeracije i čišćenja membrane, dvije klipne pumpe s dvostrukom pumpnom glavom, snage 0,48 kW i maksimalnog protoka do  $10 \text{ Lh}^{-1}$ , od kojih je jedna služila za dotok influenta u MBR i bila je spojena na nivo-sondu uronjenu u MBR koja je održavala stalnu razinu suspenzije aktivnog mulja u MBR-u, dok je druga pumpa bila za crpljenje efluenta iz MBR-a preko membrane, anoksičnog reaktora ukupnog volumena 4 L s preljevom u kojem se odvijao proces denitrifikacije otpadne vode, peristaltičke pumpe koja je služila za pumpanje suspenzije aktivnog mulja iz MBR-a u anaerobni reaktor, te spremnika obrađene otpadne vode (efluenta) ukupnog volumena 50 L.



**Slika 15.** Laboratorijski MBR uređaj (vlastita fotografija)

### 3.3.1. Aktivni mulj za proces uklanjanja dušika iz otpadne vode putem nitrifikacije i denitrifikacije u MBR-u

Aktivni mulj, sakupljen je iz bioaeracijskog bazena lokalnog uređaja za biološku obradu otpadnih voda (Slika 16.) starosti (SRT) od 5 dana i u koncentraciji od  $3,5 \text{ gL}^{-1}$ . Aktivni mulj je odmah prosijan kroz sito s veličinom pora od  $500 \mu\text{m}$  kako bi se uklonio pijesak koji bi kasnije mogao začeptiti ventile i pumpe.



**Slika 16.-** Aktivni mulj iz bioaeracijskog bazena (vlastita fotografija)

### 3.3.2. Komunalna otpadna voda

Za potrebe eksperimenta utjecaja konvencionalne aeracije i SDOX aeracije na procese nitrifikacije i denitrifikacije, te za ispitivanje procesa začepljivanja membrana, uzeta je otpadna voda s lokalnog uređaja za pročišćavanje otpadnih voda i to nakon primarne obrade, iza primarne taložnice iz kanala koji je vidljiv na Slici 17. Tijekom pokusa uzeto je ukupno 1600 L otpadne vode, i to svaki drugi dan po 200 L otpadne vode sve do kraja pokusa u trajanju od 16. dana. Prosječni kemijski sastav komunalne vode je prikazan u Tablici 6., a dnevni protok otpadne vode kroz laboratorijski MBR uređaj tijekom pokusa



iznosio je  $48 \text{ L dan}^{-1}$ .



**Slika 17.** Kanal nakon primarne taložnice iz kojeg su uzimani uzorci otpadne vode (vlastita fotografija)

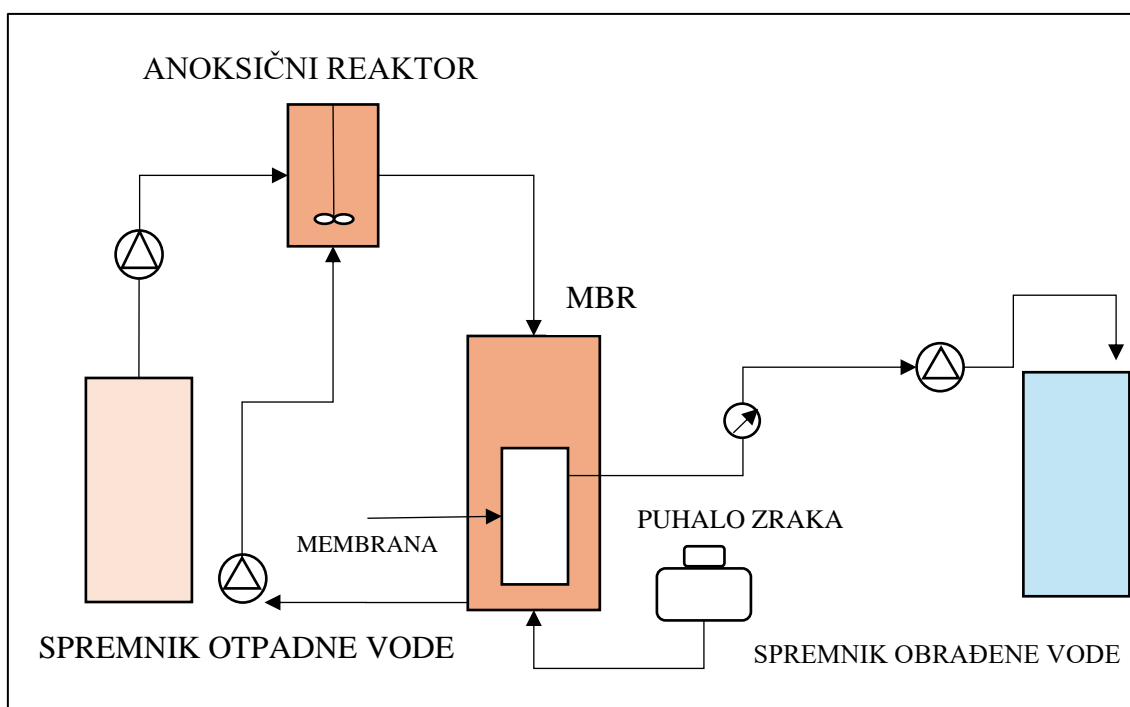
**Tablica 6.** Prosječni sastav komunalne otpadne vode s lokalnog uređaja za biološku obradu otpadnih voda

<b>Analitički parametar</b>	<b>Vrijednost</b>
<b>KPK [<math>\text{mgO}_2\text{L}^{-1}</math>]</b>	253
<b>Ukupni P [<math>\text{mgL}^{-1}</math>]</b>	4,5
<b>Ukupni N [<math>\text{mgL}^{-1}</math>]</b>	64
<b>NOx [<math>\text{mgL}^{-1}</math>]</b>	0,0
<b>Otopljeni O<sub>2</sub> [<math>\text{mgL}^{-1}</math>]</b>	0,56
<b>Amonij NH<sub>4</sub>-N [<math>\text{mgL}^{-1}</math>]</b>	4.



### 3.3.3. Postava uređaja za istraživanje utjecaja SDOX-a na proces biološkog uklanjanja dušika iz otpadne vode i začepljivanja membrana u MBR-u

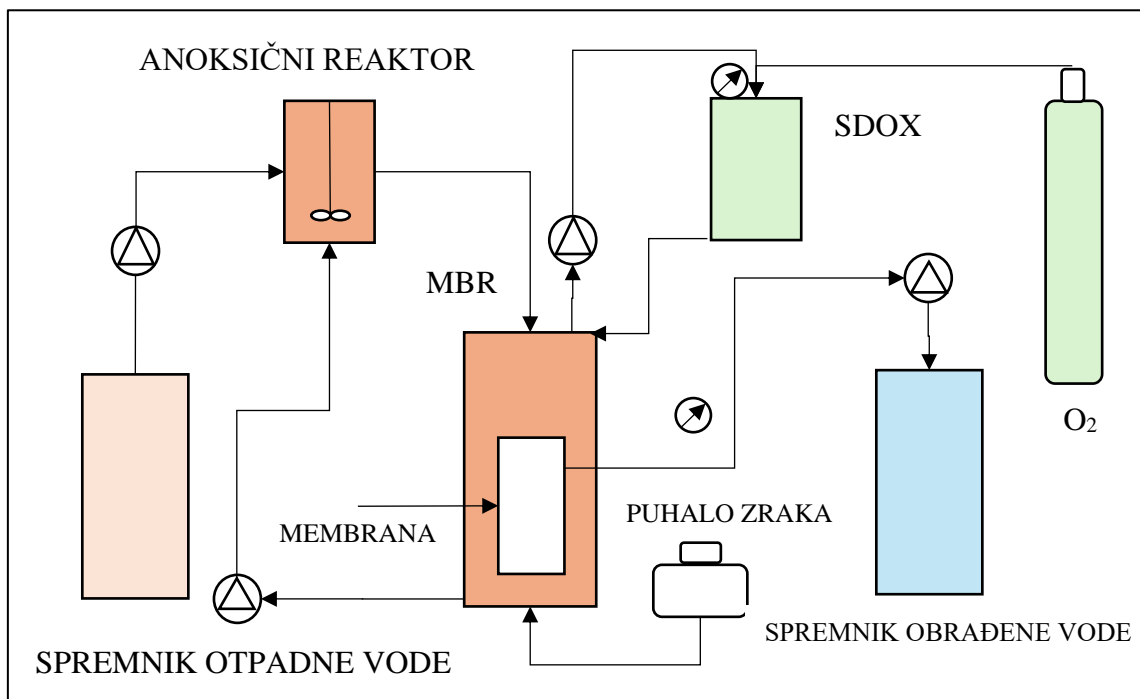
Proces obrade otpadne vode u MBR-u odvijao se kontinuirano. Influent je pumpan klipnom pumpom iz ulaznog spremnika u anoksični reaktor volumena 4 litre protokom od  $2 \text{ L h}^{-1}$ , gdje je postavljena magnetna miješalica. Tu se otpadna voda miješala sa suspenzijom aktivnog mulja koji se peristaltičkom pumpom crpio direktno iz MBR-a protokom od  $2 \text{ L h}^{-1}$ . Vrijeme zadržavanja u anoksičnom reaktoru bilo je 2 h, te se nakon toga suspenzija mulja i influenta prelijevala u MBR. Aeracija u MBR-u se prvo odvijala uz konvencionalnu aeraciju uporabom puhalo za zrak preko difuzora uronjenog na dno bioreaktora (Slika 18.). Ovaj dio eksperimenta se odvijao 8 dana da bi se aktivni mulj adaptirao na nove uvjete i da bi bili sigurni da se proces obrade otpadne vode ustalio.



**Slika 18.** Shema procesa uklanjanja dušika iz otpadne vode u laboratorijskom MBR-u pri konvencionalnoj aeraciji

Nakon ustaljenja procesa obrade otpadne vode prešlo se na pokus utjecaja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u prigušivanjem protoka zraka na puhalu i uvođenjem

suspenzije aktivnog mulja pomoću peristaltičke pumpe u SDOX tlačnu komoru uz istovremeni dotok kisika (Slika 19.).



**Slika 19.** Shema procesa uklanjanja dušika iz otpadne vode u laboratorijskom MBR-u pri aeraciji pri povišenom tlaku

Pomoću klipne pumpe ispumpavan je efluent iz MBR-a (permeat) i sakupljan u spremniku zapremnine 50 L, protokom od  $2 \text{ L h}^{-1}$ .

### 3.3.4. Testiranje biološke aktivnosti aktivnog mulja u uklanjanju dušika iz otpadne vode putem nitrifikacije i denitrifikacije

Testiranje biološke aktivnosti aktivnog mulja provodilo se u laboratorijskom SBR-uređaju tvrtke „Applikon“ koji je opisan u poglavlju 3.5. (Slika 16.). Za potrebe ovog testiranja, uređaj je povezan cijevima na bocu sintetskog zraka koji se koristi za aeraciju ispitivanog aktivnog mulja i održavanje aerobnih uvjeta tijekom testa nitrifikacije te na bocu dušika koji se koristi za ispuhivanje otopljenog kisika i održavanje anoksičnih uvjeta tijekom testa denitrifikacije. Miješanje aktivnog mulja provodilo se upotrebom dvostruke lopataste miješalice. Kontrolnoupvaljačka jedinica SBR-uređaja služila je za vođenje procesa obrade, te su preko nje elektrode i senzori bili spojeni na računalni sustav. U

literaturi je opisana metoda praćenja biološke aktivnosti mulja mjerenjem koncentracije nitrata i amonija kroz vrijeme (van Loosdrecht i sur., 2016a), koja je korištena u ovom pokusu. Testiranje biološke aktivnosti sastojalo se od provođenja testova nitrifikacije – postupak pretvorbe amonija u nitrate i testova denitrifikacije – postupak pretvorbe nitrata u plinoviti dušik. Iz membranskog bioreaktora uzeto je 1,5 L suspenzije mulja i stavljeno u SBR uređaj. Namješten je protok zraka pomoću puhala od 3 L/min kako bi koncentracija otopljenog kisika prelazila  $2 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  te je uspostavljeno miješanje električnom miješalicom pri 300 okretaja u minuti. Zatim je u suspenziju dodano 7,5 mL otopine amonijevog klorida ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), koncentracije 36 g/L, kako bi početna koncentracija  $\text{NH}_4\text{-N}$  u suspenziji mulja bila približna 50 mg/L. Uzorci suspenzije (5 mL) uzeti su u 0., 10., 20., 30. i 60. minuti nitrifikacije, profiltrirani kroz filter (CHROMAFIL Xtra PET, 25 mm,  $0.45 \mu\text{m}$ ) te je u filtratima određena koncentracija  $\text{NH}_4\text{-N}$  Hach kivetnim testom LCK304 i koncentracija  $\text{NO}_3\text{-N}$  Hach kivetnim testom LCK339. Odmah po završetku nitrifikacije, na istom uzorku aktivnog mulja, proveden je test denitrifikacije. Prvo je prekinut dovod sintetskog zraka za aeraciju i uključeno propuhivanje plinovitim dušikom da bi se uklonio sav otopljen kisik u suspenziji aktivnog mulja. Kad je koncentracija otopljenog kisika pala na  $0,0 \text{ mg/L}$ , u bioreaktor se dodalo 0,63 g bezvodnog natrijevog acetata (NaAc), prethodno otopljenog u 10 mL destilirane vode kako bi početna vrijednost KPK bila oko  $300 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . Zatim su ponovno uzeti uzorci suspenzije (5 mL) u istim vremenskim intervalima; 0., 10., 20., 30. i 60. minuti. Uzorci su profiltrirani kroz filter (CHROMAFIL Xtra PET, 25 mm,  $0.45 \mu\text{m}$ ) te je u svim filtratima određena koncentracija  $\text{NO}_3\text{-N}$ , dok su u filtratima 0. i 60. minute određene i KPK vrijednosti Hach kivetnim testom LCK314 i LCK514. Podaci su bilježeni grafički u MS Excel programu. Iz grafičkog prikaza ovisnosti koncentracije nitrata o vremenu određen je koeficijent smjera pravca, koji je jednak brzini nastajanja nitrata (nitrifikacija), odnosno potrošnje nitrata (denitrifikacija). Tako dobivena brzina izražena je kao  $\text{mgNO}_3\text{-N gVSS}^{-1} \text{ min}^{-1}$

Pribor: 1. LCK 339 kivetni test ( $0,23 - 13,50 \text{ mg NO}_3\text{-NL}^{-1}$ ) (Hach Lange)

2. Kivetni test LCK 304 ( $0.015 - 2 \text{ mg NH}_4\text{-NL}^{-1}$ ) (Hach Lange)

3. Kivetni testovi LCK 514 ( $100 - 2000 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ) i LCK 314 ( $15 - 150 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ )

<sup>1)</sup> za mjerenje KPK (Hach Lange)

4. Varijabilna ručna pipeta s nastavcima (Eppendorf)

5. Spektrofotometar (DR3900; Hach Lange)

### 3.3.5. Određivanje specifične brzine oksidacije amonija u procesu nitrifikacije i specifične brzine denitrifikacije

U nefiltriranom uzorku suspenzije mulja, određivana je TSS i VSS vrijednost. U filtriranom uzorku određivana je  $\text{NO}_3\text{-N}$  vrijednost. Podaci su bilježeni grafički u MS Excel programu. Iz grafičkog prikaza ovisnosti koncentracije nitrata o vremenu određen je koeficijent smjera pravca koji je jednak brzini nastajanja nitrata (nitrifikacija), odnosno potrošnje nitrata (denitrifikacija). Tako dobivene brzine izražene su kao  $\text{mgNO}_3\text{-N}(\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$ .

### 3.4. Primjena matematičkog modela za procjenu frakcija otpadne vode

Svu organska tvar iz influenta, osim topljivog nerazgradivog KPK, ili iskorištavaju mikroorganizami za stvaranje nove biomase ili se akumulira u sustavu kao nerazgradiv dio biomase. Kao prvi korak u modeliranju parametara procesa obrade otpadne vode važno je napraviti procjenu karakteristika otpadne vode da bismo saznali koliko je influent organski opterećen i koliko će to opterećenje utjecati na prirast mikrobne biomase.

Za određivanje ukupne BPK ( $\text{BPK}_T$ ) vrijednosti koristio se izraz [5] (van Loosdrecht i sur., 2016a). Računanje uzima u obzir da je reakcija razgradnje kinetike prvog reda. Gdje je  $\text{BPK}_T$  vrijednost BPK nakon vremena  $t$  u danima ( $t = 5$ ), a  $k$  konstanta čija vrijednost varira za različite tipove otpadnih voda. Sirovi KPK ( $\text{KPK}_s$ ) dobiva se oduzimanjem frakcije otopljenog KPK ( $\text{KPK}_o$ ) od ukupnog ( $\text{KPK}$ ), a izraz je prikazan jednadžbom [6]. Otopljeni BPK ( $\text{BPK}_o$ ) izračunat je prema izrazu [7]. Inertna suspendirana tvar dobivena je iz izraza [8], gdje VSS predstavlja organsku suspendiranu tvar izraženu u  $\text{gm}^{-3}$ . Biorazgradivi KPK ( $\text{KPK}_b$ ) dobiven je množenjem  $\text{BPK}_5$  s izračunatim koeficijentom konverzije 1,57 [9]. Oduzimanjem biorazgradive frakcije KPK ( $\text{KPK}_b$ ) od ukupne vrijednosti KPK ( $\text{KPK}$ ), kao što je prikazano u jednakosti [10], dobiven je nerazgradivi KPK ( $\text{KPK}_i$ ). Nerazgradivi suspendirani KPK ( $\text{KPK}_{si}$ ) izračunava se prema jednadžbi [11], dok se biorazgradivi suspendirani KPK ( $\text{KPK}_{sb}$ ) dobiva iz jednadžbe [12]. Nerazgradivi otopljeni KPK ( $\text{KPK}_{oi}$ ) je onaj koji se ne može ukloniti obradom te zaostaje u efluentu, a prikazan je jednadžbom [13].

$$BPK_T = BPK_5 / (1 - e^{(-0.23 \cdot 5)}) \quad [5]$$

$$KPK_S = KPK - KPK_0 \quad [6]$$

$$BPK_0 = BPK_5 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad [7]$$

$$X_I = VSS \cdot \left( 1 - \frac{1.57 (BPK_5 - BPK_0)}{(KPK - KPK_0)} \right) \quad [8]$$

$$KPK_b = BPK_5 \cdot 1.57 \quad [9]$$

$$KPK_i = KPK - KPK_b \quad [10]$$

$$KPK_{si} = X_I \cdot KPK_S / VSS \quad [11]$$

$$KPK_{sb} = KPK - KPK_{si} \quad [12]$$

$$KPK_{oi} = KPK_I - KPK_{sl} \quad [13]$$

### 3.5. Predviđanje rasta aktivnog mulja

Koncentracija biomase u ustaljenom stanju izračunata je prema matematičkome modelu (Izadi i sur., 2021; Henze i sur., 2008a). Za računanje je potrebno znati starost mulja (engl. *Sludge retention time* – SRT) koja se računa sljedećim izrazom [14].

$$SRT = \frac{\text{masa mulja u bioreaktoru}}{\text{masa mulja dnevno izvedena iz sustava}} \quad [14]$$

Matematički model predviđa da je masa ukupne suspendirane organske tvari u bioreaktoru ( $mX_T$ ) jednaka zbroju mase živih bakterija ( $mX_B$ ), mase endogenih ostataka

( $mX_E$ ), mase suspendirane inertne organske tvari iz otpadne vode ( $mX_{I(i)}$ ), mase anorganskog dijela živih bakterija ( $mX_{BIO}$ ) i mase suspendirane anorganske tvari iz otpadne vode ( $mX_{IO(i)}$ ) [15] :

$$mX_T = mX_B + mX_E + mX_{I(i)} + mX_{BIO} + mX_{IO(i)} \quad [15]$$

Mase navedene u gornjoj jednadžbi, dobivene su iz narednih jednadžbi [16 - 20]:

$$mX_B = \frac{Q_i \cdot SRT \cdot Y \cdot \frac{KPK_{bi}}{1+(b \cdot SRT)}}{1000} \quad [16]$$

$$mX_E = f_d \cdot b \cdot SRT \cdot mX_B \quad [17]$$

$$mX_{I(i)} = \frac{Q_i \cdot X_{Ii} \cdot SRT}{1000} \quad [18]$$

$$mX_{BIO} = f_i \cdot mX_B \quad [19]$$

$$mX_{IO(i)} = \frac{Q_i \cdot ISS \cdot SRT}{1000} \quad [20]$$

gdje su  $Y$ ,  $f_i$ ,  $f_d$  i  $b$  koeficijenti poznatih vrijednosti za određene uvjete u bioreaktoru prikazani u Tablici 7.  $Q_i$  predstavlja dnevni protok influenta [ $m^3 \text{ dan}^{-1}$ ],  $KPK_{bi}$  je biorazgradivi KPK [ $\text{gKPK} \cdot \text{m}^{-3}$ ],  $X_{Ii}$  predstavlja suspendirane inertne organske tvari u influentu [ $\text{gVSS} / \text{m}^3$ ] te  $ISS$  predstavlja suspendirane anorganske tvari u influentu [ $\text{gm}^{-3}$ ].

**Tablica 7.** Stehiometrijske i kinetičke konstante ponašanja heterotrofa kod ustaljenog stanja (Henze, 1987)

Faktor za izračun anorganskog udjela živih bakterija	$f_i$	0,15	-
Prinos	$Y$	0,47	$\text{gVSSgKPK}^{-1}$
Specifična stopa bakterijskog rasta	$b$	0,1	$\text{gMLVSSgVSS}^{-1} \text{ dan}^{-1}$
Nerazgradivi dio bakterijske organske tvari	$f_d$	0,1	$\text{gVSSgVSS}^{-1}$

Nakon izračunate mase mulja pri izabranom SRT-u, pomoću željene koncentracije mulja, potrebno je odrediti volumen reaktora ( $V_b$ ) iz jednadžbe [21]:

$$X_T = \frac{mX_T}{Vb} \quad [21]$$

Maseni protok viška mulja izražen u kgTSS koji uređaj proizvede dnevno dobiva se iz jednadžbe [22]:

$$mX_T = \frac{mX_T}{SRT} = \frac{X_T * Vb}{SRT} = X_T * Q_V \quad [22]$$

### 3.6. Mjerenje pH-vrijednosti

Određivanje pH-vrijednosti suspenzije aktivnog mulja vršilo se pomoću staklene elektrode „AppliSens pH+“, konstantno uronjene u reaktor SBR-a. pH-vrijednost je stalno mjerena te je elektroda bila spojena na kontrolnoupavljačku jedinicu laboratorijskog SBR uređaja. Elektroda je kalibrirana uranjanjem u pufer otopinu vrijednosti pH=7.

- Pribor :
1. „AppliSens pH+“ elektroda, Applikon
  2. Pufer otopina CertiPUR, Buffer solution pH 7, Merck

### 3.7. Mjerenje koncentracije otopljenog kisika

Za određivanje koncentracije otopljenog kisika korištena je elektroda tipa AppliSens DO (Applikon). Elektroda je spojena na kontrolnoupavljačku jedinicu laboratorijskog SBR uređaja, a koncentracija otopljenog kisika se stalno mjerila. Kalibracija elektrode provedena je njenim uranjanjem u otopinu kroz koju je propuhivan zrak.

Pribor: AppliSens DO elektroda, Applikon

### 3.8. Određivanje i regulacija temperature

Za određivanje temperature u bioreaktoru korišten je termometar koji je spojen na kontrolnoupavljačku jedinicu laboratorijskog SBR uređaja, a temperatura je praćena i mjerena u intervalima od pola sata. Za reguliranje temperature korišten je protočni termostat tvrtke Krüss, Njemačka, koji je održavao stalnu temperaturu suspenzije aktivnog mulja u bioreaktoru cirkulirajući kroz plašt bioreaktora.

*Pribor:* 1. Protočni termostat PT31 (Krüss)

2. Termometar

### 3.9. Određivanje ukupne suspendirane tvari (TSS), ukupne organske suspendirane tvari (VSS) i ukupne anorganske tvari (ISS)

Za određivanje ukupne suspendirane tvari (engl. *total suspended solids*, TSS) i ukupne organske suspendirane tvari (engl. *volatile suspended solids*, VSS) korišten je stakleni filter papir (1µm, GF/C, Whatman). Prije određivanja ukupne suspendirane tvari bilo je potrebno pripremiti filter-papir na način da je prvo preko papirića profiltrirano 10 mL destilirane vode a zatim je on stavljen na sušenje u sušionik na 105 °C do konstantne mase. Nadalje je, prije same filtracije uzorka, na analitičkoj vagi (Mettler, Type H 15), izvagana masa čistog filter papira. Zatim je volumen uzorka od 25 mL profiltriran preko pripremljenog filter papira uz pomoć vakuum sisaljke. Nakon toga je papir s uzorkom premješten u metalnu posudu, sušen u sušioniku na 105 °C i ponovo vagan. Razliku masa filter papira s talogom i čistog filter papira i potom dijeljenjem s volumenom uzorka uzetim u postupak, izračunata je TSS vrijednost prema izrazu [23].

$$TSS = \frac{m(\text{osušeni filter papir}) - m(\text{čisti filter papir})}{V(\text{uzorak})} \quad [g L^{-1}] \quad [23]$$

Isti filter papir s talogom je potom stavljen u porculansku zdjelicu, spaljen na plameniku, žaren u mufolnoj peći (500 °C, 3 h), ohlađen u eksikatoru te izvagan. Oduzimanjem mase čistog papirića od mase papirića s talogom nakon žarenja, te potom dijeljenjem s



volumenom uzorka uzetog u postupak dobivena je ISS (engl. *inorganic suspended solids*) vrijednost [24].

$$ISS = \frac{m(\text{žareni filter papir}) - m(\text{čisti filter papir})}{V(\text{uzorak})} \quad [g L^{-1}] \quad [24]$$

Ukupna organska suspendirana tvar (VSS) određena je iz razlike TSS i ISS [25].

$$VSS = TSS - ISS \quad [g L^{-1}] \quad [25]$$

- Pribor:
1. Filter papir (1 μm, GF/C, Whatman)
  2. Analitička vaga, Mettler, Type H 15
  3. Metalna posuda
  4. Vakuum sisaljka
  5. Sušionik, Instrumentaria, ST-01/02
  6. Mufolna peć
  7. Porculanska zdjelica
  8. Plamenik

### 3.10. Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK)

Kemijska potrošnja kisika (KPK) određivana je Dichromate metodom pomoću kivetnih testova LCK 514 i LCK 314 tvrtke Hach Lange (ISO 6060-1989, DIN 38409-H41-H44). Varijabilnom ručnom pipetom s nastavcima (Eppendorf) dodano je 2 mL uzorka u kivetu, nakon čega je kiveta dobro zatvorena i promiješana. Kiveta s uzorkom je zatim postavljena u termoreaktor u kojem se provodila digestija 15 min na 175 °C. Nakon digestije, kiveta je dobro promiješana i ostavljena na daljnje hlađenje na sobnoj temperaturi, nakon čega je određena KPK vrijednost pomoću spektrofotometra Hach Lange DR3900.

- Pribor:
1. Kivetni testovi LCK 514 (100–2000 mgO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>) i LCK 314 (15 – 150 mgO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>)
  2. za mjerenje KPK (Hach Lange)

3. Varijabilna ručna pipeta (Eppendorf) s nastavcima
4. Termoreaktor (HT 200S, Hach Lange)
5. Spektrofotometar (HACH Lange DR3900)

### **3.11. Određivanje koncentracije ukupnog fosfora**

Tijekom analize pokusa i testiranja određivan je ukupni fosfat u uzorcima mulja i nefiltriranog efluenta, te otopljeni fosfat u uzorku filtriranog efluenta. Za određivanje ukupnog fosfora korišten je kivetni test LCK 350 (ISO 6878\_2004, DIN EN 6878 / D11). Fosfatni ioni reagiraju s molibdatom i antimonijским ionima u kiseljoj otopini kako bi se formirao kompleks antimon fosfomolibdat koji se, askorbinskom kiselinom, reducira do fosfomolibdena plave boje.

Varijabilnom ručnom pipetom s nastavcima (Eppendorf) otpipetirano je 0,4 mL uzorka odgovarajućeg razrjeđenja i stavljeno u kivetu LCK 350 (Hach Lange) te zatvoreno s DosiCap Zip-čepom i snažno promiješano. Kiveta s uzorkom je zatim digestirana u termoreaktoru 15 min na 175 °C, nakon čega je ohlađena do sobne temperature. Sadržaj kivete ponovno je promiješan, te je u kivetu otpipetirano 0,5 mL reagensa B i kiveta je zatvorena s DosiCap C. Nakon zatvaranja sadržaj kivete je još jednom promiješan okretanjem kiveta nekoliko puta nakon čega je kiveta mirovala 10 min. Koncentracija ukupnog fosfora očitana je na spektrofotometru Hach Lange DR3900 i preračunata s obzirom na upotrijebljeno razrjeđenje.

- Pribor:*
1. Kivetni test LCK 350 (2.0 – 20.0 mg PL<sup>-1</sup>, Hach Lange)
  2. Varijabilna ručna pipeta s nastavcima (Eppendorf)
  3. Termoreaktor (HT 200S, Hach Lange)
  4. Spektrofotometar (DR3900; Hach Lange)

### **3.12. Određivanje koncentracije otopljenog fosfora**

Kao i ukupni fosfor, otopljeni fosfor se određuje pomoću kivetnog testa LCK 350 tvrtke Hach Lange (ISO 6878\_2004, DIN EN 6878/D11). Varijabilnom ručnom pipetom (tvrtka

Eppendorf) s nastavcima otpipetirano je 0,4 mL uzorka u kivetu, a potom je dodano 0,5 mL reagensa B i zatvorena je DosiCap čepom. Nakon miješanja ostavljena je da miruje 10 minuta. Nakon toga koncentracija otopljenog fosfora određena je pomoću spektrofotometra Hach Lange DR3900.

- Pribor:
1. Kivetni test LCK 350 ( $2.0 - 20.0 \text{ mgPL}^{-1}$ ) za mjerenje koncentracije ukupnog fosfora i otopljenog fosfora, tvrtka Hach Lange
  2. Varijabilna ručna pipeta tvrtke Eppendorf s nastavcima
  3. Spektrofotometar HACH Lange DR900

### **3.13. Određivanje koncentracije ukupnog dušika (TN)**

Za određivanje koncentracije ukupnog dušika korišten je LCK 238 LATON kivetni test tvrtke Hach Lange (EN ISO 11905-1). Digestijom se organski i anorganski dušik uz pomoć preoksidisulfata, kao oksidansa, prevode do nitrata. Nitratni ioni, u otopini sumporne i fosfatne kiseline, reagiraju s 2,6 – dimetilfenolom pri čemu nastaju nitrofenoli koji daju crveno obojenje. Varijabilnom ručnom pipetom s nastavcima (Eppendorf) dodano je u reakcijsku kivetu 0,5 mL uzorka, 2 mL reagensa A (natrijev hidroksid) i jedna tableta B (dinatrijev peroksidisulfat, dinatrijev tetraborat). Digestija se provodi u termoreaktoru, 15 min na  $175 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nakon digestije, reakcijska kiveta se hladi na sobnu temperaturu, te se u nju dodaje MicroCap C, čep s natrijevim azidom. Kiveta je promiješana kako bi se otopio natrijev azid, te je iz nje otpipetirano 0,5 mL digestiranog uzorka i preneseno u kivetu, koja sadrži 60 % sumporne kiseline i 33 % fosfatne kiseline, zajedno s reagensom D (2 - propranol). Reakcija se odvija 15 min, nakon čega se koncentracija ukupnog dušika određuje spektrofotometrijski na spektrofotometru Hach Lange DR3900.

- Pribor:
1. LCK 238 LATON kivetni test ( $5 - 40 \text{ mg NL}^{-1}$  Hach Lange)
  2. Varijabilna ručna pipeta s nastavcima (Eppendorf)
  3. Termoreaktor (HT 200S, Hach Lange)
  4. Spektrofotometar (DR3900, Hach Lange)

### **3.14. Određivanje koncentracije nitrata**

Za određivanje koncentracije nitrata korišten je LCK 339 kivetni test tvrtke Hach Lange (ISO 7890-1-2-1986, DIN 38405 D9-2). Nitratni ioni reagiraju s 2,6-dimetilfenolom, u otopini sumporne i fosfatne kiseline, i tvore 4-nitro-2,6-dimetilfenol, koji daje crveno obojenje.

Varijabilnom ručnom pipetom s nastavcima (Eppendorf) otpipetiran je 1 mL uzorka u kivetu, te je dodano 0,2 mL reagensa A (2 – propanol). Nakon 15 min mirovanja na spektrofotometru Hach Lange DR3900 je određena koncentracija nitrata u uzorku.

- Pribor:
1. LCK 339 kivetni test (0,23 – 13,50 mg NO<sub>3</sub>-N/L; Hach Lange)
  2. Varijabilna ručna pipeta s nastavcima (Eppendorf)
  3. Spektrofotometar (DR3900; Hach Lange)

### **3.15. Određivanje koncentracije amonija**

Za određivanje koncentracije amonijevih iona, odnosno amonija, korišten je LCK 304 kivetni test tvrtke Hach Lange (ISO 7150-1, DIN 38406 E5-1, UNI 11669:2017). Amonijevi ioni u uzorku reagiraju, u prisutnosti natrijeva nitroprusida, s hipokloritnim ionima pri pH 12,6 i daju plavo obojenje. Varijabilnom ručnom pipetom s nastavcima (Eppendorf) dodano je 0,2 mL uzorka u kivetu, te je ona zatvorena s DosiCap Zip čepom, u kojem se nalaze reagensi troklose natrij i natrijev nitroprusid. Reakcija se odvija tijekom 5 minuta, nakon kojih se određuje koncentracija amonija pomoću spektrofotometra Hach Lange DR3900.

- Pribor:
1. Kivetni test LCK 304 (0.015 – 2 mg NH<sub>4</sub>-N/L; Hach Lange)
  2. Varijabilna ručna pipeta s nastavcima (Eppendorf)
  3. Spektrofotometar (DR3900; Hach Lange)

### **3.16. Mikroskopiranje uzorka aktivnog mulja**

Za promatranje uzorka aktivnog mulja korištena je metoda bojanja po Neisseru. Bojanje

po Neisseru je mikroskopska metoda za otkrivanje prisutnosti metakromatskih granula u stanicama bakterija (Babes-Ernst polarna tjelešca). Metilensko plavilo i kristal violet se pri definiranom pH vežu uz polarna tjelešca (volutinska tjelešca uključujući poli-P), ali ne i uz ostatak bakterijske stanice. Na taj način polarna tjelešca pod mikroskopom postaju vidljiva kao tamne točke. Ova metoda je stoga korisna za bojanje bakterija koje akumuliraju fosfate (PAO).

*Pribor:*

1. Mikroskop
2. Otopina kristalvioleta
3. Otopina metilenskog plavila
4. Otopina kontrastnog bojila (Bismarckova smeđa)
5. Radna otopina (svježa mješavina koja sadrži 2/3 otopine metilenskog plavila i 1/3 otopine kristalvioleta)

Opis pripreme uzorka:

1. Pripremiti fiksni razmar tako da se uzorak u tankom sloju razmaže na predmetnicu, nakon čega se može lako razvući pomoću pipete. Preparat se ostavlja na zraku da bi se osušio pri sobnoj temperaturi.
2. Zaliti uzorak svježe pripremljenom radnom otopinom i ostaviti ga 15 s.
3. Nježno isprati bojilo vodovodnom vodom i osigurati da su obje strane predmetnice isprane.
4. Zaliti preparat otopinom kontrastnog bojila i ostaviti ga tako 1 min.
5. Nježno isprati bojilo vodovodnom vodom i osigurati da su obje strane predmetnice isprane.
6. Ostaviti predmetnicu da se osuši na zraku ili koristiti filter papir.

Pregledati uzorak pod mikroskopom s inverzijskim uljem koristeći objektiv visokog povećanja sa svijetlim vidnim poljem, izravno osvjetljenje i bez pokrovnice.

### **3.17. Određivanje indeksa taloživosti mulja (SVI)**

Za određivanje indeksa mulja korištena je menzura u koju se napunio uzorak mulja do

određenog volumena ( $V_{uz}$ ). Uzorak je ostavljen 30 minuta da se istaloži. Nakon 30 minuta taloženja očitana je volumena koji zauzima istaloženi mulj ( $V_m$ ). SVI je izračunat prema izrazu [26].

$$SVI = \frac{V_m(\text{istaložen mulj nakon 30 minuta})}{V_{uz}(\text{suspenzija uzeta za analizu}) \cdot TSS} \quad [mL \cdot g^{-1}] \quad [26]$$

Pribor:

1. Menzura  $V=100$  mL
2. Zaporni sat

### 3.18. Određivanje starosti mulja (SRT)

Starost mulja (engl. *Sludge Retention Time*, 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. Definiira se kako je prikazano izrazom [27].

$$SRT = \frac{\text{masa mulja u bioreaktoru}}{\text{masa mulja dnevno izvedena iz sustava}} \quad [27]$$

### 3.19. Određivanje specifične brzine oksidacije amonija u procesu nitrifikacije i specifične brzine denitrifikacije

U nefiltriranom uzorku suspenzije mulja, određivana je TSS i VSS vrijednost. U filtriranom uzorku određivana je  $NO_3-N$  vrijednost. Podaci su bilježeni grafički u MS Excel programu. Iz grafičkog prikaza ovisnosti koncentracije nitrata o vremenu određen je koeficijent smjera pravca koji je jednak brzini nastajanja nitrata (nitrifikacija), odnosno potrošnje nitrata (denitrifikacija). Tako dobivene brzine su izražene kao  $mgNO_3-N(gVSS)^{-1}min^{-1}$ .

### 3.20. Određivanje distribucije veličina suspendiranih čestica

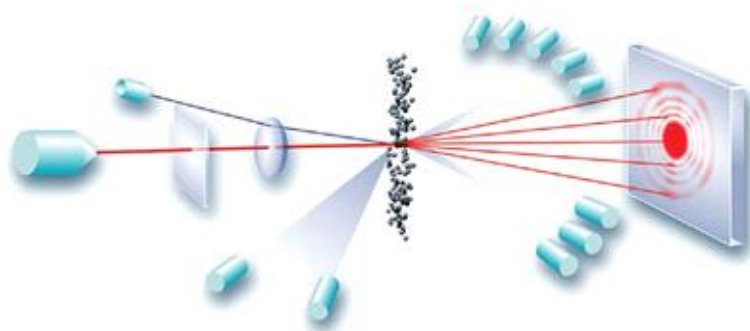
Distribucija veličina suspendiranih čestica, odnosno veličine flokula aktivnog mulja određivana je prije i nakon aeracije pri povišenom tlaku. Za određivanje distribucije veličine čestica korišten je uređaj Malvern Mastersizer 2000 s vanjskom jedinicom Hydro 2000 (Malvern instruments, Worcestershire, Velika Britanija) (Slika 20.).



**Slika 20.** Malvern Mastersizer 2000 s vanjskom jedinicom Hydro 2000S (vlastita fotografija)

Analiza raspodjele veličine čestica laserskom metodom temelji se na činjenici da čestice raspršuju svjetlost pod kutom koji je obrnuto proporcionalan njihovoj veličini (Jillavenkatesa i sur., 2001). Smanjenjem veličine čestica logaritamski se povećava promatrani kut raspršenja svjetlosti. Intenzitet raspršenja također ovisi o veličini čestica i smanjuje se s volumenom čestice (Gamble i sur., 2019). Veće čestice zato raspršuju svjetlost pod ostrim kutovima s višim intenzitetom, dok manje čestice raspršuju svjetlost pod širim kutom, ali s niskim intenzitetom (Gamble i sur., 2023); (Wadams i sur., 2022). Uređaj se sastoji od lasera kao izvora svjetlosti točno definirane valne duljine, detektora koji mjeri intenzitet raspršene svjetlosti pod raznim kutovima te dobavnu jedinicu koja je odgovorna za raspršenje i ravnomjernu raspodjelu čestica u mjernoj ćeliji. Osim He – Ne

lasera (svjetlost crvene boje), submikronska osjetljivost povećana je i izvorom plave svjetlosti manje valne duljine, što povećava mjerni raspon instrumenta koji iznosi 0,02 – 2000  $\mu\text{m}$  (Slika 21.).



**Slika 21.** Optički sustav laserskog analizatora veličine čestica (Gamble i sur., 2019)

Određivanje veličine suspendiranih čestica suspenzije aktivnog mulja zasniva se na principu propuštanja uzorka kroz radnu ćeliju pomoću vanjske jedinice Hydro 2000S. Volumen komore (150 mL) u koju se dodaje uzorak (1 – 10 mL) ispunjen je destiliranom vodom. Hydro 2000S ima ugrađen ultrazvučni procesor za otplinjavanje mjehurića zraka unutar komore i sustav ispiranja i čišćenja destiliranom vodom. Analiza određivanja veličine čestica tekućeg uzorka je nedestruktivna metoda s velikom pouzdanošću analize dispergiranih čestica u adekvatnom otapalu (etanol ili destilirana voda). Raspodjela veličine flokula aktivnog mulja očituje se kao grafički prikaz ovisnosti relativne učestalosti o promjeru globula izraženih u  $[\mu\text{m}]$ . Numeričke vrijednosti raspodjele veličine globula  $[d(0,1), d(0,5), d(0,9)]$  definirane su “Sauterovim” srednjim promjerom  $[d(3,2)]$  koji je po definiciji sličan “Feretovom” promjeru, a definiran je kao hipotetski promjer kugle koja ima isti volumni/površinski omjer kao i globula nepravilnog oblika. Može se predočiti izrazom [28]:

$$d_{3,2} = \frac{\overline{X^3}}{\overline{X^2}} \times \frac{1}{f} = \frac{6}{A_V} \quad \text{ili} \quad d_{3,2} = \frac{1}{f} \times \frac{M_{3,0}}{M_{2,0}} \quad [28]$$

gdje je:

$d(3,2)$  – Sauterov srednji promjer [m]

$f$  – Heywood – ov faktor (karakterističan za promatrani oblik)

$A_V$  – specifična površina [ $\text{m}^{-1}$ ]



Specifična površina ( $A_v$ ) definirana je izrazom [29]:

$$A_V = \frac{A_{\check{c}}}{V} = \frac{6}{d} \times f \quad [29]$$

gdje je:

$A_{\check{c}}$  – površina čestice [ $\text{m}^2$ ]

$V$  – volumen čestice [ $\text{m}^3$ ]

$d$  – promjer čestice [ $\text{m}$ ]

Statistički moment ( $M_{k,r}$ ) (prosječne vrijednosti) matematički se mogu izraziti [30]:

$$M_{k,r} = \int_{x_{\min}}^{x_{\max}} x^k \times f(x) dx = \overline{x_r^k} = \frac{M_{k+r,0}}{M_{r,0}} \quad [30]$$

gdje je:

$k$  – eksponent promjera čestice  $d$

$r$  – indeks – karakteristika promatrane kategorije – broj ( $r = 0$ ), duljina ( $r = 1$ ), površina ( $r = 2$ ), volumen ( $r = 3$ ), masa ( $r = 3$ ), masa i volumen imaju isti indeks, a razlikuju se po konstanti proporcionalnosti

$d(0,1)$  – 10 % od volumena distribucije je ispod te vrijednosti [ $\text{m}$ ]

$d(0,5)$  – medijan, 50 % distribucije je iznad i 50 % distribucije je ispod te vrijednosti [ $\text{m}$ ]

$d(0,9)$  – 90 % volumena distribucije je ispod te vrijednosti [ $\text{m}$ ]

### 3.21. Računanje fluksa (J) i permeabilnosti (K) membrana

Fluks filtrirane vode kroz membranu površine  $0,11 \text{ m}^2$  izračunat je iz izmjerjenog protoka vode  $Q$  preračunatog u  $\text{L h}^{-1}$  prema jednadžbi [31]:

$$J = Q/A \quad [31]$$

Gdje je:                    J – fluks filtrirane vode [ $L m^{-2} h^{-1}$  ]  
                                  Q – protok filtrirane vode [ $L h^{-1}$  ]  
                                  A – površina membrane [ $0,11 m^2$  ]

Permeabilnost membrana predstavlja omjer fluksa permeata i transmembranskog tlaka kao što je prikazano u jednadžbi [32]:

$$K=J/\Delta P \qquad [32]$$

Gdje je:                    K – permeabilnost membrana [ $L m^{-2} h^{-1} bar^{-1}$  ]  
                                  J – fluks filtrirane vode [ $L m^{-2} h^{-1}$  ]  
                                   $\Delta P$  – transmembranski tlak [bar]

Permeabilnost pojedine membrane mjerena je četiri puta i to:

1. Prije uranjanja u bioreaktor – permeabilnost čiste membrane
2. Nakon vađenja iz bioreaktora – permeabilnost začepljene membrane
3. Nakon pranja otopinom natrijevog hipoklorita – permeabilnost membrane očišćene od organskih onečišćenja
4. Nakon pranja limunskom kiselinom – permeabilnost membrane očišćene od anorganskog onečišćenja

Permeabilnosti su određivane u drugom reaktoru, ukupnog volumena 40L. Prije početka svakog mjerenja, membrane su bile uronjene u reaktor na način da su cijelom površinom bile uronjene u demineraliziranu vodu, uključena je klipna pumpa te je izbačen sav zrak iz cijevi i nuliran manometar. Volumen vode u bioreaktoru je pri svim mjerenjima bio jednak, a između zamjene membrana reaktor se prao i punio novom demineraliziranom vodom. Protok permeata kroz membranu je određivan menzutom i zapornim satom. Fluks je zatim dobiven prema jednadžbi [28], uvrštavanjem izračunatog protoka i znane površine membrane ( $0,11m^2$ ). Uvrštavanjem znanog fluksa te očitano transmembranskog tlaka prema jednadžbi [29] dobivene su permeabilnosti membrana.

### 3.22. Računanje ukupnog otpora filtraciji (Rt)

Ukupan otpor filtraciji (Rt) je suma pojedinačnih otpora filtraciji, a izračunat je prema jednadžbi [33]:

$$R_t = R_m + R_c + R_f \quad [33]$$

Gdje je:       $R_t$  – ukupni filtracijski otpor [ $m^{-1}$  ]  
                  $R_m$  – membranski otpor [ $m^{-1}$  ]  
                  $R_c$  – otpor kolača [ $m^{-1}$  ]  
                  $R_f$  – otpor začepljenja [ $m^{-1}$  ]

Otpor filtraciji može se definirati prema jednadžbi [34]:

$$R = \Delta P / \eta \quad [34]$$

Gdje je:       $\Delta P$  = promjena tlaka  
                  $\eta$  = viskozitet permeata [ $kg\ m^{-1}\ s^{-2}$  ]  
                  $J$  = fluks filtrirane vode [ $L\ m^{-2}\ h^{-1}$  ]

Pojedinačni otpori filtraciji su računati iz recipročnih vrijednosti permeabilnosti membrane za čistu membranu uronjenu u demineraliziranu vodu ( $R_m$ ) i za začepljenu membranu uronjenu u demineraliziranu vodu ( $R_m+R_f$ ). Ukupni otpor filtraciji ( $R_t$ ) računao se prema jednadžbi [33], iz podataka dobivenih tijekom filtracije aktivnim muljem.

*Pribor:*      1. Menzura (100 mL)  
                 2. Zaporni sat

### 3.23. Čišćenje membrana

Kada kao posljedica začepljenja membrane i dostizanja granične vrijednosti ukupnog otpora dođe do porasta podtlaka, pojave mjehurića zraka u cijevima i pada protoka permeata, razlika podtlaka na stijenci membrane pređe -0,30 bara, tada se provodi kemijsko čišćenje membrane s ciljem oporavka membrane (engl. *recovery cleaning*). Kemijsko čišćenje membrane se provodi pranjem membrane u natrijevom hipokloritu ( $\text{NaOCl}$ ,  $c = 100 \text{ mgCl}_2/\text{L}$ ) u trajanju od 24 sata da bi se uklonilo organsko onečišćenje te zatim ponovno mjerila permeabilnost membrane. Nakon toga membrana se potapa u limunskoj kiselini ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ,  $c = 1 \text{ g/L}$ ) 6 sati da bi se uklonilo i anorgansko onečišćenje. Na kraju se mjeri konačna permeabilnost očišćene membrane.

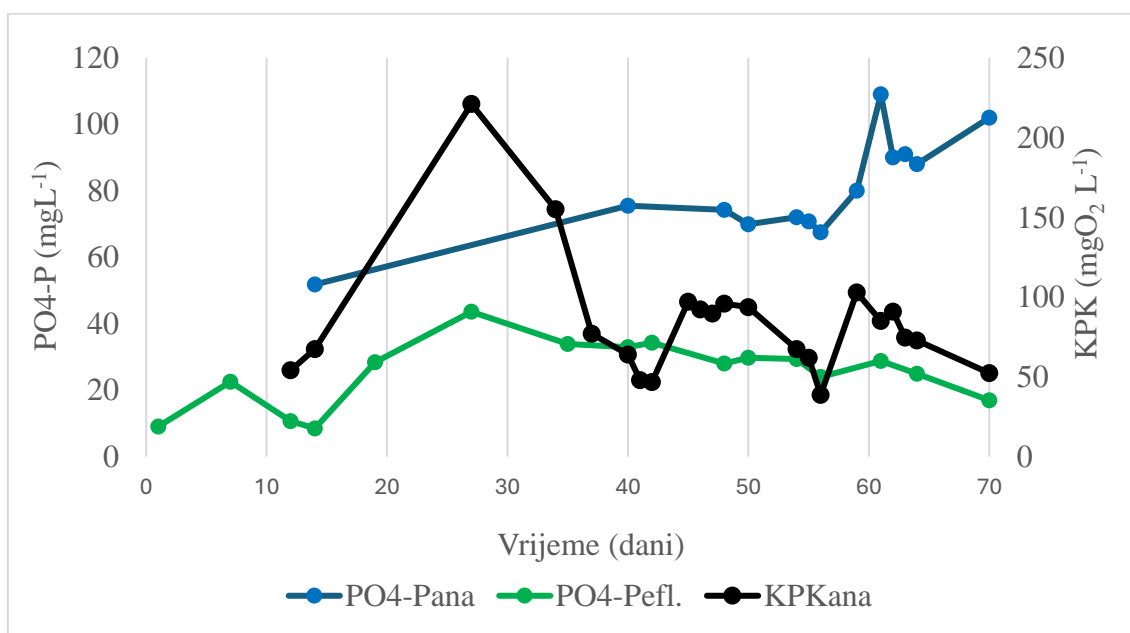
*Kemikalije* : Natrijev hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ), limunska kiselina ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ )

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4.1. Uzgoj PAO

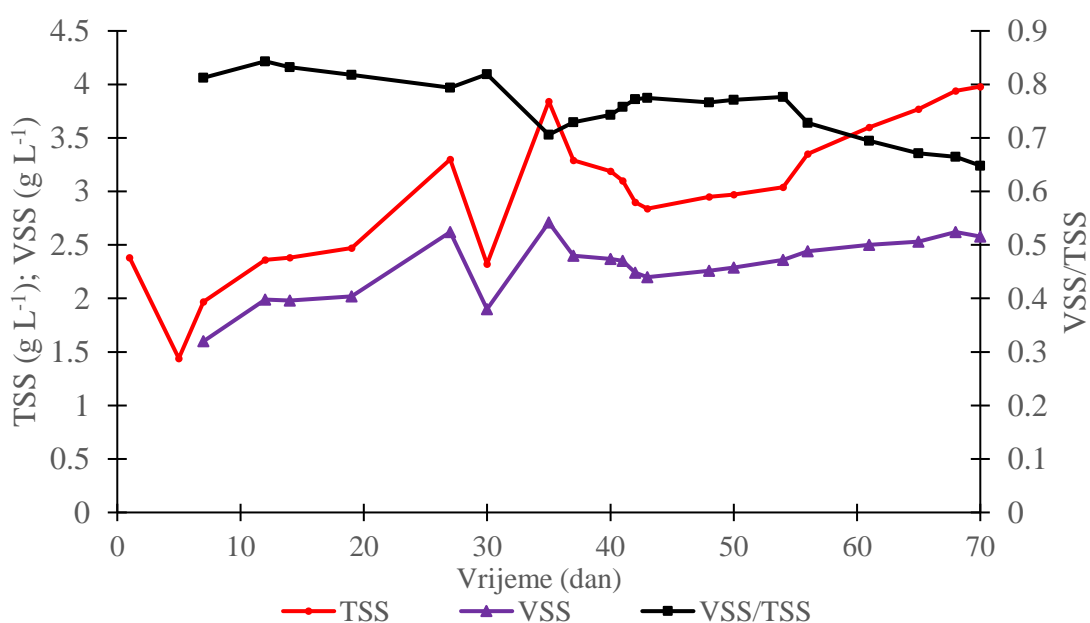
Za potrebe ovog istraživanja bilo je potrebno uzgajati aktivni mulj obogaćen PAO organizmima. Aktivni mulj uzgajan je u bioreaktoru tijekom 70 dana, pri čemu je koncentracija acetata postupno povećavana da bi se postigla koncentracija KPK vrijednosti od  $1800 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  u influentu uz uvjete povoljne za rast PAO-a. Temperatura je održavana na  $15 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  kako bi bila unutar granica pogodnih za mikrobni rast PAO-a, a nepovoljna za rast GAO-a (Lopez-Vazquez i sur., 2020; Wang i sur., 2020a). pH-vrijednost održavana je iznad 7.25 jer PAO-i brže asimiliraju acetat pri pH višim od 7, dok GAO brže asimiliraju acetat pri pH nižim 7.25 (van Loosdrecht i sur., 2020a). Još jedan važan parametar za dominaciju PAO-a nad GAO-ima je omjer KPK vrijednosti i fosfora u otpadnoj vodi. Budući da PAO-i preferiraju niži omjer KPK prema fosforu, kada se koncentracija acetata u influentu postupno povećavala, povećavala se i koncentracija dodanog fosfora (Zhang i sur., 2022b). Omjeri su bili u rasponu od 16 do  $22 \text{ mgO}_2 \text{ mgP}^{-1}$ , što je u skladu s vrijednostima prema Oehmenu (Oehmen i sur., 2007b).

Tijekom uzgoja aktivnog mulja, koncentracija fosfora mjerena je u tekućoj fazi mulja na kraju anaerobne faze i u izlaznoj vodi na kraju 6-satnog ciklusa. Razlika u koncentraciji fosfora između influenta i efluenta povećavala se tijekom vremena (Slika 22.), jer se primijetilo povećanje koncentracije fosfora na kraju anaerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{ana}}$ ) i istodobno smanjenje koncentracije fosfata na kraju aerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl}}$ ), što ukazuje na postupno uspostavljanje EBPR-a procesa.



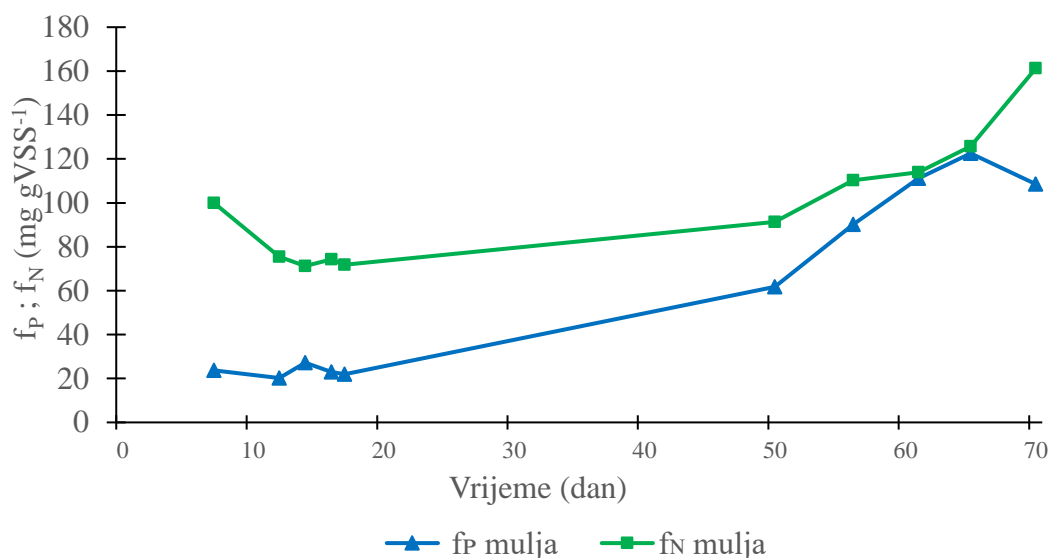
**Slika 22.** Koncentracije fosfora ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{ana}}$ ) i KPK vrijednosti ( $\text{KPK}_{\text{ana}}$ ) na kraju anaerobne faze te u efluentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl}}$ ) tijekom uzgoja PAO

Potvrda biološke aktivnosti PAO-a vidljiva je u smanjenju omjera  $\text{gVSS/gTSS}$  u aktivnom mulju tijekom uzgoja na vrijednost od 0,65 (Slika 23.). Smatra se da se relativno nizak omjer  $\text{gVSS/gTSS}$ , odnosno omjer ispod 0,73 javlja u uspješnim EBPR procesima (Zeng i sur., 2013; Wu i sur., 2013).



**Slika 23.** TSS mulja, VSS i omjer VSS/TSS mulja nakon aerobne faze tijekom uzgoja PAO

Daljnja potvrda aktivnosti PAO-a bilo je povećanje sadržaja fosfora ( $\text{fP}$ ) u VSS-u mulja (Slika 24.)



**Slika 24.** Sadržaj ukupnog fosfora (fP) i ukupnog dušika (fN) u VSS-u mulja tijekom uzgoja PAO

Promjene u fP vrijednosti i omjeru gVSS/gTSS tijekom uzgoja potvrđuju povećanje sadržaja fosfora u samom aktivnom mulju. Niska vrijednost fP tijekom prvih 20 dana uzgoja u mulju je očekivana zbog niske početne koncentracije PAO-a u aktivnom mulju, a tek nakon 50. dana uzgoja zabilježen je značajniji porast fP vrijednosti na 122 mgP gVSS<sup>-1</sup> mulja, što ukazuje na povećanje koncentracije PAO-a u aktivnome mulju. Bez povećanja sadržaja fosfora u biomasi, potrošnja KPK u anaerobnoj fazi također bi se mogla pripisati GAO-ima, ali povećanje sadržaja fosfora u mulju jasno ukazuje na prisutnost PAO-a. Tijekom eksperimenta, sadržaj dušika u VSS (fN) varirao je između 71,2 i 161,2 mgN gVSS<sup>-1</sup>, što je tipičan raspon za aktivni mulj (Jena i sur., 2016).

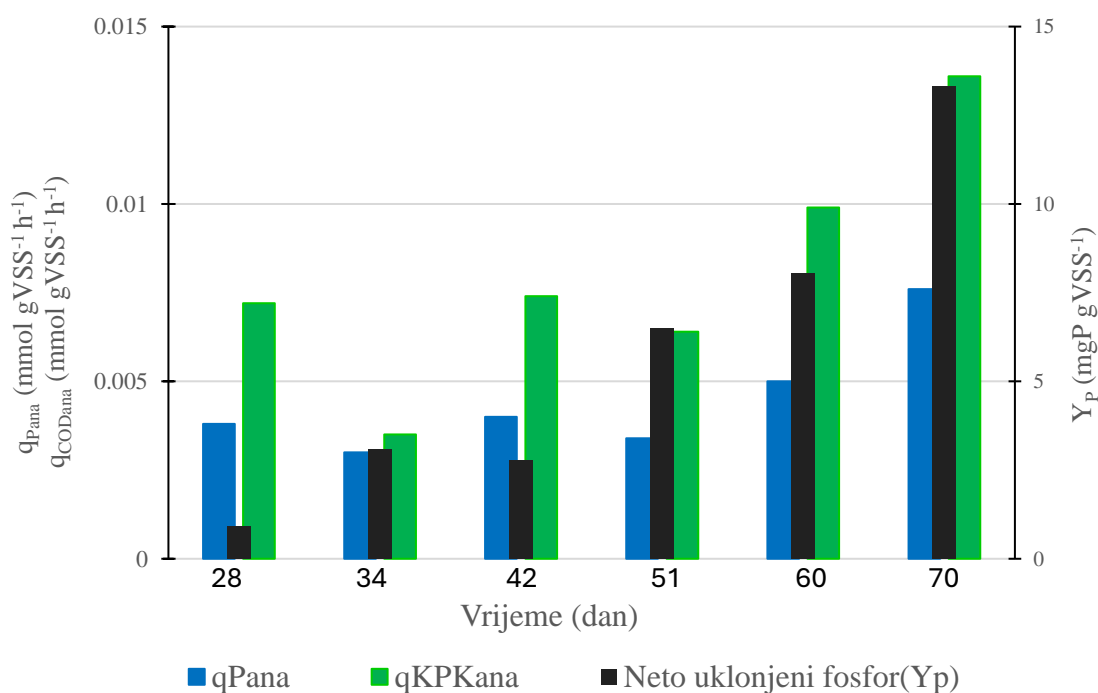
Važno je napomenuti da uzgoj PAO-a nije prošao bez određenih izazova. Od 28. dana do otprilike 40. dana došlo je do značajnog poremećaja u performansama EBPR-a procesa i koncentraciji aktivnog mulja (Slika 23.). Jedan od razloga za poremećaj bio je povećani teret acetata (odgovarajuć koncentraciji KPK vrijednosti) od 28. dana, što se činilo previsokim za PAO-e u anaerobnoj fazi procesa, a što je rezultiralo i smanjenjem performansi EBPR-a. Drugi mogući razlog za poremećaj mogli su biti način izvođenja testova biološke aktivnosti aktivnog mulja provedenih 28., 34. i 42. dana. U tim testovima, acetat je dodan odjednom, a ne postepeno kroz cijeli anaerobni ciklus od 165 minuta, a kako bi se postigla koncentracija KPK vrijednosti od otprilike 250 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> u



bioreaktoru, što je bilo više nego što je mulj u tom trenutku bio naviknut podnositi. Stoga je KPK opterećenje iz influenta moralo biti smanjeno na  $987 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$  između 29. i 35. dana, te na  $616 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$  između 36. i 42. dana kako bi se omogućilo PAO-ima da konzumiraju većinu KPK u anaerobnoj fazi i nastave s EBPR aktivnošću. Svrha gore navedenih testova biološke aktivnosti nije bila samo mjerenje aktivnosti EBPR-a, već i prekid biološke aktivnosti naglim povećanjem koncentracije acetata da bi se promatrali njezini učinci.

Zaključak cijelog uzgoja PAO-a je da je uvođenje visoke koncentracije acetata imalo negativan utjecaj na EBPR kada je udio PAO-a u aktivnom mulju bila niska, ali nije bilo primjetnog učinka kada su se PAO-i uspostavili u dovoljnom broju u mulju, kako se može i vidjeti iz vrijednosti  $gVSS/gTSS$  i ostalih izmjerenih vrijednosti.

Biološka aktivnost aktivnog mulja praćena je testovima aktivnosti koji su mjerili maksimalnu specifičnu stopu asimilacije KPK ( $q_{KPK_{ana}}$ ) i otpuštanje fosfora ( $q_{P_{ana}}$ ) u anaerobnoj fazi tijekom uzgoja aktivnog mulja (Slika 25.).



**Slika 25.** Maksimalne specifične stope asimilacije KPK ( $q_{KPK_{ana}}$ ) i otpuštanja fosfora u anaerobnoj fazi ciklusa ( $q_{P_{ana}}$ ), te količina neto uklonjenog fosfora po  $gVSS$  ( $Y_p$ ) nakon taloženja na kraju 6-satnog ciklusa u testovima biološke aktivnosti PAO-a tijekom uzgoja

Maksimalna specifična stopa asimilacije KPK znatno se mijenjala tijekom uzgoja. Opadanje  $qKPK_{ana}$  primijećeno je do 29. dana, kada se koncentracija KPK vrijednosti u influentu povećala, što je također dovelo do povećanja KPK vrijednosti u efluentu nakon anaerobne faze. Nakon 35. dana uzgoja došlo je do povećanja  $qKPK_{ana}$ , što ukazuje da su u mulju dominirali organizmi koji anaerobno konzumiraju KPK. Za EBPR proces je jedan od najvažnijih pokazatelja performansi neto uklonjeni fosfor (YP). Slika 25. prikazuje da je neto uklonjenje fosfora tijekom 28. dana eksperimenta, bilo zanemarivo. Nakon 35. dana, stalno povećanje količine neto uklonjenog fosfora po gramu VSS-a jasno ukazuje na stalno povećanje broja PAO-a u mulju. To potvrđuje da je postupnim povećanjem koncentracije acetata u influentu moguće uzgajati mulj s visokim udjelom PAO-a koji uklanja fosfor čak i pri vrlo visokim koncentracijama acetata.

Za otkrivanje prisutnosti PAO-a u aktivnom mulju nakon faze uzgoja korištena je mikroskopska Neisserova metoda bojenja da bi se detektirala prisutnost voluminoznih tijela koja sadrže poli-P unutar PAO-a (Nielsen i sur., 2016).

Iz ovog uzgoja zaključeno je da se visoke koncentracije acetata u influentu mogu koristiti bez očiglednih negativnih učinaka na EBPR i aktivnost PAO-a, ali samo ako se PAO-i postepeno prilagode povećanoj koncentraciji acetata. Nagli porast koncentracije acetata može dovesti do gubitka performansi EBPR-a, kao što je bilo slučaj nakon 28. dana. Povećanje koncentracije acetata mora biti postupno kako bi se izbjegli prekomjerni ostaci acetata nakon anaerobne faze i prijelaz visoke koncentracije acetata u aerobnu fazu jer PAO-i ne asimiliraju fosfor pri aerobnim uvjetima pri visokoj koncentraciji acetata. EBPR aktivnost PAO-a obnovila se smanjenjem koncentracije acetata, kao što smo to učinili od 29. do 42. dana. Treba napomenuti da je u svaki ciklus SBR dodano 0,25 L sintetičke otpadne vode, koja je razrijeđena na 2 L volumena aktivnog mulja u bioreaktoru, odnosno faktorom od 8. Osim toga, kontinuirano opskrbljivanje influenta tijekom anaerobne faze smanjilo je vrhunac opterećenja acetatom, što je možda doprinijelo većoj asimilaciji acetata od strane PAO-a tijekom anaerobne faze. Unatoč tome, PAO-i su uspješno provodili uklanjanje fosfora. Randall i Chapin (Randall i Chapin, 1997) jedini su istraživači koji su izvijestili o inhibicijskom učinku acetata na EBPR. Koristili su  $800 \text{ mgL}^{-1}$  octene kiseline u sustavu reaktora od 15,8 litara. Tijekom uzgoja u mojem eksperimentu opterećenje acetatom za sintetičku otpadnu vodu (Tablica 3.) bilo je 0,9 g acetata po litri bioreaktora dnevno, što je slično njihovom opterećenju.

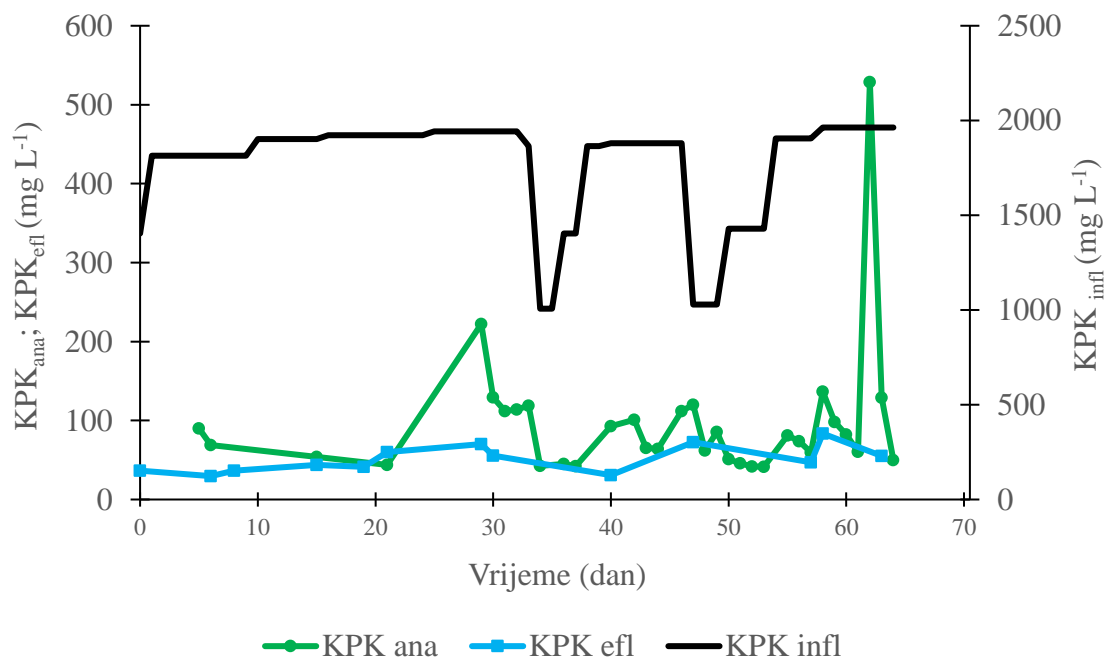
Oni su pripisali gubitak EBPR-a ispiranju aktivnog mulja iz sustava, a ne inhibicijskom učinku. Kako bismo evaluirali učinke čak i većih koncentracija acetata, proveli smo eksperimente inhibicije opisane u sljedećem poglavlju.

#### **4.2. Testovi inhibicije EBPR-a s visokim koncentracijama acetata**

Nakon što je aktivni mulj uspješno uzgojen PAO-om tijekom 70 dana, provedeni su eksperimenti da bi se procijenila inhibicija aktivnosti PAO-a pri visokim koncentracijama acetata tijekom sljedećih 67 dana s ciljem procjene aktivnosti PAO-a u usporedbi s baznom biološkom aktivnosti EBPR-a i promatranjem učinka izlaganja mulja povišenim koncentracijama acetata. Tako je aktivni mulj obrađivao sintetičku otpadnu vodu s koncentracijom acetata koja odgovara KPK vrijednosti do maksimalnih  $1800 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  i SRT-u od 10 dana (Tablica 3.).

Također, tijekom ovog perioda aktivni mulj bio je podvrgnut testovima biološke aktivnosti s postupnim povećanjem koncentracija acetata (Tablica 3.) da bi se odredili učinci na stabilnost EBPR-a u mulju. Treba napomenuti da je u nekim od ovih testova narušena EBPR performansa mulja. Osim toga, performansa EBPR-a narušena je kvarom ventila kisika između 41. i 45. dana. U tim slučajevima smanjeno je dnevno opterećenje KPK dok se EBPR nije obnovilo, kako bismo postigli koncentraciju KPK u bioreaktoru ispod  $100 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  nakon anaerobne faze.

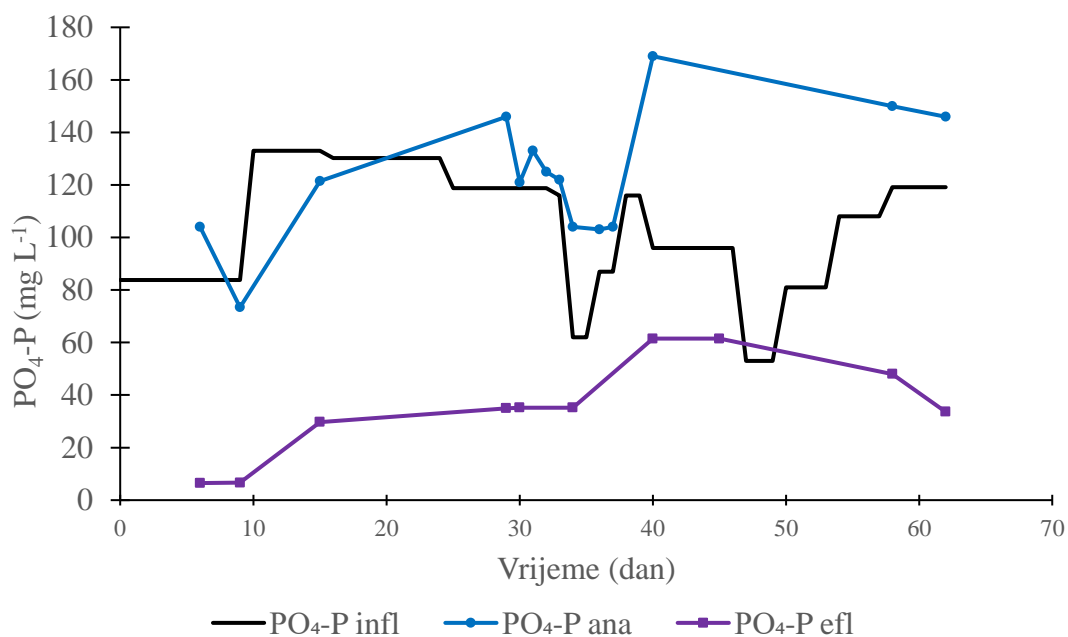
Tijekom određivanja inhibicijskog djelovanja visokih koncentracija acetata na PAO praćene su razine KPK u filtriranim uzorcima na kraju anaerobne faze ( $\text{KPK}_{\text{ana}}$ ) i u filtriranom izlazu na kraju aerobne faze ( $\text{KPK}_{\text{efl}}$ ), što je služilo kao pokazatelji uspješnosti procesa uklanjanja acetata u obradi sintetičke otpadne vode (Slika 26.). Tijekom ovog razdoblja provedeno je ukupno pet testova inhibicije (Tablica 4.) EBPR-a visokim koncentracijama acetata. Korištene su različite koncentracije acetata (odgovarajuće koncentracije KPK vrijednosti od 250 do  $1000 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ).



**Slika 26.** Koncentracije KPK vrijednosti u filtriranom influentu ( $KPK_{infl}$ ), u bioreaktoru na kraju anaerobne faze ( $KPK_{ana}$ ) i u bioreaktoru na kraju aerobne faze ( $KPK_{eff}$ ) tijekom razdoblja ispitivanja inhibicije EBPR-a

Tijekom cijelog eksperimenta, KPK vrijednosti u efluentu na kraju 6-satnog ciklusa (nakon aerobne faze) bile su manje od  $50 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a postojala je dovoljna biološka aktivnost za asimilaciju acetata aerobno, bilo od OHO ili od PAO. U anaerobnoj fazi procesa, aktivni mulj je uspješno uklanjao KPK na početku eksperimenta, a njegov sadržaj u tekućoj fazi bioreaktora bio je ispod  $100 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  (Slika 26.). Na početku eksperimenta, aktivni mulj uspješno je uklanjao fosfor iz sintetičke otpadne vode, a njegov sadržaj u filtriranom efluentu bio je značajno niži od influenta (Slika 27.). Testovi 1 i 2, provedeni 18. i 20. dana s acetatom (odgovarajuć koncentracijama KPK vrijednosti od 250 odnosno  $500 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ), nisu imali negativan učinak na performanse aktivnog mulja. Kada je u Testu 3, 28. dana eksperimenta, korištena viša koncentracija acetata (odgovarajuća koncentracija KPK vrijednost od  $750 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ) (Slika 28.), sposobnost aktivnog mulja da asimilira acetat u anaerobnoj fazi ciklusa očito je bila narušena u periodu nakon Testa 3. Osim toga, mulj nije pokazivao otpuštanje fosfora tipično za EBPR tijekom tog vremena (Slika 30.), a koncentracija fosfora nakon anaerobne faze bila

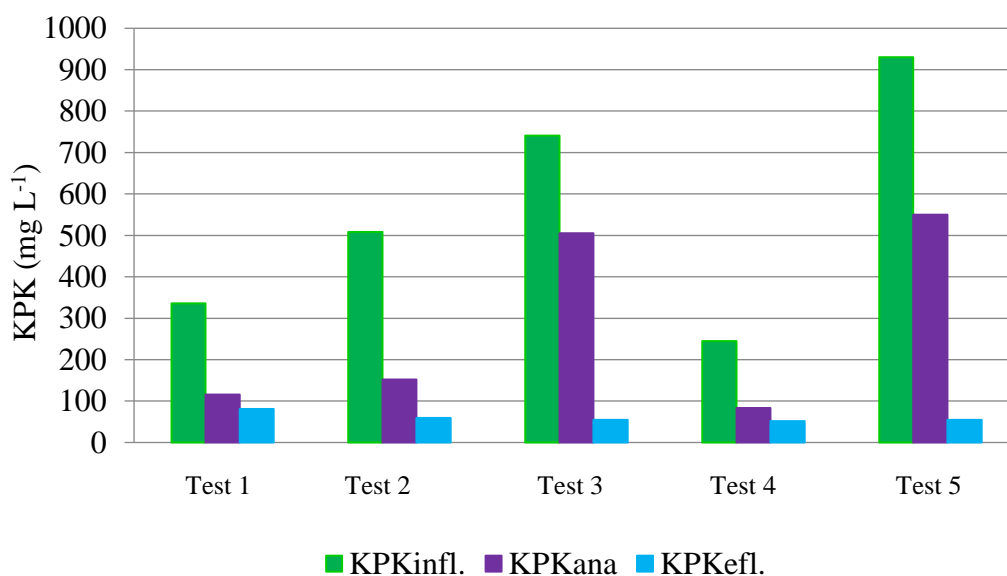
je gotovo ista kao i početna koncentracija fosfora. Ovo ponašanje mulja u periodu nakon Testa 3 može se ponovno objasniti visokom koncentracijom acetata koja ostaje u bioreaktoru nakon anaerobne faze testa, kako je prikazano na slici 28. Očito je da je u Testovima 1 i 2 ostala mnogo niža koncentracija acetata nego u Testu 3, što je rezultiralo bez poremećaja uzgoja u Testovima 1 i 2 i značajnim poremećajem EBPR performansi u Testu 3. Ponovno smo se morali vratiti na smanjenje opterećenja acetatom tijekom uzgoja kako bismo obnovili EBPR aktivnost, kao što smo to učinili u prethodnom eksperimentu. Stoga je koncentracija KPK (koja odgovara koncentraciji acetata) u influentu smanjena na  $1000 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  34. i 35. dana nakon Testa 3. Od 36. do 37. dana, koncentracija KPK vrijednosti u influentu povećana je na  $1400 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a od 38. do 46. dana ponovno je povećana na  $1800 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  (Slika 26.). Između 41. i 45. dana došlo je do kvara ventila za aeraciju u upravljačkoj jedinici bioreaktora, što je dovelo do prekida opskrbe kisikom. Tijekom tog vremena nastavili smo hraniti s  $1800 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  da bismo vidjeli kako ovaj prekid aeracije utječe na EBPR. Na kraju smo morali smanjiti  $\text{COD}_{\text{inf}}$  na  $1000 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  od 47. do 49. dana, jer se KPK vrijednost povećala iznad  $100 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . Od 50. do 54. dana, koncentracija KPK vrijednosti u influentu (koja odgovara koncentraciji acetata) povećana je na  $1400 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a od 55. do 61. dana vraćena je na izvornih  $1800 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . Na taj način smo uspjeli obnoviti izvornu EBPR aktivnost. Jednom kada je EBPR aktivnost bila obnovljena, izveden je Test 4 60. dana s koncentracijom acetata odgovarajućom koncentraciji KPK vrijednosti od  $250 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  kako bismo usporedili rezultate s Testom 1. Kada smo potvrdili da je EBPR performansa Testa 4 bila ista kao i kod Testa 1, izveden je Test 5 s  $1000 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  u bioreaktoru. Očito je da je velika količina KPK vrijednosti (preko  $100 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ) prenesena u aerobnu fazu ciklusa nakon Testa 5, dok je u aerobnoj fazi  $\text{KPK}_{\text{efl. bio}}$  gotovo potpuno iskorišten.



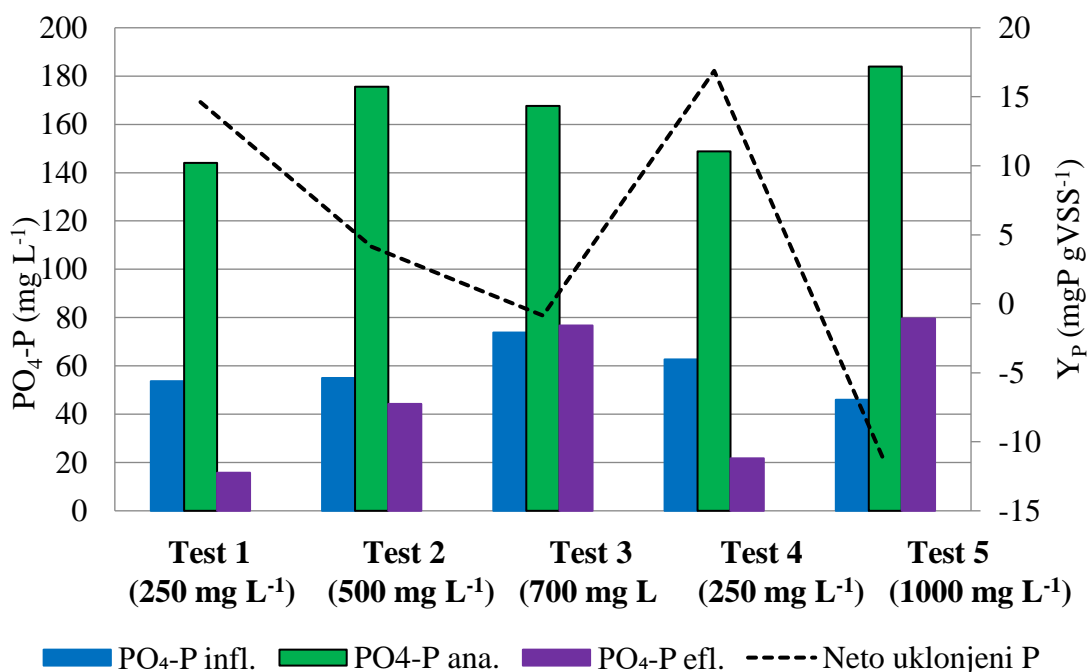
**Slika 27.** Koncentracija fosfora u influentu ( $PO_4\text{-}P_{\text{infl}}$ ), nakon anaerobne faze ( $PO_4\text{-}P_{\text{ana}}$ ) i u efluentu ( $PO_4\text{-}P_{\text{efl}}$ ) tijekom cijelog trajanja testova inhibicije EBPR-a.

Iz rezultata evaluacije inhibitornog utjecaja visokih koncentracija acetata na biološku aktivnost PAO-a, prikazanih na Slikama 28. do 30., jasno se nazire određeni obrazac. Visoke koncentracije acetata očito nisu imale učinka na anaerobnu fazu EBPR procesa. PAO je izvrsno obavljao anaerobno otpuštanje fosfora (Slika 27.) i asimilaciju acetata u svih pet testova. Razlika u koncentraciji KPK vrijednosti prije i poslije anaerobne faze pokazuju da je masa asimiliranog KPK u anaerobnoj fazi bila najveća pri najvišim korištenim koncentracijama (Slika 28.). To vrijedi i za anaerobno otpuštanje fosfora, koje je visoko u eksperimentima s visokim koncentracijama acetata. Međutim, eksperimenti s visokim početnim koncentracijama acetata obično su rezultirali najvišim ostacima KPK vrijednosti nakon anaerobne faze. Čini se da ovaj preostali acetat igra ključnu ulogu u prekidu EBPR-a, budući da njegov prijenos u aerobnu fazu dovodi do inhibicije asimilacije fosfora u aerobnoj fazi. Slika 30. jasno pokazuje da je aerobna asimilacija fosfora opala s povećanjem koncentracije acetata. To je rezultiralo nižim neto uklanjanjem fosfora, koje je bilo negativno u Testu 5. Slika 30. potvrđuje ovaj zaključak, budući da je jasno da specifična asimilacija acetata i specifično otpuštanje fosfora u anaerobnoj fazi nisu značajno utjecali visokom koncentracijom acetata, ili su čak pokazali

pozitivan učinak asimilacije acetata. To je vidljivo iz Testova 4 i 5, koji su provedeni u 2 uzastopna dana, a njihovi rezultati ukazuju na promjenu metabolizma PAO-a s tipičnog EBPR metabolizma na heterotrofni metabolizam kada su PAO-i u aerobnoj fazi u okolini bogatoj acetatom. Moguće je da ovaj heterotrofni metabolizam pruža više energije od EBPR metabolizma i da postoji prilagodba koja prebacuje metabolizam PAO-a pod takvim uvjetima. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se opisali mehanizmi ove metaboličke promjene, ali rezultati prikazani u ovom istraživanju sugeriraju da nema toksičnog učinka acetata na PAO-e, već da je učinak ostataka acetata u aerobnoj fazi koji dovodi do manje asimilacije acetata u anaerobnoj fazi EBPR-a. Prilagodba je bila uspješna, što potvrđuje povećanje količine neto uklonjenog fosfora tijekom testa inhibicije biološke aktivnosti PAO-a 61. dana eksperimenta. Test za inhibiciju biološke aktivnosti PAO-a visokim koncentracijama acetata 62. dana ponovno je rezultirao smanjenjem neto uklanjanja fosfora, ali zanimljivo i povećanjem maksimalne specifične anaerobne stope asimilacije COD-a. Sve to jasno ukazuje da visoka koncentracija acetata ne inhibira anaerobnu fazu EBPR-a, već aerobnu. Međutim, ovo istraživanje nije detaljno istraživalo metabolički mehanizam ovog učinka, stoga bi bila potrebna daljnja istraživanja o ovom učinku na metaboličke putove EBPR-a. Nadalje, eksperimenti provedeni ovdje izvedeni su sa sintetičkom otpadnom vodom i temeljeno isključivo na acetatu kao izvoru ugljika. Moguće je da bi drugi VFA ili složeniji izvor ugljika djelovali drugačije.

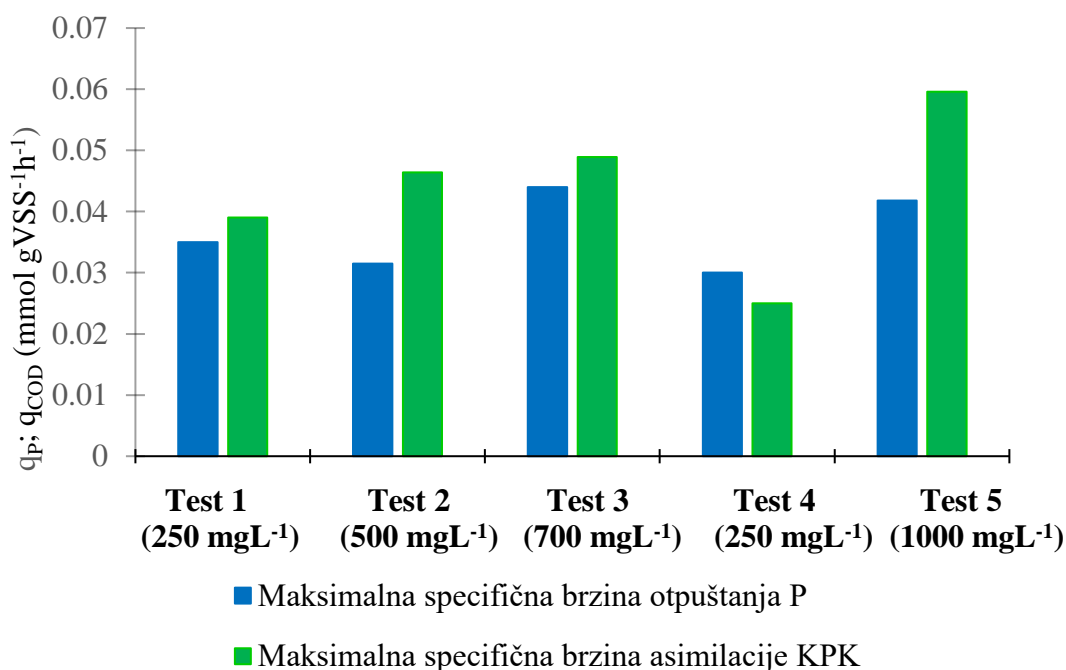


**Slika 28.** Koncentracije KPK vrijednosti na početku eksperimenta ( $KPK_{infl}$ ), nakon anaerobne faze ( $KPK_{ana}$ ) i nakon aerobne faze ( $KPK_{efl}$ ) u eksperimentima ispitivanja utjecaja povećanih koncentracija acetata na biološku aktivnost PAO-a (ciljane koncentracije acetata navedene su u zagradama, izražene kao koncentracija KPK vrijednosti za svaki test).



**Slika 29.** Koncentracije fosfora na početku testova ( $PO_4-P_{infl}$ ), nakon anaerobne faze ( $PO_4-P_{ana}$ ), nakon aerobne faze ( $PO_4-P_{efl}$ ) i neto uklanjanje fosfora po gVSS ( $Y_P$ ) (ciljane koncentracije acetata navedene su u zagradama, izražene kao koncentracija KPK vrijednosti za svaki test)

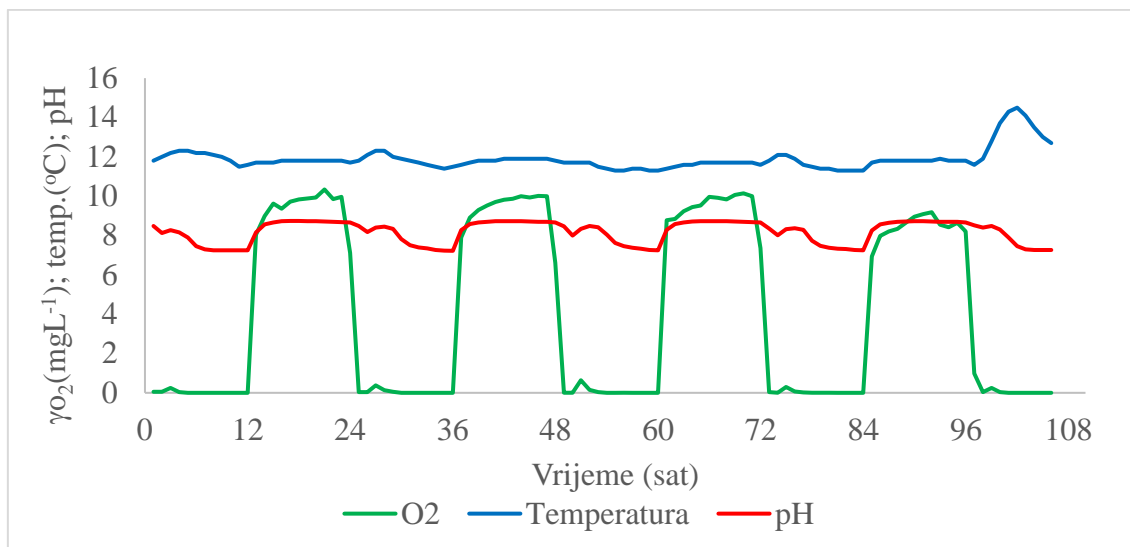




**Slika 30.** Maksimalna specifična anaerobna stopa otpuštanja fosfora ( $q_{P_{ana}}$ ) i maksimalna specifična brzina asimilacije KPK ( $q_{KPK_{ana}}$ ) tijekom anaerobne faze u testovima za inhibiciju biološke aktivnosti PAO-a visokim koncentracijama acetata (ciljane koncentracije acetata navedene su u zagradama, izražene kao koncentracija KPK vrijednosti za svaki test)

#### 4.3. Prilagodba SBR za pokus rada s SDOX-m

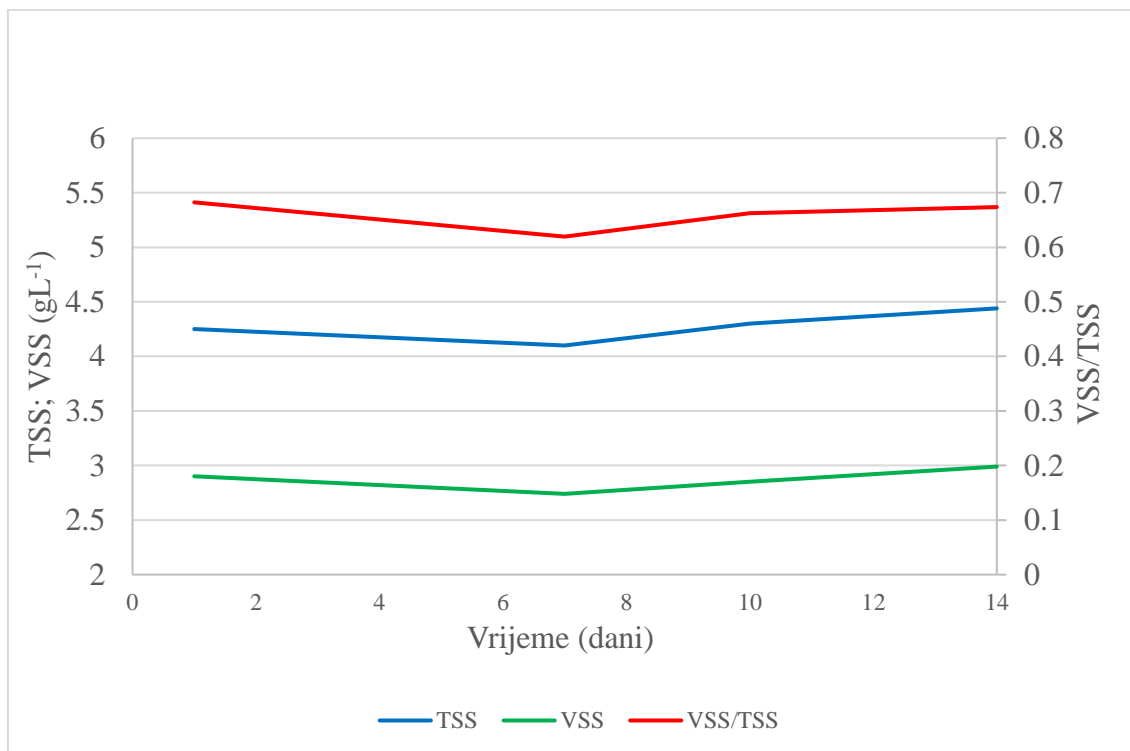
Za potrebe ovog pokusa bio je potreban prelazak s 6-satnog ciklusa obrade vode na 24-sati ciklus radi prilagodbe aktivnog mulja za pokus sa SDOX-om, a ova prilagodba trajala je 14 dana. Tijekom ovog pokusa je mjerena i regulirana temperatura, pH-vrijednost i sadržaj otopljenog kisika u bioreaktoru (Slika 31.).



**Slika 31.** Koncentracija otopljenog kisika ( $\gamma O_2$ ), temperature ( $^{\circ}C$ ) i pH-vrijednosti u 24-satnom ciklusu uzgoja PAO tijekom četiri prosječna dana (od 163. do 167. dana ukupnog uzgoja, odnosno, od 22. do 26. dana u 24-satnom ciklusu uzgoja).

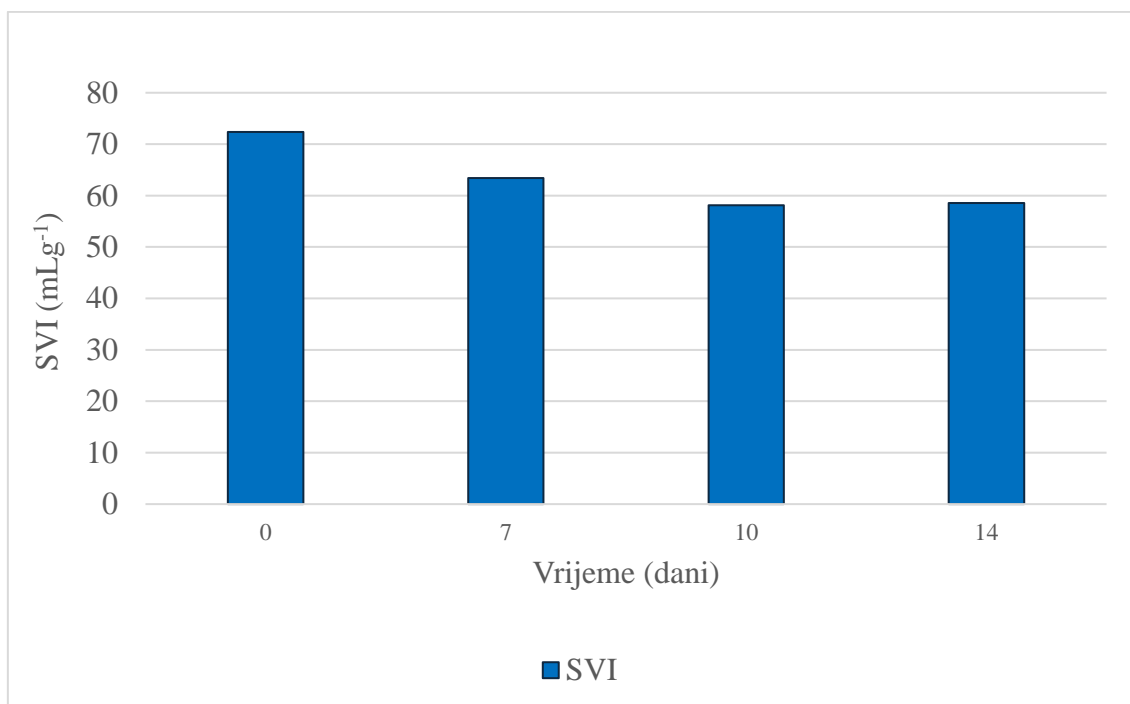
Temperatura je mjerena i regulirana zbog vanjskih uvjeta i s ciljem održavanja na temperaturi nižoj od  $20^{\circ}C$  kako bi se smanjila mogućnost rasta GAO-a (Wang i sur., 2020b; Lopez-Vazquez i sur., 2009b). Temperaturne vrijednosti su varirale od  $11,3^{\circ}C$  do  $14,3^{\circ}C$  sa srednjom vrijednosti od  $11,9^{\circ}C$ . Isto tako, kako bi se održavali optimalni uvjeti za rast PAO-a, mjerena je pH-vrijednost s ciljem da ne padne ispod kritične vrijednosti od 7,25 jer je potpuno uklanjanje fosfora moguće samo kada je pH-vrijednost iznad te vrijednosti (Gürtekin, 2014; Oehmen i sur., 2005; Filipe i sur., 2001a). Tijekom pokusa nije bilo potrebe za reguliranjem pH-vrijednosti, jer je pH-vrijednost uvijek bila iznad 7,25 i pod utjecajem samog procesa. Raspon pH-vrijednosti je bio od 7,26 do 8,73 sa srednjom vrijednosti od 8,17, što je unutar literaturnih preporuka za uspješan EBPR. Mjerenjem otopljenog kisika u bioreaktoru tijekom anaerobne faze ciklusa koji je bio  $0,0 mgO_2L^{-1}$  i aerobne faze ciklusa koji je bio  $10,15 mgO_2L^{-1}$ , osigurani su optimalni uvjeti za EBPR.

Slika 32. prikazuje kretanje TSS i VSS vrijednosti mulja i omjer VSS/TSS tijekom trajanja 24 satnog ciklusa obrade otpadne vode u SBR-u.



**Slika 32.** Koncentracije TSS, VSS i omjer gVSS /gTSS u 24-satnom ciklusu SBR

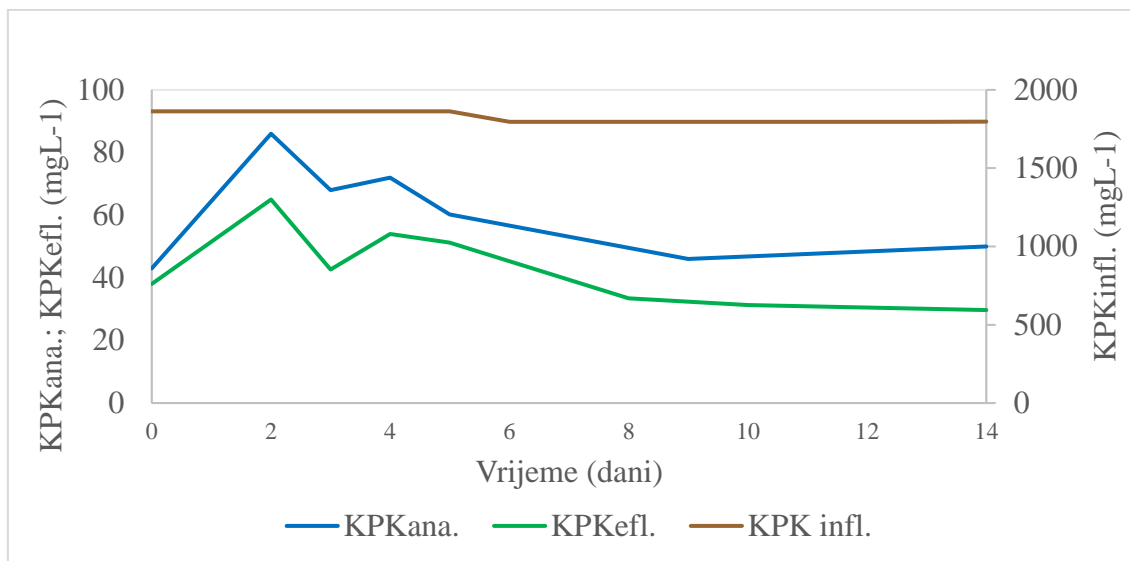
Iz Slike 32. se vidi da vrijednost TSS (od 4,1 gL<sup>-1</sup> do 4,44 gL<sup>-1</sup>), vrijednost VSS (od 2,74 gL<sup>-1</sup> do 2,91 gL<sup>-1</sup>), kao i omjer VSS i TSS (od 0,62 do 0,68) u 24 h uzgoju PAO ostaje gotovo isti kao u 6-satnom uzgoju PAO-a nakon pokusa inhibicije i ustaljenja procesa, a čiji su rezultati vidljivi na Slici 23. To nam kazuje da ova promjena režima uzgoja PAO sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nije imala utjecaja na količinu aktivne biomase koja troši organsku tvar i akumulira fosfor, odnosno da aktivni mulj obogaćen PAO-ima vrši učinkovitu obradu otpadnih voda. Rezultati na Slici 33. prikazuju vrijednosti SVI mulja tijekom prijelaza sa 6-satnog ciklusa uzgoja PAO na 24-satni ciklus uzgoja PAO-a. Kao što je već navedeno u prethodnom poglavlju, SVI je najčešće korišten parametar kontrole procesa koji služi za određivanje karakteristike taloženja mulja. Dobra taloživost mulja preduvjet je za učinkovitu obradu otpadnih voda. SVI je definiran kao volumen (mL) koji zauzima 1 g svježeg aktivnog mulja nakon 30 minuta taloženja.



**Slika 33.** SVI vrijednost aktivnog mulja tijekom uzgoja PAO-a u 24-satnom ciklusu

Vrijednost SVI manja od  $50 \text{ mLg}^{-1}$  ukazuje na dobru taloživost, a preporučene vrijednosti kreću se između  $50$  i  $120 \text{ mLg}^{-1}$  (Henze i sur., 2008b). Iz prikazanih rezultata na Slici 33. vidljivo je da je taloženje bilo dobro u 24-satnom ciklusu gdje su vrijednosti SVI varirale od  $58,14 \text{ mLg}^{-1}$  do  $63,4 \text{ mLg}^{-1}$ , što je ispod  $120 \text{ mLg}^{-1}$  što se po literaturnim podacima smatra dobrim. Mulj se brzo taložio, a supernatant je bio bistar.

Za trajanja prilagodbe aktivnog mulja sa 6-satnog ciklusa uzgoja na 24-satni ciklus uzgoja pratile su se KPK vrijednosti na kraju anaerobne faze (Slika 34.) i filtriranom efluentu na kraju aerobne faze ( $\text{KPK}_{\text{efl}}$ ), a koje su služile kao pokazatelji uspješnosti procesa uklanjanja KPK tijekom obrade sintetičke otpadne vode.

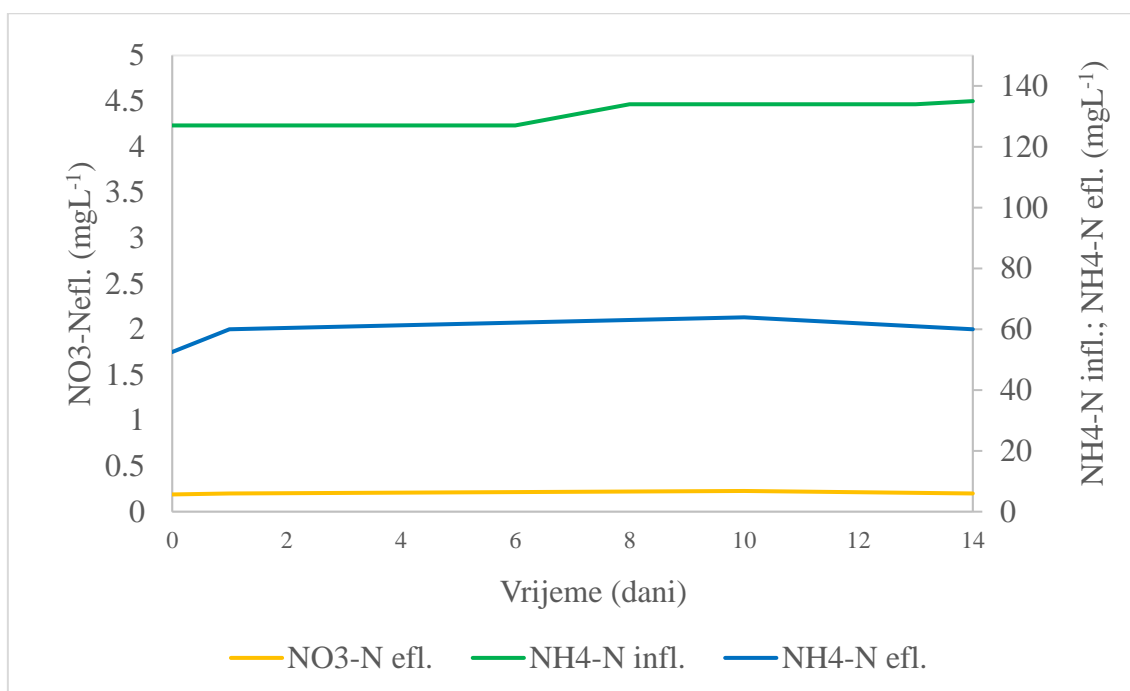


**Slika 34.** Koncentracije KPK u influentu ( $KPK_{infl.}$ ), na kraju aerobne ( $KPK_{ana.}$ ) i efluentu ( $KPK_{efl.}$ ) prilikom uzgoja PAO u 24-satnom ciklusu

Vrijednost KPK u influentu ( $KPK_{infl.}$ ) je bila konstantna i kretala se od  $1796 \text{ mgL}^{-1}$  do  $1863 \text{ mgL}^{-1}$ . KPK vrijednost nakon anaerobne faze ( $KPK_{ana.}$ ) kretala se od  $43 \text{ mgL}^{-1}$  do  $70 \text{ mgL}^{-1}$  u 6 -satnom ciklusu (Slika 26.), da bi nakon prelaska na 24-satni ciklus odmah došlo do povećanja KPK vrijednosti iza anaerobne faze na  $86 \text{ mgL}^{-1}$  (Slika 34.). Ovaj blagi skok KPK vrijednosti pripisujem prilagodbi aktivnog mulja na nove uvjete uzgoja kojima je bio izložen. Nakon tri dana došlo je potpune prilagodbe aktivnog mulja i pada KPK vrijednosti iza anaerobne faze ( $KPK_{ana.}$ ) na vrijednosti od  $46,0 \text{ mgL}^{-1}$  do  $72 \text{ mgL}^{-1}$ . KPK vrijednost nakon aerobne faze, odnosno efluenta, ( $KPK_{efl.}$ ) je u potpunosti pratio rezultate KPK vrijednosti iz anaerobne faze. Isto povećanje KPK vrijednosti je primjećeno i u efluentu nakon aerobne faze. U 6-satnom ciklusu je iznosio od  $38 \text{ mgL}^{-1}$  do  $47 \text{ mgL}^{-1}$  (Slika 26.), a prelaskom na 24-satni ciklus došlo je do malog povećanja KPK vrijednosti efluenta na  $65 \text{ mgL}^{-1}$ . Nakon tri dana došlo je potpune prilagodbe aktivnog mulja i pada KPK vrijednosti iza aerobne faze ( $KPK_{efl.}$ ) na vrijednosti od  $29,7 \text{ mgL}^{-1}$  do  $54 \text{ mgL}^{-1}$  (Slika 34.). Ove vrijednosti KPK u efluentu kazuju da promjena vremenskog režima uzgoja PAO sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nema značajnijeg utjecaja na učinkovitu obradu otpadnih voda.

Tijekom ove prilagodbe aktivnog mulja obogaćenog PAO organizmima praćene su vrijednosti dušika, točnije, koncentracija amonija u influentu koji je služio kao izvor dušika za rast biomase, Dodavan je u influent u obliku amonijeva klorida te nitrata i

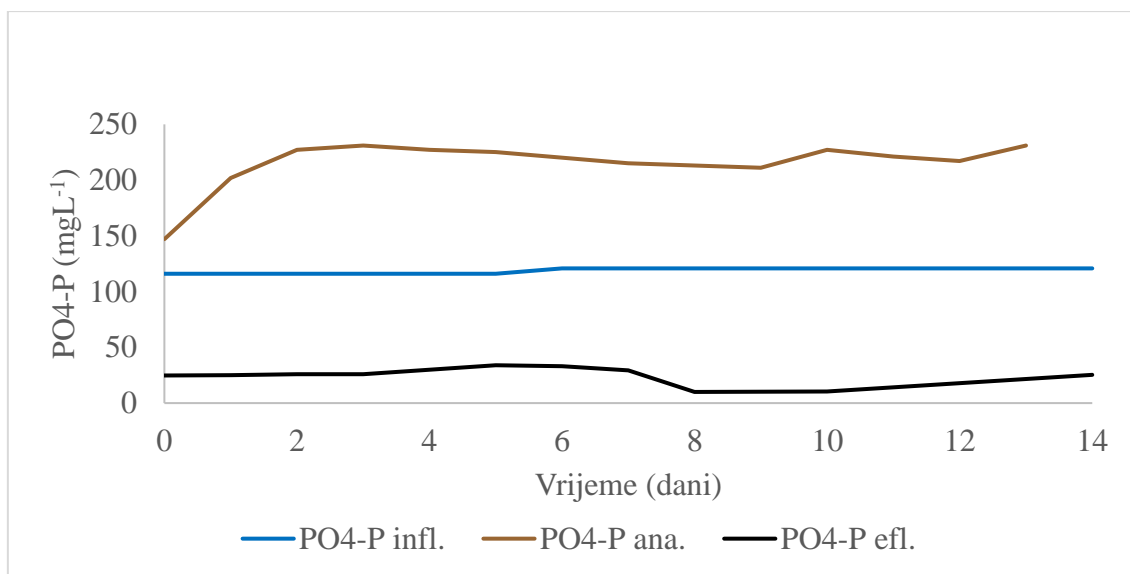
amonija u filtriranom efluentu, a čiji su rezultati prikazani na Slici 35.



**Slika 35.** Koncentracija amonija ( $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{efl.}}$ ) i nitrata ( $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{efl.}}$ ) u efluentu, te koncentracija amonijevog dušika u influentu ( $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{infl.}}$ ) prilikom uzgoja PAO-a pri 24-satnom ciklusu uz dodavanje ATU radi inhibicije nitrifikacije

Praćenjem sadržaja nitrata u efluentu tijekom prijelaza sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus uzgoja vidljivo je da je on u oba slučaja bio nizak te da nikada nije bio viši od 1 mg  $\text{NO}_3\text{-NL}^{-1}$  što je dokaz da nije dolazilo do nitrifikacije. To se postiglo dodavanjem ATU, čime je postignuta inhibicija nitrificirajućih bakterija jer se dostupnost nitrata u anaerobnoj fazi smatra štetnim za EBPR proces zato što omogućuje rast heterotrofnih denitrificirajućih organizama koji konkuriraju PAO-ima za izvor ugljika (Zhao i sur., 2019b; van Loosdrecht i sur., 2016a), pa se ne može postići odgovarajuće uklanjanje fosfora iz otpadne vode. Na Slici 35. prikazana je i koncentracija amonija u efluentu tijekom uzgoja u 24-satnom ciklusu koji je cijelo vrijeme bio u suvišku, što znači da su potrebe mikroorganizama za dušikom bile zadovoljene, a vrijednosti su se kretale između 52,5 mg $\text{NH}_4\text{-N L}^{-1}$  i 63,9, mg $\text{NH}_4\text{-N L}^{-1}$ . I ove dobivene vrijednosti nam kazuju da promjena režima uzgoja PAO sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nije imala značajnijeg utjecaja na učinkovitu obradu otpadnih voda.

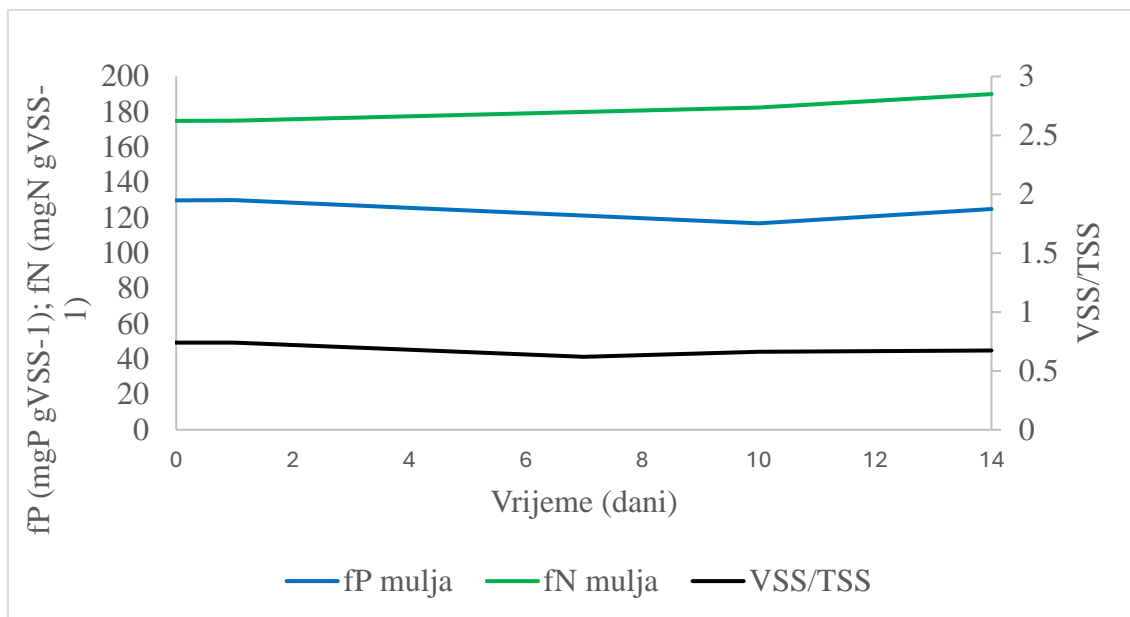
Tijekom ove prilagodbe aktivnog mulja obogaćenog PAO praćena je i koncentracija fosfora u influentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{infl.}}$ ), te koncentracija fosfata nakon anaerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{ana.}}$ ) i koncentracija fosfata u efluentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl.}}$ ) (Slika 36.).



**Slika 36.** Koncentracija fosfora u influentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{infl.}}$ ), nakon anaerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{ana.}}$ ) i efluentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl.}}$ ) prilikom uzgoja PAO u 24-satnom ciklusu

Koncentracija fosfora u influentu tijekom 6-satnog ciklusa i 24-satnog ciklusa bila je bez velikih promjena te se kretala od  $116 \text{ mgL}^{-1}$  do  $120 \text{ mgL}^{-1}$ . Koncentracija fosfata nakon anaerobne faze je u 24-satnom ciklusu ipak porasla. Tako se u 6-satnom ciklusu koncentracija fosfora nakon anaerobne faze kretala oko  $150 \text{ mgL}^{-1}$ , a u 24-satnom ciklusu koncentracija fosfora nakon anaerobne faze raste na veće vrijednosti i kreće se od  $211 \text{ mgL}^{-1}$  do  $231 \text{ mgL}^{-1}$ . Mogući razlog tome je dulje vrijeme zadržavanja u 24-satnom ciklusu gdje PAO imaju dovoljno vremena otpustiti sav pohranjeni fosfat koji imaju u stanici. Koncentracija fosfora u efluentu je bila približno ista i u 6-satnom ciklusu i u 24-satnom ciklusu i kretala se između  $10 \text{ mgL}^{-1}$  i  $30 \text{ mgL}^{-1}$ . Ove vrijednosti nam kazuju da ovakva promjena režima uzgoja PAO sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nije imala značajnijeg utjecaja na EBPR.

Nadalje, tijekom prilagodbe aktivnog mulja obogaćenog PAO praćena je i koncentracija ukupnog fosfora u gVSS-a mulja ( $f_p$ ), koncentracija ukupnog dušika u gVSS-a mulja ( $f_p$ ), te omjer VSS-a i TSS-a mulja ( $\text{VSS/TSS}$ ) (Slika 37.).

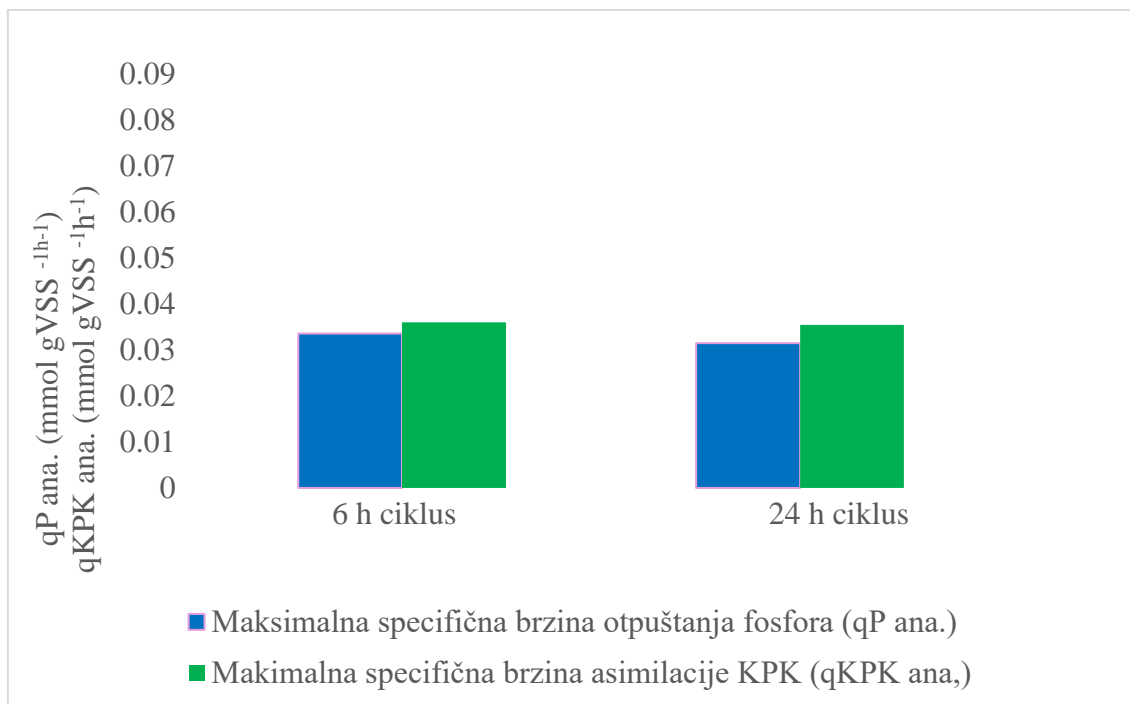


**Slika 37.** Udio ukupnog fosfora ( $f_p$ ) i udio ukupnog dušika ( $f_N$ ) u VSS-u mulja i omjer VSS/TSS mulja prilikom prijelaza s uzgoja PAO-a u 6-satnom ciklusu na uzgoj PAO-a u 24-satni ciklus.

Koncentracija ukupnog fosfora po gVSS-a mulja tijekom 6-satnog ciklusa i 24-satnog ciklusa bila je približno ista i kretala se od 116 mgP gVSS<sup>-1</sup> do 130 mgP gVSS<sup>-1</sup>. I koncentracija ukupnog dušika po gVSS-a mulja ( $f_N$ ) tijekom 6-satnog ciklusa i 24-satnog ciklusa bila je približno jednaka i kretala se od 175 mgN gVSS<sup>-1</sup> do 190 mgN gVSS<sup>-1</sup>. Omjer VSS i TSS (od 0,62 do 0,68) u 24-satnom ciklusu uzgoja PAO-a ostaje gotovo isti kao u 6-satnom ciklusu uzgoja PAO-a. I ove vrijednosti upućuju da promjena režima uzgoja PAO-a sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nije imao utjecaja na udio dušika i fosfora u aktivnoj biomasi koja vrši učinkovitu obradu otpadnih voda.

Na Slici 38. prikazane su usporedbe apsolutnih vrijednosti maksimalnih specifičnih brzina asimilacije KPK i otpuštanja fosfora u testiranjima biološke aktivnosti PAO-a u 6-satnom i 24-satnom ciklusu uzgoja PAO.





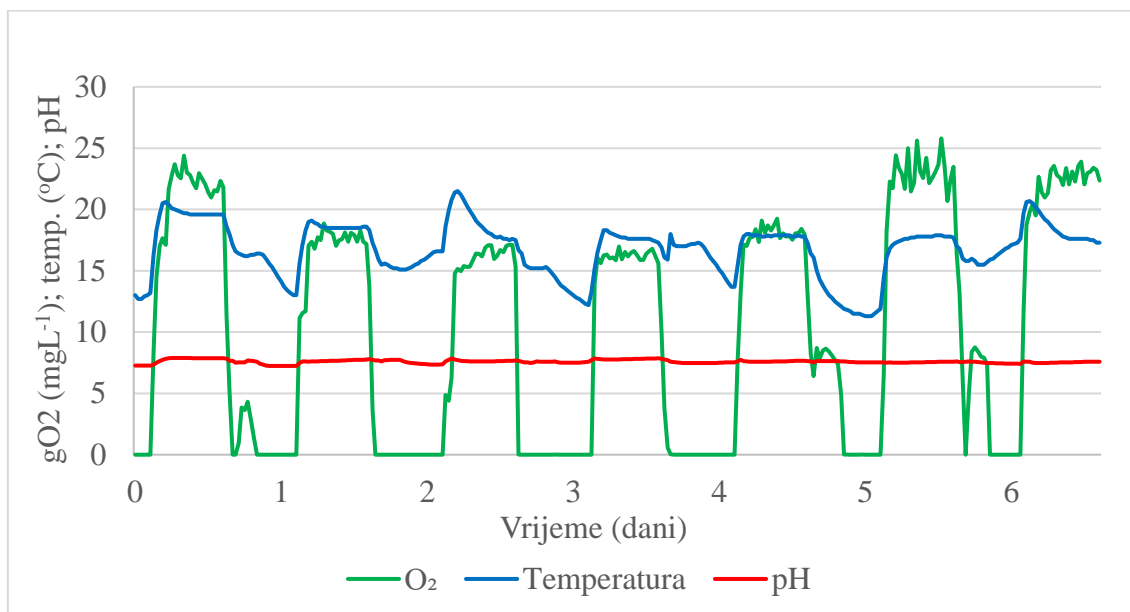
**Slika 38.** Usporedba maksimalnih specifičnih brzina asimilacije KPK ( $qKPK_{ana}$ ), otpuštanja fosfora u anaerobnoj fazi ( $qP_{ana}$ ) u testiranjima biološke aktivnosti PAO-a tijekom 24-satnog ciklusa uzgoja.

Usporedba prosječne maksimalne specifične brzine otpuštanja fosfora u anaerobnoj fazi u 6-satnom ciklusu i 24-satnom ciklusu približno su jednake i iznosile su 0,0336 mmol gVSS<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> u 6-satnom ciklusu i 0,0315 mmol gVSS<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> u 24-satnom ciklusu. Slične rezultate je pokazala i usporedba prosječne maksimalne specifične brzine asimilacije KPK ( $qKPK_{ana}$ ) u anaerobnoj fazi u 6-satnom ciklusu i 24-satnom ciklusu i iznosile su 0,043 mmol gVSS<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> u 6-satnom ciklusu i 0,0355 mmol gVSS<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> u 24-satnom ciklusu. Ove vrijednosti nam pokazuju da promjena režima uzgoja PAO sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nije imala značajnijeg utjecaja na učinkovitu obradu otpadnih voda.

#### 4.4. Utjecaj SDOX sustava aeracije na proces naprednog biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode (EBPR)

Nakon prilagodbe aktivnog mulja na 24-sati radni ciklus, isti je podvrgnut aeraciji pri povišenom tlaku u SDOX-u u aerobnoj fazi procesa obrade otpadne vode u trajanju od 12 sati. Aeracija se provodila pomoću SDOX uređaja s kisikom pri tlaku od 5 bara, uz vrijeme zadržavanja aktivnog mulja u SDOX komori od XY minuta. Za trajanja ovog

pokusa mjerena je i regulirana temperatura, pH-vrijednost i sadržaj otopljenog kisika u bioreaktoru (Slika 39.).

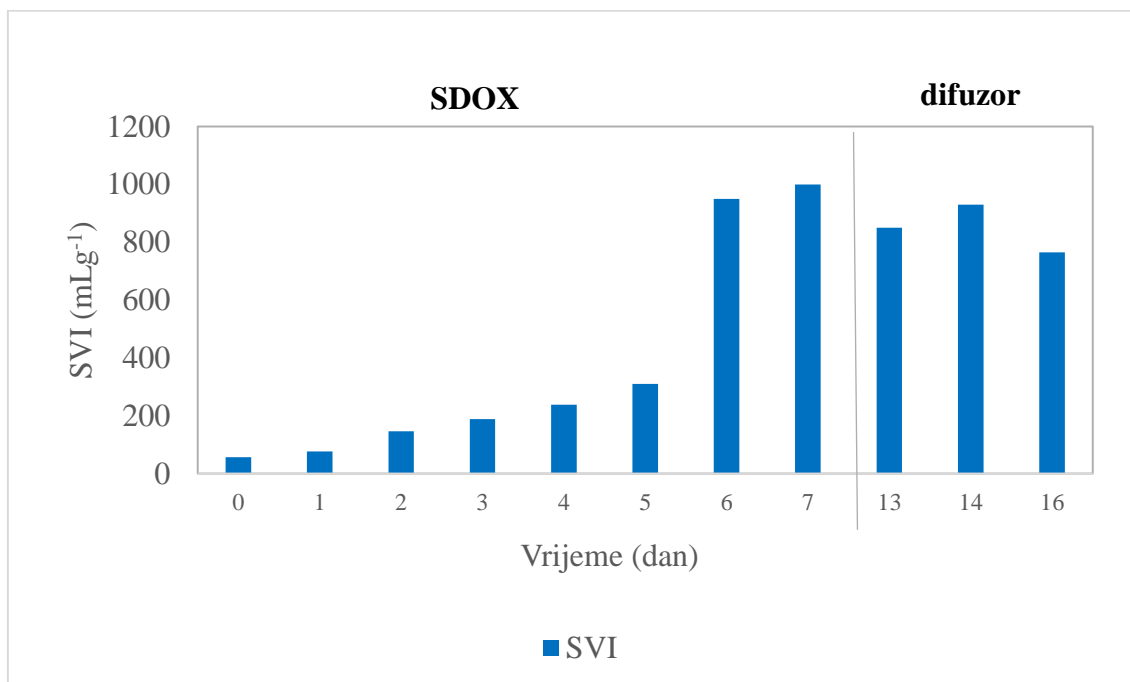


**Slika 39.** Koncentracija otopljenog kisika ( $\gamma_{O_2}$ ), temperature ( $^{\circ}C$ ) i pH-vrijednosti u 24-satnom ciklusu pri aeraciji pri povišenom tlaku u SDOX-u

Temperatura je mjerena i regulirana zbog vanjskih uvjeta i s ciljem održavanja na temperaturi nižoj od  $20^{\circ}C$  da bi se smanjila mogućnost rasta GAO-a (Wang i sur., 2020b; Lopez-Vazquez i sur., 2009b). Temperaturne vrijednosti su varirale od  $11,3^{\circ}C$  do  $20,8^{\circ}C$  sa srednjom vrijednosti od  $16,77^{\circ}C$ . Takve varijacije u temperaturi pripisujemo radu u vrijeme ljetnih dana kad je temperatura zraka jako varirala između dana i noći. Svejedno, temperature su bile u vrijednostima koje zadovoljavaju optimalne uvjete za rast PAO-a. Kako bi se održavali optimalni uvjeti za rast PAO-a, mjerena je i pH-vrijednost s ciljem da ne padne ispod kritične vrijednosti od 7,25 jer je biološko uklanjanje fosfora moguće samo kada je pH-vrijednost iznad te vrijednosti (Gürtekin, 2014); Oehmen i sur., 2005; Filipe i sur., 2001a). Raspon pH-vrijednosti je bio od 7,26 do 7,86 sa srednjom vrijednosti od 7,59, što je unutar literaturnih preporuka za uspješan EBPR. Koncentracije otopljenog kisika u bioreaktoru tijekom anaerobne faze bile su niže od  $0,5\text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a tijekom aerobne faze ciklusa kretale su se iznad  $2\text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  i do čak  $20,58\text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  čime su osigurani optimalni uvjeti za EBPR.

#### 4.4.1. Utjecaj SDOX sustava aeracije na indeks taloživosti aktivnog mulja (SVI) na EBPR

Kao što je već navedeno, SVI je parametar kontrole procesa koji služi za određivanje karakteristike taloženja aktivnog mulja, a dobra taloživost mulja preduvjet je za učinkovitu obradu otpadnih voda. SVI je definiran kao volumen (mL) koji zauzima 1 g suhog svježeg aktivnog mulja nakon 30 minuta taloženja. Vrijednost SVI manja od 50 mLg<sup>-1</sup> ukazuje na dobru taloživost, a preporučene vrijednosti kreću se između 50 i 120 mLg<sup>-1</sup> (Valverde-Pérez i sur., 2016b). Rezultati na Slici 40. prikazuju vrijednosti SVI mulja tijekom prijelaza s konvencionalne aeracije s difuzorom na aeraciju sa SDOX-om., a nakon toga ponovni prijelaz na konvencionalnu aeraciju.



**Slika 40.** SVI u periodu od 7 dana pri aeraciji pri povišenom tlaku u SDOX-u i vraćanja na konvencionalnu aeraciju tijekom 7 dana

Iz prikazanih rezultata na Slici 40. vidljivo je da je SVI s početnih 56 mLg<sup>-1</sup>, koliko je bilo na samom početku aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u, već nakon 24h porastao na 76 mLg<sup>-1</sup>. Drugog dana SVI je porastao na 146 mLg<sup>-1</sup>, što je iznad 120 mLg<sup>-1</sup> koji se prema literaturnim podacima smatra dobrom taloživošću. (Banadda i sur., 2004) Narednih dana SVI se konstantno povećavao. Trećeg dana je iznosio 188,6 mLg<sup>-1</sup>, 4. dana 238,46

mLg<sup>-1</sup>, 5. dana 309,5 mLg<sup>-1</sup>, 6. dana 950 mLg<sup>-1</sup> mLg<sup>-1</sup>, da bi 8. dana aeracije sa SDOX-om iznosio više od 1000 mLg<sup>-1</sup> i praktično ga se više nije moglo odrediti. Taloženje se uopće nije odvijalo, a supernatant (efluent) je bio izrazito mutan i pun raspadnutih čestica mulja (Slika 41.).

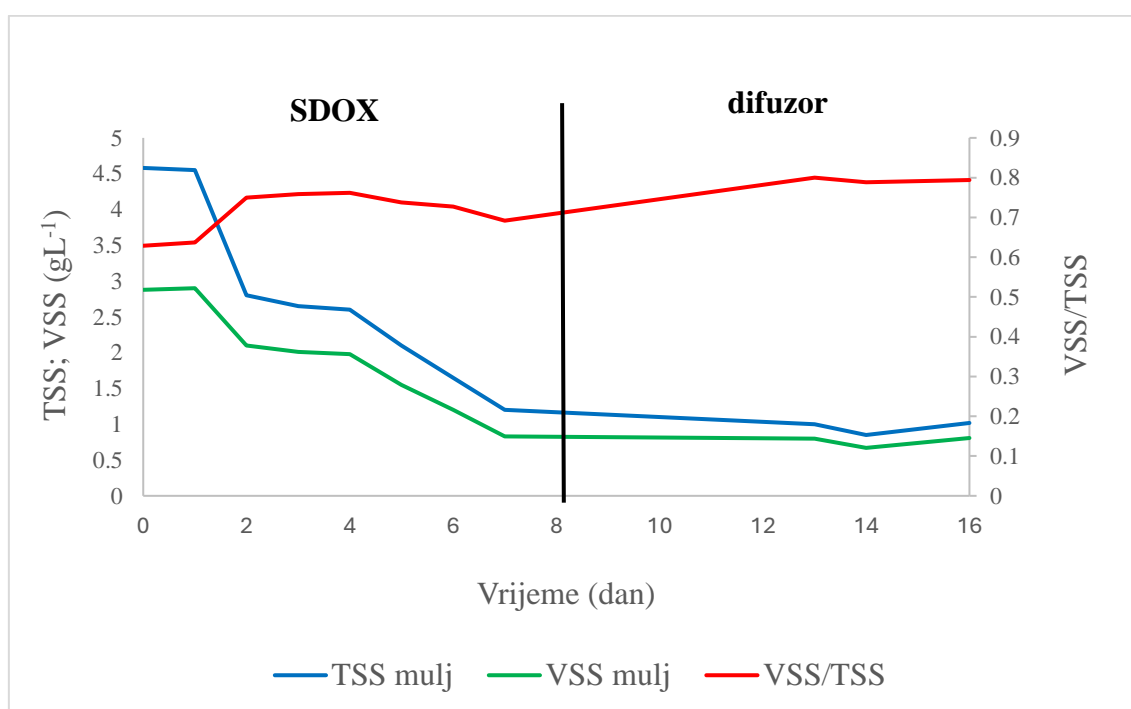


**Slika 41.** Efluent 6. dana nakon aeracije u SDOX-u

Kada je aeracija pri povišenom tlaku u SDOX-u ponovno zamijenjena aeracijom s konvencionalnim difuzorom primijećen je ponovni pad SVI vrijednosti i tendencija prema boljem taloženju i indeksu taloživosti. Prvoga dana ponovnog uspostavljanja konvencionalne aeracije difuzorom, SVI vrijednost pada na 850 mLg<sup>-1</sup>, 2. dana 929,41 mLg<sup>-1</sup>, a 3. dana iznosi 764,71 mLg<sup>-1</sup>, Dobiveni rezultati su još uvijek daleko od idealnih i za pretpostaviti je da bi se daljnjom uporabom konvencionalne aeracije difuzorom moglo ponovo vratiti povoljni SVI indeks aktivnog mulja od 120 mLg<sup>-1</sup>, te do stvaranja većih flokula mulja i ponovnog taloženja aktivnog mulja što su potvrdili Kim i suradnici u svojem radu (Kim i sur., 2023a).

#### 4.4.2. Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na koncentracije i omjer suspendiranih tvari aktivnog mulja (TSS, VSS, ISS) u EBPR

Također, u ovom se eksperimentu određivao utjecaj na koncentracije ukupne suspendirane tvari, ukupne organske suspendirane tvari, ukupne anorganske suspendirane tvari te njihov omjer radi utvrđivanja utjecaja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na EBPR, odnosno PAO organizme. Slika 42. prikazuje promjene u koncentracijama TSS i VSS vrijednosti mulja, te omjer VSS/TSS u mulju tijekom trajanja aeracije mulja konvencionalnom aeracijom i aeracijom u SDOX-u.



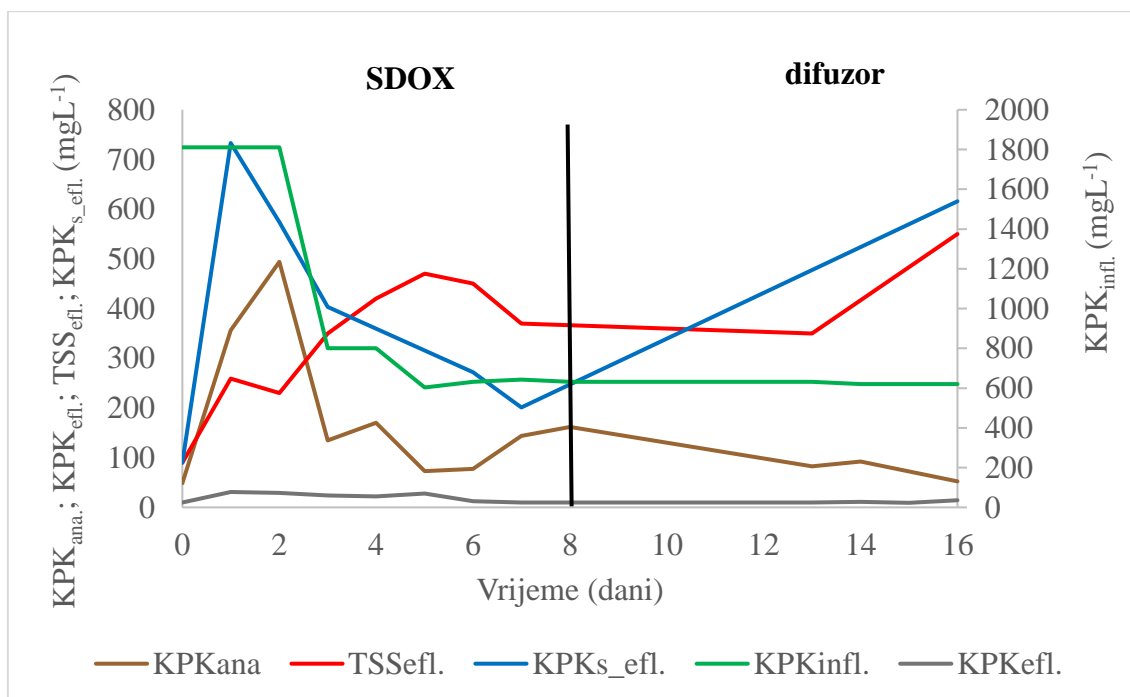
**Slika 42.** Koncentracije TSS-a u mulju ( $TSS_{mulj}$ ), VSS-a u mulju ( $VSS_{mulj}$ ) i omjer VSS /TSS periodu rada SDOX-a

Iz slike 42 se vidi da su vrijednosti TSS i VSS aktivnog mulja aeriranog konvencionalnim difuzoromje stabilne. Vrijednost TSS je iznosila  $4,58 \text{ gL}^{-1}$ , a VSS je iznosio  $2,88 \text{ gL}^{-1}$ . Nakon puštanja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u te vrijednosti konstantno padaju, da bi nakon 7 dana aeracije SDOX-om TSS vrijednost sa početnih  $4,58 \text{ gL}^{-1}$  pala na  $1,2 \text{ gL}^{-1}$ , a VSS vrijednost pada s početnih od  $2,88 \text{ gL}^{-1}$  na  $0,83 \text{ gL}^{-1}$ . Ovo ukazuje da ova promjena režima aeracije u SDOX-u nepovoljno djeluje na aktivni mulj obogaćen PAO-ima, te dolazi do raspadanja (degradacije) mulja i njegove biološke aktivnosti i

sposobnosti akumulacije fosfora u svoju biomasu. Omjer VSS i TSS, koji govori o obogaćenosti aktivnog mulja PAO-ima i uspješnosti EBPR, raste s početnih 0,63 tijekom konvencionalne aeracije, na vrijednost od 0,76 tijekom aeracije SDOX-m pa nam i ovaj podatak govori da se anorganski dio mulja, najviše akumulirani fosfati u PAO, raspadaju i s efluentom odlaze iz reaktora što se vidi iz Slike 41.

#### 4.4.3. Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na uklanjanje organskih tvari tijekom EBPR

Tijekom trajanja pokusa aeracije aktivnog mulja konvencionalnom aeracijom, a potom aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u, praćeno je uklanjanje organskih tvari mjerenjem KPK vrijednosti influenta ( $KPK_{infl.}$ ), KPK na kraju anaerobne faze ( $KPK_{ana.}$ ), KPK u filtriranom efluentu na kraju aerobne faze ( $KPK_{efl.}$ ), suspendirani KPK efluenta ( $KPK_{s\_efl.}$ ), te TSS vrijednost u nefiltriranom efluentu ( $TSS_{efl.}$ ) (Slika 43.).

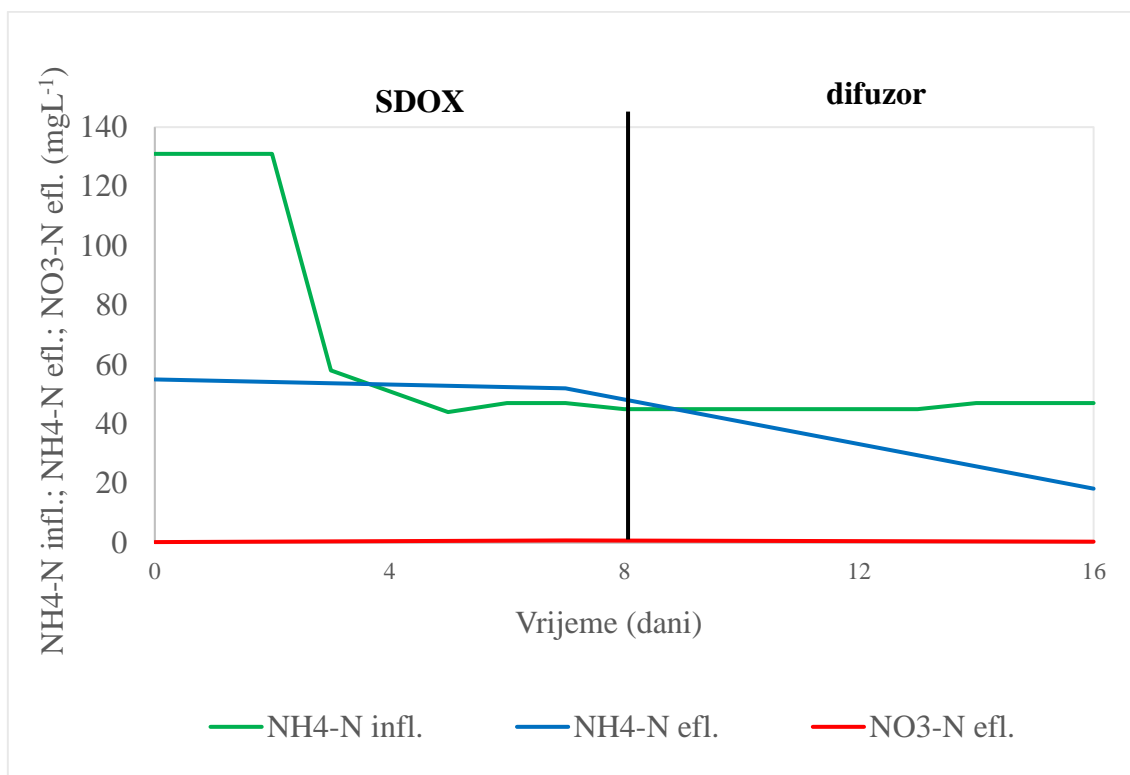


**Slika 43.** KPK vrijednosti influenta ( $KPK_{infl.}$ ), KPK nakon anaerobne faze ( $KPK_{ana.}$ ), KPK efluenta ( $KPK_{efl.}$ ), suspendirani KPK efluenta ( $KPK_{s\_efl.}$ ) i TSS u efluentu ( $TSS_{efl.}$ ) u periodu aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u te nasljedno konvencionalne aeracije difuzorom

Početna koncentracija  $KPK_{infl.}$  influenta iznosila je  $1811 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a  $KPK$  vrijednost nakon anaerobne faze ( $KPK_{ana.}$ ) kretala se od  $48 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  do  $56 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  što pokazuje da PAO imaju dobru sposobnost asimilacije  $KPK$ , a time i visoku biološku aktivnost. Puštanjem u rad SDOX-a, već 1. dana dolazi do porasta  $KPK_{ana}$  vrijednosti nakon anaerobne faze procesa i iznosila je  $336 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a 2. dan se penje na  $494 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . Da se ne prenosi velika količina  $KPK_{ana}$  u aerobnu fazu procesa, koja može inhibitorno djelovati na rad PAO-a (Crnek i sur., 2024) te zbog smanjenja TSS i VSS vrijednosti mulja (Slika 42.), bilo je potrebno smanjiti  $KPK_{infl.}$  influenta. Zbog toga je 2. dana koncentracija  $KPK_{infl.}$  smanjena na  $800 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  pa se  $KPK$  vrijednost iza anaerobne faze ( $KPK_{ana}$ ) iz tog razloga smanjila na  $135 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , da bi se 3. dana ponovno povisila na vrijednost od  $170 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . Zato je 4. dana  $KPK_{infl.}$  smanjena na koncentraciju od  $603 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  pri čemu je  $KPK_{ana}$  nakon anaerobne faze procesa pao na  $72,6 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , međutim ponovo je 6. dana narastao na  $143,6 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  što ukazuje da aktivni mulj obogaćen PAO-ima za vrijeme aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u konstantno gubio moć asimilacije  $KPK$  u anaerobnoj fazi procesa a samim time i biološku aktivnost. Nadalje, vrijednost suspendiranog  $KPK$  u efluentu ( $KPK_{s\_efl.}$ ), kao pokazatelj organske tvari mulja prisutnog u obrađenoj vodi, povećao se s početnih  $90 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  prije aeracije sa SDOX-om na krajnjih  $733 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  za vrijeme rada SDOX-a, što upućuje da je došlo do raspada aktivnog mulja i njegovog izdvajanja iz reaktora preko efluenta. Također, TSS vrijednost u efluentu ( $TSS_{efl.}$ ) konstantno se povećavala što je još jedan dokaz da se mulj degradira, te kao još potpuno nerazgrađene čestice s efluentom izlaze van iz biorektora. Ipak,  $KPK$  vrijednost filtriranog efluenta ( $KPK_{efl.}$ ) nema značajnijeg porasta što nam ukazuje na to da u biorektoru još uvijek ima nešto mikroorganizama koje asimiliraju  $KPK$ .

#### **4.4.4. Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na uklanjanje dušikovih spojeva u EBPR**

Tijekom trajanja pokusa utjecaja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u praćene su i koncentracije dušikovih spojeva u influentu i efluentu (Slika 43.)



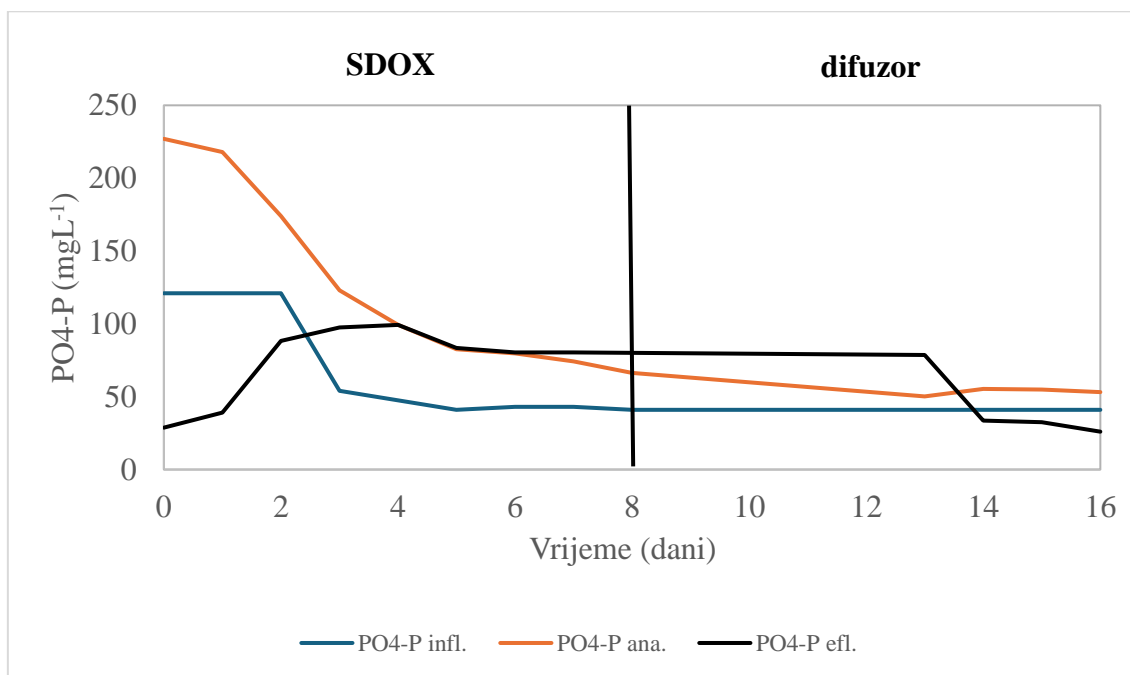
**Slika 44.** Koncentracija amonija u efluentu ( $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{efl.}}$ ) i nitrata u efluentu ( $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{efl.}}$ ), te koncentracija amonija u influentu ( $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{infl.}}$ ) tijekom aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u i tijekom konvencionalne aeracije difuzorima uz konstantni dodatak ATU

Određivan je sadržaj amonija u influentu ( $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{infl.}}$ ) koji je služio kao izvor dušika za rast biomase aktivnog mulja, a dodavan je influentom u obliku amonijeva klorida. U filtriranom efluentu se određivao nitrat ( $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{efl.}}$ ) i amonij ( $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{efl.}}$ ). Rezultati ovih ispitivanja su prikazani na Slici 44. S obzirom na to da je koncentracija amonija u influentu morala pratiti KPK vrijednosti u influentu (Tian i sur., 2017b), tijekom ovog pokusa smanjivanjem koncentracije KPK vrijednosti influenta (Slika 43. i Slika 44.) smanjivala se i koncentracija amonijevog dušika u influentu koja se kretala od  $131 \text{ mgNH}_4\text{-NL}^{-1}$  na početku pokusa, do  $44 \text{ mgNH}_4\text{-NL}^{-1}$ . Koncentracija amonijevog dušika u efluentu tijekom rada SDOX-a je cijelo vrijeme bila u suvišku što znači da su potrebe mikroorganizama za dušikom bile zadovoljene, a vrijednosti su se kretale između  $51,5 \text{ mgNH}_4\text{-NL}^{-1}$  do  $55,0 \text{ mgNH}_4\text{-NL}^{-1}$ . Sadržaj nitrata u efluentu se kretao od  $0,2 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}$  do  $0,76 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}$ , a dodavan je i ATU, koji je služio za inhibiciju nitrificirajućih bakterija.



#### 4.4.5. Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na uklanjanje fosfora u EBPR

Slika 45. prikazuje koncentraciju fosfora u influentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{infl.}}$ ), koncentraciju fosfora nakon anaerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{ana.}}$ ) i koncentraciju fosfora u efluentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl.}}$ ) tijekom aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u



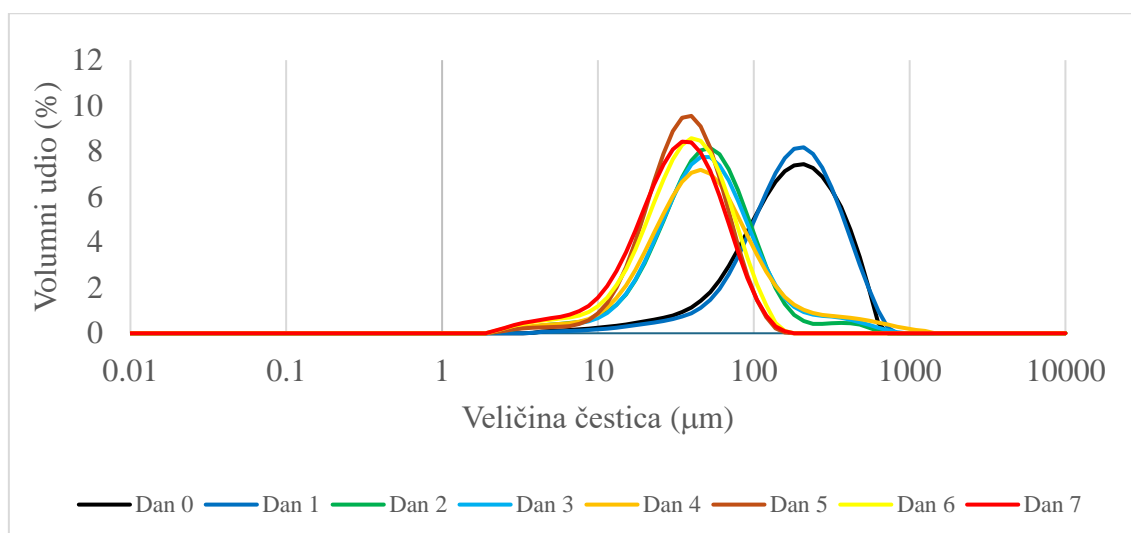
**Slika 45.** Koncentracija fosfora u influentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{infl.}}$ ), nakon anaerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{ana.}}$ ) i efluentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl.}}$ ) u periodu rada SDOX-a i povratka na konvencionalnu aeraciju difuzorom

Koncentracija fosfora u influentu ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{infl.}}$ ) tijekom ovog pokusa pratila je KPK vrijednost influenta ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{infl.}}$ ) (slika 45) te se smanjivana s početnih  $121 \text{ mgL}^{-1}$  na  $41 \text{ mgL}^{-1}$ . Koncentracija fosfora nakon anaerobne faze konstantno se smanjivala s početnih  $227 \text{ mgL}^{-1}$  na  $80 \text{ mgL}^{-1}$  što ukazuje na drastičan pad aktivnosti PAO, odnosno na njihovo otpuštanje fosfora u anaerobnoj fazi. Pad aktivnosti PAO i potpuno izostajanje asimilacije fosfora, vidi se u koncentraciji fosfora u efluentu na kraju aerobne faze ( $\text{PO}_4\text{-P}_{\text{efl.}}$ ) koja se kreće od početnih  $28,8 \text{ mgL}^{-1}$ , da bi 3. dana dosegla vrijednost od  $97,6 \text{ mgL}^{-1}$  što je čak više od koncentracije fosfora u influentu i raste do krajnjih  $99,3 \text{ mgL}^{-1}$  koliko je iznosila zadnjega 8. dana. Ovi rezultati kazuju da primjena aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u nepovoljno djeluje na sve biološke aktivnosti aktivnog mulja pa tako i PAO

uzrokujući njihov raspad i smanjanje TSS-a aktivnog mulja što ima posljedicu porasta koncentracije fosfora u efluentu, kao i smanjenje njihove biološke aktivnosti (Wang i sur., 2007). Vraćanjem procesa aeracije na difuzor primjećuje se polagani opravak biološke aktivnosti PAO. Koncentracija fosfora u efluentu pada na koncentraciju od  $78,6 \text{ mgL}^{-1}$ , ali ta vrijednost koncentracije fosfora iza anaerobne faze je i dalje veća nego u influentu što nam govori da PAO i dalje otpuštaju fosfor u ovoj fazi procesa. Šestog dana koncentracija fosfora efluentu već iznosi  $33,6 \text{ mgL}^{-1}$  što je ispod vrijednosti fosfora u influentu od  $41 \text{ mgL}^{-1}$  iz čega zaključujemo da su PAO počeli opet asimilirati fosfor u aerobnoj fazi jer vrijednost neto uklonjenog fosfora iznosi  $15 \text{ mgL}^{-1}$ .

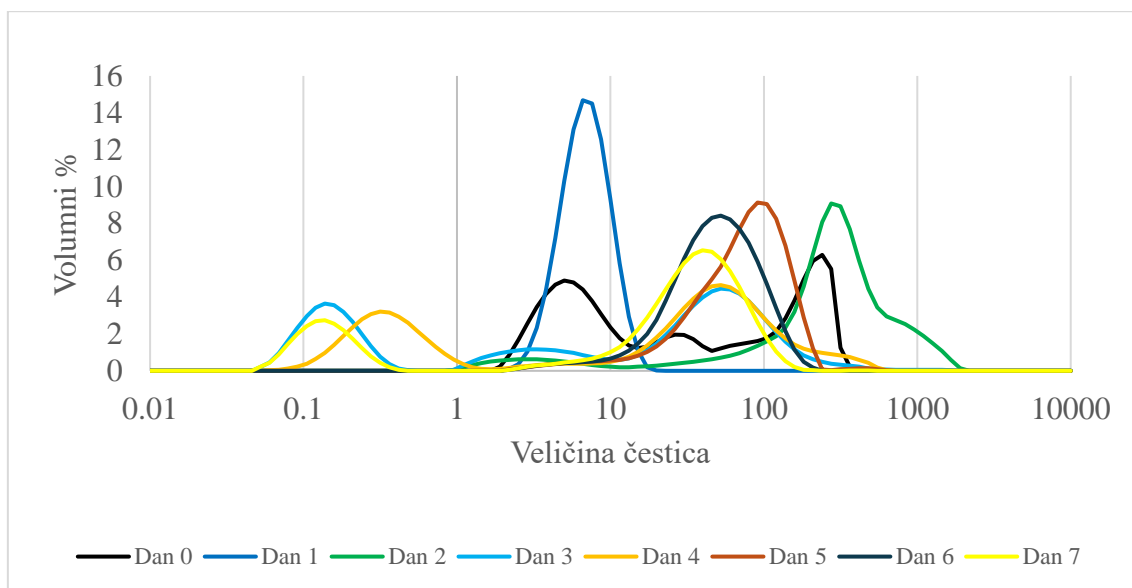
#### 4.4.6. Utjecaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na distribuciju veličine čestica aktivnog mulja u EBPR

Distribucija veličine čestica PSD (engl.- *Partical size distribution* – PSD) aktivnog mulja smatra se jednom od najvažnijih karakteristika aktivnog mulja koja utječe na fizikalno kemijske karakteristike istog i značajne su za uspješnost odvajanja mulja od suspenzije, bilo taloženjem, bilo membranskom filtracijom u MBR-u (Kim i sur., 2021); Dereli i sur., 2015). Slika 46. prikazuje PSD u aktivnom mulju neposredno prije i za vrijeme rada SDOX-a.



**Slika 46.** Prikaz distribucije veličina čestica u uzorku mulja tijekom aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u

Prije puštanja SDOX-a u rad i 1. dana rada SDOX-a mulj je pokazivao srednju veličinu čestica (SVC) od otprilike 200  $\mu\text{m}$  (Slika 46.). Drugog dana došlo je do značajnog smanjenja srednje veličine čestica na vrijednost od 60  $\mu\text{m}$ , da bi 7. dana pala na vrijednost od 30  $\mu\text{m}$ . Iz ovih rezultata vidljivo je da je zbog stresnih uvjeta u kojima se našao aktivni mulj došlo do degradacije flokula aktivnog mulja prilikom aeracije u SDOX-u djelovanjem smičnih sila i visokog tlaka. Smanjenjem veličine čestica aktivnog mulja i njegove sposobnosti taloženja (SVI) koje je s početnih 56  $\text{mLg}^{-1}$  već nakon 24h porastao na 76  $\text{mLg}^{-1}$ , da bi 2. dana SVI porastao na 146  $\text{mLg}^{-1}$ , što je iznad 120  $\text{mLg}^{-1}$  koji se po literaturnim podacima smatra dobrom taloživošću, a narednih dana SVI se konstantno povećavao, da bi 6. dana aeracije sa SDOX-om iznosio više od 900  $\text{mLg}^{-1}$  i praktično ga se više nije moglo odrediti (Slika 41.). To je rezultiralo pojavom znatno veće količine frakcije sitnih čestica u efluentu u usporedbi s efluentom prije aeracije SDOX-om (Slika 47.) i njihovog neželjenog odlaska iz bioreaktora što je rezultiralo smanjenjem koncentracije TSS aktivnog mulja koja je s početnih 4,58  $\text{gL}^{-1}$  pala na 1,2  $\text{gL}^{-1}$  (Slika 42.)



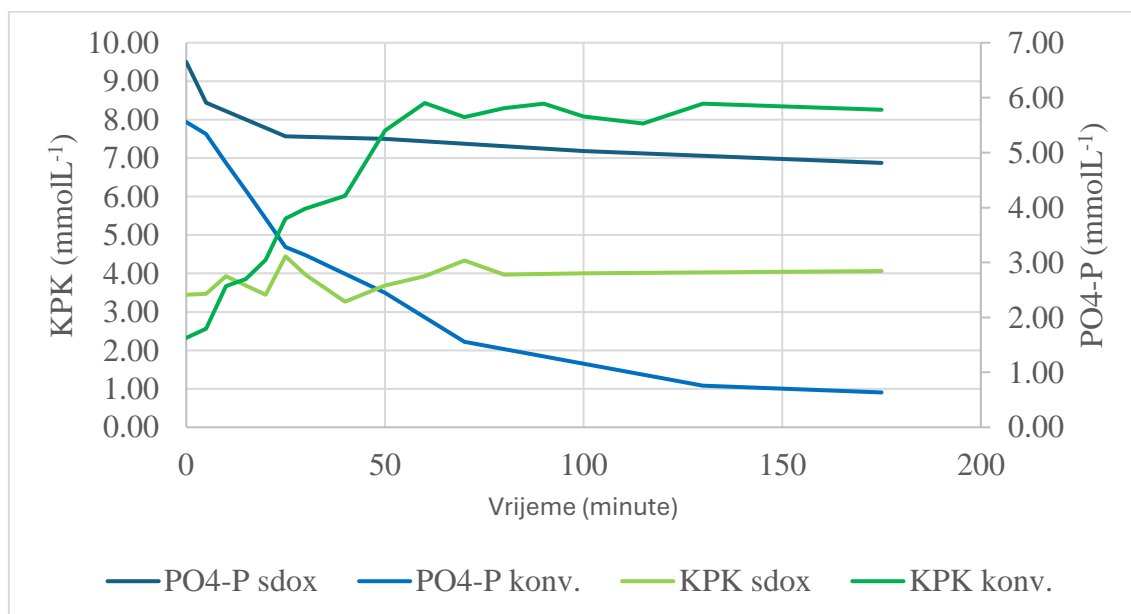
**Slika 47.** Prikaz distribucije veličina čestica u uzorku efluenta tijekom rada SDOX-a

Tijekom aeracije aktivnog mulja sa SDOX-om, pojavila se znatno veća količina frakcije sitnih čestica u efluentu u usporedbi s efluentom prije aeracije SDOX-om (Slika 46.). Pri konvencionalnoj aeraciji, distribucija veličine čestica u efluentu je pokazivala da se

najveći dio tih čestica kretao oko 6  $\mu\text{m}$ . Nakon puštanja u rad SDOX-a, ukupni udio tih čestica se naglo povećao, a daljnjom aeracijom pri povišenom tlaku, udio čestica je ostao visok sa sve većim udjelom srednje veličine čestica od 46  $\mu\text{m}$  do 316  $\mu\text{m}$ . Ujedno je od 3. dana došlo do pojave vrlo sitnih fluktuirajućih čestica aktivnog mulja u efluentu srednje veličine od 0,138  $\mu\text{m}$  do 0,316  $\mu\text{m}$  vidljivih na Slici 47. Ovakvi rezultati ukazuju na to da je aeracija pri povišenom tlaku izvršila snažan utjecaj na povećanje frakcija sitnih čestica u efluentu unutar raspona od 0,1-0,3  $\mu\text{m}$  i od 50-350  $\mu\text{m}$  što može imati negativan utjecaj, osim na indeks taloživosti mulja (Slika SVI) i na moguće začepljivanje membrana ako se obrada otpadnih voda vrši u MBR sustavima (Kim i sur., 2021; Kim i sur., 2020a).

#### 4.4.7. Utečaj aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u na biološku aktivnost PAO-a u aktivnom mulju

Tijekom trajanja ovog eksperimenta rađeno je testiranje biološke aktivnosti PAO organizama u anaerobnoj fazi ciklusa u SBR-u, a s ciljem utvrđivanja utjecaja aeracije pri povišenom tlaku na učinkovitost EBPR procesa. Negativan utjecaj aeracije pri povišenom tlaku na PAO organizme jasno se vidi i u biološkoj aktivnosti aktivnog mulja, koji se napravio 4. dana od uvođenja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX jedinici i usporedbom s biološkom aktivnosti pri konvencionalnoj aeraciji difuzorom (Slika 48.) .



**Slika 48.** Usporedba testiranja biološke aktivnosti PAO-a u anaerobnoj fazi procesa

obrade otpadne vode pri konvencionalnoj aeraciji i za vrijeme uporabe aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u

Na Slici 48. prikazana je asimilacija KPK vrijednosti u anaerobnoj fazi procesa prije puštanja SDOX-a koja je započela s početnih  $7,94 \text{ mmolL}^{-1}$  i spustila se na  $0,91 \text{ mmolL}^{-1}$ , dok je otpuštanje fosfora s početne koncentracije od  $1,63 \text{ mmolL}^{-1}$  naraslo na  $5,90 \text{ mmolL}^{-1}$  u nepunih sat vremena. Ovo ukazuje na vrlo dobru biološku aktivnost aktivnog mulja neposredno prije puštanja u rad SDOX-a. Aeracijom pri povišenom tlaku dolazi do narušavanja biološke aktivnosti aktivnog mulja, odnosno dolazi do drastičnog pada asimilacije KPK u anaerobnoj fazi procesa, koja se s početnih  $9,5 \text{ mmolL}^{-1}$  na početku testiranja nije dalje spuštala ispod  $7,15 \text{ mmolL}^{-1}$ . Isto tako, anaerobno otpuštanje fosfora se gotovo uopće nije odvijalo i kretalo od početnih  $2,42 \text{ mmolL}^{-1}$  do maksimalnih  $3,04 \text{ mmolL}^{-1}$ .

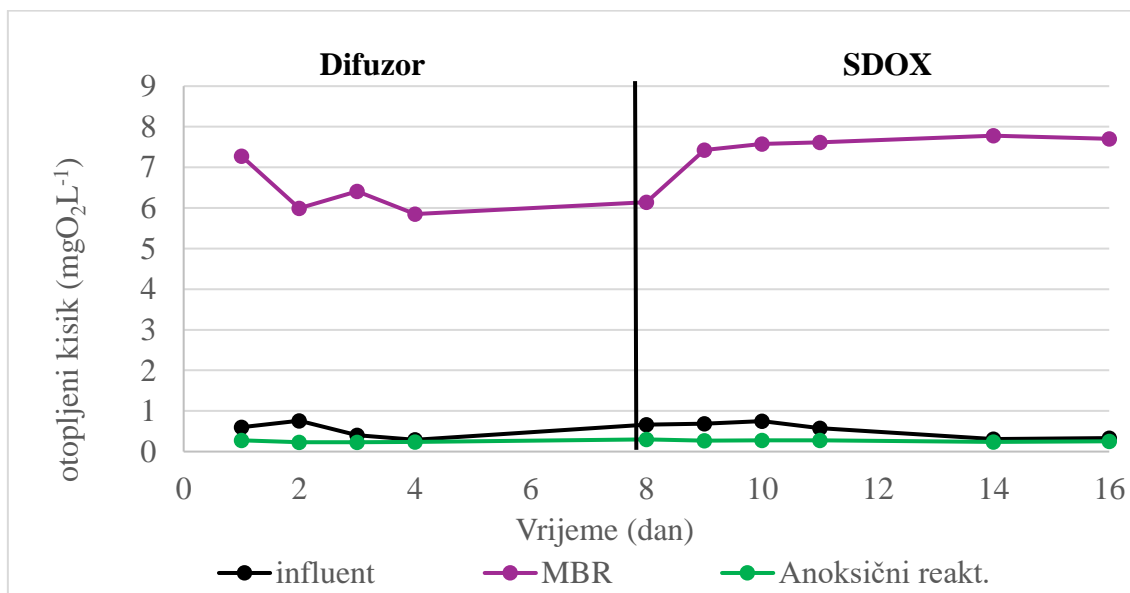
Ovakvi rezultati jasno upućuju na zaključak da aeracija pri povišenom tlaku negativno utječe na EBPR proces obrade otpadnih voda, kako na biološku aktivnost aktivnog mulja, tako i na fizikalno kemijske karakteristike aktivnog mulja obogaćenog PAO-ima.

#### **4.5. Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u**

Proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u sastojao se od aeriranog biorektora s membranom, anksičnog biorektora, spremnika ulazne otpadne vode (influenta), spremnika obrađene vode (efluenta), puhala za zrak za konvencionalnu aeraciju, spremnika stlačenog kisika, tlačne komore SDOX-a i peristaltičkih pumpi s pripadajućim crijevima. Ovaj eksperiment utjecaja konvencionalne aeracije i aeracije pri povišenom tlaku odvijao se pod uvjetima opisanima u Poglavlju 3.3.3 i trajao je ukupno 16 dana, od kojih je 8 dana bilo uz konvencionalnu aeraciju, a 8 dana uz aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX uređaju. Kao ulazna otpadna voda koristila se realna otpadna voda koja je svakodnevno dopremana s lokalnog uređaja za biološku obradu otpadnih voda U tom vremenu je permanentno mjerena i kontrolirana pH-vrijednost jer je to važan operativni parametar tijekom biološke obrade vode. On utječe na sastav biomase i provođenje nitrifikacije, odnosno denitrifikacije pa je poželjno da njegove vrijednosti budu između 7

i 8 (Cao i sur.,2012; Pijuan i sur., 2010; Holman i Wareham, 2005). Tijekom provedbe ovog eksperimenta pH-vrijednost u MBR-u kretala se u prosjeku 7,8, što znači da je zadovoljen parametar za uspješnu obradu otpadne vode u procesu nitrifikacije i denitrifikacije. Također, važan parametar u dizajniranju ovog procesa bio je određivanje SRT-a za koji je odlučeno da bude 10 dana iz razloga što su nitrifikanti bakterije koje sporo rastu i potrebno je izabrati SRT od minimalno 8 dana da bi se uspostavila nitrifikacijska aktivnost (Valverde-Pérez i sur., 2016b; Sugawara i Nikaido, 2014; Wang i sur., 2013).

Također se mjerio i sadržaj otopljenog kisika u suspenziji aktivnog mulja, kako u samom MBR-u, tako i u anoksičnom reaktoru jer za uspješno vođenje procesa nitrifikacije i denitrifikacije potrebno je održavati i optimalnu koncentraciju otopljenog kisika u sustavu (Pijuan i sur., 2010). Kod miješanih aerobno-anoksičnih sustava bitno je optimizirati količinu otopljenog kisika te voditi proces denitrifikacije pri koncentracijama od 0,2 do 2 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> iz razloga što sve koncentracije otopljenog kisika više od navedenih dovode do inhibicije procesa (Henze i sur., 2008a). Na Slici 49. prikazane su vrijednosti koncentracija otopljenog kisika u ulaznoj otpadnoj vodi, u MBR-u za vrijeme procesa nitrifikacije i anoksičnom reaktoru za vrijeme procesa denitrifikacije.



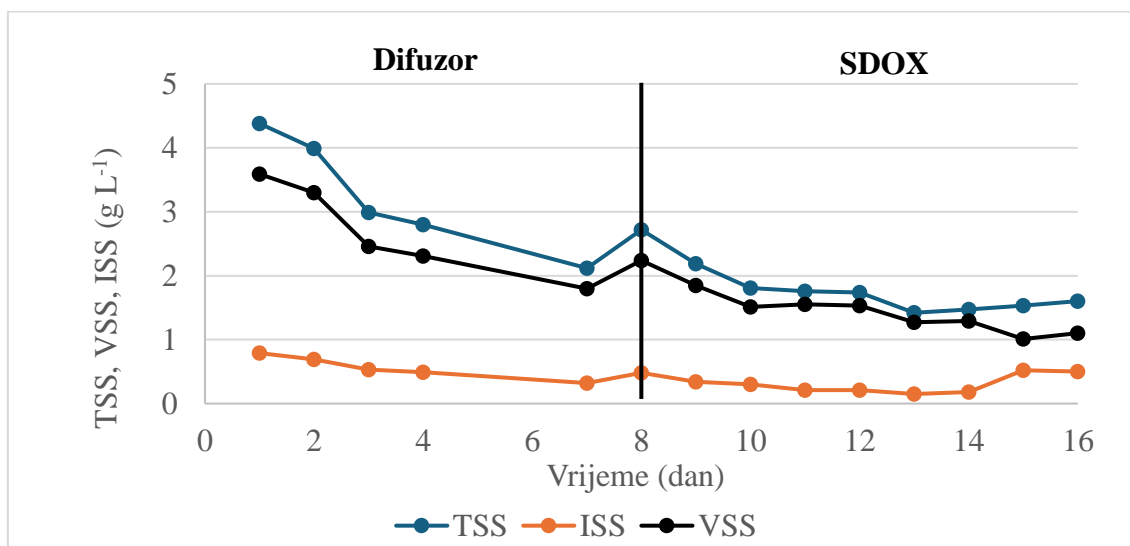
**Slika 49.** Prikaz sadržaja otopljenog kisika u influentu, MBR-u, anoksičnom reaktoru tijekom trajanja istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u

Ulazna otpadna voda (influent) je imala vrlo male vrijednosti otopljenog kisika koje su se kretale od  $0,4 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$  do  $0,76 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ . U MBR-u su vladali aerobni uvjeti s ciljem uspješnog provođenja procesa nitrifikacije amonija iz ulazne otpadne vode u nitrate. Koncentracija otopljenog kisika u MBR-u za vrijeme konvencionalne aeracije s difuzorom se kretala oko  $6 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$  što je postignuto propuhivanjem zraka protokom od  $1,9 \text{ L min}^{-1}$  pomoću puhala i difuzora smještenog na dnu reaktora ispod same membrane. Za vrijeme aeracije aktivnog mulja pri povišenom tlaku u tlačnoj komori SDOX-a, koncentracija otopljenog kisika u MBR-u bila je u prosjeku  $7,7 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ . Protok suspenzije aktivnog mulja kroz tlačnu komoru bio je  $2 \text{ Lh}^{-1}$ , a radni je tlak iznosio 5 bara. Denitrifikacija se odvijala odvođenjem suspenzije aktivnog mulja iz MBR-a, u kojem se odvijala nitrifikacija, u anoksični reaktor volumena XY L. U anoksičnom reaktoru nije bilo aeracije i samo se odvijalo konstantno miješanje elektromagnetskom miješalicom. Na Slici 49. vidljivo je da je u anoksičnom reaktoru koncentracija otopljenog kisika pala i nije prelazila  $0,3 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ . Iz ovih rezultata, kao i iz drugih objavljenih literaturnih izvora (Ekama i Wentzel, 2020), vidljivo da su za vrijeme ovog eksperimenta zadovoljeni uvjeti za uspješno odvijanje procesa uklanjanja dušika iz otpadne vode putem procesa nitrifikacije i denitrifikacije.

#### **4.5.1. Koncentracije suspendiranih tvari u suspenziji aktivnog mulja (TSS, VSS, ISS)**

Važan čimbenik biološke obrade otpadne vode je koncentracija suspendiranih tvari suspenzije mulja jer utječe na uspješnost biološke obrade, radni volumen bioreaktora, prijenos kisika i začepljivanje membrana (Kim i sur., 2021; Kim i sur., 2020a; (Kim i sur., 2020b). Vrijednost TSS predstavlja koncentraciju ukupne suspendirane tvari u aktivnom mulju te se, zbog proporcionalnosti veličina, koristi za procjenu masene koncentracije suspendirane tvari mulja. VSS vrijednost aktivnog mulja predstavlja organski dio TSS-a i predstavlja točniju koncentraciju biomase u aktivnom mulju jer u TSS spadaju sve suspendirane organske razgradive i nerazgradive tvari koje su došle otpadnom vodom, žive bakterije, ostaci odumrlih bakterija i anorganske suspendirane tvari, dok u VSS spadaju žive bakterije, ostaci odumrlih bakterija i organske razgradive i

nerazgradive tvari koje su došle otpadnom vodom. (Henze i sur., 2008b). Ostaci stanica su biološki nerazgradivi dijelovi stanica koje se sastoje najviše od stanične stijenke te čine oko 10 – 15 % od ukupne mase stanica koje su odumrle. Na Slici 50. vidimo promjene u koncentracijama ukupne suspendirane tvari te udjele organske i anorganske suspendirane tvari u mulju tijekom eksperimenta.



**Slika 50.** Ukupna suspendirana tvar (TSS), suspendirana organska tvar (VSS) i suspendirana anorganska tvar (ISS) u aktivnom mulju tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u

Prvih 8 dana proces obrade otpadne vode odvijao se uz konvencionalnu aeraciju korištenjem difuzora za fino raspršivanje mjehurića zraka. TSS vrijednosti su se u prvim danima smanjivale pa je TSS vrijednost 1. dana eksperimenta iznosila  $4,38 \text{ g L}^{-1}$  i trebalo joj je 4 dana da se stabilizira na srednju vrijednost od  $2,38 \text{ g L}^{-1}$ . Razlog povišene početne koncentracije aktivnog mulja je potreba za adaptacijom na nove uvjete rada gdje dolazi do odumiranja i raspada aktivnog mulja na čestice manje od pora membrane te dolazi do ispiranja mulja iz sustava. Korištenjem matematičkog modela naveden u poglavlju 3.4. (Izadi i sur., 2021; Henze i sur., 2008a) izračunata je koncentracija biomase od  $2,4 \text{ gTSS L}^{-1}$  što znači da je eksperiment potvrdio predviđanja matematičkog modela. Uvođenjem aeracije pri povišenom tlaku, 8. dana eksperimenta, došlo je do smanjenja TSS vrijednosti i 4. dana od uvođenja ovog načina aeracije (12. dan eksperimenta) iznosio je  $1,53 \text{ gTSS}$



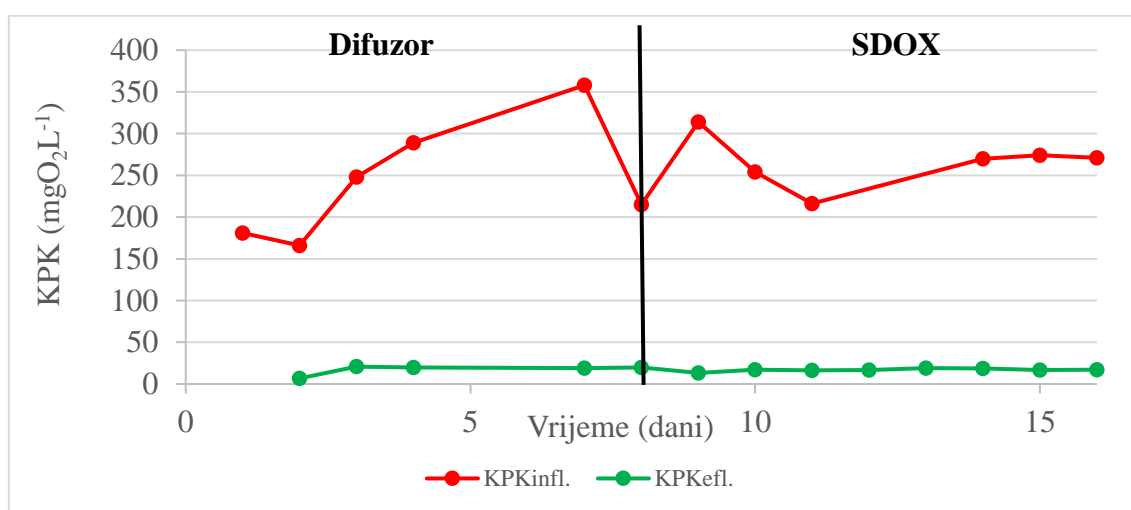
L<sup>-1</sup>. Nakon toga TSS vrijednosti ponovo blago rastu na vrijednosti od 1,6 gTSS L<sup>-1</sup> koliko je iznosila 16. dana eksperimenta, s tendencijom daljnjega blagog porasta na vrijednosti dobivene matematičkim modelom. Razlog ovakvim rezultatima se tumači promjenom načina aeracije i prilagodbom aktivnog mulja na uvjete aeracije pri povišenom tlaku. Ovakav trend je uočen i u radu Kim i suradnika gdje je uočen pad TSS-a sa 15 gL<sup>-1</sup> na 12,6 gL<sup>-1</sup>, ali autori su radili sa sintetičkom otpadnom vodom kao influentom i pri većim koncentracijama aktivnog mulja (Kim i sur., 2021). Također, vidljivo je da vrijednosti VSS-a cijelo vrijeme prate vrijednosti TSS-a te u prosjeku čine 83,14 % vrijednosti TSS, što odgovara teoretskim vrijednostima u literaturi za aktivni mulj koji se koristi u obradi komunalnih otpadnih voda u MBR- u (Sibag i Kim, 2012). Osim dobro procijenjene TSS vrijednosti, model je uspio procijeniti i vrijednosti VSS-a i ISS-a s malim odstupanjima. Tako je vrijednost VSS-a prema modelu trebala biti 87,5 % udjela u TSS vrijednosti, dok ga je u eksperimentu bilo 83,13 % , odnosno 1,97 g L<sup>-1</sup>. Model je također pretpostavio udio ISS-a od 12,5 % TSS, dok ga je u eksperimentu bilo 16,87 % TSS, odnosno 0,4 g L<sup>-1</sup>. Korišteni model pretpostavlja da će se sve biorazgradive tvari influenta u procesu obrade otpadne vode razgraditi te da je udio anorganske tvari u živim stanicama 87 % (Henze i sur., 2008a). Ovakvi rezultati upućuju na zaključak da aeracija pri povišenom tlaku nema značajan negativni utjecaj na promjenu koncentracija suspendiranih tvari u suspenziji aktivnog mulja u procesu obrade otpadne vode MBR tehnologijom za razliku od velikog negativnog utjecaja aeracije pri povišenom tlaku na EBPR proces. Razlog tome je da membrana filtracijom pozitivno utječe na zadržavanje aktivnog mulja u biorektoru i sprječava da sitne čestice mulja, a koje još uvijek imaju neku biološku aktivnost, odu iz sustava s efluentom.

#### **4.5.2. Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na uklanjanje organskih tvari tijekom obrade u MBR-u**

Pri biološkoj obradi otpadne vode, organska komponenta u otpadnoj vodi može se kvantificirati pomoću KPK vrijednosti. KPK vrijednost je bitan pokazatelj onečišćenja otpadne vode pa je primarni cilj obrade otpadne vode smanjiti KPK i BPK<sub>5</sub> vrijednosti do koncentracija koje omogućuju ispuštanje obrađene otpadne vode u prirodne recipijente (NN 26/20). Kao što je prethodno navedeno, u ovom eksperimentu je kao influent korištena realna otpadna voda uzeta na lokalnom uređaju za biološku obradu otpadnih

voda i to nakon primarne obrade u primarnom taložniku, gdje se izdvajaju suspendirane čestice iz otpadne vode i odstranjuju se kao ugušćeni primarni mulj, a koje bi mogle utjecati na pravu vrijednost TSS-a aktivnog mulja u bioreaktoru.

Trajanje eksperimenta u MBR-u je iznosilo ukupno 16 dana, od toga je 8 dana trajala obrada otpadne vode u MBR-u uz konvencionalnu aeraciju s difuzorom, a drugih 8 dana u MBR-u uz aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX-u. Slika 51. prikazuje kretanje KPK vrijednosti u influentu (realna otpadna komunalna voda) i efluentu nakon MBR-a za vrijeme konvencionalne aeracije i nakon toga aeracije pri povišenom tlaku.

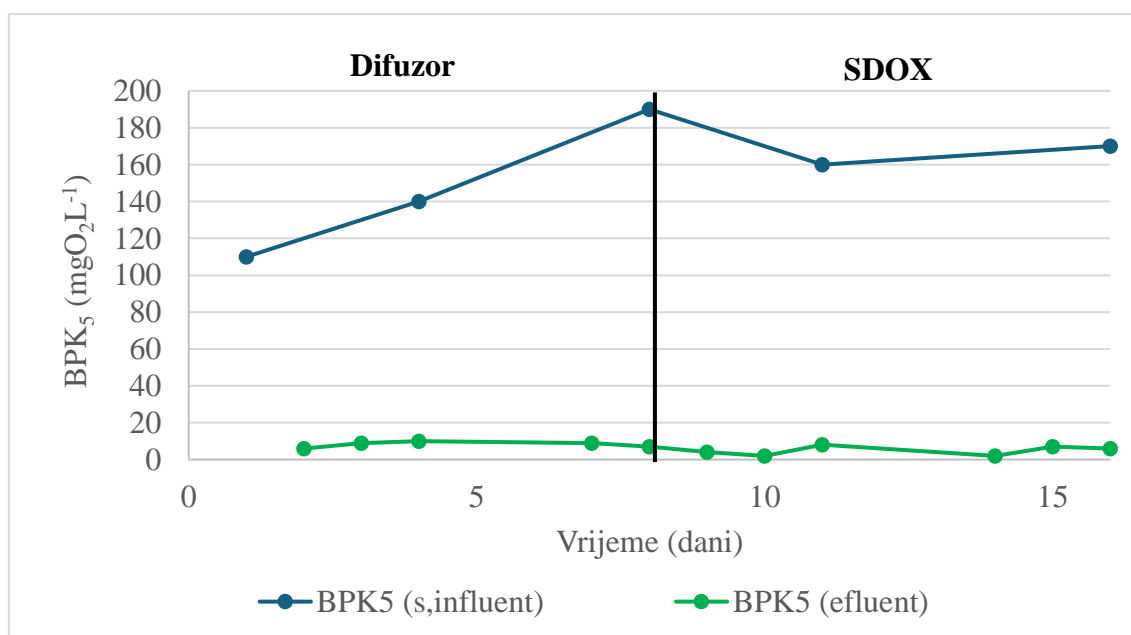


**Slika 51.** KPK vrijednosti u realnoj otpadnoj vodi – influentu ( $KPK_{infl.}$ ) i efluentu ( $KPK_{efl.}$ ) nakon MBR-a tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u.

KPK vrijednost relane otpadne vode za vrijeme konvencionalne aeracije s difuzorom je varirala između  $166 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  i  $358 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  s prosječnom vrijednosti od  $242,83 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  te je vrijednost KPK ovisila o sastavu otpadne vode koja je taj dan dolazila na obradu u lokalni biološki pročistač otpadnih voda. KPK vrijednosti obrađene vode tijekom korištenja konvencionalne aeracije difuzorom su se kretale između  $6,77 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  i  $20 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , dok je prosječna vrijednost kroz 8 dana bila  $17,25 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . Prelaskom na aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX sustavu, KPK vrijednost ulazne vode je varirala od  $215 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  do  $270 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  s prosječnom vrijednosti od  $257,16 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  što je bila približno ista vrijednost kao prosječna KPK vrijednost pri konvencionalnoj aeraciji pa su na taj način održani isti uvjeti i za konvencionalnu aeraciju i za SDOX, u smislu obrade i

opterećenja aktvinog mulja. KPK vrijednost obrađene otpadne vode uz aeraciju pri povišenom tlaku varirala je od  $13,3 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  do  $19,7 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  uz prosječnu vrijednost od  $17,8 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  (Slika 51.), što u usporedbi s konvencionalnom aeracijom, nema značajne razlike. Iz dobivenih rezultata uspješnost uklanjanja KPK vrijednosti iz realne otpadne vode u MBR-u bila je izrazito uspješna te je učinkovitost uklanjanja organskih tvari pri konvencionalnoj aeraciji iznosila 92,92 %, a pri aeraciji pri povišenom tlaku u SDOX-u učinkovitost uklanjanja iznosila je 93,3 %. Ovakvi rezultati potvrđuju rezultate prijavljene u radu Kim i suradnika (Kim i sur., 2021) koji su radili sa sintetičkom otpadnom vodom i dobili učinkovitost uklanjanja 96,8 % i 96,2 %. Dakle, može se zaključiti da uvođenje SDOX jedinice nije utjecalo na performanse MBR sustava u pogledu uklanjanja KPK vrijednosti iz otpadne vode, a MBR je ukupno pokazao izvrsnu učinkovitost uklanjanja organskog opterećenja u otpadnoj vodi od preko 90 % u prosjeku. Stoga se zaključuje da funkcionalnost mikrobnih zajednica odgovornih za razgradnju organske tvari u MBR-u nije bila pogođena uvođenjem SDOX sustava, za razliku od utjecaja na PAO u SBR-u gdje je došlo do potpunog gubitka svih performansi uspješne obrade otpadne vode.

Usporedo s određivanjem KPK vrijednosti, određivala se i  $\text{BPK}_5$  vrijednost kao pokazatelj biorazgradivosti organske tvari (Slika 52.).



**Slika 52.**  $\text{BPK}_5$  u realnoj otpadnoj vodi – influentu ( $\text{BPK}_5$  s), filtriranom influentu ( $\text{BPK}_5$  e)

f) i efluentu (BPK<sub>5</sub> e) nakon MBR-a tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u

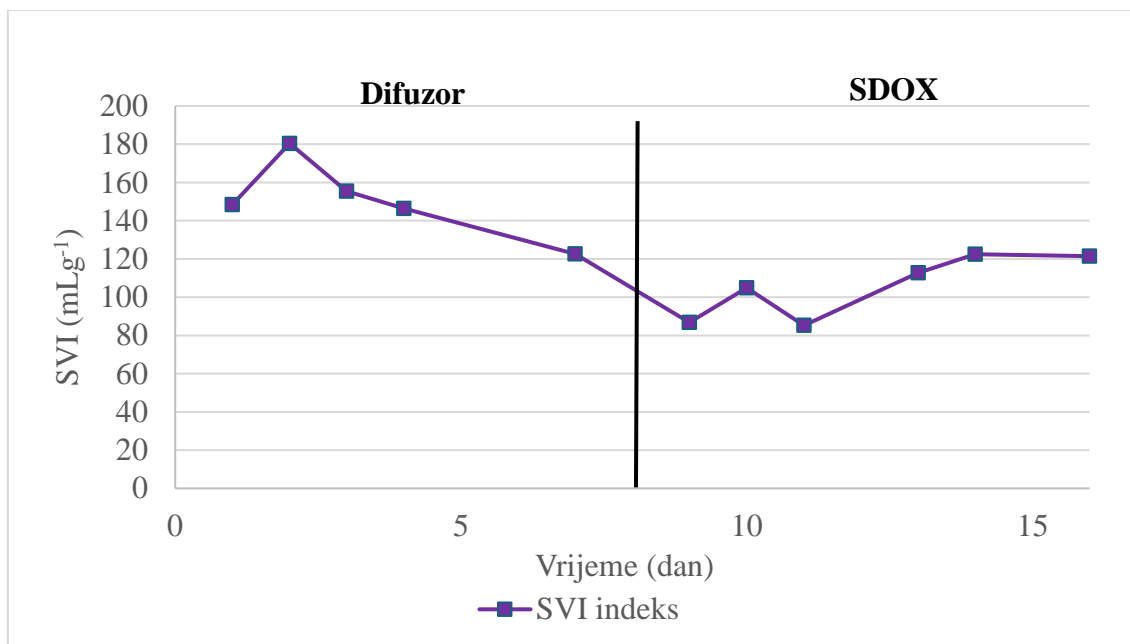
Za vrijeme konvencionalne aeracije s difuzorom, BPK<sub>5</sub> vrijednost ulazne otpadne vode je varirala između 110 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> i 190 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> s prosječnom vrijednosti 150 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Rezultati mjerenih BPK<sub>5</sub> vrijednosti obrađene otpadne vode varirali su od 6 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> do 10 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> s prosječnom vrijednosti od 7,75 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Prelaskom na aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX sustavu, BPK<sub>5</sub> vrijednosti ulazne otpadne vode varirale su od 160 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> do 190 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> s prosječnom vrijednosti od 173,33 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Vrijednosti BPK<sub>5</sub> obrađene otpadne vode za vrijeme aeracije pri povišenom tlaku varirale su od 2 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> do 8 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> s prosječnom vrijednosti 5,66 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Slika 52.). Učinkovitost uklanjanja BPK<sub>5</sub> vrijednosti iz otpadne vode pri konvencionalnoj aeraciji iznosila je 94,4 %, dok je učinkovitost uklanjanja BPK<sub>5</sub> vrijednosti iz otpadne vode za vrijeme aeracije pri povišenom tlaku iznosila 96,5 %. Rezultati u ovom eksperimentu potvrđuju rezultate koje su objavili (Monclús i sur., 2010) gdje su pratili uklanjanje bioloških nutrijenata iz komunalne otpadne vode pomoću MBR-a te postigli uklanjanje organskih tvari iz otpadne vode za 92 ± 6 %.

Prema regulativi Republike Hrvatske maksimalna dozvoljena vrijednost KPK za ispuštanje u prirodne recipijente iznosi 125 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, dok maksimalna dozvoljena vrijednost BPK iznosi 25 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (NN 26/2020). Prema tome, vrijednosti organskog opterećenja obrađene otpadne vode dobivene u ovom eksperimentu, izražene kroz vrijednosti KPK i BPK<sub>5</sub>, zadovoljavaju parametre zakonske regulative pri ispuštanju otpadnih voda u prirodne recipijente.

#### **4.5.3. Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na SVI u MBR-u**

Indeks taloživosti mulja (SVI) je definiran kao volumen (mL) koji zauzima 1 g svježeg aktivnog mulja nakon 30 minuta taloženja i najčešće je korišten parametar kontrole procesa biološke obrade otpadne vode, a služi za određivanje karakteristike taloženja mulja. Pomoću ovog podatka kontroliraju se fizikalne karakteristike aktivnog mulja i njegova sposobnost taloženja, jer dobra taloživost mulja preduvjet je za učinkovitu biološku obradu otpadnih voda u uređajima. SVI vrijednosti u intervalu od 50 do 150 mL

$\text{g}^{-1}$  smatraju se zadovoljavajućima i ukazuju na dobru taloživost aktivnog mulja (Valverde-Pérez i sur., 2016b). Kao što je već spomenuto u prijašnjim poglavljima, eksperiment je trajao 16 dana. Od toga je prvih 8 dana bila obrada otpadne vode u MBR-u uz konvencionalnu aeraciju difuzorima, a drugih 8 dana obrade otpadne vode uz aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX-u. Rezultati na Slici 53. prikazuju vrijednost indeksa taloživosti aktivnog mulja tijekom trajanja eksperimenta.



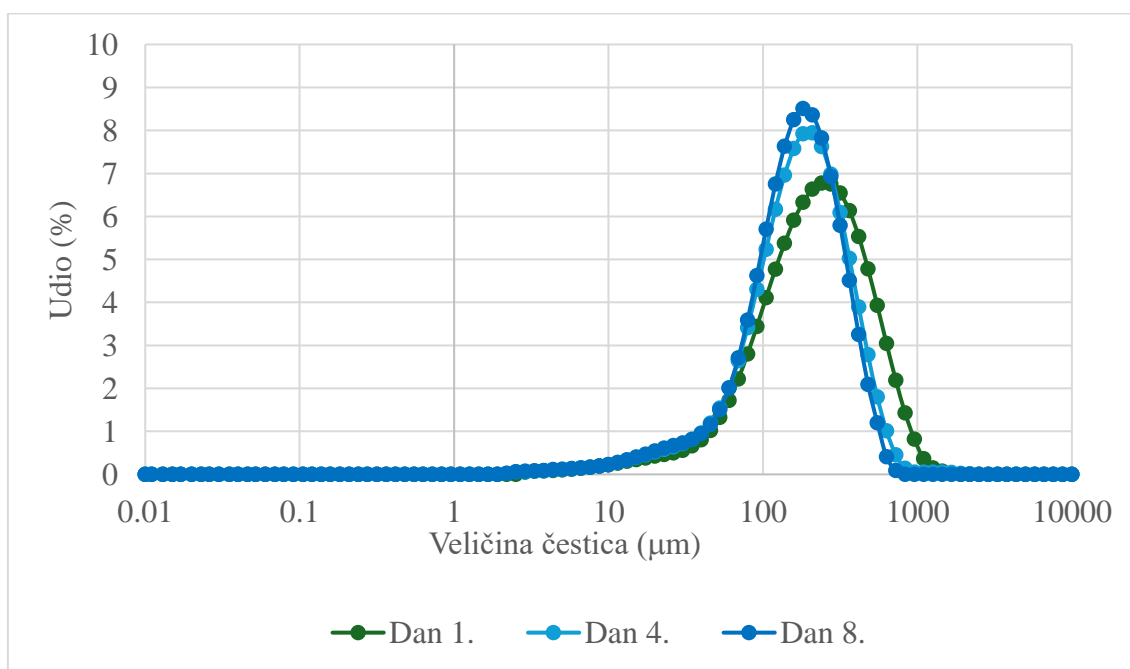
**Slika 53.** Indeks taloživosti aktivnog mulja (SVI) tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u

Iz grafičkog prikaza je vidljivo da je na samom početku pokusa, za vrijeme konvencionalne aeracije, SVI vrijednost bila viša od  $150 \text{ mL g}^{-1}$  i iznosila je  $180 \text{ mL g}^{-1}$ , ali je već 3. dana pokusa došlo do prilagodbe mulja novim uvjetima rada. Vrijednost SVI-a se smanjila, i kretala se u intervalu od  $83 \text{ mL g}^{-1}$  do  $140 \text{ mL g}^{-1}$  što ukazuje na dobru taloživost mulja. Prelaskom na aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX-u nije došlo do velike promjene vrijednosti SVI i iznosila je od  $83 \text{ mL g}^{-1}$  do  $120 \text{ mL g}^{-1}$  što ukazuje da je taloživost mulja ostala dobra i da ovaj tip aeracije nije imao negativan utjecaja na taloživost mulja u MBR-u što su svojem radu potvrdili Kim i suradnici gdje su se vrijednosti SVI u prosjeku kretale  $100 \text{ mL g}^{-1}$  (Kim i sur., 2023b), za razliku od rezultata SVI prilikom EBPR-a provedenog u SBR-u gdje je došlo do povećanja SVI vrijednosti

na preko 1000 mL g<sup>-1</sup> i aktivni mulj se uopće nije taložio . Treba naglasiti da je tijekom provođenja testova SVI u MBR-u pri konvencionalnoj aeraciji i aeraciji pri povišenom tlaku, aktivni mulj bio gust i pahuljast s granuliranim flokulama te se brzo taložio. Voda izdvojena iznad mulja (supernatant) tijekom provođenja ovih testova bila je bistra bez plivajućeg mulja, iz čega možemo zaključiti da je postojala dobra ravnoteža između žive i mrtve stanične biomase.

#### 4.5.4. Distribucija veličine čestica aktivnog mulja

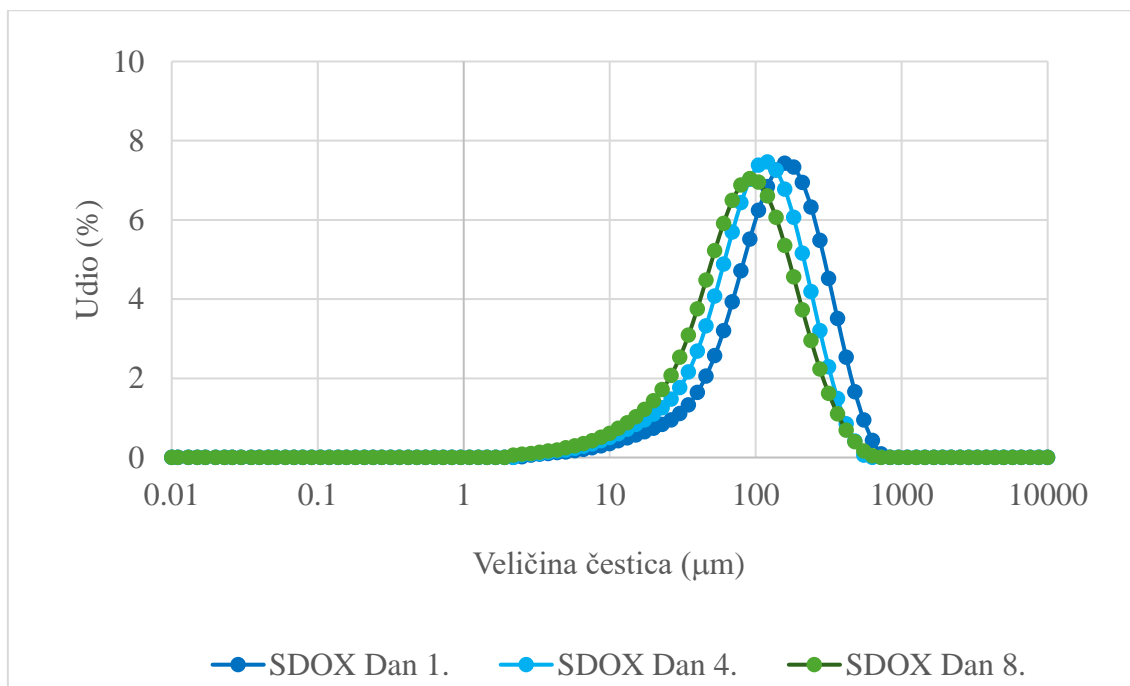
U ovom je poglavlju istražen utjecaj aeracije pri povišenom tlaku s SDOX-om na distribuciju veličine čestica aktivnog mulja. Na početku eksperimenta, aeracijom s difuzorom, mulj je imao prosječnu veličinu čestica (Dv50) od 316 μm, koja se postupno smanjila na 181 μm 8. dana rada s konvencionalnom aeracijom (Slika 54.). Vidljivo je da je došlo do smanjenja prosječne veličine čestica, ne uzimajući u obzir učinke SDOX sustava aeracije.



**Slika 54.** Distribucija veličina čestica aktivnog mulja pri konvencionalnoj aeraciji korištenjem difuzora u MBR-u pri obradi realne komunalne otpadne vode

Ovo smanjenje veličine čestica u vrijeme konvencionalne aeracije pripisuje se prilagođavanju novim uvjetima rada u MBR-u. Takvo smanjenje prosječne veličine

čestica najvjerojatnije je uzrokovano učincima turbulencije i miješanja koje pružaju mjehurići zraka u bioreaktoru MBR-a, te možda učincima pritiska na površinu membrane. Nakon uvođenja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u, došlo je do daljnjeg smanjenja prosječne veličine čestica s vrijednosti 158,4  $\mu\text{m}$  koliko je iznosila 1. dana, do vrijednosti 104,7  $\mu\text{m}$  na kraju 8. dana eksperimenta (Slika 55.) što je rezultiralo i smanjenjem TSS aktivnog mulja sa 2,4  $\text{gTSS L}^{-1}$  na 1,6  $\text{gTSS L}^{-1}$ . Promjene u prosječnoj distribuciji veličine čestica aktivnog mulja za vrijeme trajanja aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u su pripisane učincima visokog tlaka i smicanja koje izaziva SDOX. Usporedbom prosječnih vrijednosti veličina čestica prije aeracije pri povišenom tlaku (Slika 54.) i pri aeraciji s povišenim tlakom, vidljivo je da je SDOX sustav imao tendenciju smanjivanja veličine čestica aktivnog mulja s prosječne veličine 181,97  $\mu\text{m}$  na veličinu čestica 91,2  $\mu\text{m}$  (Slika 55.) zbog sila trenja, smicanja i pritiska na površinu membrane uzrokujući liziranje stanica i/ili neaktivaciju stanica s naknadnim gubicima lebdećih suspendiranih tvari u suspenziji aktivnog mulja.



**Slika 55.** Distribucija veličina čestica aktivnog mulja pri aeraciji sa SDOX-om

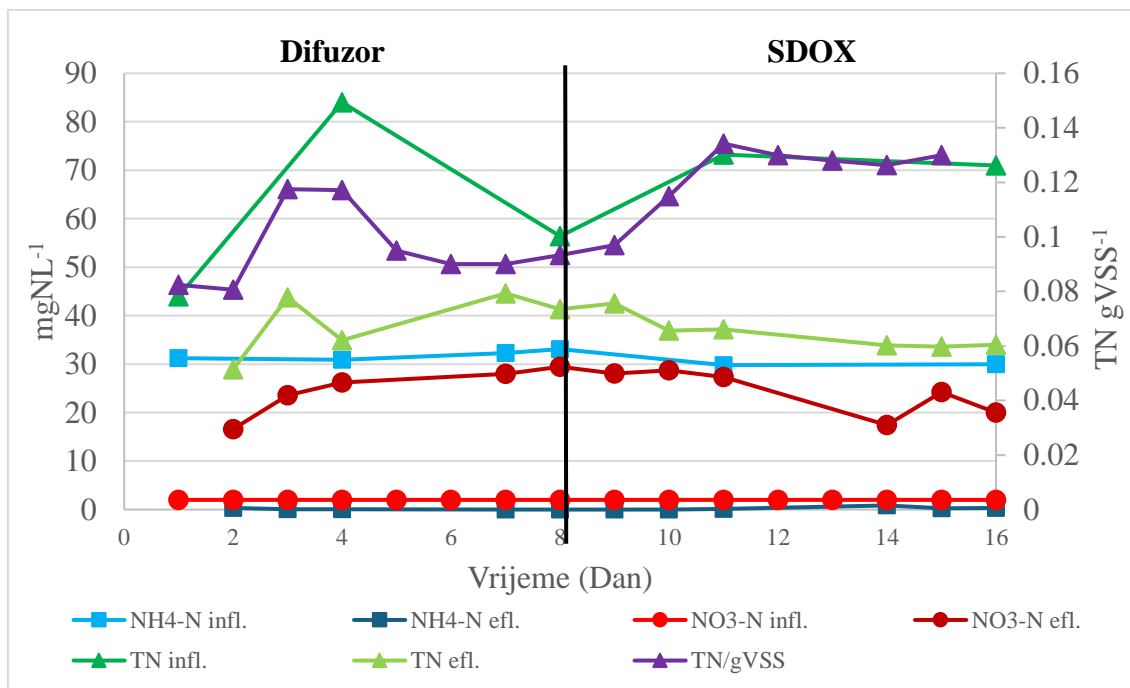
Međutim, za razliku od pokusa EBPR u SBR-u, smanjenje veličina čestica u aktivnom mulju u MBR-u nije imao nikakvog kritičnog utjecaja na koncentraciju suspendiranih

tvori u suspenziji aktivnog mulja u MBR sustavu gdje je vrijednost TSS-a bila 1,6 gTSS L<sup>-1</sup>, a vrijednost VSS-a 1,4 gTSS L<sup>-1</sup> (Slika 50.) jer je membrana uronjena u MBR zadržavala lebdeće čestice aktivnog mulja koje su još uvijek bile biološki aktivne. Zbog toga se može smatrati da uvjeti povišenog tlaka pri aeraciji i učinak trenja i smicanja nisu izgledali kao da uzrokuju značajno liziranje stanica i/ili neaktivaciju stanica s naknadnim gubicima lebdećih suspendiranih tvari u suspenziji aktivnog mulja, što je na tragu istraživanja koje su objavili Kim i suradnici (Kim i sur., 2021), a koje je također u početku imalo smanjenje vrijednosti distribucije veličina čestica uz smanjenje koncentracije TSS-a i aktivni mulj je i dalje bio biološki aktivan.

#### **4.5.5. Utjecaj na uklanjanje dušika iz otpadane vode procesima nitrifikacije i denitrifikacije**

Primarni izvor dušika, u realnoj komunalnoj otpadnoj vodi, nakon primarnog taloženja suspendiranih tvari, predstavljaju ljudske izlučevine od čega ih je oko 75 % u obliku ureje dok je ostatak organski dušik (Henze i sur., 2008b). Anorganski se dio većinom sastoji od slobodnog amonija i amonijevih iona, dok se nitrati i nitriti pojavljuju u neznatnim koncentracijama. Organski dušik se sastoji od biorazgradivih i nerazgradivih frakcija koje mogu biti otopljene ili suspendirane. Biorazgradive frakcije tijekom biološke obrade bivaju, ili nitrificirane do nitrata uz pomoć nitrifikanata, ili denitrificirane iz nitrata u anoksičnim uvjetima heterotrofnim mikroorganizmima u elementarni dušik koji izlazi iz reaktora kao plin ili ugrađene u aktivni mulj pri rastu heterotrofnih mikroorganizama pri čemu izlaze iz bioreaktora zajedno s viškom mulja (Gao i sur., 2009). Topljive nerazgradive frakcije dušika obradom se ne uklanjaju i zaostaju u efluentu. Slika 56. prikazuje migracije, odnosno raspodjelu i kretanje formi dušika u influentu i efluentu tijekom 16 dana eksperimenta.





**Slika 56.** Raspodjela dušika u influentu i efluentu tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u

Jasno je vidljivo smanjenje ukupnog dušika (TN) za 37,1 %, čije su vrijednosti prosječno iznosile 61,5 mgN L<sup>-1</sup> u influentu i 38,7 mgN L<sup>-1</sup> u efluentu. Vrijednosti amonija u influentu su bile konstantne s prosječnom koncentracijom od 31,87 mgNH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup>, dok ga je u efluentu prosječno bilo tek 0,16 mgNH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup> što je smanjenje od 99,5 %. Ovakvi rezultati dokazuju vrlo uspješan proces nitrifikacije. U tom procesu pretvorbe amonijačnog dušika u nitratni dušik nastalo je prosječno 24,77 mgNO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> u MBR-u. Pretpostavka je da je ostatak amonijačnog dušika dijelom preveden u plinoviti dušik tijekom procesa denitrifikacije u anoksičnom reaktoru, a dijelom je ugrađen u aktivni mulj (van Loosdrecht i sur., 2020b; van Loosdrecht i sur., 2016b). Međutim, kada se od ukupnog dušika u efluentu oduzmu vrijednosti amonija, nitrata i eventualno prisutnih nitrita koji nisu prevedeni u nitrate, preostaje 13,77 mgN L<sup>-1</sup> TN što znači da 35,58 % ukupnog dušika u efluentu zapravo čine topljive nerazgradive frakcije dušika koje se nisu mogle ukloniti putem biološke obrade. Ukupni dušik u efluentu imao je tri značajnija rasta koncentracije u efluentu. Prvi i drugi značajniji rast TN dogodio se 3. i 7. dana eksperimenta prilikom rada s konvencionalnom aeracijom, a treći značajniji rast dogodio

se 9. dana eksperimenta, odnosno 2. dana rada s aeracijom pri povišenom tlaku u SDOX-u (Slika 56.). Upravo u tim danima došlo je do naglog pada koncentracije suspendiranih tvari u aktivnom mulju (Slika 50.) pa se shodno tome može zaključiti da je do porasta TN u efluentu došlo zbog odumiranja aktivne biomase i otpuštanja citoplazmatskog sadržaja liziranih stanica. Također, zbog smanjenja koncentracije živih stanica u aktivnom mulju bila je i smanjena potreba za dušikom koji bi ga trošili za svoj rast. Slijedeći razlog nedovoljnom uklanjanju TN-a tijekom obrade otpadne vode u ovom eksperimentu je bila nedovoljno uspješna denitrifikacija. S obzirom na to da su čimbenici denitrifikacije izvor ugljika, denitrifikanti, koncentracija otopljenog kisika, koncentracija nitrata i nitrita (Grgas i sur., 2021), do nepotpunog uklanjanja dušika je najvjerojatnije došlo zbog male količine raspoloživog ugljika, odnosno zbog niskog omjera KPK/N koji bi trebao iznositi 20/1 (Zhang i sur., 2014; van Loosdrecht i sur., 2016a), što je karakteristično za komunalne otpadne vode. KPK vrijednost otpadne vode u ovom eksperimentu je bila u prosjeku  $245 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , a koncentracija amonija u prosjeku  $33 \text{ mgNH}_4\text{-N L}^{-1}$ , što čini omjer 7/1, što je manje od prijavljenog omjera za dobru nitrifikaciju. Još jedan razlog ovakvim rezultatima može biti neadaptiranost aktivnog mulja na nove uvjete rada zadane u ovom eksperimentu, zato što na lokalnom uređaju za biološku obradu otpadnih voda ne provodi proces denitrifikacije, a održavanje starosti mulja je samo tri dana. Ovako dobiven efluent u ovom eksperimentu ne bi zadovoljavao zakonske odredbe za maksimalnu koncentraciju TN u obrađenoj otpadnoj vodi s uređaja 2. stupnja pročišćavanja za otpuštanje u površinske vode jer maksimalno dozvoljena koncentracija TN iznosi  $15 \text{ mg L}^{-1}$  (NN 26/20). Kao što se može vidjeti na Slici 55., udio ukupnog dušika u suspendiranoj tvari u aktivnom mulju (TN/VSS) iznosio je prosječno  $0,095 \text{ gN gVSS}^{-1}$ , što približno odgovara podacima iz literature gdje se navodi da bakterijske stanice imaju oko 10 % dušika u VSS (Henze i sur., 2008b). Blago smanjenje udjela TN/VSS vidljivo je od 4. dana eksperimenta, a razlog tomu može biti smanjenje heterogene biomase u bioreaktoru uzrokovano dnevnim ispuštanjem viška aktivnog mulja radi održavanja SRT od 10 dana. Međutim, testovi biološke aktivnosti aktivnog mulja u uklanjanju dušika iz otpadne vode pokazuju da se uklanjanje istog odvija uspješno, a što će biti objašnjeno u slijedećem poglavlju.

#### 4.5.6. Testovi biološke aktivnosti aktivnog mulja u procesu uklanjanja dušika iz otpadne vode tijekom trajanja eksperimenta s konvencionalnom aeracijom i aeracijom pri povišenom tlaku u SDOX-u.

S gledišta modeliranja procesa i dodatne potvrde dobivenih rezultata, bilo je potrebno ocijeniti i odrediti stehiometriju i kinetičke brzine procesa konverzije koje provode specifične mikrobne populacije (van Loosdrecht i sur., 2020a), odnosno provesti ispitivanja biološke aktivnosti aktivnog mulja. Biološka aktivnost mikrobne biomase praćena je tijekom cijelog trajanja eksperimenta praćenjem koncentracije supstrata i produkata kroz vrijeme, što je najčešći način ocjene kinetike nekog procesa. Proces nitrifikacije praćen je mjerenjem koncentracije amonija i nitrata u aerobnim uvjetima, dok je proces denitrifikacije praćen mjerenjem apsorpcije nitrata u anoksičnim uvjetima. Cilj navedenih testiranja biološke aktivnosti je bio odrediti specifičnu brzinu proizvodnje, odnosno potrošnje nitrata.

U Tablici 8. prikazani su rezultati provedenih testova biološke aktivnosti aktivnog mulja u procesima nitrifikacije i denitrifikacije tijekom trajanja ekperimenta s konvencionalnom aeracijom difuzorom i aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u.

Linearnom regresijom sa zadovoljavajućim koeficijentom determinacije od  $R^2=0,9800$  određena je brzina nastanka/potrošnje nitrata. Specifične brzine nitrifikacije i denitrifikacije su izravno povezane s koncentracijom organskih suspendiranih tvari (Slika 50.) u suspenziji, a njihove su vrijednosti prikazane u Tablici 8.

**Tablica 8.** Specifične brzine biološke aktivnosti mulja u procesima oksidacije amonija, nitrifikacije i denitrifikacije tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u.

Dan pokusa	Nitrifikacija [mg NO <sub>3</sub> -N (gVSS) <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ]	Oksidacija amonija [mg NH <sub>4</sub> -N (gVSS) <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ]	Denitrifikacija [mg NO <sub>3</sub> -N (gVSS) <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ]
1. (difuzor)	<b>0,0418</b> (R <sup>2</sup> =0,9854)	<b>-0,0943</b> (R <sup>2</sup> =0,9963)	<b>-0,0595</b> (R <sup>2</sup> =0,9679)
4. (difuzor)	<b>0,0973</b> (R <sup>2</sup> =0,9884)	<b>-0,1121</b> (R <sup>2</sup> =0,9578)	<b>-0,1855</b> (R <sup>2</sup> =0,9986)
7. (difuzor)	<b>0,1172</b> (R <sup>2</sup> =0,9539)	<b>-0,2021</b> (R <sup>2</sup> =0,9725)	<b>-0,1881</b> (R <sup>2</sup> =0,8719)

<b>9. (SDOX)</b>	<b>0,0767</b> (R <sup>2</sup> =0,9701)	<b>-0,0954</b> (R <sup>2</sup> =0,9757)	<b>-0,1071</b> (R <sup>2</sup> =0,9893)
<b>12. (SDOX)</b>	<b>0,0717</b> (R <sup>2</sup> =0,9901)	<b>-0,1781</b> (R <sup>2</sup> =0,9711)	<b>-0,0888</b> (R <sup>2</sup> =0,9878)
<b>15. (SDOX)</b>	<b>0,0916</b> (R <sup>2</sup> =0,9755)	<b>-0,1742</b> (R <sup>2</sup> =0,9974)	<b>-0,1211</b> (R <sup>2</sup> =0,9972)

Za vrijeme konvencionalne aeracije, specifična brzina nitrifikacije kretala se od 0,0418 mgNO<sub>3</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> uz koeficijent determinacije od R<sup>2</sup>=0,9854 1. dana eksperimenta do 0,1172 mgNO<sub>3</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> uz koeficijent determinacije R<sup>2</sup>=0,9539 koji smo dobili 7. dana eksperimenta. Ovakav rezultat je bolji nego što su prijavili Jones i suradnici koji su dobili specifičnu brzinu nitrifikacije 0,0903 mgNO<sub>3</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> (Jones i sur., 2007) iz čega se može zaključiti da se proces nitrifikacije u ovom dijelu eksperimenta odvija uspješno. Također, vrijeme konvencionalne aeracije, specifična brzina oksidacije amonija kretala se od 0,0943 mgNH<sub>4</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> uz koeficijent determinacije od R<sup>2</sup>=0,9854 1. dana eksperimenta, do 0,2021 mgNH<sub>4</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> uz koeficijent determinacije od R<sup>2</sup>=0,9725 7. dana eksperimenta. Ovakav rezultat je viši nego što su prijavili Jubany i suradnici (Jubany i sur., 2008) i Blackburne i suradnici (Blackburne i sur., 2007) kojima se specifična brzina oksidacije amonija kretala 0,771 mgNH<sub>4</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> do 0,166 mgNH<sub>4</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> iz čega se može zaključiti da se proces oksidacije amonija u ovom dijelu eksperimenta odvija uspješno. Najveća specifična brzina denitrifikacije postignuta u testu biološke aktivnosti 7. dana eksperimenta iznosila je -0,1881 mgNO<sub>3</sub>-N(gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>. Međutim, njen koeficijent determinacije je iznosio R<sup>2</sup> =0,8719 i nije bio zadovoljavajuć tako da se ona odbacila. Razlog lošijim rezultatima na početku eksperimenta leži u tome što lokalni uređaj za biološku obradu otpadnih voda, s kojeg je uzet aktivni mulj, radi s vremenom zadržavanja aktivnog mulja u postrojenju od SRT=3, te ne provodi proces denitrifikacije. U ovom eksperimentu sam imao dulje vrijeme zadržavanja aktivnog mulja u bioreaktoru koji je iznosio SRT=10 i imao sam anoksični reaktor za proces denitrifikacije. Zato se kao najveća specifična brzina denitrifikacije uzela vrijednost postignuta testom biološke aktivnosti 4. dana eksperimenta i iznosila je 0,1855 mgNO<sub>3</sub>-N (gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> uz koeficijent determinacije od R<sup>2</sup>=0,9986. Ova vrijednost korespondira s rezultatima koje su dobili Ficara i Canziani koja je iznosila je od 0,166 mgNO<sub>3</sub>-N(gVSS)<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> do 0,3166

$\text{mgNO}_3\text{-N}(\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  (Ficara i Canziani, 2007)

Puštanjem u rad aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX-u, došlo je do smanjenja specifične brzine nitrifikacije koja je iznosila  $0,0767 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$ , s koeficijentom determinacije od  $R^2=0,9701$ , što pripisujem novim uvjetima rada pri aeraciji pri povišenom tlaku u kojim se našao aktivan mulj. Nakon prilagodbe aktivnog mulja na nove uvjete, došlo je do vraćanja njegove biološke aktivnosti te je specifična brzina nitrifikacije 7. dana eksperimenta sa SDOX-om (15. dana eksperimenta) iznosila  $0,0916 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  s koeficijentom determinacije od  $R^2=0,9755$ . Navedeno korespondira s rezultatom od  $0,0903 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  koji su dobili Jones i suradnici (Jones i sur., 2007), s tendencijom daljnjeg povećavanja. Specifična brzina oksidacije amonija u procesu aeracije pri povišenom tlaku i SDOX-u se kretala u intervalu od početnih  $0,0954 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  s koeficijentom determinacije od  $R^2=0,9757$  do  $1,1782 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  s koeficijentom determinacije od  $R^2=0,9771$  što je također više nego je prijavio Jones i suradnici (Jones i sur., 2007) koji su imali specifičnu brzinu oksidacije  $0,166 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$ . Razlog smanjenoj početnoj specifičnoj brzini oksidacije amonija je bio stres aktivnog mulja pri puštanju aeracije pri povišenom tlaku. Nakon prilagodbe aktivnog mulja na nove uvjete rada, došlo je do oporavka aktivnosti istog i rezultati su se vratili na prijašnje vrijednosti. Specifična brzina denitrifikacije puštanjem u rad SDOX jedinice za aeraciju, također se smanjila već u 1. danu i iznosila je  $0,1071 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  s koeficijentom determinacije od  $R^2=0,9893$ , ali nakon prilagodbe aktivnog mulja na nove uvjete, specifična brzina denitrifikacije se nazad povećala, te je 7. dana od puštanja SDOX jedinice u pogon iznosila  $0,1211 \text{ mgNO}_3\text{-N} (\text{gVSS})^{-1}\text{min}^{-1}$  uz koeficijent determinacije od  $R^2=0,9972$ .

Kinetika oksidacije amonija naspram kinetike oksidacije nitrata, za nitrificirajuće bakterije koje rade pri temperaturama nižim od  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  je ta koja određuje ukupnu brzinu nitrifikacije, stoga je kinetika bazirana na oksidaciji amonija, uz pretpostavku da je iskorištenje otopljenog kisika u suspenziji aktivnog mulja potpuno. U Tablici 8. vidljive su i specifične brzine oksidacije amonija u procesu nitrifikacije koje su mjerene za vrijeme testiranja biološke aktivnosti aktivnog mulja. Tijekom eksperimenta, brzina oksidacije amonija u nitrata je rasla, ali nije došlo do potpune pretvorbe amonija u nitrata što ukazuje na to da mikroorganizmi u aktivnom mulju asimiliraju amonijakalni dušik za neke druge potrebe, poput rasta i razmnožavanja (Tchobanoglous i sur., 2003).

Usporedive brzine oksidacije amonija i proizvodnje nitrata najviše su primjetne u drugom provedenom testu. Prvi test nitrifikacije i denitrifikacije dao je najslabije rezultate, što je očekivano jer je izveden 1. dana eksperimenta pa mikrobna masa nije imala vremena za prilagodbu. Za uspješnu nitrifikaciju potrebno je imati dovoljno dugo hidrauličko vrijeme zadržavanja koje je u ovom eksperimentu iznosilo 8 sati (Wu i sur., 2021). Proces se vodio pri SRT od 10 dana, pa je koncentracija nitrifikanata u mulju bila direktna posljedica dinamike odvođenja viška mulja iz sustava. Pri navedenim zadanim uvjetima obrade uspješno je provedena nitrifikacija i denitrifikacija te je uklanjan dušik iz otpadne vode.

#### 4.5.7. Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na začepljivanje uronjivih membrana u MBR-u

Tijekom istraživanja utjecaja aeracije pri povišenom tlaku na aktivni mulj u procesu biološke obrade otpadne vode, napravljen je i pokus utjecaja istog na začepljivanje uronjivih membrana u MBR-u, odnosno na porast transmembranskog tlaka i smanjenje permeabilnosti (propusnosti) uronjivih membrana. Tijekom pokusa ukupno je korišteno 6 novih uronjivih mikrofiltracijskih membrana. Svaka membrana označena je oznakom od 1 do 6. Tijekom cijelog eksperimenta membrane su zamjenjivane svaki put kad je transmembranski tlak (TMP) premašio vrijednost od - 0,30 bara. Tri membrane su korištene za vrijeme konvencionalne aeracije u MBR-u, a tri membrane za vrijeme aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u. Prije puštanja u rad filtracije aktivnog mulja svakoj membrani je izmjerena permeabilnost za čistu demineraliziranu vodu, a vrijednosti su prikazane u Tablici 9.

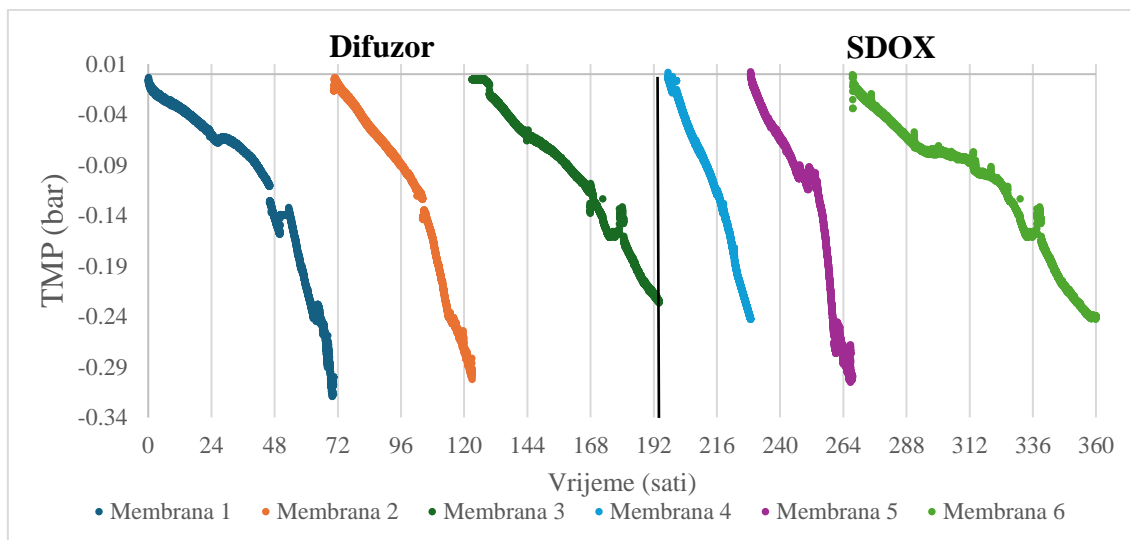
**Tablica 9.** Permeabilnosti novih uronjivih membrana na čistu vodu i ukupni filtracijski otpori začepljene membrane tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces biološke obrade otpadne vode u MBR-u

Dan pokusa	Permeabilnost čiste membrane K (L h <sup>-1</sup> bar <sup>-1</sup> )	Ukupni otpor filtracije začepljene membrane Rt (m <sup>-1</sup> *10 <sup>8</sup> )
<b>Membrana 1 (difuzor)</b>	7102.1	632,32
<b>Membrana 2 (difuzor)</b>	7388.3	596,76

<b>Membrana 3 (difuzor)</b>	7106.7	444,66
<b>Membrana 4 (SDOX)</b>	7288.6	479,17
<b>Membrana 5 (SDOX)</b>	7480.4	596,81
<b>Membrana 6 (SDOX)</b>	<b>7221.7</b>	512,97

---

Rezultati prikazani u Tablici 9. potvrđuju da sve membrane imaju približno jednaku permeabilnost za čistu vodu i kreće se u rasponu od 7102,1 do 7480,4 do  $L h^{-1} bar^{-1}$  sa srednjom vrijednošću od 7264,33  $L h^{-1} bar^{-1}$  što odgovara proizvođačkim specifikacijama. Aktivni mulj, koji je preuzet s lokalnog uređaja za biološku obradu otpadnih voda, imao je koncentraciju od  $4 gL^{-1}$ , a obrađivana je stvarna otpadna voda koja je svakodnevno dopremana s istog uređaja za obradu otpadne vode, a čiji sastav je prikazan u Tablici 5. Mulj je na taj način već bio prilagođen novom skupu operativnih uvjeta i biomasa nije mogla biti pod velikim stresom, što bi eventualno moglo uzrokovati štetan učinak na procese filtracije membrane kao što su začepeljivanje pora membrane, smanjenje fluksa membrane i porast transmembranskog tlaka (TMP) (Shah i sur., 2021). Proces obrade realne komunalne otpadne vode u MBR-u je započeo odmah nakon inokulacije aktivnog mulja pri istoj brzini filtracije, odnosno protoka izlazne vode (permeata) od  $50 Ldan^{-1}$ , postavljajući protok permeata od  $2 Lh^{-1}$ ., odnosno fluks membrane od  $20 Lh^{-1}m^{-2}$ . Stoga su vrijednosti TMP-a prikazane na Slici 57. izmjerene pri istom fluksu za sve ispitivane membrane. MBR sustavi obično rade u ciklusima s uvođenjem faza opuštanja membrana između faza filtracije kako bi se poboljšala učinkovitost filtracije same membrane. U ovom eksperimentu, kako bi se ispitale granice začepeljivanja pora membrane, faza opuštanja membrane nije bila uključena u procesu filtracije.



**Slika 57.** Transmembranski tlak u odnosu na vrijeme izlaganja filtraciji aktivnog mulja tijekom istraživanja utjecaja SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na proces filtracije u MBR

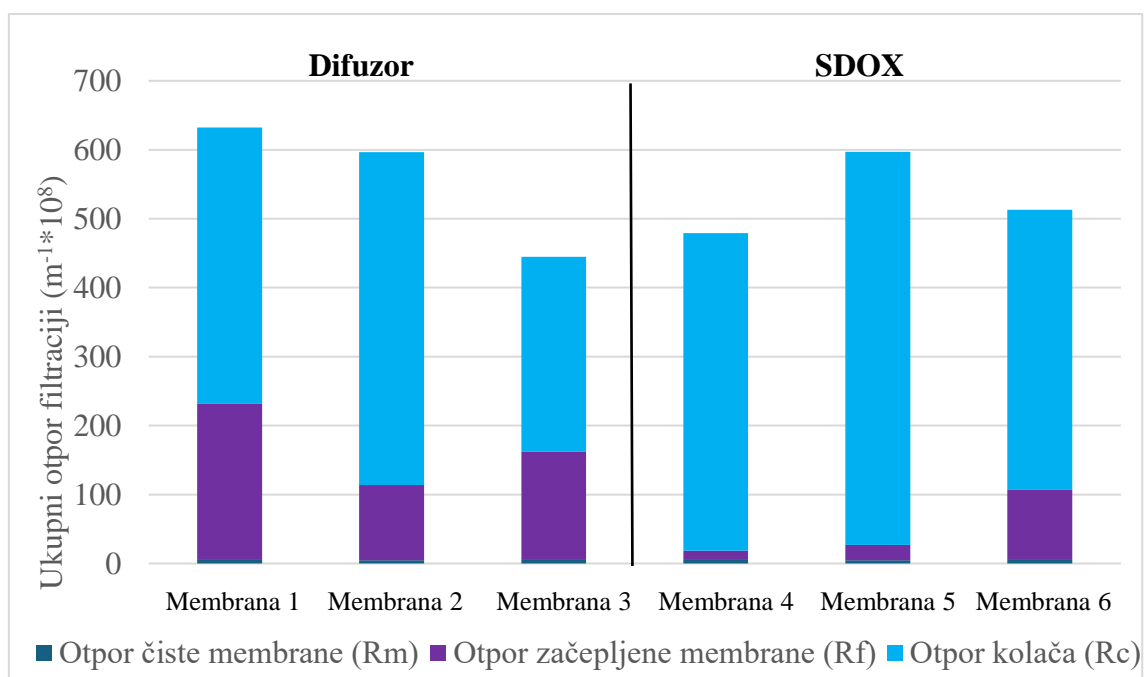
Pri radu MBR sustava tijekom konvencionalne aeracije pratile su se promjene TMP uslijed začepjivanja za tri nove membrane (Membrana 1, Membrana 2 i Membrana 3). Prva membrana (Membrana 1) postavljena na početku rada MBR-a je imala TMP od 0,0 bara i postepeno se povećao, nakon 72 sata rada, na vrijednost od -0,32 bara. Nakon doseganja vrijednosti TMP-a od -0,32 bara, Membrana 1 je zamijenjena s Membranom 2, te je MBR ponovo pušten u rad. Membrana 2 je već nakon 48 sati pokazala znakove začepjenja jer je TMP došao na vrijednost od -0,31 bar. Ovaj pad operativnog vremena rada Membrane 2 možemo pripisati prilagodbi aktivnog mulja na nove uvjete rada i pucanju flokula mulja (dezintegracije mulja) uslijed smicajnih sila pri konstantnoj cirkulaciji aktivnog mulja, učincima turbulencije i miješanja koje pružaju difuzori mjehurića u bazenu MBR-a, te vjerojatno učincima pritiska na površinu membrane što je doprinijelo prisutnosti velikih količina malih razbijenih čestica koje su se smanjile s prosječnih 239  $\mu\text{m}$  na 208,83  $\mu\text{m}$ . Slične rezultate su dobili Kim i suradnici koji su također imali početno smanjenje veličina čestica sa 114  $\mu\text{m}$  na 39,8  $\mu\text{m}$  (Kim i sur., 2021). Nakon začepjenja Membrane 2, puštena je u rad Membrana 3 gdje je primijećena mnogo bolja izvedba filtracije membrane u usporedbi s Membranom 1, a pogotovo s Membranom 2, što je također vidljivo na Slici 57. Operativno vrijeme se povećalo na preko 72 sata uz TMP vrijednost od -0,22 bara kad je odlučeno da se u rad pusti SDOX



jedinica za aeraciju aktivnog mulja pri povišenom tlaku. Dulje operativno vrijeme i smanjenje otpora filtraciji (bolja permeabilnost) pripisujem smanjenju koncentracije mulja (TSS) tijekom rada jer matematički model procjene rasta biomase u bioreaktoru (Izadi i sur., 2021; Henze i sur., 2008a), s obzirom na to da sastav stvarne otpadne vode s lokalnog uređaja za biološku obradu predviđa koncentraciju aktivnog mulja  $2,4 \text{ gL}^{-1}$ , što odgovara koncentraciji od  $2,24 \text{ gL}^{-1}$  dobivenim u eksperimentu. Početkom rada SDOX jedinice, za filtraciju aktivnog mulja korištena je Membrana 4. Ovom promjenom sustava aeracije i korištenjem Membrana 4, 5 i 6, promatrali su se učinci SDOX sustava aeracije na performanse filtracije membrane. Membrana 4 je već nakon 30 sati operativnog rada postigla maksimalnu dopuštenu vrijednost TMP-a od  $-0,30$  bara. Ovo brzo pogoršanje filtracijskih sposobnosti Membrane 4 pripisujemo prilagodbi aktivnog mulja novim uvjetima aeracije pri povišenom tlaku uvedenim SDOX sustavom gdje dolazi do pucanja flokula mulja (dezintegracije mulja) uslijed visokog tlaka, te djelomičnom odumiranju stanica mulja, što je doprinijelo prisutnosti velikih količina malih razbijenih čestica. Ovakvo pogoršanje filtracijskih karakteristika su prijavili Kim i sur. koji su obrađivali sintetičku otpadnu vodu. Također, kada se pogleda distribucija veličine čestica može se vidjeti da se i ona izrazito promijenila radi uvjeta rada (Kim i sur., 2021). Kako je MBR nastavlja raditi s SDOX sustavom, primijećeno je povećanje operativnog vremena rada membrana i sporije povećanje vrijednosti TMP-a za sljedeće dvije ispitivane membrane. Operativno vrijeme Membrane 5 se povećalo i trajalo je 48 sati, kada je došlo za začepeljivanja pora membrane i porasta TMP vrijednosti na  $-0,31$  bar. Sljedeća Membrana 6 je pokazala operativno vrijeme rada od 96 sati do pojave potpunog začepeljivanja pora membrane i porasta TMP vrijednosti od  $-0,25$  bara, što je približno jednako brzinama začepeljivanja pora membrane prilikom konvencionalne aeracije s difuzorom. Dakle, može se zaključiti da je SDOX sustav uveo promjene u karakteristike mulja u MBR-u s negativnim kratkoročnim utjecajem na proces filtracije membrane, ali nakon prilagodbe aktivnog mulja na nove uvjete rada došlo je do stabilizacije filtracijskih karakteristika membrane.

#### 4.5.8. Utjecaj SDOX i klasičnog sustava za aeraciju (difuzor) na ukupni otpor filtraciji u MBR-u

Tijekom filtracije aktivnog mulja i rasta otpora filtraciji, odnosno smanjenju permeabilnosti membrana uslijed začepljivanja, mjereni su i otpori filtraciji kroz svih šest membrana uronjenih u MBR i to redom: ukupni otpor filtraciji ( $R_t$ ), otpor filtraciji uzrokovan membranom ( $R_m$ ), otpor filtraciji uzrokovan stvaranjem filtracijskog kolača na površini membrane ( $R_c$ ) i otpor filtraciji uzrokovan adsorpcijom otopljenih tvari u porama membrane ( $R_f$ ), a izgled filtracijske membrane nakon začepljenja prikazan je na Slici 58.



**Slika 58.** Ukupni otpor filtraciji ( $R_t = R_c + R_m + R_f$ ) membrana

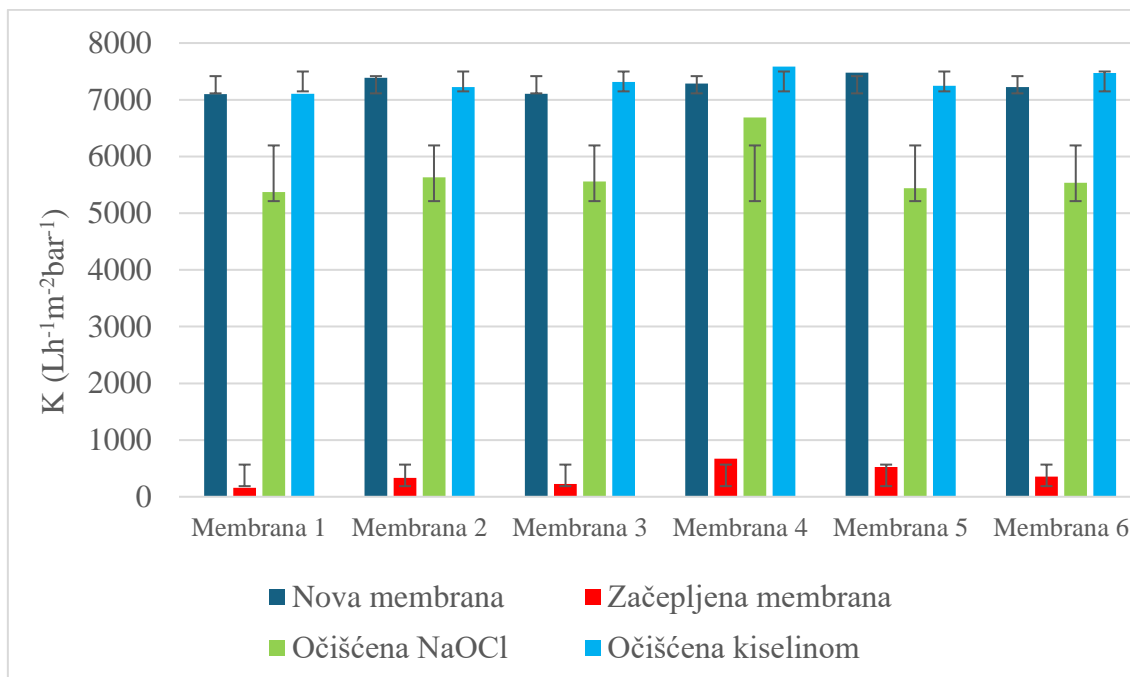
Ukupni otpor filtraciji ( $R_t$ ) prikazan je na Slici 58. i varirao je od  $444 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$  za Membranu 3 do  $632 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$  za Membranu 1, dok su vrijednosti ostalih membrana bile unutar tog intervala. Iz vrijednosti otpora filtraciji filtracijskog kolača na površini membrane ( $R_c$ ), za vrijeme konvencionalne aeracije difuzorom, vidljivo je da je stvoren veliki filtracijski kolač uzrokovan suspendiranim česticama, a razlog tomu je nedostatak nekog tipa fizičkog čišćenja membrane tijekom procesa filtracije (protustrujno pranje, relaksacija membrane, vibracija, ultrazvučno čišćenje). Vrijednosti otpora filtraciji

filtracijskog kolača ( $R_c$ ) na površini Membrane 1 je iznosio je  $440 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$  što je 63,3 % od ukupnog otpora filtraciji koji je iznosio  $632,32 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ . Membrana 2 imala je otpor filtracijskog kolača  $483,03 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$  od ukupnog otpora od  $596,6 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$  što čini 80,1 %. Ovo povećanje udjela  $R_c$  u ukupnom otporu filtracije pripisujemo duljem operativnom radu Membrane 2 naspram Membrane 1 (Slika 57.) i blagom smanjenju koncentracije aktivnog mulja (Slika 55.). Primijećeno je značajno smanjenje ukupnog otpora filtraciji Membrane 3. od  $444 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ . Razlog tomu mogla je biti smanjena koncentracija aktivnog mulja, odnosno TSS vrijednost koja je iznosila  $1,6 \text{ gL}^{-1}$ , a razlog je promjena načina aeracije i prilagodba aktivnog mulja na uvjete aeracije pri povišenom tlaku. Ovakav trend je uočen i u radu Kim i suradnika gdje je također uočen pad TSS vrijednosti i dulje operativno vrijeme rada, ali nije evaluiran ukupni otpor filtraciji i autori su radili sa sintetičkom otpadnom vodom kao influentom te pri većim koncentracijama aktivnog mulja (Kim i sur., 2021). Udio filtracijskog otpora kolača na Membrani 3 iznosio je  $282,32 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ , odnosno 63,5 % od ukupnog otpora filtraciji što je približno jednako rezultatima Membrane 1. Ovakvi rezultati, te uz povratak na dulje operativno vrijeme filtracije, sugeriraju da se proces obrade otpadne vode u MBR-u ustalio i moglo se početi s eksperimentom aeracije pri povišenom tlaku u SDOX jedinici. Prilikom rada MBR-a pri aeraciji s SDOX jedinicom, mulj je recirkuliran kroz SDOX sustav visokotlačnom peristaltičkom pumpom kroz cjevovod malog promjera (6 mm). Mulj je uveden u tlačnu komoru SDOX sustava kroz mali otvor u SDOX sustavu (6 mm) i bio je izložen visokotlačnim uvjetima (5 bara) unutar same tlačne komore SDOX-a. Stoga je mulj bio izložen visokim silama smicanja i trenju koje bi mogle imati određen trenutačni utjecaj na strukturu i prirodu flokula aktivnog mulja, a time i mogući negativni utjecaj na izvedbu filtracijskih karakteristika membrane. Iz vrijednosti otpora filtraciji filtracijskog kolača na površini membrane ( $R_c$ ), za vrijeme aeracije pri povišenom tlaku u tlačnoj komori SDOX-a, vidljivo je da je stvoren veliki filtracijski kolač uzrokovan suspendiranim česticama. Vrijednosti otpora filtraciji filtracijskog kolača ( $R_c$ ) na površini Membrane 4 iznosio je  $460,79 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$  što je čak 96,2 % od ukupnog otpora filtraciji koji je iznosio  $479,17 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ , a operativno vrijeme rada membrane do začepljenja je bilo samo 30 sati. Ovakav rezultat sugerira da je aktivni mulj bio izložen velikim tlačnim i smicajnim silama što je rezultiralo razbijanju i dezintegraciji flokula aktivnog mulja (Slika 41.) što uzrokuje nastanak visokomolekularnih polimera uzrokovanih raspadom mikroorganizama

aktivnog mulja (Kim i sur., 2021; Dereli i sur., 2015) i njihovo lakše ljepljenje za stijenku membrane i stvaranje tankog sloja filma zbog svojih snažnih i kohezivnih svojstava koje djeluju kao most, omogućavajući bakterijama i okolnim česticama međusobno grupiranje i ljepljenje (Zhang i sur. 2015; Bartlett, 2002). Postavljanjem Membrane 5 primjećeno je dulje operativno vrijeme rada i blago smanjenje omjera otpora kolača ( $R_c$ ), koji je iznosio  $569,8 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ , u omjeru s ukupnim otporom filtraciji ( $R_t$ ) od  $596,81 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ , što čini 92 %. Ovakav rezultat sugerira blagi oporavak aktivnog mulja od stresa uzrokovanog visokim tlakom i samih filtracijskih karakteristika membrana. Postavljanjem i puštanjem u rad Membrane 6, operativno vrijeme rada se produžilo na 96 sati neprekidnog rada, a vrijednost filtracijskog otpora kolača je iznosio  $406,15 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ , dok je ukupni otpor filtraciji iznosio  $512,97 \text{ m}^{-1} \cdot 10^8$ , što je udio od 79 %. Ovakav rezultat ukazuje na povratak vrijednostima dobivenim u eksperimentu s konvencionalnom aeracijom difuzorom, te uz povratak na dulje operativno vrijeme filtracije, sugerira da je proces obrade otpadne vode u MBR-u uz aeraciju pri povišenom tlaku u SDOX jedinici imao samo kratkotrajni utjecaj na aktivni mulj, filtracijske karakteristike nastalog filtracijskog kolača, kao i same filtracijske karakteristike membrana.

Nadalje, veliki dio ukupnog otpora filtraciji, osim filtracijskog kolača, čini i otpor same začepljene membrane ( $R_f$ ) kojeg uzrokuje apsorpcija otopljenih tvari u samim porama membrane koje mogu biti organskog i anorganskog podrijetla (Kim i sur., 2021; Ahmed i sur., 2008).

Slika 59. opisuje srednje vrijednosti permeabilnosti na čistu vodu svih 6 membrana kao čiste nekoristene membrane, začepljene membrane izvađene iz MBR-a (bez filterskog kolača koji je otpao), te membrane čišćene s natrijevim hipokloritom i potom limunskom kiselinom. Gubitak permeabilnosti membrana u procesu filtracije aktivnog mulja bio je gotovo isti za sve ispitivane membrane, budući da je permeabilnost mjerena do točke kada je svaka membrana dosegla svoj funkcionalni limit od -0,30 bara podtlaka.



**Slika 59.** Promjene permeabilnosti membrana uslijed čepjenja aktivnim muljem i nakon kemijskog čišćenja.

Srednje vrijednosti permeabilnosti čistih nekorištenih membrana upotrijebljenih u ovom eksperimentu su se kretale u intervalima:  $7102 - 7480,4 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  što korespondira s tvorničkim specifikacijama proizvođača. Za vrijeme konvencionalne aeracije difuzorom, svakoj membrani, odmah nakon začepljivanja, izmjerena je permeabilnost s čistom vodom. Izmjerene vrijednosti bile su približno iste i kretale su se u intervalima od  $158 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  za membranu 1, do  $331 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  za Membranu 2. Puštanjem u rad aeracije pri povišenom tlaku u SDOX jedinici nije bilo velike promjene u permeabilnostima u odnosu na konvencionalnu aeraciju jer je filtracija membrana zaustavljena nakon dosezanja TMP vrijednosti od  $-0,30$  bara, a permeabilnost Membrana 4, 5 i 6 nakon začepjenja kretala se od  $352,8$  za Membranu 6 do  $671,6 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  za Membranu 4.

#### **4.6. Mogućnost povrata permeabilnosti membrana kemijskim čišćenjem**

Da bi se ispitala mogućnost povrata permeabilnosti membrana na početne vrijednosti, a ujedno i dobio uvid u vrstu onečišćenja unutar pora membrana, izvršeno je čišćenje

membrana potapanjem u otopine natrijevog hipoklorita kojom se mogu ukloniti organska onečišćenja uzrokovana prisutnošću visokomolekularnih polimera i drugih organskih spojeva nastalih bakterijskim metabolizmom i autolizom, (Shah i sur., 2021; Guo i sur., 2012; Zhang i sur., 2015), a zatim potapanjem u otopinu limunske kiseline za uklanjanje anorganskih tvari uzrokovanih prisutnošću otopljenih iona mineralnih soli prisutnih u otpadnoj vodi. Nakon čišćenja potapanjem membrane u otopinu natrijevog hipoklorita, permeabilnost svih ispitivanih membrana je porasla (Slika 59.) i kretala se u intervalima od  $5371 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  do  $6588 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$ . Mebrane 1, 2 i 3, koje su korištene u eksperimentu konvencionalne aeracije s difuzorom, imale su permeabilnost od  $5371,4 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  do  $5630,6 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$  i sve tri ispitivane membrane došle su na cca 77 % početne permeabilnosti novih neiskorištenih membrana. To je ujedno i podatak da 77 % začepjenja pora unutar membrane čine čestice organskog podrijetla. Ovakvi rezultati potvrđuju prijašnja istraživanja gdje organsko onečišćenje čini oko cca 80 % ukupnog onečišćenja membrana jer je začepljivanje uzrokovano interakcijama između membrane i komponenata aktivnog mulja, odnosno adsorpcijom makromolekula i koloida te rastom biofilma na površini membrane (Judd, 2008). Puštanjem u rad aeracije pri povišenom tlaku u SDOX jedinici, Membrana 4 je, osim velikog smanjenja operativnog vremena rada, bila i više začepljena česticama organskog podrijetla jer je nakon čišćenja membrane s natrijevim hipokloritom njena permeabilnost bila  $6688,7 \text{ Lm}^{-2}\text{bar}^{-1}$  što je činilo 91,8 % početne permeabilnosti membrane. Ovakav rezultat pripisujemo organskom onečišćenju uzrokovanom prisutnošću visokomolekularnih polimera i drugih organskih spojeva (Kim i sur., 2020b) nastalih djelovanjem visokog tlaka i smicajnih sila uzrokovanih puštanjem u rad SDOX jedinice. Membrana 5 je nakon začepjenja potopljena u otopinu natrijevog hipoklorita a nakon toga ispitana je permeabilnost. Rezultat permeabilnosti Membrane 5 pokazao je vrijednost od  $5439,2 \text{ Lm}^{-2}\text{bar}^{-1}$  ili 74,6 % početne vrijednosti za permeabilnost Membrane 5, što korespondira s vrijednostima dobivenih permeabilnosti membrana koje su radile za vrijeme konvencionalne aeracije. Membrana 6 je ponovila slične rezultate kao i Membrana 5. Permeabilnost Membrane 6 nakon tretiranja s natrijevim hipokloritom je porasla na 76,6 % početne vrijednosti nove i nekorištene membrane, odnosno permeabilnost je iznosila  $5535,9 \text{ Lm}^{-2}\text{bar}^{-1}$ . Uz daljnje povećanje operativnog vremena od 96 sati, ovakav rezultat permeabilnosti membrane sugerira da se proces filtracije otpadne vode iz MBR-a ustalio i postigao slične vrijednosti

kao pri filtraciji kad MBR radi uz konvencionalnu aeraciju. Nakon čišćenja začepljenih membrana s natrijevim hipokloritom, izvršeno je čišćenje svih šest membrana potapljanjem istih u otopinu limunske kiseline a nakon toga je izvršeno mjerenje permeabilnosti. Izmjerene vrijednosti iznosile su 7106,7 Lm<sup>-2</sup>bar<sup>-1</sup> do 7583,5 Lm<sup>-2</sup>bar<sup>-1</sup> što su gotovo jednake vrijednosti permeabilnosti novih i nekorištenih membrana na početku eksperimenta. Ovakvi rezultati sugeriraju da 20 % do 25 % začepljenja unutar pora filtracijske membrane čine iskristalizirane anorganske čestice topljive u kiselinama. Sastav anorganskih čestica nije evaluiran u ovom radu pa je za odgovor na ovo istraživačko pitanje potrebno izvršiti dodatna istraživanja. Ovo istraživanje navodi na zaključak da aeracija pri povišenom tlaku u SDOX jedinici nema značajnijeg utjecaja na filtracijske karakteristike membrana za filtraciju aktivnog mulja u MBR-u, osim na početku, što pripisujemo potrebi prilagodbe aktivnog mulja na nove uvjete rada.

## **5. ZAKLJUČCI**



- Uvođenje visoke koncentracije acetata u uzgoju PAO-a kratkoročno negativno utječe na EBPR pri niskoj koncentraciji PAO-a, ali nema učinka kada su PAO-i dovoljno uspostavljeni. Visoke koncentracije acetata mogu se koristiti bez negativnih učinaka na EBPR ako se PAO-i postepeno prilagode. Nagli porast koncentracije acetata može smanjiti performanse EBPR-a. Postupno povećanje koncentracije acetata izbjegava prekomjerne ostatke nakon anaerobne faze, jer visoka koncentracija acetata smanjuje asimilaciju fosfora u aerobnoj fazi.
- Promjena režima ugoja PAO-a u SBR-u sa 6-satnog ciklusa na 24-satni ciklus nije imao značajnijeg utjecaja na učinkovitu obradu otpadnih voda.
- Aeracija pri povišenom tlaku negativno utječe na EBPR proces, biološku aktivnost aktivnog mulja i fizikalnokemijske karakteristike mulja obogaćenog PAO-ima. Promjena režima aeracije uzrokuje raspad PAO-a, porast fosfora u efluentu i smanjenje njihove biološke aktivnosti. Rezultati pokazuju porast fosfora i smanjenje biološke aktivnosti, te da aeracija pri povišenom tlaku povećava sitne čestice u efluentu, što može uzrokovati začepeljivanje membrana u MBR sustavima.
- Primjena aeracije pri povišenom tlaku u SDOX-u nije značajno negativno utjecala na biološko uklanjanje dušika iz otpadne vode. Proces nitrifikacije bio je uspješan, ali porast TN u efluentu nastao je zbog odumiranja biomase i oslobađanja citoplazmatskog sadržaja. Nedovoljno uklanjanje TN-a pripisuje se neuspješnoj denitrifikaciji zbog niskog omjera KPK/N, karakterističnog za komunalne otpadne vode.
- Aeracija pri povišenom tlaku u SDOX jedinici nije imala značajnijeg utjecaja SDOX-a na koncentraciju suspendiranih tvari (TSS, VSS, ISS) u suspenziji aktivnog mulja i nije došlo do značajnije promjene u odnosu na konvencionalnu aeraciju.
- Vrijednosti KPK i BPK5 obrađene otpadne vode zadovoljavaju zakonske regulative za ispuštanje. Učinkovitost uklanjanja organskih tvari bila je 92,92 % pri konvencionalnoj aeraciji i 93,3 % pri aeraciji pri povišenom tlaku u SDOX-u, što pokazuje da je uklanjanje organskih tvari uspješno i gotovo jednako za oba

načina aeracije.

- Prelaskom na aeraciju pri povišenom tlaku SDOX nije značajno promijenio indeks taloživosti mulja (SVI), koji je ostao između 83 i 120 mL g<sup>-1</sup>. Taloživost mulja ostala je dobra, a mulj je bio gust, pahuljast i brzo se taložio. Supernatant je bio bistar, što ukazuje na dobru ravnotežu žive i mrtve biomase.
- SDOX sustav smanjio je veličinu čestica aktivnog mulja sa 181,97 mm na 91,2 mm, ali to nije kritično utjecalo na koncentraciju suspendiranih tvari i omjer VSS/TSS u MBR sustavu. Uvjeti povišenog tlaka i smicanje nisu značajno uzrokovali liziranje ili inaktivaciju stanica, niti gubitak suspendiranih tvari.
- Aeracija pri povišenom tlaku SDOX sustava privremeno je negativno utjecala na aktivni mulj i filtracijske karakteristike, ali nakon prilagodbe mulja, karakteristike su se stabilizirale. Nije bilo značajne promjene u permeabilnosti u odnosu na konvencionalnu aeraciju i nije imala značajan dugoročni utjecaj na filtracijske karakteristike membrana.

## **6. LITERATURA**

- Ahmed Z, Lim B-R, Cho J, Song K-G, Kim K-P, Ahn K-H (2008) Biological nitrogen and phosphorus removal and changes in microbial community structure in a membrane bioreactor: Effect of different carbon sources. *Water Res* **42**, 198–210. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.062>
- Banadda EN, Jenné R, Smets IY, Gins G, Mys M, Van Impe JF (2004) Identification and modeling of the sludge volume index by exploiting image analysis information. *IFAC Proc Vol* **37**, 85–90. [https://doi.org/10.1016/s1474-6670\(17\)32564-8](https://doi.org/10.1016/s1474-6670(17)32564-8)
- Barreto CM, Garcia HA, Hooijmans CM, Herrera A, Brdjanovic D (2017) Assessing the performance of an MBR operated at high biomass concentrations. *Int Biodeterior Biodegradation* **119**, 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.006>
- Bassin JP, Kleerebezem R, Dezotti M, van Loosdrecht MCM (2012) Simultaneous nitrogen and phosphate removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. *Water Res* **46**, 3805–3816. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.015>
- Blackburne R, Vadivelu VM, Yuan Z, Keller J (2007) Determination of Growth Rate and Yield of Nitrifying Bacteria by Measuring Carbon Dioxide Uptake Rate. *Water Environ Res* **79**, 2437–2445. <https://doi.org/10.2175/106143007X212139>
- Cano G, Mouahid A, Carretier E, Moulin P (2014a) Biomass Concentration by Density Measurement: Activated Sludge and Membrane Bioreactor. *J Water Sustain* **4**, 49–61
- Cano G, Mouahid A, Carretier E, Moulin P (2014b) Biomass Concentration by Density Measurement: Activated Sludge and Membrane Bioreactor. *J Water Sustain* **4**, 49–61
- Carucci A, Lindrea K, Majone M, Ramadori R (1999) Different mechanisms for the anaerobic storage of organic substrates and their effect on Enhanced Biological Phosphate Removal (EBPR). In: *Water Science and Technology*. Elsevier Science Ltd, p 21–28.
- Carvalho M, Oehmen A, Carvalho G, Eusébio M, Reis MAM (2014) The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Res* **66**, 296–307.

- <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.033>
- Chang I-S, Le Clech P, Jefferson B, Judd S (2002) Membrane Fouling in Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment. *J Environ Eng* **128**, 1018–1029.  
[https://doi.org/10.1061/\(asce\)0733-9372\(2002\)128:11\(1018\)](https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(2002)128:11(1018))
- Chang WC, Chiou RJ, Ouyang CF (1996) The effect of residual substrate utilization on sludge settling in an enhanced biological phosphorus removal process. *Water Sci Technol* **34**, 425–430. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00531-8](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00531-8)
- Chen H, Zhou W, Xu Z, Liu F, Feng P, Su L, i sur. (2021) Nitrogen and phosphorus removal by GAOs and PAOs using nitrate and limited oxygen as electron acceptors simultaneously and the impact of external carbon source in the anoxic phase. *J Environ Chem Eng* **9**, 106520. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106520>
- Chen L, Chen H, Hu Z, Tian Y, Wang C, Xie P, i sur. (2022) Carbon uptake bioenergetics of PAOs and GAOs in full-scale enhanced biological phosphorus removal systems. *Water Res* **216**, 118258.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118258>
- Chuang SH, Chang WC, Huang YH, Tseng CC, Tai CC (2011) Effects of different carbon supplements on phosphorus removal in low C/P ratio industrial wastewater. *Bioresour Technol* **102**, 5461–5465. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.118>
- Ciešlik BM, Namieśnik J, Konieczka P (2015) Review of sewage sludge management: Standards, regulations and analytical methods. *J. Clean. Prod.* **90**:1–15.
- Crnek V, Tomić VM, Vuković M, Čurko J, Matošić M (2024) Influence of high acetate concentrations on enhanced biological phosphorus removal. *Int J Environ Sci Technol*. <https://doi.org/10.1007/s13762-024-05555-2>
- Dereli RK, Loverdou L, van der Zee FP, van Lier JB (2015) A systematic study on the effect of substrate acidification degree and acidogenic biomass on sludge filterability. *Water Res* **82**, 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.04.044>
- Du X, Shi Y, Jegatheesan V, Ul Haq I (2020) A review on the mechanism, impacts and control methods of membrane fouling in MBR system
- Eddy M and (2014) *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, Fifth Edition
- Ekama GA, Wentzel MC (2020) Organic matter removal. In: Chen GH, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D (eds) *Biological Wastewater Treatment : Principles, Modelling and Design*, 2nd edn. IWA Publishing, p 111–160.

- Ekama GA, Wentzel MC (1999) Denitrification kinetics in biological N and P removal activated sludge systems treating municipal wastewaters. In: *Water Science and Technology*
- Ficara E, Canziani R (2007) Monitoring Denitrification by pH-Stat Titration. *J Anat* **189** ( Pt 3, 503–505. <https://doi.org/10.1002/bit>
- Filipe CDM, Daigger GT, Grady CPL (2001a) pH as a Key Factor in the Competition Between Glycogen-Accumulating Organisms and Phosphorus-Accumulating Organisms. *Water Environ Res* **73**, 223–232. <https://doi.org/10.2175/106143001X139209>
- Filipe CDM, Daigger GT, Leslie Grady Jr CP (2001b) pH as a Key Factor in the Competition Between Glycogen-Accumulating Organisms. *Water Environ Res* **73**, 223–232
- Freitas F, Temudo MF, Carvalho G, Oehmen A, Reis MAM (2009a) Robustness of sludge enriched with short SBR cycles for biological nutrient removal. *Bioresour Technol* **100**, 1969–1976. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.031>
- Freitas F, Temudo MF, Carvalho G, Oehmen A, Reis MAM (2009b) Robustness of sludge enriched with short SBR cycles for biological nutrient removal. *Bioresour Technol* **100**, 1969–1976. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.031>
- Gamble JF, Akseli I, Ferreira AP, Leane M, Thomas S, Tobyn M, i sur. (2023) Morphological distribution mapping: Utilisation of modelling to integrate particle size and shape distributions. *Int J Pharm* **635**, 122743. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122743>
- Gamble JF, Dawson N, Murphy D, Theophilus A, Kippax P (2019) A Proposal for an Alternative Approach to Particle Size Method Development During Early-Stage Small Molecule Pharmaceutical Development. *J Pharm Sci* **108**, 3515–3520. <https://doi.org/10.1016/J.XPHS.2019.08.007>
- Gander M, Jefferson B, Judd S (2000) Aerobic MBRs for domestic wastewater treatment: A review with cost considerations. *Sep Purif Technol* **18**, 119–130. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(99\)00056-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(99)00056-8)
- Gao D, PENG Y, LI B, LIANG H (2009) Shortcut nitrification–denitrification by real-time control strategies. *Bioresour Technol* **100**, 2298–2300. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.017>

- Gernaey K V., van Loosdrecht MC., Henze M, Lind M, Jørgensen SB (2004) Activated sludge wastewater treatment plant modelling and simulation: state of the art. *Environ Model Softw* **19**, 763–783. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2003.03.005>
- Ginige MP, Kayaalp AS, Cheng KY, Wylie J, Kaksonen AH (2013) Biological phosphorus and nitrogen removal in sequencing batch reactors: Effects of cycle length, dissolved oxygen concentration and influent particulate matter. *Water Sci Technol*. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.324>
- Grgas D, Štefanac T, Galant M, Brozinčević A, Štrkalj A, Dragičević TL (2021) 2), 2021 CROATIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY, BIOTECHNOLOGY AND NUTRITION Nacionalni park Plitvička jezera. *Croat J Food Technol* **16**, 28–34
- Guerrero J, Guisasola A, Baeza JA (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. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.06.019>
- Henze M, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D (2008a) *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. IWA Publishing, London.
- Henze M, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D (2008b) *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. IWA Publishing, London.
- 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 Microbiol Biotechnol* **18**, 355–360. <https://doi.org/10.1023/A:1015258308460>
- Hu Z-R, Wentzel MC, Ekama GA (2002) Anoxic growth of phosphate-accumulating organisms (PAOs) in biological nutrient removal activated sludge systems. *Water Res* **36**, 4927–4937
- Izadi P, Izadi P, Eldyasti A (2022) Evaluation of PAO adaptability to oxygen concentration change: Development of stable EBPR under stepwise low-aeration adaptation. *Chemosphere* **286**, 131778. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131778>

- Izadi P, Izadi P, Eldyasti A (2021) A review of biochemical diversity and metabolic modeling of EBPR process under specific environmental conditions and carbon source availability. *J Environ Manage* **288**, 112362.  
<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.112362>
- Jena J, Kumar R, Saifuddin M, Dixit A, Das T (2016) Anoxic–aerobic SBR system for nitrate, phosphate and COD removal from high-strength wastewater and diversity study of microbial communities. *Biochem Eng J* **105**, 80–89.  
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.09.007>
- Jillavenkatesa A, Dapkunas SJ, Lum L-SH (2001) NIST recommended practice guide : Particle Size Characterization
- Jones RM, Dold PL, Takács I, Chapman K, Wett B, Murthy S, i sur. (2007) Proceedings of the Water Environment. In: Simulation for operation and control of reject water treatment processes. p 4357–4372.
- Jubany I, Carrera J, Lafuente J, Baeza JA (2008) Start-up of a nitrification system with automatic control to treat highly concentrated ammonium wastewater: Experimental results and modeling. *Chem Eng J* **144**, 407–419.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.02.010>
- Judd S (2008) The status of membrane bioreactor technology. *Trends Biotechnol* **26**, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.11.005>
- Kim SY, Curko J, Matosic M, Herrera A, Lopez-Vazquez CM, Brdjanovic D, i sur. (2023a) Effects of a sidestream concentrated oxygen supply system on the membrane filtration performance of a high-loaded membrane bioreactor. *Environ Res* **237**, 116914. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116914>
- Kim SY, Curko J, Matosic M, Herrera A, Lopez-Vazquez CM, Brdjanovic D, i sur. (2023b) Effects of a sidestream concentrated oxygen supply system on the membrane filtration performance of a high-loaded membrane bioreactor. *Environ Res* **237**, 116914. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116914>
- Kim SY, Garcia HA, Lopez-Vazquez CM, Milligan C, Herrera A, Matosic M, i sur. (2020a) Oxygen transfer performance of a supersaturated oxygen aeration system (SDOX) evaluated at high biomass concentrations. *Process Saf Environ Prot* **139**, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.03.026>
- Kim SY, Garcia HA, Lopez-Vazquez CM, Milligan C, Herrera A, Matosic M, i sur.



- (2020b) Oxygen transfer performance of a supersaturated oxygen aeration system (SDOX) evaluated at high biomass concentrations. *Process Saf Environ Prot* **139**, 171–181. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2020.03.026>
- Kim SY, Lopez-Vazquez CM, Curko J, Matosic M, Svetec IK, Štafa A, i sur. (2021) Supersaturated-oxygen aeration effects on a high-loaded membrane bioreactor (HL-MBR): Biological performance and microbial population dynamics. *Sci Total Environ* **771**, 144847. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144847>
- Lanham AB, Oehmen A, Saunders AM, Carvalho G, Nielsen PH, Reis MAM (2014) Metabolic modelling of full-scale enhanced biological phosphorus removal sludge. *Water Res* **66**, 283–295. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.036>
- Lay WCL, Liu Y, Fane AG (2010) Impacts of salinity on the performance of high retention membrane bioreactors for water reclamation: A review. *Water Res.* **44**:21–40.
- Lemaire R, Yuan Z, Blackall LL, Crocetti GR (2008) Microbial distribution of *Accumulibacter* spp. and *Competibacter* spp. in aerobic granules from a lab-scale biological nutrient removal system. *Environ Microbiol* **10**, 354–363. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01456.x>
- Li D, Lv Y, Zeng H, Zhang J (2016) Effect of sludge retention time on continuous-flow system with enhanced biological phosphorus removal granules at different COD loading. *Bioresour Technol* **219**, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.093>
- Liu S, Li Y, Lu L, Huang G, Chen F, Zuo J (2024) Efficient Nitrogen Removal using a Continuous-Flow Reactor with Double-Layer Alternating Aeration for Treating Municipal Wastewater. *Water, Air, Soil Pollut* **235**, 96. <https://doi.org/10.1007/s11270-024-06898-9>
- Lopez-Vazquez CM (2009) The competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms: temperature effects and modelling. 237
- Lopez-Vazquez CM, Hooijmans CM, Brdjanovic D, Gijzen HJ, van Loosdrecht MCM (2009a) Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *Water Res.* <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.038>
- Lopez-Vazquez CM, Hooijmans CM, Brdjanovic D, Gijzen HJ, van Loosdrecht MCM

- (2009b) Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *Water Res* **43**, 2852–2864. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.038>
- Lopez-Vazquez CM, Oehmen A, Hooijmans CM, Brdjanovic D, Gijzen HJ, Yuan Z, i sur. (2009c) Modeling the PAO-GAO competition: Effects of carbon source, pH and temperature. *Water Res* **43**, 450–462. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.032>
- Lopez-Vazquez CM, Wentzel MC, Comeau Y, Van Loosdrecht MCM, Brdjanovic D, Oehmen A (2020) Enhanced biological phosphorus removal. In: Chen GH, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D (eds) *Biological Wastewater Treatment : Principles, Modelling and Design*, 2nd edn. IWA Publishing, p 239–326.
- Martín HG, Ivanova N, Kunin V, Warnecke F, Barry KW, McHardy AC, i sur. (2006) Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. *Nat Biotechnol* **24**, 1263–1269. <https://doi.org/10.1038/nbt1247>
- Matošić M, Crnek V, Jakopović HK, Mijatović I (2009) Municipal wastewater treatment in a membrane bioreactor. *Fresenius Environ Bull* **18**
- Meinhold J, Arnold E, Isaacs S (1999) Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge. *Water Res* **33**, 1871–1883. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00411-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00411-4)
- Metcalf W, Eddy C (2003) *Metcalf and Eddy Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. Wastewater Eng Treat Reuse McGraw Hill New York, NY
- Mino T, Van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ (1998) Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Res.* 32:3193–3207.
- Mohamed AYA, Welles L, Siggins A, Healy MG, Brdjanovic D, Rada-Ariza AM, i sur. (2021) Effects of substrate stress and light intensity on enhanced biological phosphorus removal in a photo-activated sludge system. *Water Res* **189**, 116606. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116606>
- Monclús H, Sipma J, Ferrero G, Comas J, Rodriguez-Roda I (2010) Optimization of biological nutrient removal in a pilot plant UCT-MBR treating municipal wastewater during start-up. *Desalination* **250**, 592–597. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.09.030>

- Narodne novine 64/2023 (2023) Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analiza i monitorinzima vode namijenjene za ljudsku potrošnju. *Nar novine 64/2023* 23–42
- Nielsen JL, Seviour RJ, Nielsen PH (2016) Microscopy. In: van Loosdrecht MCM, Lopez-Vazquez CM, Nielsen PH, Brdjanovic D (eds) *Experimental Methods in Wastewater Treatment*. IWA Publishing, p 263–284.
- Oehmen A, Lemos P, Carvalho G, Yuan Z, Keller J, Blackall L, i sur. (2007a) Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Res* **41**, 2271–2300. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.030>
- Oehmen A, Lemos PC, Carvalho G, Yuan Z, Keller J, Blackall LL, i sur. (2007b) Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Res* **41**, 2271–2300. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.030>
- Oehmen A, Vives MT, Lu H, Yuan Z, Keller J (2005) The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Res* **39**, 3727–3737. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.06.031>
- Panswad T, Doungchai A, Anotai J (2003) Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Res* **37**, 409–415. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00286-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00286-5)
- Pijuan M, Ye L, Yuan Z (2010) Free nitrous acid inhibition on the aerobic metabolism of poly-phosphate accumulating organisms. *Water Res* **44**, 6063–6072. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.075>
- Qiu G, Zuniga-Montanez R, Law Y, Thi SS, Nguyen TQN, Eganathan K, i sur. (2019) Polyphosphate-accumulating organisms in full-scale tropical wastewater treatment plants use diverse carbon sources. *Water Res* **149**, 496–510. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.011>
- Randall CW, Chapin RW (1997) Acetic acid inhibition of biological phosphorus removal. *Water Environ Res* **69**, 955–960. <https://doi.org/10.2175/106143097X125641>
- Rocco MJ, Hafuka A, Tsuchiya T, Kimura K (2023) Efficient Recovery of Organic Matter from Municipal Wastewater by a High-Rate Membrane Bioreactor Equipped with Flat-Sheet Ceramic Membranes. *Membranes (Basel)* **13**. <https://doi.org/10.3390/membranes13030300>

- Rubio-Rincón FJ, Lopez-Vazquez CM, Welles L, van Loosdrecht MCM, Brdjanovic D (2017) Cooperation between Candidatus Competibacter and Candidatus Accumulibacter clade I, in denitrification and phosphate removal processes. *Water Res* **120**. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.05.001>
- Schuler AJ, Jenkins D (2002) Effects of pH on enhanced biological phosphorus removal metabolisms. *Water Sci Technol* **46**, 171–178. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0579>
- Shah SSA, De Simone L, Bruno G, Park H, Lee K, Fabbricino M, i sur. (2021) Quorum quenching, biological characteristics, and microbial community dynamics as key factors for combating fouling of membrane bioreactors. *npj Clean Water* **4**. <https://doi.org/10.1038/s41545-021-00110-9>
- Sibag M, Kim H-S (2012) Nitrification denitrification enhanced biological phosphorous removal (NDEBPR) occurs in a lab-scale alternating hypoxic/oxic membrane bioreactor. *Bioresour Technol* **104**, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.001>
- Smolders GJF, van der Meij J, van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ (1994a) Stoichiometric model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process. *Biotechnol Bioeng* **44**, 837–848. <https://doi.org/10.1002/bit.260440709>
- Smolders GJF, Van Der Meij J, Van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ (1994b) Stoichiometric Model of the Aerobic Metabolism of the Biological Phosphorus Removal Process. *Biotechnol Bioeng* **44**, 837–848
- Sözen S, Cokgor EU, Insel G, Okutman Tas D, Dulkadiroglu H, Karaca C, i sur. (2014) Scientific basis of dissolved organic carbon limitation for landfilling of municipal treatment sludge – Is it attainable and justifiable? *Waste Manag* **34**, 1657–1666. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2014.05.024>
- Sugawara E, Nikaido H (2014) Properties of AdeABC and AdeIJK efflux systems of *Acinetobacter baumannii* compared with those of the AcrAB-TolC system of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* **58**, 7250–7. <https://doi.org/10.1128/AAC.03728-14>
- Sun DD, Liu S (2013) Comparison study on membrane fouling by various sludge fractions with long solid retention time in membrane bioreactor. *Membr Water*

- Treat* **4**, 175–189. <https://doi.org/10.12989/mwt.2013.04.3.175>
- Tchobanoglous, Burton, Stensel (2003) Metcalf & Eddy, Inc. Wastewater Engineering Treatment and Reuse
- Tian Q, Zhuang L, Ong SK, Wang Q, Wang K, Xie X, i sur. (2017a) Phosphorus (P) recovery coupled with increasing influent ammonium facilitated intracellular carbon source storage and simultaneous aerobic phosphorus & nitrogen removal. *Water Res* **119**, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.050>
- Tian Q, Zhuang L, Ong SK, Wang Q, Wang K, Xie X, i sur. (2017b) Phosphorus (P) recovery coupled with increasing influent ammonium facilitated intracellular carbon source storage and simultaneous aerobic phosphorus & nitrogen removal. *Water Res* **119**, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.050>
- Tu Y, Schuler AJ (2014) Metabolisms of Acetate Transport in EBPR and Biokinetics for PAOs and Gaos. *Proc Water Environ Fed* **2013**, 758–770. <https://doi.org/10.2175/193864713813526058>
- Tu Y, Schuler AJ (2013) Low Acetate Concentrations Favor Polyphosphate-Accumulating Organisms over Glycogen-Accumulating Organisms in Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewater. <https://doi.org/10.1021/es304846s>
- Valverde-Pérez B, Wágner DS, Lóránt B, Gülay A, Smets BF, Plósz BG (2016a) Short-sludge age EBPR process – Microbial and biochemical process characterisation during reactor start-up and operation. *Water Res* **104**, 320–329. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.026>
- Valverde-Pérez B, Wágner DS, Lóránt B, Gülay A, Smets BF, Plósz BG (2016b) Short-sludge age EBPR process – Microbial and biochemical process characterisation during reactor start-up and operation. *Water Res* **104**, 320–329. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.026>
- van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Lopez-Vazquez CM, Meijer SC., Hooijmans CM, Brdjanovic D (2020a) Modelling activated sludge processes. In: Van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Vazquez CML, Meijer SCF, Hooijmans CM, Brdjanovic D (eds) *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modeling and Design*. IWA Publishing, p 613–666.
- van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Lopez-Vazquez CM, Meijer SC., Hooijmans CM,

- Brdjanovic D (2020b) Modelling activated sludge processes. In: Chen GH, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D (eds) *Biological Wastewater Treatment : Principles, Modelling and Design*, 2nd edn. IWA Publishing, p 613–700.
- Van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Vazquez CML, Meijer SCF, Hooijmans CM, Brdjanovic D (eds) (2020) Modelling activated sludge processes. In: *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modeling and Design*. IWA Publishing, p 613–666.
- van Loosdrecht MCM, Nielsen PH, Lopez-Vazquez CM, Brdjanovic D (2016a) Experimental Methods in Wastewater Treatment. *Water Intell Online* **15**, 9781780404752–9781780404752. <https://doi.org/10.2166/9781780404752>
- van Loosdrecht MCM, Nielsen PH, Lopez-Vazquez CM, Brdjanovic D (2016b) Experimental Methods in Wastewater Treatment. *Water Intell Online* **15**, 9781780404752–9781780404752. <https://doi.org/10.2166/9781780404752>
- Wadams RC, Akseli I, Albrecht J, Ferreira AP, Gamble JF, Leane M, i sur. (2022) Particle Property Characterization and Data Curation for Effective Powder Property Modeling in the Pharmaceutical Industry. *AAPS PharmSciTech* **23**. <https://doi.org/10.1208/S12249-022-02434-2>
- Wang L, Shen N, Oehmen A, Zhou Y (2020a) The impact of temperature on the metabolism of volatile fatty acids by polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Environ Res* **188**, 109729. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109729>
- Wang L, Shen N, Oehmen A, Zhou Y (2020b) The impact of temperature on the metabolism of volatile fatty acids by polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Environ Res* **188**, 109729. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109729>
- Wang Y, Guo G, Wang H, Stephenson T, Guo J, Ye L (2013) Long-term impact of anaerobic reaction time on the performance and granular characteristics of granular denitrifying biological phosphorus removal systems. *Water Res.* 47:5326–5337.
- Wang Y, Pan M, Yan M, Peng Y, Wang S (2007) Characteristics of anoxic phosphorus removal in sequence batch reactor. *J Environ Sci* **19**, 776–782. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(07\)60130-2](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(07)60130-2)
- Wentzel MC, Ekama GA, Dold PL, Marais G v. R (1990) Biological excess phosphorus removal. Steady state process design. *Water SA* **16**, 29–48

- Wu D, Ekama GA, Lu H, Chui H-K, Liu W-T, Brdjanovic D, i sur. (2013) A new biological phosphorus removal process in association with sulfur cycle. *Water Res* **47**, 3057–3069. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.009>
- Wu D, Ekama GA, Wang HG, Wei L, Lu H, Chui HK, i sur. (2014) Simultaneous nitrogen and phosphorus removal in the sulfur cycle-associated Enhanced Biological Phosphorus Removal (EBPR) process. *Water Res* **49**, 251–264. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.11.029>
- Wu H, Zhang Q, Chen X, Wang L, Luo W, Zhang Z, i sur. (2021) Effect of HRT and BDPs types on nitrogen removal and microbial community of solid carbon source SND process treating low carbon/nitrogen domestic wastewater. *J Water Process Eng* **40**, 101854. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101854>
- Xiao K, Abbt-Braun G, Horn H (2020) Changes in the characteristics of dissolved organic matter during sludge treatment: A critical review. *Water Res* **187**, 116441. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2020.116441>
- Xie T, Mo C, Li X, Zhang J, An H, Yang Q, i sur. (2017) Effects of different ratios of glucose to acetate on phosphorus removal and microbial community of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) system. *Environ Sci Pollut Res* **24**, 4494–4505. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7860-1>
- Yang W, Cicek N, Ilg J (2006) State-of-the-art of membrane bioreactors: Worldwide research and commercial applications in North America. *J Memb Sci* **270**, 201–211. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2005.07.010>
- Yu H, Shangguan S, Xie C, Yang H, Wei C, Rong H, i sur. (2022) Chemical Cleaning and Membrane Aging in MBR for Textile Wastewater Treatment. *Membranes (Basel)* **12**. <https://doi.org/10.3390/membranes12070704>
- Yuan Z, Blackall LL (2002) Sludge population optimisation: a new dimension for the control of biological wastewater treatment systems. *Water Res* **36**, 482–490. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00230-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00230-5)
- Zeng T, Wang D, Li X, Ding Y, Liao DX, Yang Q, i sur. (2013) Comparison between acetate and propionate as carbon sources for phosphorus removal in the aerobic/extended-idle regime. *Biochem Eng J* **70**, 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.10.014>
- Zeng W, Li B, Wang X, Bai X, Peng Y (2016) Influence of nitrite accumulation on

- “Candidatus Accumulibacter” population structure and enhanced biological phosphorus removal from municipal wastewater. *Chemosphere* **144**.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.064>
- Zhang C, Chen Y, Randall AA, Gu G (2008) Anaerobic metabolic models for phosphorus- and glycogen-accumulating organisms with mixed acetic and propionic acids as carbon sources. *Water Res* **42**, 3745–3756.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.06.025>
- Zhang C, Guisasola A, Baeza JA (2022a) A review on the integration of mainstream P-recovery strategies with enhanced biological phosphorus removal. *Water Res* **212**, 118102. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118102>
- Zhang C, Guisasola A, Baeza JA (2022b) A review on the integration of mainstream P-recovery strategies with enhanced biological phosphorus removal. *Water Res* **212**.  
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2022.118102>
- Zhang Q, Liu S, Yang C, Chen F, Lu S (2014) Bioreactor consisting of pressurized aeration and dissolved air flotation for domestic wastewater treatment. *Sep Purif Technol* **138**, 186–190. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.10.024>
- Zhao J, Wang X, Li X, Jia S, Wang Q, Peng Y (2019a) Improvement of partial nitrification endogenous denitrification and phosphorus removal system: Balancing competition between phosphorus and glycogen accumulating organisms to enhance nitrogen removal without initiating phosphorus removal deterioration. *Bioresour Technol* **281**, 382–391. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.109>
- Zhao J, Wang X, Li X, Jia S, Wang Q, Peng Y (2019b) Improvement of partial nitrification endogenous denitrification and phosphorus removal system: Balancing competition between phosphorus and glycogen accumulating organisms to enhance nitrogen removal without initiating phosphorus removal deterioration. *Bioresour Technol* **281**, 382–391. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.109>
- Zheng X, Sun P, Lou J, Cai J, Song Y, Yu S, i sur. (2013) Inhibition of free ammonia to the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the recoverability. *Bioresour Technol* **148**, 343–351.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.100>



## **7. PRILOG**

## 7.1. Popis i objašnjenje skraćenica korištenih u ovom radu

AOB - amonij oksidirajuće bakterije

APHA - (engl. American Public Health Association) – američka udruga za zaštitu zdravlja

ATP - adenozin trifosfat

ATU - alil-tiourea

bKPK - biorazgradivi KPK

BPK<sub>5</sub> - biološka potrošnja kisika tijekom 5 dana inkubacije ( $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ )

C - ugljik

DO - (engl. dissolved oxygen) otopljeni kisik

DPAO - denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi

EBPR - (engl. enhanced biological phosphorus removal) poboljšano biološko uklanjanje fosfora

ES - ekvivalent stanovnik

F/M omjer - omjer hrane i mikroorganizama, engl. food to microorganisms

FISH - fluorescentna *in situ* hibridizacija

GAO - glikogen akumulirajući organizmi

HAc - acetat

HRT - (engl. hydraulic retention time) hidrauličko vrijeme zadržavanja (d)

ISO - (engl. International Organization for Standardization) – međunarodna udruga za standardizaciju

ISS - (engl. inorganic suspended solids) ukupna anorganska suspendirana tvar ili žareni ostatak ( $\text{mgL}^{-1}$ )

KPK - kemijska potrošnja kisika ( $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ )

KPK<sub>O</sub> - otopljeni KPK ( $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ )

KPK<sub>s</sub> - suspendirani KPK ( $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ )

lbKPK - lako-biorazgradivi KPK ( $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ )

MLSS - (engl. mixed liquor suspended solids) koncentracija suspendirane tvari u miješanoj suspenziji aktivnog mulja ( $\text{gVSSL}^{-1}$ )

MLVSS - (engl. mixed liquor volatile suspended solids) koncentracija organskog dijela suspendirane tvari u miješanoj suspenziji aktivnog mulja ( $\text{gVSSL}^{-1}$ )

N - dušik

NADH - reducirani oblik nikotinamid adenin dinukleotida

NOB - nitrit oksidirajuće bakterije

OHO - obični heterotrofni organizmi

ORP - oksidacijsko redukcijski potencijal

OUR - (engl. oxygen uptake rate) brzina unosa kisika

PAC -polialuminijev klorid

PAO - fosfor akumulirajući organizmi

PH2MV - poli-β-hidroksi-2-metilvalerata

PHA - poli-hidroksialkanoati

PHB - poli-β-hidroksibutirati

poli-P - polifosfatni lanci

sbKPK - sporo-biorazgradivi KPK

SBR - (engl. sequencing batch reactor) napuni i isprazni tip reaktora, koji se sastoji od više reaktora s kompletnim miješanjem u kojima se odvijaju svi koraci obrade aktivnim muljem

SRT - (engl. sludge retention time) starost mulja (d)

TKN - (engl. total Kjeldahl nitrogen) ukupni Kjeldahlov dušik ( $\text{mgL}^{-1}$ )

TN - (engl. total nitrogen) ukupni dušik ( $\text{mgL}^{-1}$ )

TOC - (engl. total organic carbon) – ukupni organski ugljik ( $\text{mgL}^{-1}$ )

TP - (engl. total phosphorus) ukupni fosfor ( $\text{mgL}^{-1}$ )

TSS - (engl. total suspended solids) ukupna suspendirana tvar ( $\text{mgL}^{-1}$ )

UPOV - uređaj za pročišćavanje otpadnih voda

VFA - (engl. volatile fatty acids) hlapive masne kiseline

VSS - (engl. organic suspended solids) ukupna organska suspendirana tvar ili sagorivi dio ukupne suspendirane tvari ( $\text{mgL}^{-1}$ )

WAS - (engl. Waste Activated Sludge) višak mulja koji se odvodi iz procesa