

Uklanjanje hranjivih tvari aerobnim granuliranim muljem

Dugandžić, Anđela

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:137284>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb rujan 2021.

Anđela Dugandžić

1262/BPI

**UKLANJANJE HRANJIVIH TVARI
AEROBNIM GRANULIRANIM
MULJEM**

Rad je izrađen u Laboratoriju za biološku obradu otpadnih voda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Tibeke Landeka Dragičević te uz pomoć doc. dr. sc. Dijane Grgas.

Prije svega želim se zahvaliti mentorici prof. dr. sc. Tibeli Landeka Dragičević na prihvaćenom mentorstvu, nesebičnoj pomoći, podršci, savjetima i znanju koje je prenijela na mene. Hvala joj što je vjerovala u mene i što je bila tu za mene u bilo koje doba dana. Veliko „hvala“ na strpljenju i razumijevanju za sve situacije koje su nas snašle tijekom izvođenja eksperimentalnog i pisanja teorijskog dijela diplomskog rada.

Također, veliko „hvala“ doc. dr. sc. Dijani Grgas i prof. dr. sc. Mireli Ivančić Šantek na pruženoj pomoći i savjetima tijekom pisanja diplomskog rada.

Od srca se zahvaljujem prijateljima i kolegama koji su rame uz rame bili uz mene tijekom svih ovih godina studiranja.

Svoj uspješan završetak studiranja na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu pripisujem svojoj obitelji, posebno roditeljima, koji su mi omogućili studiranje u Republici Hrvatskoj, koji su vjerovali u mene i bez kojih danas ne bi bila ono što jesam.

Na samom kraju posebna zahvala ide i mom Gospodinu koji mi je kroz molitvu i svetu misu davao snagu, ulijevao vjeru i nadu u trenucima kada sam htjela odustati. Neka ovaj moj trud i znanje bude Njemu na slavu i hvalu. A sad s diplomom u ruci i s velikim osjmehom na licu, zahvalna, ispunjena i ponosna zatvaram još jedno poglavlje u svom životu.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

UKLANJANJE HRANJIVIH TVARI AEROBNIM GRANULIRANIM MULJEM

Andžela Dugandžić, 1262

Sažetak: U ovom radu istražena je učinkovitost uklanjanja organskih sastojaka i nutrijenata iz sintetske otpadne vode koja svojim sastavom oponaša otpadnu vodu kućanstva pomoću aerobnih granula. Istražen je učinak koncentracije otopljenog kisika u rasponu 0-1 mg L⁻¹ i 1-2 mg L⁻¹ i učinak omjera kemijske potrošnje kisika i dušika KPK/N 5 i 11,5. Najveća učinkovitost uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i ukupni dušik (TN, engl. Total Nitrogen) je postignuta u kombinaciji otopljenog kisika 1-2 mg L⁻¹ i omjera KPK/N 11,5, pri čemu je postignuto 85 %, 88 %, 72 % i 83 % uklanjanje KPK, NH₄-N, PO₄-P i TN. Smanjenje omjera KPK/N, i/ili smanjenje koncentracije otopljenog kisika narušava učinkovitost uklanjanja organskih sastojaka i nutrijenata, a smanjenje otopljenog kisika snažnije narušava učinkovitost uklanjanja.

Ključne riječi: *aerobni granulirani mulj, biološka obrada otpadne vode, SBR tehnologija*

Rad sadrži: 56 stranica, 21 sliku, 4 tablice, 94 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

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

Pomoć pri izradi: *doc. dr. sc. Dijana Grgas*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. doc. dr. sc. *Dijana Grgas*
2. prof. dr. sc. *Tibela Landeka Dragičević*
3. prof. dr. sc. *Mirela Ivančić Šantek*
4. izv. prof. dr. sc. *Josip Čurko* (zamjena)

Datum obrane: 30. rujna 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for the Biological Wastewater Treatment

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Biotechnology

NUTRIENT REMOVAL BY AEROBIC GRANULAR SLUDGE

Andela Dugandžić, 1262

Abstract: *In this study, the efficiency of organics and nutrient removal from synthetic wastewater, whose composition mimics the municipal wastewater by means of aerobic granular sludge, was investigated. The effect of dissolved oxygen concentration in the range of 0-1 mg L⁻¹ and 1-2 mg L⁻¹ and the effect of chemical oxygen demand and nitrogen COD/N ratio 5 and 11.5 were investigated. The highest removal efficiency of COD, NH₄-N, PO₄-P and TN (engl. Total Nitrogen) was achieved in the combination of dissolved oxygen 1-2 mg L⁻¹ and COD/N ratio 11.5, achieving 85 %, 88 %, 72 % and 83 % removal of COD, NH₄-N, PO₄-P and TN. Decreasing the COD/N ratio, and/or reducing the dissolved oxygen concentration deteriorates the efficiency of removal of organics and nutrients, and the reduction of the dissolved oxygen more severely impairs the removal efficiency.*

Keywords: *aerobic granular sludge, biofilm, wastewater, SBR technology*

Thesis contains: 56 pages, 21 figures, 4 tables, 94 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

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

Technical support and assistance: *PhD, Dijana Grgas, Assistant Professor*

Reviewers:

1. PhD. *Dijana Grgas*, Assistant professor
2. PhD. *Tibela Landeka Dragičević*, Full professor
3. PhD. *Mirela Ivančić Šantek*, Full professor
4. PhD. *Josip Čurko*, Associate professor (substitute)

Thesis defended: 30, September, 2021

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. DEFINICIJA AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA.....	2
2.2. POSTUPAK AEROBNE GRANULACIJE – FORMIRANJE AEROBNIH GRANULA.....	2
2.3. ČIMBENICI FORMIRANJA AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA.....	3
2.3.1. Sastav supstrata.....	5
2.3.2. Prisutnost kalcijevih iona.....	6
2.3.3. Organsko opterećenje.....	7
2.3.4. Hidrodinamička sila smicanja.....	8
2.3.5. Vrijeme taloženja.....	9
2.3.6. Ekstracelularne polimerne tvari.....	10
2.4. PREDNOST I NEDOSTACI PRIMJENE AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA.....	11
2.5. SBR.....	13
2.6. BIOLOŠKO UKLANJANJE DUŠIKA I FOSFORA.....	15
2.7. DOSADAŠNJE SPOZNAJE O PRIMJENI AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA U OBRADI OTPADNIH VODA S CILJEM UKLANJANJA C, N I P.....	17
2.7.1. Učinak omjera C/N na učinkovitost uklanjanja C, N i P iz otpadne vode aerobnim granuliranim muljem.....	17
2.7.2. Učinak koncentracije otopljenog kisika na učinkovitost uklanjanja C, N i P iz otpadne vode aerobnim granuliranim muljem.....	19
2.7.3. Učinak režima rada SBR-a na učinkovitost uklanjanja C, N i P primjenom aerobnog granuliranog mulja.....	20
3. EKSPERIMENTALNI DIO	25
3.1. REŽIM RADA SBR-A.....	25
3.2. SINTETSKI MEDIJ.....	25
3.3. UREĐAJI I PRIBOR.....	26
3.4. ANALITIČKI POSTUPCI.....	27
3.4.1. Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK).....	27
3.4.2. Određivanje ukupnog dušika.....	28
3.4.3. Određivanje amonijakalnog dušika.....	29
3.4.5. Određivanje koncentracije nitrita.....	30
3.4.6. Određivanje koncentracije fosfata.....	31
3.4.7. Određivanje pH vrijednosti.....	32
3.4.8. Određivanje koncentracije otopljenog kisika.....	32
3.4.9. Određivanje temperature.....	32
4. REZULTATI I RASPRAVA	33

4.1. UČINAK KOMBINACIJE KPK/N OMJERA 11,5 I DO 0-1 mg DO L ⁻¹	33
4.2. UČINAK KOMBINACIJE KPK/N OMJERA 11,5 I DO 1-2 mg DO L ⁻¹	37
4.3. UČINAK KOMBINACIJE KPK/N OMJERA 5 I DO 1-2 mg DO L ⁻¹	41
5. ZAKLJUČCI	46
6. LITERATURA	47

1. UVOD

Aerobne granule su kompaktne i guste mikrobne zajednice u kojima svaka mikrobna vrsta obavlja određenu zadaću u svrhu pročišćavanja otpadnih voda. Aerobni granulirani mulj je vrsta biofilma kojeg čine samoimobilizirajuće bakterijske stanice bez nosača (Adav i sur., 2008). Postupak nastajanja aerobnog granuliranog mulja naziva se aerobna granulacija i jedan je od procesa obrade otpadne vode, a predstavlja kombinaciju kemijskog inženjerstva i bioloških procesa u svrhu zaštite okoliša. Formiranje aerobnih granula iz aktivnog mulja proces je koji ovisi o fizikalnim, kemijskim i biološkim uvjetima (Liu i Tay, 2002). Aerobne granule u usporedbi s flokuliranim muljem imaju bolju sposobnost taloženja, veću gustoću, čvršću mikrobnu strukturu, dobro zadržavanje biomase u sustavu te dobru sposobnost uklanjanja nutrijenata (Adav i sur., 2008). Brojni su čimbenici odgovorni za nastanak i stabilnost aerobnog granuliranog mulja, poput: sastav supstrata, prisutnost kalcijevih iona, količina otopljenog kisika, pH vrijednost, temperatura, ekstracelularne polimerne tvari (EPS, engl. *Extracellular Polymeric Substances*), vrijeme taloženja, prisutnost inhibitora te organsko opterećenje (Nancharaiah i Reddy, 2018; Qin i sur., 2004; Tay i sur., 2004; Jiang i sur., 2003; Liu i Tay, 2002; Tay i sur., 2001a). Zbog svojih jedinstvenih svojstava, aerobne granule predstavljaju standard u obradi otpadnih voda koje sadrže C, N, P, otrovne tvari i ksenobiotike (Adav i sur., 2008; Adav i sur., 2007; Lin i sur., 2005; Jiang i sur., 2003; Moy i sur., 2002; Tay i sur., 2004). U ovom radu istražiti će se učinak omjer KPK/N i koncentracije otopljenog kisika na učinkovitost uklanjanja C, N i P u SBR-u sa aerobnim granuliranim muljem.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA

Aerobni granulirani mulj (AGS, engl. *Aerobic granular sludge*) je vrsta biofilma kojeg čine samoimobilizirajuće mikrobne vrste bez nosača, koje u aerobnim uvjetima tvore guste granule dobre taloživosti (Adav i sur., 2008). Granulirani mulj je prvo definiran za anaerobne uvjete (Lettinga i sur., 1980), a krajem 1990-tih prvi put je zabilježeno i opisano stvaranje aerobnih granula (Beun i sur., 1999; Dangcong i sur., 1999; Morgenroth i sur., 1997; Lettinga i sur., 1980).

Na proces granulacije – stvaranje aerobnih granula, između brojnih čimbenika, utječe hidrodinamička posmična sila, koja nastaje u reaktorima zbog protoka plina ili tekućine i sudara-kontakta čestica, a odgovorna je za formiranje, strukturu i stabilnost granula. Kompaktnije, stabilnije i gušće aerobne granule nastaju pri većoj hidrodinamičkoj posmičnoj sili. Veća hidrodinamička posmična sila rezultira formiranjem čvršćeg biofilma, a slabija posmična sila daje porozniji biofilm slabije strukture. U procesima biološke obrade otpadne vode potrebne su visoke koncentracije biomase u malom volumenu koje će u kratkom vremenu razgraditi biološki materijal (Liu i Tay, 2002; Beun i sur., 1999; Noyola i Mereno 1994; Lettinga i sur., 1980).

Agregati mikrobnog podrijetla su aerobne granule koje sadržavaju aktivne mikroorganizme. Tijekom taloženja, kada se miješana tekućina mulja i otpadne vode ne miješa ili ne prozračuje, granule se djelovanjem sile gravitacije talože samostalno, dok se flokule aktivnog mulja tijekom taloženja povezuju u veće nakupine. U usporedbi s flokulama, granule mogu sadržavati i do pet puta veću koncentraciju biomase, a talože se i do deset puta brže. Kako bi se zajamčila uspješna primjena aerobnog granuliranog mulja aerobne granule moraju biti fizički stabilne s odgovarajućim mikrobnim sastavom za učinkovito uklanjanje onečišćenja iz otpadne vode. Većina istraživanja aerobnog granuliranog mulja danas je usmjerena na inženjerske aspekte reaktora i operativne varijable koje su zaslužne za izazivanje granulacije (Ni i sur., 2009; Xiao i sur., 2008; de Kreuk i sur. 2005a; de Bruin i sur., 2004).

2.2. POSTUPAK AEROBNE GRANULACIJE – FORMIRANJE AEROBNIH GRANULA

Aerobna granulacija je proces formiranja aerobnih granula kombinacijom različitih kemijskih i bioloških procesa.

Proces aerobne granulacije može se opisati u 4 koraka (Liu i Tay, 2002):

1. fizički kontakt između bakterija – uključuje silu gravitacije, termodinamičke (Brownovo gibanje), hidrodinamičke i difuzijske sile te mobilnost stanica. Poznato je da se stanice mogu kretati pomoću flagela, cilija i pseudopodija. Upravo je mobilnost stanica ključan čimbenik međustaničnih kontakata.
2. privlačne sile koje stabiliziraju kontakt između bakterija i čvrstih površina. Te privlačne sile su fizikalne, kemijske i biokemijske prirode.
 - a. fizikalne sile: Van der Waalove sile, privlačenje suprotnog naboja, termodinamičke sile, površinska napetost, hidrofobnost. Krucijalnu ulogu u stvaranju biofilma ima hidrofobnost bakterijske površine. Prema zakonima termodinamike povećanje hidrofobnosti bakterijske površine uzrokuje smanjenje Gibbsove energije, što potiče interakciju stanica-stanica.
 - b. kemijske sile: vodikova veza, stvaranje ionskih parova, stvaranje ionskog tripleta.
 - c. biokemijske sile: dehidracija stanične površine, fuzija stanične membrane.
3. agregacija stanica pomoću proizvodnje ekstracelularnih polimernih tvari
4. oblikovanje stacionarne trodimenzionalne strukture hidrodinamičkim smicanjem

2.3. ČIMBENICI FORMIRANJA AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA

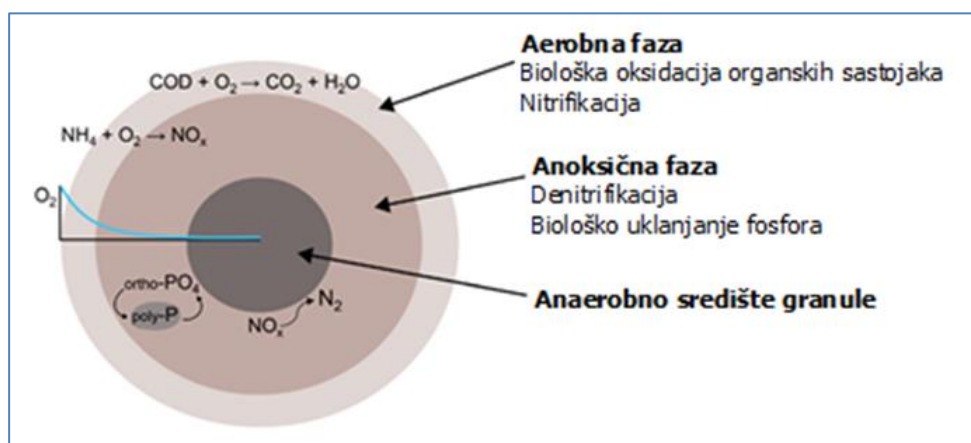
Tehnologija aerobnog granuliranog mulja u usporedbi sa sustavom flokuliranog mulja, ima 20-25 % manje operativnih troškova, 23-40 % manje potrošnje električne energije i 50-75 % manje zauzimanje prostora. Također, u usporedbi sa membranskim bioreaktorom, tehnologija aerobnog granuliranog mulja ima 35-70 % nižu potrošnju električne energije. Fleksibilnost provođenja procesa i niži troškovi pogodovali su većoj distribuciji tehnologije aerobnog granuliranog mulja (Bengtsson i sur., 2018; Nereda, 2017; Adav i sur., 2008).

Usporedba AGS -a, anaerobnih granula i aktivnog flokuliranog mulja je prikazana u tablici 1.

Tablica 1. Usporedba aerobnog granuliranog mulja, anaerobnih granula i flokuliranog mulja (preuzeto i prilagođeno iz Bengtsson i sur., 2018; Nancharaiah i Reddy 2018; Rico i sur., 2017; Simon i sur., 2009)

PARAMETRI	AEROBNI GRANULIRANI MULJ	ANAEROBNE GRANULE	FLOKULIRANI MULJ
brzina taloženja	10 - 90 mh ⁻¹	< 20 mh ⁻¹	2 - 10 mh ⁻¹
veličina	0,2 - 5 mm	0,2 – 2,0 mm	< 0,2 mm
stupanj kompaktnosti i gustoća	visoka	Visoka	Niska
oblik	pravilan i sferičan	pravilni i sferičan	nepravilan i nitast
slojevi	aerobni, anoksični i anaerobni	fakultativni i obligatni anaerobi	Aerobni
podnošljivost	visoka	Niska	Niska
EPS proizvodnja	visoka	Srednja	Niska

Zbog gradijenta kisika unutar granule prisutna je slojevita struktura (slika 1), poput aerobno/anoksične ili aerobno/anoksično/anaerobne zone, što rezultira raznolikošću mikrobne populacije u AGS –u i iz tog razloga granula predstavlja "mini ekosustav" (Liu i Tay, 2004).



Slika 1. Raspored različitih slojeva u aerobnoj granuli s istaknutim redoks zonama (preuzeto i prilagođeno iz Wilén i sur., 2018)

Granule se iz aktivnog mulja formiraju pri određenim uvjetima okoliša (Wilén i sur., 2018):

- (i) velike hidrodinamičke sile smicanja
- (ii) kratko vrijeme taloženja
- (iii) veliki omjer visine i promjera reaktora, i
- (iv) šaržni rad sustava s periodima obilnog hranjenja/gladovanja

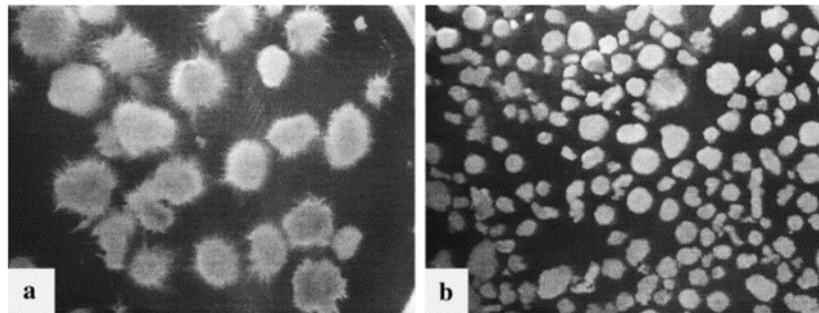
Na proces aerobne granulacije utječe nekoliko procesnih parametara, poput: sastav podloge, brzina organskog opterećenja (OLR, engl. *Organic Loading Rate*), hidrodinamička posmična sila, ciklusi hranjenja i gladovanja, koncentracija otopljenog kisika, konfiguracija reaktora, vrijeme zadržavanja krutih tvari, vrijeme ciklusa sekvencijalnog šaržnog reaktora (SBR), vrijeme taloženja, prisutnost kalcijevih iona, prisutnost inhibitora, proizvodnja ekstracelularnih polimernih tvari (Nancharaiah i Reddy 2018; Cervantes, 2009; Qin i sur., 2004; Tay i sur., 2004; Jiang i sur., 2003; Liu i Tay, 2002; Tay i sur., 2001a).

2.3.1. Sastav supstrata

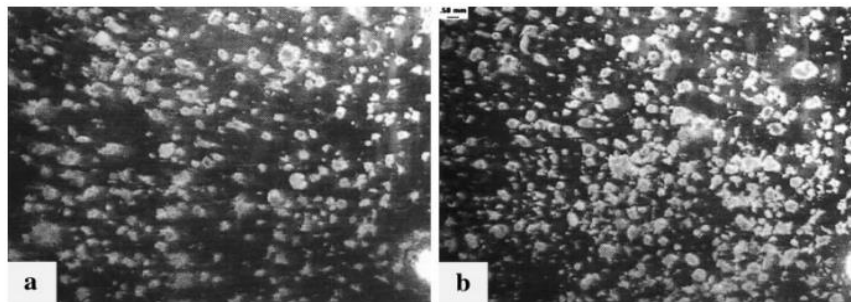
Tay i sur. (2001a) su proveli niz eksperimenata u dva SBR-a visine 1,2 m, radnog volumen 2,4 L i unutarnjeg promjera 5 cm koji su hranjeni glukozom (reaktor R1) i acetatom (reaktor R2) kao jedinim izvorom ugljika. Reaktori su radili u ciklusima od 4 h, uz vrijeme punjenja i odvođenja od 5 min, vrijeme taloženja od 20 do 1 min, a preostalo vrijeme ciklusa je bilo vrijeme reakcije. Pokusi su vođeni uz HRT 8 h (HRT, engl. *Hydraulic Retention Time*). Pri organskom opterećenju $6 \text{ kg KPK m}^{-3}\text{d}^{-1}$. Prosječno vrijeme zadržavanja mulja u R1 bilo je 7 dana, a u R2 9 dana. Brzina protoka zraka iznosila je 3 L min^{-1} . Razvoj aerobnih granula motrili su pomoću optičkog i skenirajućeg elektronskog mikroskopa. Rezultati su pokazali postupno formiranje aerobnih granula od flokuliranog mulja preko kompaktnih agregata do granuliranog mulja i na kraju zrelih granula.

Granule hranjene sa dva različita izvora ugljika pokazale su slične karakteristike čimbenika: brzine taloženja, veličine, oblika i gustoće dok je mikrobna raznolikost bila povezana s izvorom ugljika. Nakon tjedan dana filamentozne bakterije su gotovo nestale u reaktoru s acetatom, dok su u rektoru s glukozom još uvijek bile prisutne. Izgled aerobnih granula formiranih na podlozi s glukozom i acetatom nakon jednog tjedna uzgoja prikazane su na slici 2, a nakon dva tjedna uzgoja na slici 3 tijekom kojeg je u oba reaktora nastao granulirani mulj okruglastog oblika u kojem su filamentozne vrste potpuno nestale u reaktoru sa acetatom. Nakon 3 tjedna uzgoja u oba reaktora formiran je granulirani mulj pravilne strukture i okruglog oblika. U rektoru R1

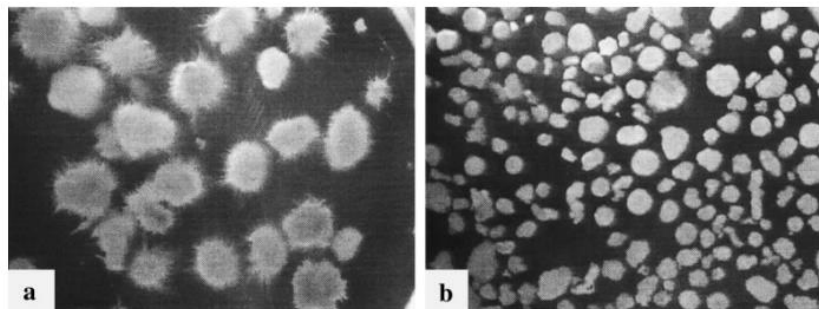
aerobni mulj hranjen glukozom ima pahuljastu strukturu zbog prisutnosti filamentoznih bakterija u odnosu na mulj uzgajan u reaktoru R2, hranjen acetatom (slika 4) (Tay i sur., 2001a).



Slika 2. Mikroskopski prikaz aerobnih granula uzgajanih (a) na glukozu; (b) na acetatu nakon jednog tjedna (preuzeto iz Tay i sur., 2001a)



Slika 3. Mikroskopski prikaz aerobnih granula nakon dva tjedna uzgoja na (a) glukozu; (b) acetatu (preuzeto iz Tay i sur., 2001a)



Slika 4. Mikroskopski prikaz aerobnih granula nakon tri tjedna uzgoja na (a) glukozu; (b) acetatu (preuzeto iz Tay i sur., 2001a)

2.3.2. Prisutnost kalcijevih iona

Učinak iona Ca^{2+} na formiranje granula istražen je u paralelnim pokusima u dva kolonska SBR-a s radnim volumenom 2 L, promjera 5 cm, pri kontroliranoj temperaturi 25 °C. Reaktori su

radili u ciklusu od 4 h, s dinamikom: 2 min punjenja, 233 min aeracije, 2 min taloženja i 3 min odvođenja mulja. HRT je bilo 8 h, a organsko opterećenje 4 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$. U prvi reaktor – kontrolni nisu dodani ioni Ca^{2+} , a u drugi reaktor dodano je 100 mg $Ca^{2+} L^{-1}$. Sintetsku otpadnu vodu čini: etanol, natrij acetat, NH_4Cl , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Uz dodatak 100 mg $Ca^{2+} L^{-1}$ trebalo je 16 dana za formiranje granula, dok je bez dodatka Ca^{2+} bilo potrebno 32 dana za formiranje. Granule kojima je dodan Ca^{2+} pokazale su bolje fizičke karakteristike, bolju taloživost i veću čvrstoću od granula bez dodatka Ca^{2+} . Ioni kalcija prepoznati su kao važan faktor u procesu samoimobilizacije mikrobne biomase. Pretpostavlja se da je to povezano sa vezanjem iona kalcija (Ca^{2+}) na negativne grupe prisutne na površini bakterija koje tako stvaraju mostove za unaprijeđenje povezivanja-združivanja bakterija te sa proizvodnjom velike količine polisaharida koji pridonose adheziji stanica na stanicu (Jiang i sur., 2003).

2.3.3. Organsko opterećenje

U literaturi (Long i sur., 2015; Adav i sur., 2010; Zheng i sur., 2006; Tay i sur., 2004; Liu i sur., 2003; Moy i sur., 2002) je istaknut širok raspon vrijednosti organskog opterećenja pri kojem se formiraju aerobne granule, od 2 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$ do 18 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$.

Long i sur. (2019) su istražili stabilnost aerobnog granuliranog mulja pri različitom organskom opterećenju od 4,8-18 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$ u reaktorima s kontinuiranim protokom kroz određeni vremenski period od 76 dana. Radni volumen reaktora 12,1 L, visina 188 cm i promjer 8,4 cm. Veličina granula iznosila je približno 1,8 mm. Kroz 65 dana, odnosno pri vrijednosti organskog opterećenja 15 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$ veličina granula nije se bitno mijenjala. Nakon toga, povećanjem organskog opterećenja na 18 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$, veličina granula je porasla na 10 mm. Granule su bile nestabilne sa poroznom strukturom. Istaknuli su da granule ostaju stabilne pri $OLR \leq 15$ kg KPK $m^{-3}d^{-1}$. Povećanjem OLR na 18 kg KPK $m^{-3}d^{-1}$ granule su se raspale, a biomasa se isprala. Također, su istaknuli da se pri $OLR < 12,6$ kg KPK $m^{-3}d^{-1}$ postiže najveće uklanjanje KPK i hranjivih tvari i to 90 % za KPK i fosfor te 92 % za dušik.

Filamentozne bakterije su više prisutne pri niskim vrijednostima OLR-a i uzrokuju raspadanje granula, dok se nestabilnost aerobnog granuliranog mulja pri visokim OLR vrijednostima pripisuje: povećanoj veličini granula i posljedičnoj dezintegraciji zbog nemogućnosti prodiranja ugljika, hidrolizi i razgradnji proteina jezgre granule te gubitku mikrobne sposobnosti samoagregacije zbog manje koncentracije proteina smanjenjem EPS-a (Adav i sur., 2010; Zheng i sur., 2006).

Tay i sur. (2004) su proveli istraživanje stabilnosti granula u četiri SBR-a koja su radila pri opterećenju 1, 2, 4 i 8 kg KPK $\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$. Stabilne granule formirane su pri vrijednosti OLR >4 kg KPK $\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$ nakon 14 dana, dok pri niskim vrijednostima KPK nije došlo do formiranja aerobnih granula (Tay i sur., 2004).

2.3.4. Hidrodinamička sila smicanja

Hidrodinamička posmična sila je bitni pokretač formiranja stabilnih aerobnih granula mulja unutar SBR reaktora. Nastaje zbog prozračivanja reaktora i odgovorna je za stvaranje ekstracelularnih polimernih tvari povećavajući hidrofobnost koja potiče formiranje granula. Nepravilni i slabi agregati djelovanjem posmične sile će se oblikovati u kompaktnu i gustu biomasu (Nancharaiah i Reddy, 2018; Tay i sur., 2001b). Intenzitet prozračivanja, brzina uzlaznog zraka i omjer visina/promjer (H/D, engl. *High/Diameter*) reaktora izravno su povezani s hidrodinamičkom posmičnim silom u sustavu (Adav i sur., 2008).

Hidrodinamička posmična sila se kvantificira kao brzina aeracije preko poprečnog presjeka SBR-a, predstavljena je kao uzvodna površinska brzina zraka (Rollemberg i sur., 2018).

Hidrodinamičke posmične sile imaju učinak na strukturu granule, metabolizam aerobnog granuliranog mulja (Tay i sur., 2001b), produkciju EPS-a, stabilnost granula i formiranje granula (Liu i Tay, 2002).

Adav i sur. (2008) su uočili kako su intenzitet prozračivanja, brzina ulaznog zraka i omjer visine i promjera reaktora H/D izravno povezani sa hidrodinamičkim posmičnim naprežanjem u sustavu. Liu i Tay (2002) su istaknuli da omjer $H/D > 10$ može osigurati dulju kružnu putanju protoka što rezultira uspješnim formiranjem granula.

Smanjenjem omjera H/D reaktora potrebno je povećati prozračivanje kako bi se povećala i potrebna hidrodinamička posmična sila za formiranje aerobnog granuliranog mulja, što rezultira povećanjem troškova rada. Stoga se prozračivanje smatra glavnim parametrom kontrole hidrodinamičke posmične sile i veća hidrodinamička posmična sila će dovesti do brže aerobne granulacije. Visok intenzitet prozračivanja je povoljan za očuvanje stabilnosti aerobnih granula i inhibiciju rasta filamentoznih bakterija (He i sur., 2017; Li i sur., 2011; Adav i sur., 2008).

U literaturi se navodi kako je vrijednost hidrodinamičke sile smicanja najčešće su u rasponu od 1 do 2 cm s^{-1} . Neki od znanstvenika su istražili kako je vrijednost iznad 1,2 cm s^{-1} bila nužna za razvoj stabilnih granula (Tay i sur., 2001b; Beun i sur., 1999). Dok su Liu i Tay (2002) dobili stabilne granule kada je brzina aeracije smanjena na 0,55 cm s^{-1} tijekom faze gladovanja, kada

su brzina rasta i potrošnja kisika niski. Novija istraživanja pokazala su da se granule stvaraju pri površinskim brzinama zraka od $0,8 \text{ cm s}^{-1}$ ali s poroznijom i nestabilnom strukturom (Wilén i sur., 2018).

Devlin i sur. (2017) su proveli pokuse u 5 SBR reaktora volumena 4 L s ciljem određivanja učinka OLR na stabilnost granula. Reaktori su radili u ciklusu od 3 sata, s dinamikom: 60 min anaerobnog hranjenja, 110 min aerobne reakcije, 3 min taloženja, 5 min pražnjenja i 2 min mirovanja. Reaktori su radili pri maloj površinskoj brzini zraka od $0,41 \text{ cm min}^{-1}$. Koristili su sintetsku otpadnu vodu različitog organskog opterećenja. Tri reaktora su radila pri niskom organskom opterećenju od $340 \pm 30 \text{ mg KPK L}^{-1}$, četvrti reaktor pri srednjem organskom opterećenju $630 \pm 80 \text{ mg KPK L}^{-1}$, a peti reaktor pri visokom organskom opterećenju $1300 \pm 300 \text{ mg KPK L}^{-1}$. Stabilna granulacija je bila opažena samo pri maloj hidrodinamičkoj sili pri niskom organskom opterećenju. Kod otpadnih voda sa srednjim organskim opterećenjem $600 \text{ mg KPK L}^{-1}$ stvarale su se granule koje su kasnije poprimale vlaknastu strukturu i gubile sposobnost nitrifikacije. Kod otpadnih voda s visokim vrijednostima $\text{KPK} \geq 1300 \text{ mg L}^{-1}$ uopće nije došlo do formiranja granula. Istaknuto je da mehanizam aerobne granulacije ne ovisi samo o hidrodinamičkoj sili te da veće vrijednosti organskog opterećenja zahtijevaju veću hidrodinamičku posmičnu silu.

2.3.5. Vrijeme taloženja

Vrijeme taloženja izravno je povezano sa kapacitetom zadržavanja biomase i procesom razdvajanja krutih tvari od tekućine. Najčešće se svojstva taloženja označavaju kao indeks mulja, odnosno SVI vrijednost (SVI, engl. *Sludge Volume Index*). To predstavlja mjeru fizikalnih svojstava aktivnog mulja koja služi za procjenu sposobnosti taloženja mulja, a određuje se kao volumen (mL) koji ima 1 g biomase nakon 30 min taloženja. Općenito je vrijednost SVI ispod 80 mL g^{-1} pa čak i ispod 20 mL g^{-1} za aerobni granulirani mulj (Gao i sur., 2011; Zheng i sur., 2006; Lin i sur., 2005).

Qin i sur. (2004) su proveli istraživanje o učinku vremena taloženja na aerobnu granulaciju kroz dvije serije pokusa, u četiri SBR reaktora (R1-R4), visine reaktora 127 cm i promjera 5 cm, radnog volumena 2,5 L. Vođeni su ciklusi od 4 h, u I-seriji pokusa: 5 min punjenje, 5 min odvođenje mulja, uz 20, 15, 10 i 5 min taloženja, i uz preostalo vrijeme reakcije; odnosno u II-seriji pokusa uz vrijeme taloženja 5, 2 i 1 min. Zrak se upuhivao sa dna reaktora pri brzini protoka zraka od $3,0 \text{ L min}^{-1}$. HRT iznosilo je 8 h. Reaktori su inokulirani sa 2 g MLSS L^{-1} aktivnog mulja iz lokalnog komunalnog postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda. Sintetska

otpadna voda se sastojala od natrijeva acetata 2560 mg L^{-1} ; NH_4Cl 200 mg L^{-1} ; K_2HPO_4 45 mg L^{-1} ; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 30 mg L^{-1} ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 25 mg L^{-1} ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 20 mg L^{-1} i mikronutrijenta $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. U sva četiri reaktora početna koncentracija natrijevog acetata iznosila je 1 g KPK L^{-1} . Reaktori (R1-R4) su radili sa različitim vremenom taloženja od 20, 15, 10 i 5 min. Nakon 7 dana u R4 s vremenom taloženja 5 min primijećene su aerobne granule, dok su se u reaktorima R1-R3 s vremenom taloženja 20, 15 i 10 min sitni agregati formirali tek nakon 10 dana. Nakon tri tjedna postignuto je stabilno stanje u svim reaktorima. U reaktoru R4 s najkraćim vremenom taloženja najdominantnije su bile aerobne granule, dok je u reaktorima R1, R2 i R3 bila mješavina aerobnih granula i flokuliranog mulja i to sa zastupljenosti aerobnih granula od 10 %, 15 % odnosno 35 %. U drugom dijelu istraživanja vrijeme taloženja u reaktorima R1-R3 je postavljeno na 5, 2 i 1 min. Došlo je do ispiranja flokuliranog-suspendiranog mulja, a nakon dva tjedna uspostavilo se stabilno stanje i aerobne granule su zamijenile suspendirani mulj. Autori su istaknuli da prema dobivenim rezultatima vrijeme taloženja potrebno za uspješnu aerobnu granulaciju ne bi trebalo biti duže od 5 min iz čega proizlazi kako je vrijeme taloženja ključan faktor za formiranje aerobnih granula i što je ono kraće to će aerobna granulacija biti brža (Qin i sur., 2004).

2.3.6. Ekstracelularne polimerne tvari

Izvanstanične polimerne tvari su vrsta makromolekule koju pri određenim okolišnim uvjetima izlučuju mikroorganizmi, pretežno bakterije, tvore trodimenzionalni kalup u koji se mogu ugraditi bakterije. EPS je građen od proteina, ugljikohidrata, huminske kiseline, nukleinskih kiselina, lipida i drugih tvari u micelarnom obliku.

Komponente EPS dijele se na:

- biorazgradive, većinom prisutne u središnjem dijelu granule – u jezgri
- bio-nerazgradive, uočene u drugim slojevima aerobnih granula

Samo bio-nerazgradivi EPS doprinosi stabilnosti aerobne granule.

Na stabilnost strukture aerobnih granula utječe prisustvo mikroorganizama koji proizvode ekstracelularne polimerne tvari. Uloga EPS-a je stvaranje trodimenzionalnog matriksa u kojeg se bakterije mogu ugraditi, te na taj način prilagoditi na okolišne uvjete (Adav i sur., 2007; Gao i sur., 2011). Većina istraživanja sintetskih otpadnih voda pokazala su proizvodnju EPS-a tijekom faze prihranjivanja u SBR reaktoru, dok se značajna potrošnja EPS-a zbiva tijekom faze gladovanja, kada je supstrat prisutan u ograničenim količinama jer ga mikroorganizmi koriste kao izvor ugljika i izvor energije za endogeno disanje (Corsino i sur., 2015).

Nancharaiah i Reddy (2018) su istaknuli važnost EPS-a u adsorpciji metala i organskih onečišćujućih tvari, ali i kao izvor ugljika osobito u razdobljima gladi. Nazvali su ga «biološkim ljepilom». Uzrok narušavanja kakvoće u obliku «raskidanja - loma» granula vjerojatno je povezan s mineralizacijom jezgre granula kao i začepljenja poroznih kanala što ograničava protok hranjivih tvari i kisika u unutarnje slojeve (Lee i sur., 2010). Prema Lemaireu i sur. (2008) i Lu i sur. (2012) začepljenje poroznosti je povezano s velikom proizvodnjom EPS-a. Prema tome nizak sadržaj EPS-a ne podržava formiranje aerobnih granula a višak proizvodnje EPS-a bi mogao ograničiti održavanje granula odnosno narušiti stabilnost granula (Corsino i sur., 2015).

Znatne su razlike u koncentraciji i raspodjeli EPS (proteina i polisaharida), između aktivnog mulja i AGS (McSwain i sur., 2005; Seviour i sur., 2010). AGS sadrži više proteina nego ugljikohidrata, a sadržaj proteina je 50 % veći u EPS kod AGS nego flokuliranog aktivnog mulja.

Distribucija EPS unutar aerobne granule ovisno o vrsti hranjenja u reaktoru (Gao i sur., 2010). Mikrobne stanice i polisaharidi smješteni su u vanjskom sloju AGS, dok je središnji dio bez stanica i uglavnom su prisutni proteini. Proteinima prisutnim u središnjem dijelu granule pripisuje se važna uloga u formiranju i stabilnosti AGS (McSwain i sur., 2005).

2.4. PREDNOST I NEDOSTACI PRIMJENE AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA

Aerobni granulirani mulj u usporedbi sa aktivnim muljem ima prednosti poput pravilnog oblika i kompaktne strukture, brže taloženje, bolje zadržavanje biomase, otpornost na toksične spojeve i veliko organsko opterećenje i učinkovito uklanjanje hranjivih tvari (Kim i sur., 2021). Također, kao prednosti se ističu i velika koncentracija suspendiranih čestica u reaktoru, mogućnost održavanja različitih redoks okruženja, postojanje aerobnih, anaerobnih i anoksičnih zona u granulama, te vođenje sustava pri manjem hidrauličkom vremenu zadržavanja (Nancharaiah i Reddy, 2018; Wilén i sur., 2018). Kompaktna struktura i visoka gustoća granula omogućavaju dobro odvajanje obrađene vode od krutih čestica i zadržavanje biomase u reaktoru (Gao i sur., 2011). Potrebne su manje površine kod izgradnje postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda tehnologijom AGS-a, zato što se može reducirati volumen bioreaktora smanjenjem vremena taloženja te istovremenom provedbom nitrifikacije i denitrifikacije i uklanjanja fosfora. Isto tako kod ovih procesa nisu potrebne ni dodatne recirkulacijske pumpe što uvelike smanjuje potrošnju električne energije (Yae i sur., 2019; Bengtsson i sur., 2018; Pronk i sur., 2015; de Kreuk i sur., 2005a).

Najveći nedostatak aerobnih granula je stabilnost granula tijekom dugotrajnog rada, pri čemu uglavnom dolazi do raspada granula (Luo i sur., 2014), bilo zbog prekomjernog rasta nitastih vrsta, uloge i funkcije izvanstanične polimerne tvari (EPS), ograničenog prijenosa mase, stvaranja anaerobnih zona u granulama i smanjenja sklonosti stanica za agregaciju (Adav i sur., 2010; Liu i Liu, 2006; Zheng i sur., 2006). Točni uzroci raspada aerobnih granula su još uvijek nepoznati.

Na stabilnost AGS-a utječe sastav ulazne otpadne vode, omjer ugljika i dušika (C/N), omjer hrane i mikroorganizama (F/M, engl. *Food/Microorganisms*), sastav izvanstaničnih polimernih tvari (EPS) te brzina aeracije i temperatura. Jedan od vodećih čimbenika za rast mikroorganizama i biorazgradnju hranjivih tvari je omjer C/N ulazne otpadne vode (Carrera i sur., 2019; Jahn i sur., 2019; Long i sur., 2019; Yuan i sur., 2019; Hamza i sur., 2018; Zhang i sur., 2019; Zahng i sur., 2017).

Hamza i sur. (2018) su motrili utjecaj omjera F/M na stabilnost aerobnog granuliranog mulja tijekom obrade otpadne vode visokog opterećenja. U istraživanju su koristili SBR reaktor unutarnjeg promjera 150 mm i radnog volumena 18 L. Ciklusi reaktora bili su redom: punjenje 8 min, aeracija 189-222 min, taloženje 8-20 min i odvođenje 2 min. Istaknuli su kako su se aerobne granule uspješno formirale pod utjecajem različitih koncentracija KPK 2000-7500 mg L⁻¹. Kada je omjer F/M bio između 0,5 i 1,4 g KPK g SS⁻¹ d⁻¹ granule su bile stabilne i imale su SVI vrijednost manju od 50 mL g⁻¹. Kako se omjer F/M povećavao na 2,2 došlo je do formiranja vlaknastih-pahuljastih granula što je dovelo do bujanja i ispiranja.

Učinkovitost uklanjanja hranjivih tvari i stabilnost AGS-a promjenom omjera C/N (ugljik/dušik) motrili su Kim i sur. (2021). U istraživanju su koristili SBR volumena 5L izgrađen od akrila, koji je radio u 6 ciklusa, pri HRT 8 sati. Vremenski slijed koraka ciklusa je bio: punjenje 10 min, aeracija 210 min, taloženje 10 min i odvođenje 10 min. Proces je motren pomoću programsko-logičkog upravljača (PLC, engl., *Programmable logic controller*). Koncentracija otopljenog kisika (DO, engl. *Dissolved oxygen*) održavana je u rasponu 1,0-2,0 mg L⁻¹. Uporabljena je sintetska otpadna voda, a istraživanje je provedeno pri omjeru C/N 5, 10, 15 i 20. Povećanjem omjera C/N povećava se učinkovitost uklanjanja organskih tvari. Određena je učinkovitost uklanjanja organskih tvari pri omjeru C/N 5, 10, 15, i 20 od 78,9 %, 86,7 %, 92,7 % i 95,9 %.

Što se tiče uklanjanja ukupnog dušika promjenom omjera C/N, pokazalo se kako se povećanjem omjera C/N povećava i učinkovitost uklanjanja dušika. Za omjere C/N 5, 10, 15 i 20 učinkovitost uklanjanja dušika je iznosila redom: 57,5 %, 61,1 %, 69,6 % i 79,1 %. Znanstvenici su naveli tri razloga povećanja učinkovitosti uklanjanja organskih tvari povećanjem omjera

C/N. Reakcija denitrifikacije nitratnog dušika u fazi punjenja i reakcija zbog dovoljne količine organske tvari potrebne za reakciju denitrifikacije; istovremena nitrifikacija i denitrifikacija AGS -om u fazi reakcije aeracije; prisustvo i dominacija aerobnih ili fakultativnih anaeroba. EPS se uglavnom sastoji od proteina (PN) i polisaharida (PS). Uočena je promjena u vrijednosti omjera polisaharid/protein (PS/PN, engl. *polysaccharide/protein*) s povećanjem omjera C/N. Sadržaj ukupnog EPS-a se povećao sa 118 na 172 mg g MLVSS⁻¹ s povećanjem omjera C/N sa 5 na 20. Omjer PS/PN pri omjeru C/N 5 je 0,55 i omjer PS/PN pri omjeru C/N 20 je 0,79 (Kim i sur., 2021).

2.5. SBR

Za uzgoj AGS koriste se SBR reaktori (SBR, engl. *Sequencing Batch Reactor*).

Glavne prednosti njihove primjene su (Liu i Tay 2004):

- (i) odabir spororastućih mikroorganizama ključnih za uzgoj stabilnog AGS, i
- (ii) istovremeno uklanjanje ugljika, dušika i fosfora iz otpadne vode.

Primjenom aerobnog SBR reaktora osigurava se razvoj i odabir poželjnih agregata mulja koji se sedimentacijom unutar istog reaktora odvajaju od obrađene vode. Pokretačke sile za formiranje granula unutar SBR reaktora su hidrodinamičke sile smicanja i sustav hranjenja obilje/gladovanje. Na strukturne i funkcionalne karakteristike AGS utječu sile smicanja, tako da jače sile smicanja stvaraju guste biofilme i provode selekciju prisutnih mikrobnih sojeva (Nancharaiah i Reddy, 2018).

Stvaranje kompaktnih aerobnih granula ovisi o izvedbi – konfiguraciji reaktora i procesnim čimbenicima. SBR reaktor radi na principu napuni i isprazni, temelji se na vremenskom slijedu aktivnosti koje su provode unutar ciklusa. SBR čini jedan spremnik u kojem se zbivaju i procesi i taloženje mulja pa nema sekundarne taložnice.

Ciklus rada SBR-a (slika 5) sastoji se od 5 vremenski slijednih koraka (Vigneswaran i sur., 2009):

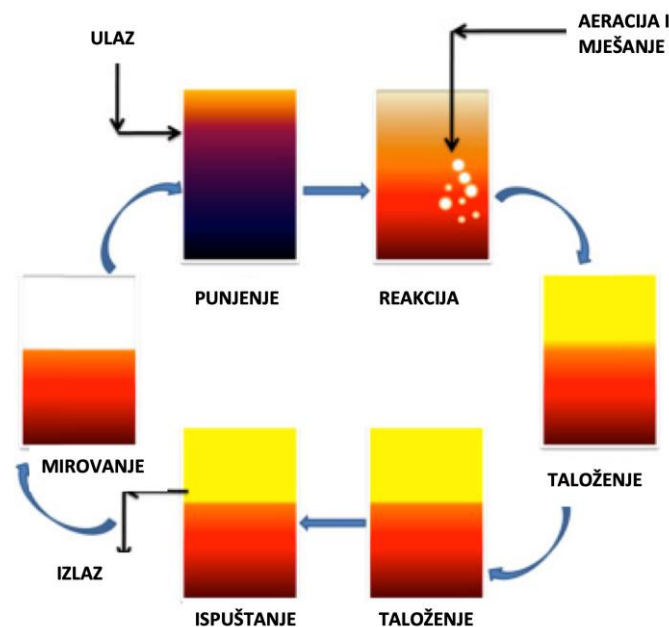
1) punjenje/dotok vode

Punjenje se može zbivati kao:

- i. statičko punjenje: tijekom punjenja nema niti miješanja niti aeracije; za ustaljenu fazu obrade kad se ne zahtijeva nitrifikacija ili denitrifikacija; nema potrošnje energije, na kraju punjenja visoka je koncentracija supstrata.

- ii. punjenje uz miješanje: tijekom punjenja provodi se miješanje, nema aeracije; nastaju anaerobni uvjeti, zbiva se denitrifikacija i otpuštanje fosfora iz biomase; troši se energija za miješanje, zbiva se smanjenje organskih sastojaka.
 - iii. punjenje uz aeraciju: tijekom punjenja i aeracija i miješanje; zbiva se nitrifikacija ili uklanjanje organskih sastojaka; isključenje aeracije povoljno za denitrifikaciju.
- 2) reakcija/miješanje: prisutni prozračivanje i/ili miješanje; zbivaju se procesi uklanjanja organskih i anorganskih sastojaka.
 - 3) taloženje/razdvajanje čvrsto-tekuće: nema aeracije niti miješanja.
 - 4) dekantiranje/odlijevanje: putem ventila ili crpke i uslijed gravitacije se zbiva ispuštanje tekućine iznad istaloženog mulja kroz otvor pozicioniran iznad razine istaložene biomase; ili putem plutajućeg dekantera; vrijeme predloženo za dekantiranje je 5-30 % ukupnog vremena procesa, u protivnom počne izlaziti mulj.
 - 5) mirovanje/stabilnost: mulj je u stabilnom stanju; da bi se održala konstantna količina mulja dio mulja se odvodi iz sustava, a naziva se otpadni mulj.

Opskrba kisikom (prozračivanje) se osigurava mlaznim aeratorom ili difuzorima, a miješanje pomoću mješalica.



Slika 5. Procesni ciklus SBR-u (preuzeto i prilagođeno iz Liu i Tay, 2002)

2.6. BIOLOŠKO UKLANJANJE DUŠIKA I FOSFORA

Dušik i fosfor u vodene sustave dopijevaju antropogenim djelovanjem (Wentzel i sur., 2008), a biološko uklanjanje hranjivih tvari smatra se ekonomski isplativim i ekološki održivim načinom asimilacije dušika i fosfora iz otpadnih voda (Metcalf i Eddy, 2003). Aktivnošću heterotrofnih denitrificirajućih organizama (OHO, engl. *Ordinary Heterotrophic Organisms*) koji zahtijevaju izvore ugljika (KPK) kao donore elektrona, i putem metabolizma fosfor akumulirajućih organizama (PAOs, engl. *Phosphorus Accumulating Organisms*) iz otpadnih voda uklanjanju se sastojci s C, N i P (Gebremariam i sur., 2011; Hu i sur., 2011; Naessens i sur., 2012). U otpadnim vodama izvor ugljika je često limitiran i ne zadovoljava raspoloživom koncentracijom potrebnom za istovremeno uklanjanje dušika i fosfata (Xu i sur., 2011). Primjenom naprednog biološkog uklanjanja fosfora (EBPR, engl. *Enhanced Biological Phosphorus Removal*) uz PAOs u mulju su prisutni i denitrificirajući fosfat akumulirajući organizmi (DPAOs, engl. *Denitrifying Phosphorus Accumulating Organisms*) koji koriste nitrate/nitrite kao akceptore elektrona (umjesto kisika) za dobivanje energije i unutarstaničnu pohranu P (Jena i sur., 2016).

Dušik se iz otpadnih voda uklanja biološkim procesima nitrifikacije – oksidacije amonijaka preko nitrita do nitrata, prikazano jednadžbama [1] i [2] i denitrifikacije – redukcije nitrata do plinovitog dušika, prikazano jednadžbom [3] (Coma i sur., 2012; Metcalf i Eddy, 2003).



Oko 20 % dušika iz otpadne vode ugrađuje se u biomasu, a glavina dušika od oko 75 % se prevodi u plinoviti oblik (N_2) kada je moguća provedba potpune denitrifikacije. Nitrificirajuće vrste amonijak i nitrite koriste prvenstveno za dobivanje energije, dok oko 1 % koriste za sintezu staničnih sastojaka.

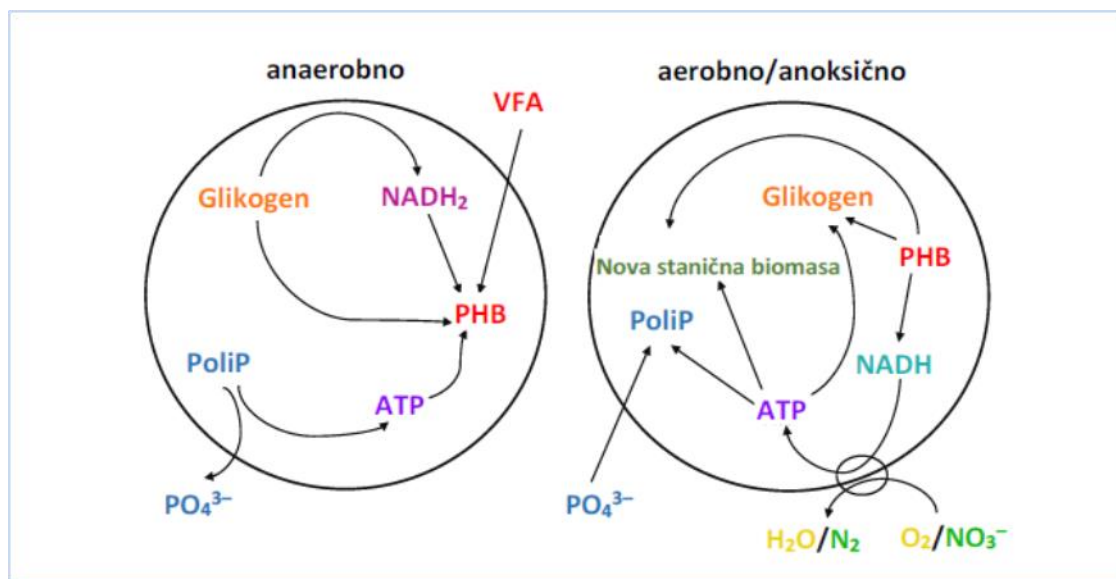
Potreba na kisiku za provedbu oksidacije amonijaka u nitrite iznose $3,43 \text{ mg O}_2 \text{ mg N}^{-1}$, dok za oksidaciju nitrita u nitrate iznosi $1,1 \text{ mg O}_2 \text{ mg N}^{-1}$ (Henze i sur., 2008).

Uvođenjem neaeriranih zona u sustave u kojima se odvija nitrifikacija uklanjaju se nastali nitrati, zbog čega se diže pH vrijednost sustava i reduciraju se potrebe na kisiku.

Potrebe na organskim sastojcima tijekom procesa denitrifikacije su 8,6 mg KPK/mg NO_3^- denitrificiran u N_2 plin u anoksičnoj zoni, odnosno 2,86 mg kisika manje u aerobnoj zoni (Henze i sur., 2008).

Autotrofni i heterotrofni mikroorganizmi provode nitrifikaciju, a razlika među njima je u tome što heterotrofni organizmi iz istog organskog supstrata zadovoljavaju potrebe za ugljikom i energijom dok autotrofni mikroorganizmi koriste CO_2 kao izvor ugljika, a energiju dobivaju oksidacijom amonijaka u nitrite i nitrita u nitrate (Henze i sur., 2008).

Izmjenom anaerobnih i aerobnih/anoksičnih uvjeta, PAOs i dPAOs su u mogućnosti ukloniti fosfor iz otpadnih voda. Metabolizam uklanjanja P prikazan je na slici 6.



Slika 6. Shematski prikaz metabolizma PAOs, u anaerobnim i aerobnim uvjetima (preuzeto i prilagođeno iz Tarayre i sur. 2016).

Razlika između aerobnog i anoksičnog unosa P je ta da dPAOs za formiranje ATP (adenozin trifosfat) u anoksičnim uvjetima koriste nitrat i/ili nitrit. U anoksičnim uvjetima formira se oko 40 % manje ATP po količini NADH_2 nego u aerobnim uvjetima, a nizak omjer ATP/ NADH_2 znači manju proizvodnju biomase u anoksičnim uvjetima. Ostatak metabolizma PAOs u aerobnim i anoksičnim uvjetima je isti.

Metabolizam PAOs se može karakterizirati kao ciklički proces pohrane i potrošnje glikogena i polifosfata.

U anaerobnim uvjetima PAOs/dPAO koriste kratkolančane organske kiseline (VFA, engl. *Volatile Fatty Acid*) i pohranjuju ih u obliku poli- β -hidroksialkanoata (PHA, engl.

Polyhydroxyalkanoates), a energiju za iskorištavanje VFA dobivaju hidrolizom polifosfata (PoliP, engl. *Polyphosphate*) (van Loosdrecht i sur., 1997). Time se fosfat se oslobađa iz stanice i povećava se koncentracija fosfora u otpadnoj vodi (Seviour i McIlroy, 2008). U slijednoj aerobnoj ili anoksičnoj fazi metabolizma, oksidira se unutarstanični PHA i omogućava stanici energiju za rast i za asimilaciju fosfora. Biomasa bogata fosforom se uklanja iz sustava, a time i ukupna suma fosfora iz otpadne vode (Harper i sur., 2006; Mullan i sur., 2006; Pijuan i sur., 2005). Otpadni mulj iz EBPR procesa se može koristiti kao obnovljiva sirovina za industriju gnojiva i obnovu P (Hirota i sur., 2010).

Razlika u bilanci puno većeg unutarstaničnog aerobnog unosa P i znatno manjeg anaerobnog otpuštanja P iz stanice, osigurava uklanjanjem viška mulja bogatog P uklanjanje P iz otpadne vode (Harper i sur., 2006; Mullan i sur., 2006; Pijuan i sur., 2005).

2.7. DOSADAŠNJE SPOZNAJE O PRIMJENI AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA U OBRADI OTPADNIH VODA S CILJEM UKLANJANJA C, N I P

U brojnim radovima istražen je učinak različitih varijabli procesa obrade otpadne vode primjenom AGS-a u SBR-u s ciljem definiranja učinka omjera C/N, učinka koncentracije otopljenog kisika te učinka režima rada SBR-a na učinkovitost uklanjanja C, N i P primjenom aerobnog granuliranog mulja (Liu i sur., 2020; He i sur., 2018; McSwain i sur., 2005; Gao i sur., 2011; Lei i sur., 2011; Ni i sur., 2009; de Kreuk i sur., 2005c; Mosquera-Corral i sur., 2005ab).

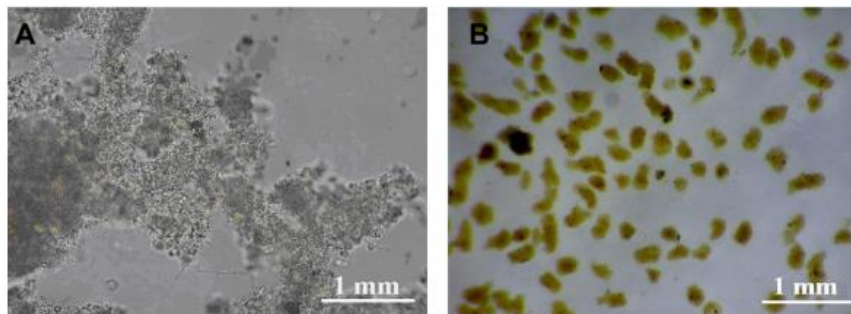
2.7.1. Učinak omjera C/N na učinkovitost uklanjanja C, N i P iz otpadne vode aerobnim granuliranim muljem

Lei i sur. (2011) istražili su učinak omjera KPK/N otpadne vode na aerobnu granulaciju. Istraživanje su proveli u četiri identična SBR reaktora (volumen 10 L, visine 45 cm, promjera 18 cm), pri istim uvjetima. Zrak je upuhivan u reaktor putem zračnog kompresora brzinom $0,2 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ sa dna reaktora. Reaktori su opremljeni mehaničkim miješalima koje su osiguravale dobro miješanje i hidrodinamičku posmičnu silu, te sensorima za motrenje pH i koncentracije otopljenog kisika. Temperatura je kontrolirana, pri $28 \text{ }^\circ\text{C}$. U reaktorima su primijenjeni različiti omjeri KPK/N (0/200, 200/200, 400/200, 800/200).

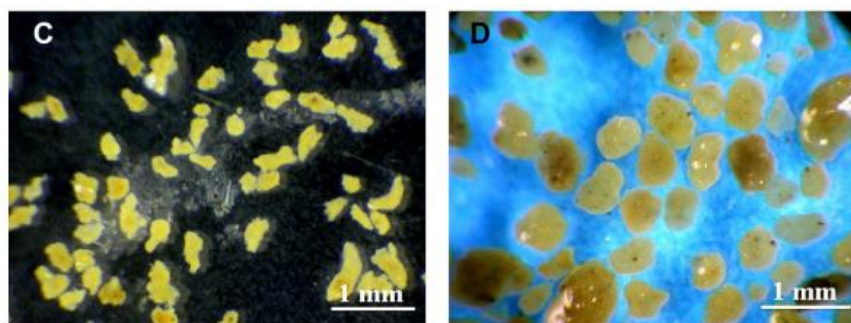
Pokusi su vođeni kroz 6 ciklusa: ulaz 6 min, aeracija 210 min, taloženje 2 min, odvođenje 4 min i vrijeme mirovanja 16 min, pri HRT 10 sati. U istraživanju je uporabljena otpadna voda iz domaćinstva. U tri reaktora (reaktori R2, R3 i R4) kao izvor organskih sastojaka (KPK) uporabljen je etanol, a reaktor R1 je bio bez dodatka organskih sastojaka. Aerobne granule

uspješno su formirane pri omjeru KPK/N 200/200 (reaktor R2) i pri KPK/N 400/200 (reaktor R3). Aerobne granule nisu bile uspješno formirane u reaktoru bez prisutne organske tvari pri omjeru KPK/N 0/200 (reaktor R1) kao ni pri visokom omjeru KPK/N 800/200 (reaktor R4) (Lei i sur., 2011).

Ni i sur. (2009) su proveli aerobnu granulaciju aktivnog mulja u pilotnom SBR-u u obradi otpadne vode sa $\text{KPK} < 200 \text{ mg L}^{-1}$. SBR radnog volumena 1 m^3 , unutarnjeg promjera 0,5 m i visine 6 m. Koncentracija otopljenog kisika iznosila je 2 mg L^{-1} , a regulirana je pomoću integralnog regulatora. Količina KPK u otpadnoj vodi bila je ispod 200 mg L^{-1} ($95\text{-}200 \text{ mg KPK L}^{-1}$) i reaktor je bio inokuliran sa aktivnim muljem. Pilot-SBR neprestano je radio više od 300 dana s ciklusima od 4 sata i 3 sata. Nakon inokulacije SBR je radio u ciklusima po 4 h (5 min punjenje, 185-200 min aeracija, 15-30 min taloženje i 20 min odvođenje). Nakon mjesec dana SBR reaktor je radio u ciklusu od 3 sata sa različitim vremenom aeracije (125-140 min). Nakon 300 dana, koncentracija biomase je iznosila $9,5 \text{ g L}^{-1}$, odnosno 85 % biomase činio je aerobni granulirani mulj nastao iz flokuliraoog mulja. Promjer granula bio je u rasponu od 0,2-0,8 mm, dobre taloživosti i kapaciteta za uklanjanje ugljika i amonijaka (Slike 7 i 8). Postignuta je prosječna učinkovitost uklanjanja KPK od 90 %, dok je amonijak gotovo potpuno iscrpljen nakon stvaranja aerobnih granula.



Slika 7. Mikroskopski izgled mulja tijekom procesa granulacije: sjeme mulja (A); granule mulja nakon 80 dana uzgoja (B) (preuzeto iz Ni i sur., 2009)



Slika 8. Mikroskopski izgledaerobnih granula tijekom procesa granulacije: nakon 120 dana uzgoja (C); nakon 200 dana ugoja (D) (preuzeto iz Ni i sur., 2009)

2.7.2. Učinak koncentracije otopljenog kisika na učinkovitost uklanjanja C, N i P iz otpadne vode aerobnim granuliranim muljem

Istovremeno uklanjanje C, N i P moguće je provesti zahvaljujući specifičnoj slojevitoj strukturi granula, koja se može podijeliti u tri zone aerobnu, anoksičnu i anaerobnu zonu. Zone omogućavaju rast raznovrsnih bakterija s različitim metaboličkim funkcijama kao što su nitrificirajuće, denitrificirajuće i anaerobne bakterije (Gao i sur., 2011).

Koncentracija otopljenog kisika (DO, engl. *Dissolved oxygen*) je važan je parametar za istovremeno uklanjanje ugljika, dušika i fosfora zbog ograničenja difuzije u granulama. Visoka koncentracija DO povećava brzinu nitrifikacije, dok niža koncentracija povećava brzinu denitrifikacije (Wilén i sur., 2018).

Aerobni granulirani mulj se može formirati u širokom rasponu koncentracije otopljenog kisika od 0,7-1 mg L⁻¹ pa sve do 2-7 mg L⁻¹ (Winkler i sur., 2018).

Beun i sur. (2001) su putem simulacijskog modela predvidjeli optimalnu vrijednost DO od oko 40 % zasićenja zrakom za odgovarajuće uklanjanje dušika primjenom AGS-a, što eksperimentalno nije provjereno.

Kasnije su Mosquera-Corral i sur. (2005a) pokušali eksperimentalno potvrditi ovu činjenicu i definirati značaj i ulogu otopljenog kisika u procesu istovremene nitrifikacije i denitrifikacije. Motrili su kratkoročne i dugoročne učinke smanjena koncentracije kisika na aktivnosti AGS. Koristili SBR kolonskog tipa (SBAR, engl. *Sequencing Batch Air-lift Reactor*) volumena 3 L, pri HRT 5,8 h i pri organskom opterećenju od 1,6 g KPK L⁻¹d⁻¹. Provedena su kratkoročna smanjenja koncentracije otopljenog kisika od 100 % na 50 %, 40 %, 20 % i 10 %. Uklanjanje dušika se povećalo sa 8 % na 45 % kada se zasićenje koncentracije otopljenog kisika smanjilo

na 40 %. Istaknuli su da kratkotrajno smanjenje koncentracije otopljenog kisika ne utječe na brzinu razgradnje organskog supstrata, dok dugotrajno smanjenje koncentracije otopljenog kisika povećava učinkovitost uklanjanja dušika, ali i pogoduje raspadu granula i ispiranju biomase.

2.7.3. Učinak režima rada SBR-a na učinkovitost uklanjanja C, N i P primjenom aerobnog granuliranog mulja

Obrada otpadne vode primjenom AGS najčešće koristi SBR tehnologiju. SBR se može primjenjivati za nitrifikaciju, denitrifikaciju i istovremenu nitrifikaciju i denitrifikaciju. Glavna prednost ovog procesa je jednostavnost dizajna. Ciklus SBR sastoji se od sljedećih faza: punjenje- ulaz otpadne vode, anoksične faze, aerobne faze, faze taloženja i ispuštanje obrađene otpadne vode (Cervantes, 2009).

He i sur. (2018) su radili ispitivanja u tri identična SBR rektora (unutarnji promjer 120 mm, visina 800 mm i volumen 7 L) koja provode istovremenu nitrifikaciju, denitrifikaciju i uklanjanje fosfora pri različitom vremenu trajanja aeracije (120, 90 i 60 min). Zrak se upuhivao s dna reaktora brzinom $4,0 \text{ L min}^{-1}$. Za svaki ciklus ispuštalo se 3,5 L obrađene vode. Reaktori su radili u ciklusu od 6 sati: ulaz otpadne vode (2 min), anaerobna faza (180 min), oksična (120 ili 90 ili 60 min), anoksična faza (54 ili 84 ili 114 min), taloženje (2 min) i pražnjenje (2 min). Operacije su automatski upravljane preko PLC-a. Smanjenje vremena aeracije, ali uz visoki intenzitet aeracije se pokazao kao bolji pristup uklanjanja hranjivih tvari i održavanja stabilnosti granula. Aerobne granule su ostale stabilne tijekom dugotrajnog rada pri visokom intenzitetu aeracije uz različito vrijeme trajanje aeracije, ali je kraće vrijeme aeriranja pogodovalo zadržavanju biomase, boljem taloženju i većoj proizvodnji izvanstaničnih polimernih tvari. Osim toga, postignuto je učinkovitije uklanjanje dušika zbog smanjenja vremena aeriranja (He i sur., 2018).

de Kreuk i sur. (2005c) su tijekom dugog perioda (700 dana) istražili istovremeno uklanjanje N i P u dva SBR kolonskog tipa. Oba rektora su volumena 3 L, unutarnjeg promjera 4 cm. Hidrauličko vrijeme zadržavanja bilo je 5,6 h, a opterećenje organskom tvari iznosilo je $1,6 \text{ kg KPK m}^{-3}\text{d}^{-1}$. Reaktori su vođeni kroz cikluse od 3 sata: 60 min punjenje, 112 min aeracija, 3 min taloženje i 5 min odvođenje-ispuštanje obrađene otpadne vode. Istražili su učinak koncentracije otopljenog kisika na učinkovitost uklanjanja N i P, tijekom tri perioda motrenja procesa pri zasićenosti kisikom 100 %, 40 % i 20 %. Početak procesa je trajao do 52. dana.

Nakon 65 dana od početka rada izmjereno je 95 % učinkovitosti uklanjanja fosfata. Koncentracija ulaznog fosfata bila je 20 mg P L⁻¹. Mikroorganizmi su bili inhibirani alilitioureom kako bi se zaustavila nitrifikacija

Nakon toga su snizili zasićenje kisikom sa 100 % na zasićenje kisikom 40 %. To nije imalo utjecaj na učinkovitost uklanjanja fosfata koja je u prosjeku ostala 97 %. Povećala se učinkovitost denitrifikacije i nakon 64 dana koncentracija nitrata u efluentu je bila ispod 5 mg NO₃-N L⁻¹, a sav amonijak i nitrit su oksidirani, što je činilo 98 % uklanjanja dušika. Nakon tog razdoblja kapacitet uklanjanja N se smanjio na vrijednosti 50-70 %, zbog mijenjanja morfologije aerobnih granula iz sferičnog u nepravilan oblik.

Zbog nedovoljnog uklanjanja N pri zasićenju kisikom 40 %, kisik je dodatno smanjen na 20 % zasićenja. Učinkovitost uklanjanja fosfata od je bila 94 % tijekom prvih 90 dana pri zasićenju kisikom od 20 %. U prvim danima nakon smanjenja zasićenosti kisikom na 20 % nije uočena razlika koncentraciji dušika. Tek nakon 78 dana kapacitet nitrifikacije se povećao, a u efluentu nije zabilježen amonijak. Kapacitet denitrifikacije je bio dovoljno visok da se ukloni višak proizvedenog nitrata, a kapacitet uklanjanja ukupnog dušika tijekom 300 dana se povećao na 94 %. Dugotrajnim pokusima su istaknuli kako je istovremeno uklanjanje hranjivih sastojaka bilo moguće zbog razvoja spororastućih denitrificirajućih PAOs (PAOs, engl. *Phosphate-accumulating organisms*) osobito pri niskim koncentracijama kisika zbog heterotrofnog rasta unutar granula. Također su istaknuli da se dio fosfata uklanja biološkim taloženjem.

Pri niskoj zasićenosti kisikom (20 %) postignuta je najveća učinkovitost uklanjanja KPK (100 %), fosfata (94 %) i ukupnog dušika (94 % sa 100 % tnm uklanjanjem amonijaka) (de Kreuk i sur., 2005c).

Liu i sur. (2020) su istražili učinkovitost istovremenog uklanjanja C, N i P mijenjajući vrijeme trajanja ciklusa (4, 6, 8, 12 i 72 sata) u anaerobno-aerobno-anoksično vođenom SBR-u (AOA-SBR, engl. *Anaerobic-Aerobic-Anoxic SBR*) sa sintetskom otpadnom vodom. Kako bi istražili učinak vremena trajanja ciklusa na uklanjanje N i P i mikrobnu zajednicu postavljeno je sedam radnih uvjeta (T1-6i T5'). Stabilan proces uspostavljen je tijekom T1, pri potpuno aerobnim uvjetima tijekom 72 sata. Radni uvjeti za T2, T3, T4, T5 i T6 su se razlikovali po vremenu trajanja ciklusa i to 12 h, 8 h (bez ugljika), 8 h (s ugljikom), 6 h (s ugljikom) i 4 h (s ugljikom). Koncentracija DO održavana je ispod 0,5, 2,0-3,0 i 0,5-1,0 mg L⁻¹ u anaerobnoj, aerobnoj i anoksičnoj fazi. T5' je bio konačni stabilan uvjet za AOA-SBR sustav i koristili su iste radne uvjete kao za T5. Radni ciklus se sastojao od ulaza, anaerobne faze, aerobne faze, anoksične, taloženja i odvođenja, uz vremensku dinamiku: reaktor

T2: (12 h bez ugljika) 10 min punjenje, 4,5 h anaerobna faza, 3,5 h aerobna faza, 2 h i 10 min anoksična faza bez ugljika, taloženje 1,5 h i odvođenje 10 min;

T3: (8 h bez ugljika) 10 min punjenje, 3 h anaerobna faza, 2,5 h aerobna faza; 1 h i 10 min, anoksična faza bez ugljika, taloženje 1 h i odvođenje 10 min;

T4: (8 h s ugljikom) 10 min punjenje, 3 h anaerobna faza, 2,5 h aerobna faza, 1 h i 10 min anoksična faza sa ugljikom, 1 h taloženje, 10 min odvođenje;

T5: (6 h s ugljika) 10 min punjenje, 2 h anaerobna faza, 2 h aerobna faza, 40 min anoksična faza sa ugljikom, 1 h taloženje, 10 min odvođenje;

T6: (4 h s ugljikom) 10 min punjenje, 1 h i 20 min anaerobna faza, 1 h i 40 min aerobna faza, 40 min anoksična faza sa ugljikom, 40 min taloženje i 10 min odvođenje;

T5': (6 h s ugljikom) 10 min punjenje, 2 h anaerobna faza, 2 h aerobna faza, 40 min anoksična faza sa ugljikom, 1 h taloženje i 10 min odvođenje.

Učinkovitost uklanjanja KPK u razdobljima od T1 do T6 iznosila je 91,78 %, 87,79 %, 91,74 %, 93,08 %, 94,07 % odnosno 90,34 %. Najniža i najviša učinkovitost uklanjanja KPK je postignuta u ciklusima od 12 h i 6 h. Učinkovitost uklanjanja fosfata u razdobljima od T1 do T6 bila je 95,84 %, 99,68 %, 97,57 %, 84,24 %, 91,93 % odnosno 75,53 %. Najniža i najviša učinkovitost uklanjanja fosfata je postignuta u ciklusima od 4 h i 12 h. Učinkovitost uklanjanja dušika u razdobljima od T1 do T6 bila je 67,65 %, 84,64 %, 80,95 %, 86,12 %, 97,52 % odnosno 69,56 %. Najniža i najviša učinkovitost uklanjanja fosfata je postignuta u ciklusima od 72 h i 6 h. Ugljik igra važnu ulogu kod procesa denitrifikacije jer je većina denitrificirajućih bakterija heterotrofna i potreban im je izvor organskog ugljika. Ugljik je dodavan u anoksičnoj fazi. Analiza mikrobiološkog sastava povezanog s uklanjanjem C, N i P pokazala je da su dominantne vrste iz rodova *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* i *CandidatusSaccharibacteria*, te razne vrste betaproteobakterija, gamaproteobakterija, sfingobakterija, deltaproteobakterija te alfavroteobakterija (Liu i sur., 2020).

U radu Mosquera-Corral i sur. (2005b) istražena je učinkovitost aerobnog granuliranog mulja u uklanjanja N pri različitim omjerima KPK/N (5; 2,5; 15; 7; 1,25; 0) u SBR reaktoru ukupnog volumena 2,5 L, radnog volumena 1,5 L, pri sobnoj temperaturi 15-20 ° C, pri DO 6-8 mg L⁻¹ tijekom prihranjivanja i DO 8 mg L⁻¹ tijekom perioda gladovanja. Sustav je radio u ciklusima od 3 sata: ulaz 3 min, vrijeme reakcije 171, taloženje 1 min, odvođenje obrađene otpadne vode 3 min i vrijeme mirovanja 2 min. Hidrauličko vrijeme zadržavanja bilo je 0,25 dana. Sintetska

otpadna voda bila je sastava: KPK ($0-1000 \text{ mg L}^{-1}$), $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ($30-200 \text{ mg L}^{-1}$), $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ (23 mg L^{-1}) i otopina u tragovima (1 mL L^{-1}).

U I periodu reaktor je radio pri omjeru KPK/N 5 tijekom 58 dana, nakon 30 dana postignuti su stabilni uvjeti i uklanjanje dušika iznosilo je 48-54 %. Ulazna koncentracija amonijaka bila je 100 mg N L^{-1} , te izlazne koncentracije $12 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ i $17 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$.

U II periodu tijekom 90 dana reaktor je radio pri KPK/N 2,5 i postignut je učinak uklanjanja dušika 33-41 %. Potom je ulazna koncentracija amonijaka povećana na 200 mg N L^{-1} i koncentracija u efluentu je iznosila $30 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ i $0 \text{ NO}_2\text{-N L}^{-1}$.

U III periodu omjer KPK je iznosio 2,5 ali uz značajno smanjenje koncentracije biomase iz II perioda zbog inokulacije drugog reaktora, $5,25 \text{ g VSS}$. Učinkovitost uklanjanja dušika bila je 16-18 %, a koncentracija u efluentu je bila oko $5 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ i $10 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$.

Istaknuto je kako prisutnost amonijaka u koncentracije većoj od $18 \text{ mg NH}_3\text{-N L}^{-1}$ može uzrokovati inhibiciju proizvodnje egzopolimera te naštetiti agregaciji biomase i stvaranju aerobnih granula. Tijekom četvrtog perioda u efluentu je bila prisutna koncentracija amonijaka oko $180 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$. Stoga je koncentracija amonijaka na ulazu smanjena na $36 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$, uzrokujući pad koncentracije efluenta na $9 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$. U tom je periodu učinkovitost uklanjanja dušika bilo 40 %. Kasnije je koncentracija ulaznog KPK je smanjena kako bi se potakao rast nitrifikacijskih bakterija.

Tijekom tri posljednja perioda vrijednosti KPK/N su bile redom 1,25, 0, odnosno 0, a vrijednosti amonijaka $50 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$, $50 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$ odnosno $100 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$ za periode VI, VII i VII. Tijekom tih perioda uočeno je 100 % tno uklanjanje dušika.

U istraživanju McSwain i sur. (2005), prikazana je usporedba 4 SBR reaktora s različitim vremenskim trajanjem pojedinih faza ciklusa stvaranje i strukturu aerobnog granuliranog mulja. SBR reaktori su radili u ciklusima, kako slijedi:

R1*: 90 min statičko punjenje; 0 min aerirano punjenje; 120 min reakcija, 10 min taloženje; 15 min odlijevanje; 5 min mirovanje.

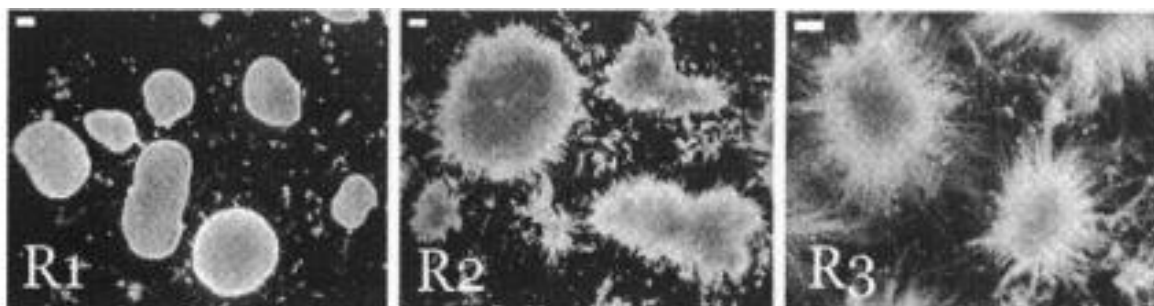
R1: 90 min statičko punjenje; 0 min aerirano punjenje; 120 min reakcija, 2 min taloženje; 15 min odlijevanje; 13 min mirovanje.

R2: 60 min statičko punjenje; 30 min aerirano punjenje; 120 min reakcija, 2 min taloženje; 15 min odlijevanje; 13 min mirovanje.

R3: 30 min statičko punjenje; 60 min aerirano punjenje; 120 min reakcija, 2 min taloženje; 15 min odlijevanje; 13 min mirovanje.

Organsko opterećenje u sva četiri reaktora je iznosilo 800 mg KPK L⁻¹ ili brzinu punjenja od 2,4 kg KPK m⁻³d⁻¹. Reaktori su radili u četverosatnom ciklusu sa varijacijama bilo u statičkom i aeriranom punjenju (SBR2, SBR3, SBR4) odnosno vremenu taloženja (SBR1). Određena je dinamika i stabilnost mikrobiološke populacije pomoću elektroforeze s denaturirajućim gradijentnim gelom.

Sva tri reaktora (R1, R2, R3) su pokazala dobro uklanjanje KPK > 96 % unutar mjesec dana. Sadržaj MLSS-a se smanjio za reaktor 1 do 3 redom 9 g L⁻¹, 6,8 g L⁻¹ odnosno 3,2 g L⁻¹, a sadržaj SVI se povećao za reaktor 1-3 redom 46 mL g⁻¹, 60 mL g⁻¹ i 114 mL g⁻¹. Nakon 60 dana rada svi reaktori su sadržavali granulirani mulj, ali je struktura granula bila različita u smislu prisutnih nitastih bakterija i sposobnosti taloženja. Uočeno je kako se udio nitastih bakterija povećava sa povećanjem vremena aeracijskog punjenja. Guste i glatke granule formirane su samo u R1, dok su u R2 i R3 (slika 9) prevladavali filamentozni mikroorganizmi. Neke od prisutnih dominantnih vrsta su bile: *Ferribacterium limneticum* u SBR2 i SBR3 i *Thiothrix* u SBR3 i SBR4. Zbog razlike u vremenu taloženja tijekom prva dva tjedna, ispiranje mulja je bilo puno veće za R1 (taloženje 2 min) nego za reaktor R1* (10 min).



Slika 9. Mikroskopska slika aerobnih granula uzgojenih u R1 (0 % aeriranog punjenja), R2 (33 % aeriranog punjenja) i R3 (66 % aeriranog punjenja) (preuzeto i prilagođeno iz McSwain i sur. 2005)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. REŽIM RADA SBR-A

SBR reaktor je radio po metodi „napuni i isprazni“, u četiri faze po ciklusu. Ciklus je uključivao: (i) punjenje bioreaktora sintetskom otpadnom vodom, 20 min; (ii) reakciju (23 sata i 10 min/ 11 sati i 10 min); (iii) taloženje (20 min tijekom uzgoja granula, kasnije 10 min); i (iv) odlijevanje supernatanta, 20 min. Faza reakcije se odvijala u naizmjeničnim aerobnim i anoksičnim uvjetima. Pokusi pri koncentraciji otopljenog kisika u rasponu 0-1 mg DO L⁻¹ su vođeni pri 1 ciklusu po danu (ciklus je trajao 24 h, a period reakcije 23 h i 10 min), a pokusi pri koncentraciji otopljenog kisika u rasponu 1-2 mg DO L⁻¹ pri 2 ciklusa po danu (ciklus je trajao 12 sati, a period reakcije 11 h i 10 min). Aerobni odnosno anoksični uvjeti su omogućeni paljenjem odnosno gašenjem aeracije. Tijekom uzgoja granula početno vrijeme taloženja je bilo 20 min, i tijekom vremena je skraćeno na 10 min. Pokusi su provedeni sa zrelim granulama, pri vremenu taloženja 10 min. Zrak se upuhivao sa donje strane reaktora, a reaktor je bio opremljen elektrodama za motrenje koncentracije otopljenog kisika, temperature i pH. Pokusi su provedeni tijekom 50 dana rada svakog odabranog režima vođenja SBR-a: omjer KPK/N 5, omjer KPK/N 11,5 i pri DO 0-1 mg L⁻¹ i DO 1-2 mg L⁻¹.

3.2. SINTETSKI MEDIJ

Uporabljena je sintetska otpadna voda sastava prikazanog u tablici 2. Kao izvor ugljika (KPK) korišten je natrijev acetat (NaC₂H₃O₂). Eksperimentalno je određeno da 1 g NaC₂H₃O₂ odovara 0,55 g KPK. Fosfat je priređen kao vodena otopina kalijeva dihidrogen fosfata (KH₂PO₄). Sintetska otpadna voda priređena je otapanjem soli u vodovodnoj vodi, (mg L⁻¹): 2 (NH₄)₂SO₄, 1 KH₂PO₄, 0,4 FeSO₄, 0,5 MgSO₄, 0,4 NaCl, 1 MgCO₃, 1 CaCO₃, te nakon stajanja 24 sata na sobnoj temperaturi filtrirana kroz filter papir veličine pora 0,45 μm. Sintetska otpadna voda, vodena otopina kalijeva dihidrogen fosfata i natrijev acetat su dodavani na početku pokusa u količini potrebnoj da se osigura željeni početni KPK, NH₄-N i PO₄-P.

Tablica 2. Sastav otpadne vode korištene u pokusima pri koncentraciji otopljenog kisika 0-1 mg DO L⁻¹ i 1-2 mg DO L⁻¹

KPK/N	5	11,5	
DO [mg L ⁻¹]	1-2	0-1	1-2
KPK [mg L ⁻¹]	200±70	460±80	
NH ₄ -N [mg L ⁻¹]	40±10	40±10	
PO ₄ -P [mg L ⁻¹]	7±2	7±2	
pH	7,5	7,5	

3.3. UREĐAJI I PRIBOR

Kemikalije uporabljene u provedbi pokusa prikazane su u tablici 3

Tablica 3. Kemikalije korištene u provedbi eksperimenata (sve p.a. čistoće):

Kemikalija	Proizvođač
(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ×6H ₂ O.....	Kemika
H ₂ SO ₄	GRAM-MOL
HgSO ₄	Kemika
Ag ₂ SO ₄	Kemika
K ₂ Cr ₂ O ₇	Kemika
1,10-fenantrolinij-klorid monohidrat.....	Kemika
(NH ₄) ₂ SO ₄	Merck
FeSO ₄ ×7H ₂ O.....	Kemika
MgSO ₄	Merck
NaCl.....	Merck
MgCO ₃	Kemika
CaCO ₃	Kemika
KH ₂ PO ₄	Merck
KCl.....	Alkaloid
Nesslerov reagens.....	Kemika
K-Na-C ₄ H ₄ O ₆ × 4H ₂ O.....	GRAM-MOL
NaC ₂ H ₃ O ₂	GRAM-MOL

Uređaji uporabljena u pokusima uklanjanja N i P prikazana je u tablici 4.

Tablica 4. Uređaji uporabljeni u pokusima anoksično/aerobnog uklanjanja P

Uređaj	Proizvođač
Spektrofotometar	Spectroquant VEGA 400 Merck
Kvarcne kivete	Merck
Fotometar	Photometer SQ 200 Merck
Termo blok	Thermoreactor TR 300, Merck; HACH COD reactor
Bioreaktor	
Kompresor	HIBLOW HP 40; Hagen Model40 A-10011
Mjerač protoka zraka	
Kisikova elektroda i mjerni aparat	DurOx, WTW Oxi3210
pH elektroda i mjerni aparat	SenTix41, WTW 330i
Titrat - Digitalna bireta Solarus	Hirschman-Laborgeräte
Dispenser (Ceramus Classic)	Hirschman-Laborgeräte
Sterilizator/ Sušionik	Instrumentaria ST-05
Vlagomjer	Kern MLS-D
Sustav za vakuum filtraciju	Sartorius

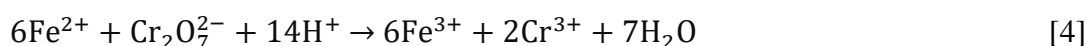
3.4. ANALITIČKI POSTUPCI

Prije provođenja analitičkih metoda uzorci su filtrirani kroz filter papir veličine pora 0,45 µm.

3.4.1. Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK)

KPK vrijednost određivana je titrimetrijski prema Standard Methods (APHA 1995), po metodi 5220C (Closed Reflux, Titrimetric method).

Uzorak se spaljuje u kiseloj sredini uz srebro sulfat (Ag₂SO₄) kao katalizator i živin sulfat (HgSO₄) za izbjegavanje interferencije nekih anorganskih spojeva, poput klorida. Suvišak kalijeva bikromata titrira se otopinom feroamonijeva sulfata (FAS), ((NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O), uz dodatak ferroina kao indikatora, [jednadžba 4].



Postupak:

U staklenu kivetu otpipetira se 2 mL uzorka, doda 1,2 mL otopine K₂Cr₂O₇ + HgSO₄ i 2,8 mL otopine Ag₂SO₄ + H₂SO₄, pažljivo zatvori, promiješa, te spaljuje u termoreaktoru pri 150 °C/1 h. Ostavlja se u tamu dok se ne ohladi na sobnu temperaturu. Titrira se otopinom FAS (0,1 mol

L⁻¹), uz feroin kao indikator, do promjene boje iz plavo/zelene u smeđe/crvenu. Slijepa proba se odredi na isti način, a uzorak je destilirana voda. Faktor otopine feroamonijeva sulfata se odredi poput slijepa probe, ali se ne digestira.

Faktor otopine računa se prema jednadžbi [5].

$$f = \frac{1,2}{V_{\text{fas}}} \quad [5]$$

gdje je:

1,2 - volumen (mL) otopine K₂Cr₂O₇ + HgSO₄

V_{fas} - volumen (mL) FAS otopine utrošene za titraciju

KPK vrijednost se računa prema jednadžbi [6].

$$\text{KPK} \left[\frac{\text{mgO}_2}{\text{L}} \right] = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times f \times 8000}{V_{\text{uzorka}}} \quad [6]$$

gdje je:

V₁-volumen [mL] FAS utrošen za titraciju slijepa probe

V₂-volumen [mL] FAS utrošen za titraciju uzorka

c-koncentracija FAS (0,1 mol L⁻¹)

f-faktor otopine FAS

Pribor:

Staklene kivete s čepovima

Varijabilna ručna pipeta Eppendorf s nastavcima

Digestor, HACH COD reactor, Merck Thermoreactor TR 300

Dispenzeri

Titratore - Digitalna bireta Solarus, Hirschman-Laborgeräte

3.4.2. Određivanje ukupnog dušika

Ukupni dušik određivan je pomoću kivetnih testova Merck Spectroquant 1.14763 i 1.14537.

Organski i anorganski dušikovi spojevi se prevode u nitrat prema Koroleff-ovoj metodi u reakciji s oksidirajućim reagensom u termoreaktoru. U otopini zakiseljenoj sumpornom i fosfornom kiselinom, nitrati reagiraju s 2,6-dimetilfenolom (DMP) i tvore 4-nitro-2,6-

dimetilfenol koji se određuje fotometrijski. Digestija je analogna EN ISO 11905-1, a određivanje nitrata je analogno ISO 7890/1.

Postupak:

U praznu kivetu se doda 9 mL destilirane vode i 1 mL filtriranog uzorka i promiješa. Doda se 1 žličica reagensa N-1K i promiješa, 6 kapi reagensa N-2K, dobro zatvori, promućka i spaljuje pri 120 °C/1 h. Nakon spaljivanja kiveta se izvadi iz termoreaktora, nakon 10 min promućka, te hladi na sobnu temperaturu. U reakcijsku kivetu otpipetira se 1 mL ohlađenog spaljenog uzorka (koristi se bistri supernatant ili filtrat u slučaju mutnoće ili taloga), doda 1 mL reagensa N-3K, zatvori kiveta i dobro promućka. Nakon reakcijskog vremena od 10 min u spektrofotometru se očita vrijednost ukupnog dušika u mg L⁻¹.

Pribor:

Kivetni testovi Merck Spectroquant 1.14763 (10-150 mg N L⁻¹) i 1.1457 (0,5-15 mg N L⁻¹).

Staklene kivete s čepovima

Varijabilna ručna pipeta Eppendorf s nastavcima

Digestor tvrtke Hach COD Reactor

Spektrofotometar, Spectroquant VEGA 400, Merck

3.4.3. Određivanje amonijakalnog dušika

Amonijakalni dušik (NH₄-N) određivan je metodom po Nessleru. Dodatkom Nesslerovog reagensa u prisustvu NH₄-N nastaje žuta do žuto smeđa boja, ovisno o količini prisutnog NH₄-N, čiji se intenzitet određuje mjerenjem absorbance pri valnoj duljini 425 nm, te iz baždarnog dijagrama očita vrijednost NH₄-N u mg L⁻¹.

Baždarni dijagram načinjen je određivanjem absorbancijskih vrijednosti poznatih koncentracija standardne otopine NH₄Cl pri 425 nm.

Postupak:

U odmjernu tikvicu od 50 mL doda se 50 mL filtriranog uzorka, po potrebi razrijeđenog, i 2 kapi K-Na-tartarata i promiješa, te doda 1 mL Nesslerovog reagensa i promiješa. Nakon 10 min izmjeri se absorbanciji pri 425 nm.

Pribor:

Odmjerne tikvice od 50 mL

Varijabilna ručna pipeta Eppendorf s nastavcima

Fotometar, SQ 200, Merck

3.4.4. Određivanje koncentracije nitrata

Određivanje $\text{NO}_3\text{-N}$ je provedeno pomoću kivetnih testova Merck Spectroquant 1.14773. Metoda se temelji na reakciji nitratnih iona u sumpornoj kiselini s derivatom benzojeve kiseline uz nastanak nitro spoja koji je crvene boje i određuje se fotometrijski.

Postupak:

U staklenu kivetu se doda 1,5 mL uzorka (prethodno filtriranog i po potrebi razrijeđenog) i žličica $\text{NO}_3\text{-1}$ reagensa. Kiveta se dobro zatvori i miješa dok se reagens ne otopi. Potom se doda 5 mL koncentrirane sumporne kiseline, kiveta pažljivo zatvori i promiješa. Reakcija se odvija 10 minuta, potom se očita vrijednost $\text{NO}_3\text{-N}$ u mg L^{-1} .

Pribor:

Kivetni testovi Merck Spectroquant 1.14773 (0,2-20 $\text{mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$)

Staklene kivete s čepovima

Varijabilna ručna pipeta Eppendorf s nastavcima

Kvarcne kivete, Merck

Spektrofotometar, Spectroquant VEGA 400, Merck

3.4.5. Određivanje koncentracije nitrita

Metoda za određivanje nitrita pomoću kivetnih testova Merck Spectroquant 1.14776, se temelji na reakciji nitrita sa sulfanilnom kiselinom uz nastanak diazonijeve soli, koja reagira s N-(1-naftil)etilendiamin dihidroklorom i tvori crveno-ljubičastu azo boju.

Intenzitet obojenja se mjeri fotometrijski. Ova metoda je analogna EPA 354.1, US Standardnim metodama 4500- $\text{NO}_2\text{-B}$, i EN 26 777.

Postupak:

U staklenu kivetu se doda 5 mL uzorka (prethodno filtriranog i po potrebi razrijeđenog) i jedna žličica NO₂-1 reagensa, kiveta se zatvori i miješa dok se reagens ne otopi. Nakon 10 minuta reakcijskog vremena izmjeri se koncentracija NO₂-N u mg L⁻¹.

Pribor:

Kivetni testovi Merck Spectroquant 1.14776 (0,002-1 mg NO₂-N L⁻¹)

Staklene kivete s čepovima

Varijabilna ručna pipeta Eppendorf s nastavcima

Kvarcne kivete, Merck

Spektrofotometar, Spectroquant VEGA 400, Merck

3.4.6. Određivanje koncentracije fosfata

Fosfat u obliku ortofosfata (PO₄-P) određivan je pomoću kivetnih testova Merck Spectroquant 1.14842, 1.00673.0001 i 1.14729.0001. Metoda se temelji na reakciji iona ortofosfata s amonijevim vanadatom i amonijevim heptamolibdatom pri čemu nastaje žuto obojeni molibdovanadat fosforna kiselina čija se koncentracija određuje fotometrijski. Ova metoda je analogna APHA 4500-P C.

Postupak:

U staklenu kivetu se otpipetira 5 mL prethodno filtriranog i po potrebi razrijeđenog uzorka te se doda 1,2 mL PO₄-1 reagensa. Kiveta se zatvori i promiješa. Nakon 10 minuta reakcijskog vremena izmjeri se koncentracija PO₄-P u mg L⁻¹.

Pribor:

Kivetni testovi Merck Spectroquant 1.14842 (0,5-30 mg PO₄-P L⁻¹), 1.00673.0001 (3-100 mg PO₄-P L⁻¹) i 1.14729.0001 (0,5-25 mg PO₄-P L⁻¹).

Staklene kivete s čepovima

Varijabilna ručna pipeta Eppendorf s nastavcima

Kvarcne kivete, Merck

Spektrofotometar, Spectroquant VEGA 400, Merck

3.4.7. Određivanje pH vrijednosti

Za motrenje i određivanje pH vrijednosti tijekom mikrobnih procesa uporabljen je pH-metar WTW 330i i pH elektroda SenTix41.

pH elektroda je tijekom pokusa bila uronjena u bioreaktor te je očitavana vrijednost prikazana na zaslonu pH-metra. Svakodnevno, prije uporabe pH elektrode, provođeno je umjeravanje elektrode (kalibracija) uranjanjem pH elektrode u pufer otopinu s pH 4, pH 7 i pH 10 prema uputama proizvođača. Nakon završetka mjerenja elektroda je isprana destiliranom vodom te čuvana u otopini elektrolita, zasićenoj otopini kalijeva klorida.

Pribor:

pH-metar WTW 330i

pH elektroda WTW SenTix41

Kemikalije:

Puffer otopina, WTW, Buffer solution pH 4, pH 7 i pH 10

3.4.8. Određivanje koncentracije otopljenog kisika

Koncentracija otopljenog kisika određivana je pomoću kisikove elektrode DurOx i mjerača otopljenog kisika WTW Oxi3210. Instrument je prije upotrebe umjeren prema uputama proizvođača. Elektroda je tijekom trajanja mikrobnog procesa bila uronjena u bioreaktor te je vrijednost koncentracije otopljenog kisika prikazana na zaslonu uređaja, u mg L^{-1} ili % zasićenja.

3.4.9. Određivanje temperature

Temperatura je tijekom procesa određivana pomoću temperaturnog senzora s kisikove elektrode (WTW Oxi3210 i DurOx) i pH elektrode (WTW 330i i SenTix41) očitavanjem sa zaslona uređaja.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom poglavlju prikazani su rezultati učinka omjera KPK/N i koncentracije otopljenog kisika na učinkovitost uklanjanja organskih sastojaka i hranjivih tvari iz otpadne vode. Provedeni su pokusi sa sintetskom otpadnom vodom koja svojim sastavom oponaša otpadnu vodu kućanstva. Pokusi u kojima je određena učinkovitost uklanjanja C, N i P aerobnim granuliranim muljem provedeni su s ciljem određivanja učinka:

- (i) omjera KPK/N, i to pri omjeru KPK/N 5 i 11,5
- (ii) koncentracije otopljenog kisika, u rasponu DO 0-1 mg L⁻¹ i DO 1-2 mg L⁻¹

Rezultati pokusa prikazani su slikama, i to:

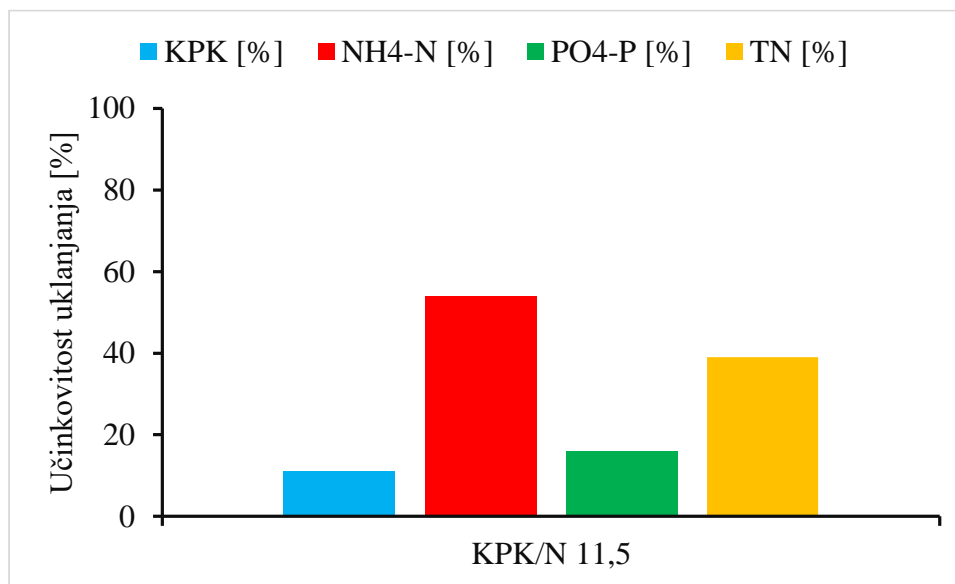
- (a) slike 10-13; učinak omjera KPK/N 11,5 pri DO 0-1 mg L⁻¹
- (b) slike 14-17; učinak omjera KPK/N 11,5 pri DO 1-2 mg L⁻¹
- (c) slike 18-21; učinak omjera KPK/N 5 pri DO 1-2 mg L⁻¹

na učinkovitost uklanjanja organskih spojeva, dušika i fosfora iz otpadne vode pomoću aerobnih granula. Svaka serija pokusa vođena je tijekom 50 dana, a uzorci za analizu su uzimani svaki drugi dan. Sastav otpadne vode korišten za pokuse u ovom radu prikazan je u tablici 2.

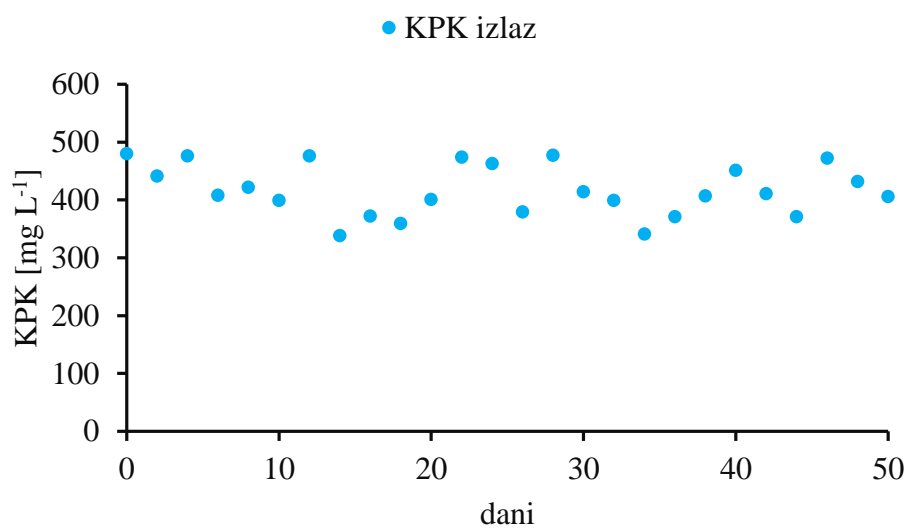
4.1. UČINAK OMJERA KPK/N 11,5 I DO 0-1 mg L⁻¹ NA UČINKOVITOST UKLANJANJA C, N I P AEROBNIM GRANULIRANIM MULJEM

Rezultati učinkovitosti uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i ukupnog dušika (TN, engl. *Total Nitrogen*) pri omjeru KPK/N 11,5 i pri koncentraciji otopljenog kisika u rasponu 0-1 mg L⁻¹ prikazani su slikom 10, a rezultati izlaznih vrijednosti koncentracije KPK, NH₄-N i PO₄-P slikama 11, 12 i 13.

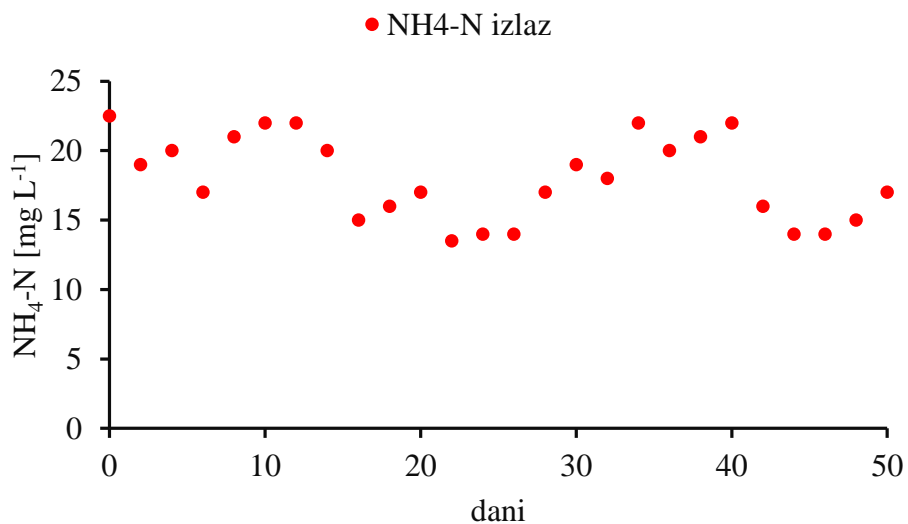
Aeracija je vrlo važna u sustavu aerobnih granula. Aeracijom je moguće regulirati zastupljenost određenih mikrobnih vrsta, utjecati na mikrobní metabolizam, strukturu, stabilnost i veličinu granule, kao i na učinkovitost uklanjanja KPK, N i P (Yuan i sur., 2019; He i sur., 2017; He i sur., 2019; Gao i sur., 2013). Dovoljna količina otopljenog kisika osigurava značajnu oksidaciju amonijaka, a nedostatak aeracije uzrokuje nepotpunu nitrifikaciju i pridonosi denitrifikaciji (He i sur., 2017). Ipak, u uređaju za biološku obradu otpadnih voda aeracija predstavlja 40-60 % ukupnih troškova energije (Olsson i Andrews, 1981), pa je ova serija pokusa provedena pri koncentraciji otopljenog kisika 0-1 mg DO L⁻¹ da se ispita učinkovitost uklanjanja KPK, N i P uz moguću uštedu na energiji.



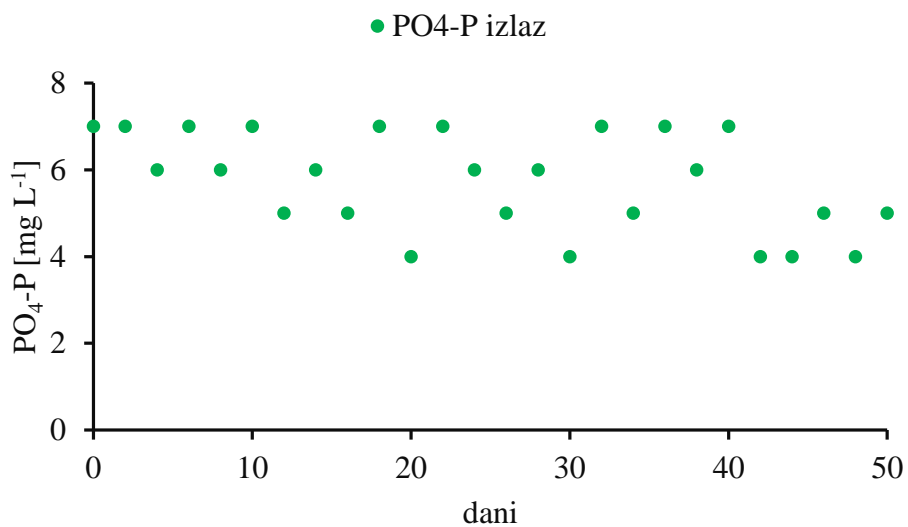
Slika 10. Učinkovitost uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i ukupnog dušika pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 0-1 mg DO L⁻¹



Slika 11. Koncentracija KPK u izlazu pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 0-1 mg DO L⁻¹



Slika 12. Koncentracija NH₄-N u izlazu pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 0-1 mg DO L⁻¹



Slika 13. Koncentracija PO₄-P u izlazu pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 0-1 mg DO L⁻¹

Kombinacija čimbenika omjer KPK/N 11,5 i otopljenog kisika u rasponu 0-1 mg DO L⁻¹ (slike 10-13) nije povoljna za postizanje zakonom zahtijevane kakvoće obrađene otpadne vode za ispušt u površinske vode (NN 26/2020) za određivane vrijednosti KPK, NH₄-N, PO₄-P i TN,

ali postignute vrijednosti obrade otpadne vode zadovoljavaju za ispušt u sustav javne odvodnje (slike 11-13).

Ovakvim vođenjem procesa postignuto je 11 %, 54 %, 16 % i 39 % uklanjanje KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ i TN iz otpadne vode (slika 10). Postignute vrijednosti KPK u izlazu su varirale u rasponu 338 – 480 mg KPK L^{-1} (slika 11), za $\text{NH}_4\text{-N}$ u rasponu 13,8 – 23 mg $\text{NH}_4\text{-N L}^{-1}$ (slika 12), i za $\text{PO}_4\text{-P}$ u rasponu 4,2-7,6 mg $\text{PO}_4\text{-P L}^{-1}$ (slika 13).

U ovim pokusima zabilježeno je istovremeno uklanjanje KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$ i $\text{PO}_4\text{-P}$, međutim, zbog nepovoljnih uvjeta (niska koncentracija otopljenog kisika) nisu postignuti zadovoljavajući rezultati uklanjanja. Zbog nedovoljno raspoložive koncentracije otopljenog kisika postignuto je tek 54 % uklanjanje $\text{NH}_4\text{-N}$ koji se djelomično konvertirao do nitrita i nitrata, jer je nitrifikacija bila ograničena raspoloživom količinom otopljenog kisika (He i sur., 2017). Dio kisika su utrošili i aerobni heterotrofi koji su dominantniji u kompeticiji za otopljeni kisik nad autotrofinim nitrifikantima. Za uklanjanje KPK iz otpadne vode odgovorni su heterotrofi, a viši omjer KPK/N u tako vođenom procesu pri maloj raspoloživoj količini otopljenog kisika na strani je heterotrofa u uklanjanju KPK (Kocaturk i Erguder, 2016).

Dio akumuliranih nitrita i nitrata se reducirao s raspoloživim KPK kao donorom elektrona u procesu denitrifikacije (Gerardi, 2002) što je vidljivo iz bilance oksidiranog $\text{NH}_4\text{-N}$ i ne ekvivalentnoj količini nakupljenog $\text{NO}_3\text{-N}$ i $\text{NO}_2\text{-N}$, a također dio nitrita i nitrata je poslužio kao elektron akceptor u procesu denitrificirajuće defosfatacije što je vidljivo iz postignutog 16 % uklanjanja $\text{PO}_4\text{-P}$ (He i sur., 2019). Za veću učinkovitost uklanjanja $\text{PO}_4\text{-P}$ bilo je potrebno osigurati dovoljno elektron akceptora, bilo kisika (veća koncentracija otopljenog kisika) ili nitrita/nitrata (osigurati potpunu oksidaciju amonijaka), a čime bi se postigla posljedično i veća učinkovitost uklanjanja ukupnog N (Yuan et al., 2019; He i sur., 2017; He i sur., 2019; Gao i sur., 2013).

Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/2020) propisuje granične vrijednosti emisija onečišćujućih tvari u industrijskim otpadnim vodama prije njihova ispuštanja u sustav javne odvodnje i u svim pročišćenim ili nepročišćenim otpadnim vodama koje se ispuštaju u vode. Prilikom ispuštanja pročišćenih komunalnih otpadnih voda u vode osim koncentracija onečišćujućih tvari i/ili opterećenja u otpadnim vodama, potrebno je odrediti i postotak smanjenja onečišćenja na uređaju za pročišćavanje otpadnih voda. Pravilnik propisuje granične vrijednosti emisija onečišćujućih tvari u otpadnim vodama za KPK 125 mg L^{-1} , BPK_5 25 mg L^{-1} , ukupni fosfor 2 mg P L^{-1} (1 mg P L^{-1} jezera), ukupni dušik 15 mg N L^{-1} , nitrati 2 mg N L^{-1} , amonij 10 mg N L^{-1} , nitriti 1 mg N L^{-1} , za površinske vode, a za sustav

javne odvodnje KPK 700 mg L^{-1} , BPK₅ 250 mg L^{-1} , ukupni fosfor 10 mg P L^{-1} , nitriti 10 mg N L^{-1} , ukupni dušik 50 mg N L^{-1} (NN 26/2020).

Gao i sur. (2013) ističu da je viši intenzitet aeracije nužan za proces aerobne granulacije mulja, međutim, kod zrelih granula intenzitet aeracije nema učinka na uklanjanje organskih sastojaka, a viši intenzitet aeracije je povoljan za uklanjanje $\text{NH}_4\text{-N}$. He i sur. (2019) su u pokusima u anaerobno-aerobno-anoksičnoj konfiguraciji pri omjeru KPK/N 4 postigli neovisno o intenzitetu i vremenu aeracije stabilno i pouzdano uklanjanje $\text{NH}_4\text{-N}$ i organskih sastojaka, a trajanje i intenzitet aeracije je imalo učinka na uklanjanje preostalog N. Intenzitet i trajanje aeracije su uzrokovali značajne razlike kod otpuštanja fosfora.

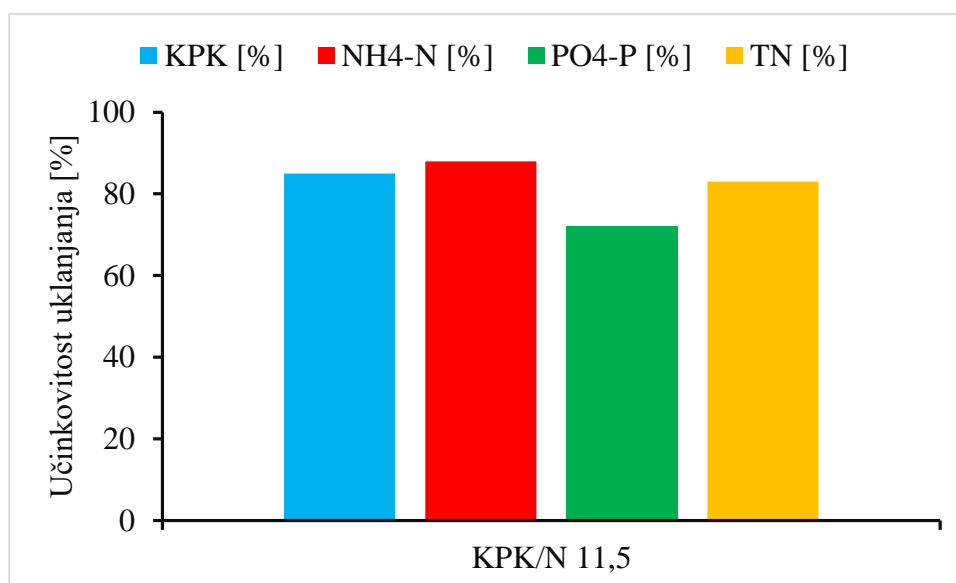
Franca i sur. (2019) ukazuju na potrebu za osiguravanjem visoke koncentracije otopljenog kisika zbog sprečavanja ograničenja kisikom i zbog stabilnosti strukture aerobne granule. No, prilikom podešavanja koncentracije otopljenog kisika potrebno je voditi računa o potrošnji energije.

Kako potreba na kisiku u prisutnosti visoke koncentracije supstrata ovisi o specifičnim čimbenicima, poput vrste supstrata i načinu punjenja bioreaktora, veličine aerobnih granula, koncentracije biomase, i mikrobnj zajednici unutar aerobne granule, trenutno ne postoje – nisu istaknute općenite vrijednosti za minimalnu koncentraciju otopljenog kisika ili brzinu aeracije za rad sustava sa aerobnim granulama (Franca i sur., 2019).

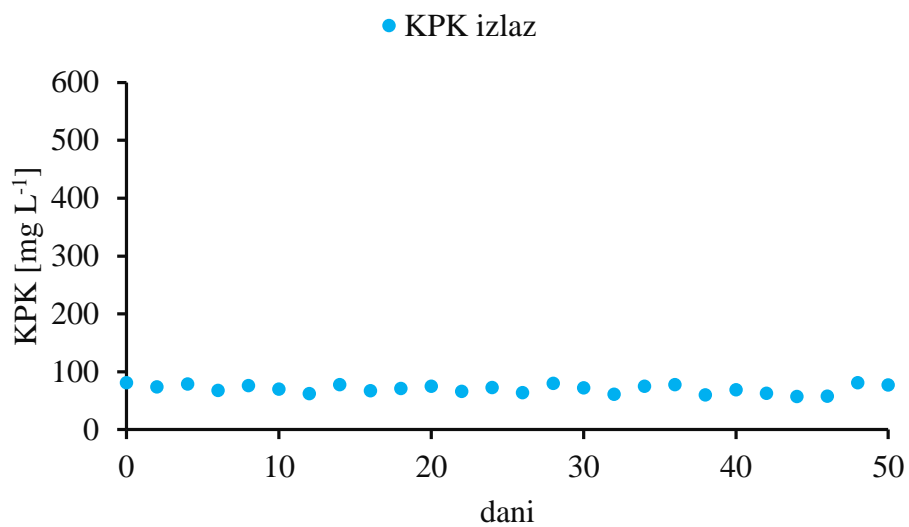
4.2. UČINAK OMJERA KPK/N 11,5 I DO 1-2 mg L^{-1} NA UČINKOVITOST UKLANJANJA C, N I P AEROBNIM GRANULIRANIM MULJEM

Kako je u pokusu pri omjeru KPK/N 11,5 pri DO 0-1 mg L^{-1} bila nedostatna količina otopljenog kisika za postizanje učinkovitog uklanjanja C, N i P aerobnim granuliranim muljem (Slike 10-13), istražen je učinak povećane količina otopljenog kisika i provedeni su pokusi pri DO 1-2 mg L^{-1} .

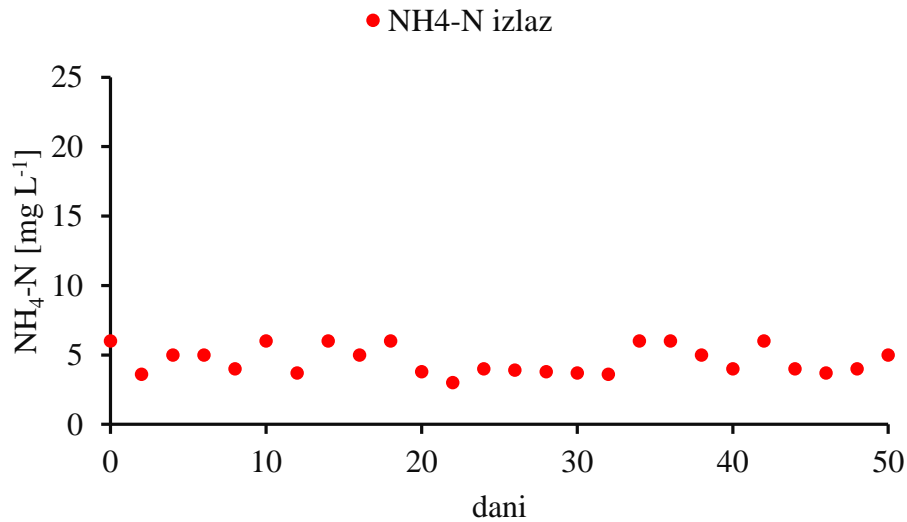
Rezultati učinkovitosti uklanjanja KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ i TN pri omjeru KPK/N 11,5 i pri koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L^{-1} prikazani su slikom 14, a koncentracije KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$ i $\text{PO}_4\text{-P}$ u izlazu prikazani su slikama 15, 16 i 17.



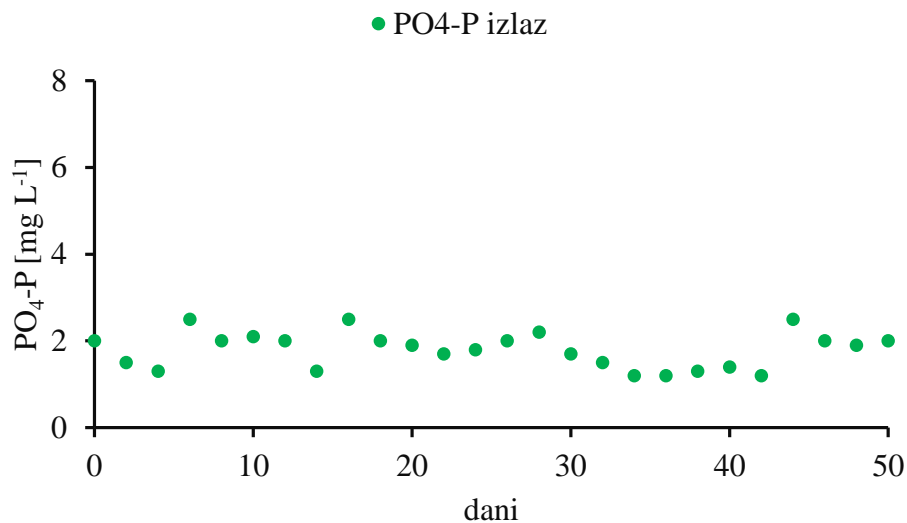
Slika 14. Učinkovitost uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i ukupnog dušika pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹



Slika 15. Koncentracija KPK u izlazu pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹



Slika 16. Koncentracija NH₄-N u izlazu pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹



Slika 17. Koncentracija PO₄-P u izlazu pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹

Povećanje koncentracije otopljenog kisika je povoljno utjecalo na učinkovitost uklanjanja svih ispitivanih sastojaka, a rezultati su pokazali uklanjanje od 85 %, 88 %, 72 % i 83 % za KPK, NH₄-N, PO₄-P i TN (slika 14). Postignute su vrijednosti u izlazu 57- 81 mg KPK L⁻¹ (slika 15), 3,6-6 mg NH₄-N L⁻¹ (slika 16), 1,3-2,5 mg PO₄-P L⁻¹ (slika 17).

Kakvoća obrađene otpadne vode u izlazu zadovoljavala je za ispušt u površinske vode obzirom na vrijednosti KPK i $\text{NH}_4\text{-N}$, a $\text{PO}_4\text{-P}$ je povremeno iznosio nešto iznad maksimalne dopuštene koncentracije ($0,5 \text{ mg PO}_4\text{-P L}^{-1}$) (NN 26/2020).

Koncentracija otopljenog kisika u rasponu $1\text{-}2 \text{ mg DO L}^{-1}$ je bila dovoljna za heterotrofe za postizanje 85 % uklanjanja KPK (slike 14 i 15) i za nitrifikante za postizanje 88 % uklanjanja $\text{NH}_4\text{-N}$ (slike 14 i 16). U aerobnim uvjetima, pri dovoljnoj količini otopljenog kisika $\text{NH}_4\text{-N}$ se oksidira do $\text{NO}_2\text{-N}$, a $\text{NO}_2\text{-N}$ dalje do $\text{NO}_3\text{-N}$ (nitrifikacija). Akumulirani nitriti i/ili nitrati uz prisutan elektron donor (KPK) se mogu u procesu denitrifikacije reducirati do plinovitog dušika.

Također, PAOs mogu koristiti kisik, nitrite i nitrata kao akceptore elektrone za unos fosfata u svoje stanice, s organskim spojevima kao donatorom elektrona – unutarstanične zalihe PHA. Na taj način se odvija istovremeno uklanjanje KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$, TN i $\text{PO}_4\text{-P}$.

Kada su istovremeno prisutni KPK i $\text{NH}_4\text{-N}$ u aerobnim uvjetima, zbiva se kompeticija za otopljeni kisik između heterotrofa koji oksidiraju organski ugljik i nitrifikanata koji troše kisik za oksidaciju $\text{NH}_4\text{-N}$ i oksidaciju $\text{NO}_2\text{-N}$.

Kako su aerobne heterotrofne bakterije dominantnije od nitrifikanata u kompeticiji za raspoloživi otopljeni kisik, obično heterotrofi nadvladaju autotrofe i prvi utroše otopljeni kisik za oksidaciju KPK, a zatim nitrifikanti troše kisik za oksidaciju $\text{NH}_4\text{-N}$, odnosno $\text{NO}_2\text{-N}$ (Gerardi, 2002).

Ipak, zahvaljujući kompaktnoj i gustoj strukturi aerobnih granula, kroz presjek granule je vidljiv gradijent koncentracije otopljenog kisika, organskih sastojaka, amonijaka i fosfata, kao i otpor difuzije supstrata. Zbog toga je moguće odvijanje aerobnih procesa na površini granule, a u dubljim slojevima granule anoksičnih procesa. Kako se u vanjskim slojevima granule odvija nitrifikacija, a u unutarnjim slojevima granule denitrifikacija, taj proces je poznat kao istovremena nitrifikacija i denitrifikacija (Gao i sur., 2011; Gerardi, 2002; Yuan i sur., 2019).

Kocaturk i Erguder (2016) i Yuan i sur. (2019) smatraju da je anaerobna faza ključna za značajno uklanjanje dušika.

Kocaturk i Erguder (2016) su u pokusima vođenim u anoksično-aerobnom režimu s aerobnim granulama pri omjeru KPK/N 10 postigli 76-90 % uklanjanje KPK, 65 ± 23 % uklanjanje amonijaka i 18 ± 10 % uklanjanje ukupnog dušika. Pri omjeru KPK/N 5 zabilježili su 99 % uklanjanje amonijaka, 68 ± 7 % uklanjanje KPK i 54 ± 5 % uklanjanja ukupnog dušika. Ti autori sugeriraju da omjer $\text{KPK/N} > 7,5$ ima negativan učinak na uklanjanje amonijaka zbog porasta vrijednosti pH iznad 8,6, a koji ne pogoduje ni denitrifikaciji ni nitrifikaciji. Tako visoka vrijednost pH pridonosi povećanoj vrijednosti slobodnog amonijaka, koji ima toksičan učinak

na mikroorganizme aktivnog mulja. Kako su nitrifikanti bili dugo izloženi visokoj vrijednosti pH, pa tako i koncentraciji slobodnog amonijaka koja je imala inhibirajući učinak, došlo je do ispiranja nitrifikanata (Kocaturk i Erguder, 2016).

Rastom vrijednosti pH povećava se udio slobodnog amonijaka, $\text{NH}_3\text{-N}$, i posljedično manji udio $\text{NH}_4\text{-N}$. Za *Nitrobacter* vrste, koje sudjeluju u drugom koraku nitrifikacije - oksidaciji nitrita do nitrata – proces nitratacije, inhibirajuća je vrijednost slobodnog amonijaka u rasponu 0,1 -1,0 mg $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$, a za *Nitrosomonas* vrste koje sudjeluju u prvom koraku nitrifikacije – oksidaciji amonijaka do nitrita – procesu nitritacije, u rasponu 10-150 mg $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$ (Anthonisen i sur., 1976).

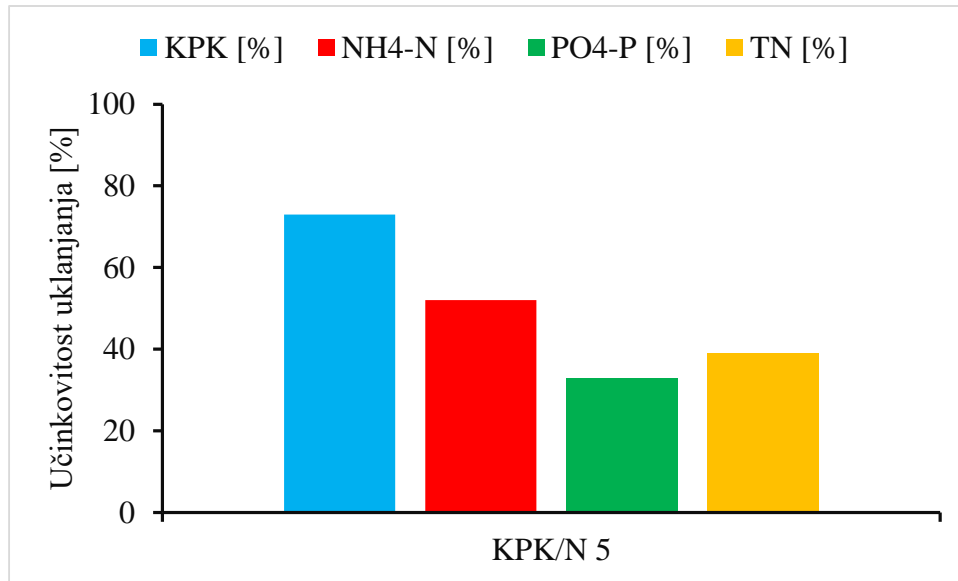
Yuan i sur. (2019) su postigli 91,7 % uklanjanje N kada su primijenili anaerobnu fazu tijekom 60 min, i pri tome dobili granule pravilnog sfernog vanjskog oblika, za razliku od 58,8 % uklanjanje N koje su postigli s anaerobnom fazom u trajanju 5 min, a granule su bile labave i nepravilne.

4.3. UČINAK OMJERA KPK/N 5 I DO 1-2 mg DO L^{-1} NA UČINKOVITOST UKLANJANJA C, N I P AEROBNIM GRANULIRANIM MULJEM

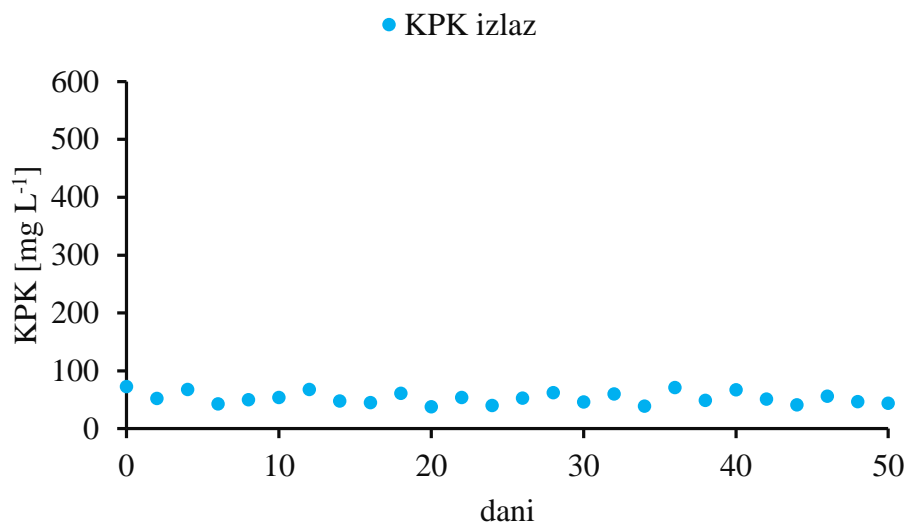
Na aktivnost aerobnog granuliranog mulja a time i učinkovitost uklanjanja C, N i P utječe i omjer KPK/N pa je u daljnjem istraživanju učinka omjera KPK/N i DO proveden pokus pri nižem omjeru KPK/N od ranijih pokusa, pri omjeru KPK/N 5 i pri DO 1-2 mg L^{-1} .

Rezultati učinkovitosti uklanjanja KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ i TN pri omjeru KPK/N 11,5 i koncentraciji otopljenog kisika u omjeru 1-2 mg DO L^{-1} prikazani su slikom 18, i koncentracija KPK, $\text{NH}_4\text{-N}$ i $\text{PO}_4\text{-P}$ u izlazu na slikama 19, 20 i 21.

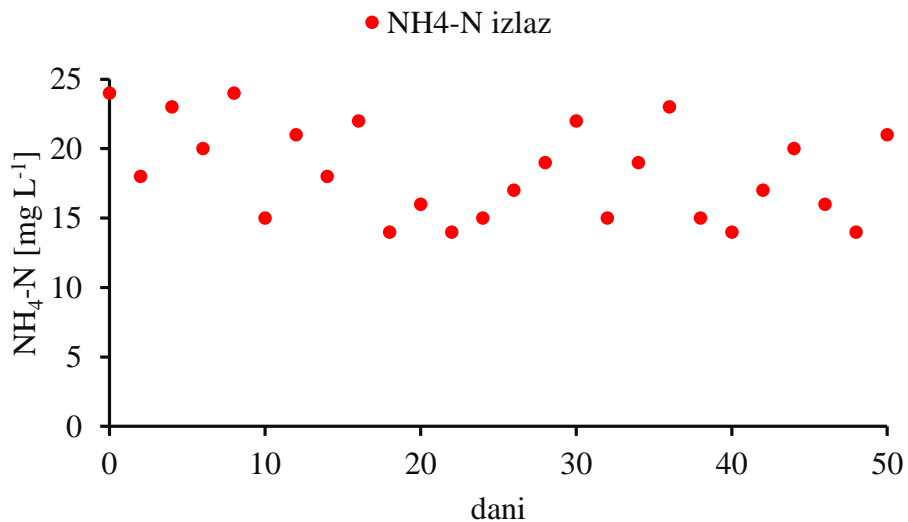
Za stabilan i dugotrajan rad uređaja za biološku obradu otpadnih voda važno je odabrati odgovarajući KPK/N omjer zbog učinkovitosti uklanjanja organskih sastojaka i nutrijenata iz otpadne vode, zbog održavanja integriteta i stabilnosti granula, i za rast mikroorganizama (Wu i sur., 2012; Wang i sur., 2018; Hamza i sur., 2019; He i sur., 2019). Kocaturk i Erguder (2016) ističu omjer KPK/N 7,5 kao povoljan za uklanjanje organskih sastojaka i N, kao i za održavanje stabilnosti granule. Viši KPK/N omjeri, poput KPK/N omjera 20 pogoduju proliferaciji heterotrofa, a niži KPK/N omjeri, primjerice 3,3 i niži, pogoduju proliferaciji nitrifikanata (Wu i sur., 2012; Kocaturk i Erguder, 2016; Kim i sur., 2021).



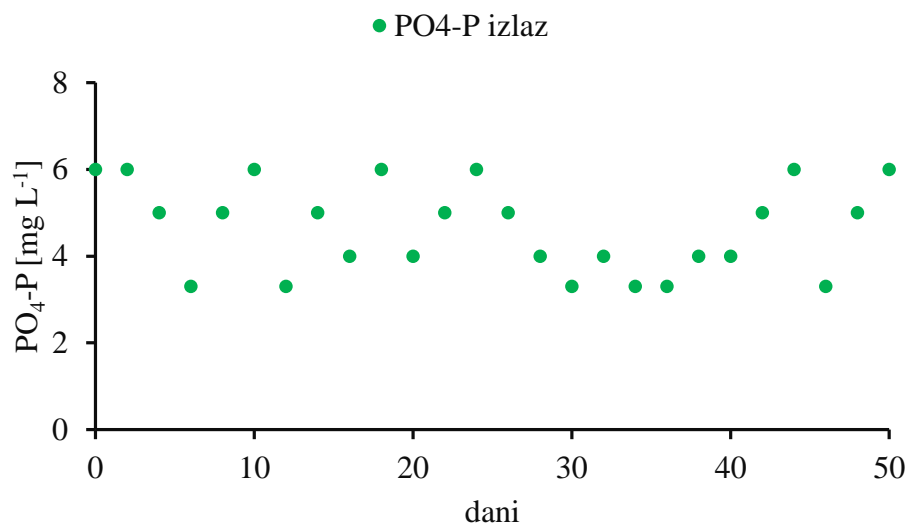
Slika 18. Učinkovitost uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i ukupnog dušika pri omjeru KPK/N 5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹



Slika 19. Koncentracija KPK u izlazu pri omjeru KPK/N 5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹



Slika 20. Koncentracija NH₄-N u izlazu pri omjeru KPK/N 5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹



Slika 21. Koncentracija PO₄-P u izlazu pri omjeru KPK/N 5 i koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹

Smanjenje omjera KPK/N na 5 pri koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹ je nepovoljno djelovalo na učinkovitost uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i TN, i postignute su vrijednosti uklanjanja od 73 %, 52 %, 33 % i 39 % (slika 18).

Rezultati izlaznih vrijednosti bili su za KPK u rasponu 35-73 mg KPK L⁻¹ (slika 19), za NH₄-N u rasponu 14,4-24 mg NH₄-N L⁻¹ (slika 20) i za PO₄-P u rasponu 3,4-6 mg PO₄-P L⁻¹ (slika 21).

Jedino su postignute vrijednosti za KPK zadovoljavale za ispust u površinske vode, a postignute vrijednosti za NH₄-N i PO₄-P su bile odgovarajuće za ispust u sustav javne odvodnje (NN 26/2020).

Ovi rezultati sugeriraju da niža koncentracija otopljenog kisika, u pokusima pri DO 0-1 mg DO L⁻¹ (slike 10-13), ima pogubniji učinak na učinkovitost uklanjanja u sustavu aerobnih granula nego smanjenje omjera KPK/N sa 11,5 na KPK/N 5 (slike 18-21).

Pri tome su postignute slične vrijednosti uklanjanja NH₄-N, 54 % i 52 % pri DO 0-1 mg L⁻¹ (slika 10) i pri omjeru KPK/N 5 (slika 18), kao i za ukupni dušik, 39 % u oba slučaja (slike 10 i 18).

Niža koncentracija otopljenog kisika u pokusima pri DO 0-1 mg DO L⁻¹ je izraženo djelovala na učinkovitost uklanjanja KPK (11 %) (slika 10), u odnosu na postignutih 73 % uklanjanja KPK pri omjeru KPK/N 5 ali pri DO 1-2 mg L⁻¹ (slika 18), i na uklanjanje P od 16 % pri DO 0-1 mg L⁻¹ (slika 10) u odnosu na uklanjanje P od 33 % pri omjeru KPK/N 5 i pri DO 1-2 mg L⁻¹ (slika 18).

Kim i Ahn (2019) su u aerobnom režimu pri omjerima KPK/N 10 i 5 u pokusima s acetatom kao izvorom ugljika postigli učinkovitost uklanjanja KPK 93,7 % i 82,4 % i uklanjanje N 72,3 % i 61,7 %.

Kim i sur. (2021) su sa acetatom kao izvorom ugljika proveli pokuse u aerobnom režimu, pri omjerima KPK/N 5 i 10 i postigli učinkovitost uklanjanja KPK 78,9 % i 86,7 % i uklanjanje N od 57,5 % i 61,6 %. Kim i sur. (2021) objašnjavaju povećanje učinkovitosti uklanjanja N s porastom omjera KPK/N provođenjem procesa denitrifikacije tijekom punjenja reaktora prvih 10 min, procesom istovremene nitrifikacije i denitrifikacije, i dominacijom aerobnih ili fakultativnih anaeroba.

Yuan i sur. (2019) su pri omjeru KPK/N 5 pri koncentraciji otopljenog kisika 1,5 mg DO L⁻¹ i 2,5 mg DO L⁻¹ postigli preko 93 % uklanjanje NH₄-N i uklanjanje ukupnog dušika 92,2 % i 96,6 %.

Nedostatak niskog omjera KPK/N je raspadanje granula za vrijeme dugotrajnog rada bioreaktora, primjerice omjer KPK/N 5 (Kim i sur., 2021; Kocaturk i Erguder, 2016) ili omjer KPK/N 2,5 (Kim i Ahn, 2019). Raspadanje granula pri niskom omjeru KPK/N se tumači nedovoljnom količinom KPK, zbog čega dolazi do smanjenog gradijenta koncentracije između unutarnjeg i vanjskog dijela granule, kao i difuznog transporta organskih sastojaka do

unutarnjeg dijela granule, u kojem prebivaju denitrificirajuće bakterije. U strukturi granule se formiraju praznine kao posljedica razgradnje denitrificirajućih bakterija nakon perioda gladovanja. Budući da su iz unutrašnjosti granule denitrifikanti uklonjeni, javlja se smanjenje veličine granule i nastaju gušće i manje granule. Drugi razlog smanjenja veličine granule je smanjenje broja aerobnih heterotrofnih bakterija, kao posljedica manje količine raspoloživog KPK (Kocaturk i Erguder, 2016).

Smanjenje omjera KPK/N sa 4 na 1 dovodi do smanjenja učinkovitosti i brzine procesa nitrifikacije zbog velikog pomaka u mikrobnj zajednici aerobne granule i zbog smanjenja količine EPS, a koje je rezultiralo smanjenjem fizičke snage, taloživosti i veličine aerobnih granula. Smanjenje omjera KPK/N sa 4 na 1 je dovelo do povećanja brojnosti amonijak oksidirajućih bakterija, ali i do smanjenja brojnosti nitrit oksidirajućih bakterija, zbog inhibicije rasta od prisutnog slobodnog amonijaka i smanjenja SRT (Luo i sur., 2014).

S porastom omjera KPK/N od 5 do 20 dolazi do opadanja raznolikosti mikroorganizama (Kim i sur., 2021), zbog dominacije heterotrofa čime se smanjuje udio spororastućih mikroorganizama poput nitrifikanata i PAOs (Zhao i sur., 2013).

Pri nižim omjerima KPK/N dolazi do proliferacije nitrificirajućih bakterija, i odvija se oksidacija amonijaka do nitrita i nitrata. Ipak, zbog nižeg omjera KPK/N, nema dovoljno organskih sastojaka za potpunu denitrifikaciju nakupljenih nitrita i nitrata, ni za unos fosfata u mikrobn stanicu (slika 18).

Pri višim omjerima KPK/N dolazi do proliferacije heterotrofa, u kojima heterotrofi nadvladaju autotrofe u kompeticiji za raspoloživi otopljeni kisik (Wu i sur., 2012; Kocaturk i Erguder, 2016; Kim i sur., 2021), pa se zato pri višim omjerima KPK/N ne postiže zadovoljavajuće uklanjanje N.

Pokusi vođeni pri omjeru KPK/N 5 i pri DO 1-2 mg DO L⁻¹, su uvjeti koji pogoduju proliferaciji nitrifikanata i PAOs, međutim, omjer KPK/N je ipak bio nedovoljan za postizanje izlaznih vrijednosti N i P koje bi zadovoljile za ispust u površinske vode.

Rezultati istraživanja učinka omjera KPK/N i koncentracije otopljenog kisika na učinkovitost uklanjanja C, N i P aerobnim granulama, postignuti u ovom radu, sugeriraju da je potreban omjer KPK/N 11,5 i DO 1-2 mg L⁻¹ da bi spriječili raspadanje granule, zadržali potrebnu količinu nitrifikanata i PAOs.

U ovom radu, omjer KPK/N 11,5, pri DO 1-2 mg L⁻¹, je bio dovoljan za održavanje – zastupljenost dovoljne količine autotrofa i heterotrofa, odnosno, postignuta je ravnoteža u količini mikrobnih vrsta odgovornih za uklanjanje KPK, N i P (slike 14-17).

5. ZAKLJUČCI

Na temelju pokusa provedenih u ovom radu, i uspoređujući ih sa rezultatima iz dostupne raspoložive recentne literature proizlaze zaključci:

1. aerobni granulirani mulj se može koristiti za uklanjanje organskih sastojaka i nutrijenata iz otpadne vode
2. omjer KPK/N i koncentracija otopljenog kisika utječu na učinkovitost uklanjanja organskih sastojaka i nutrijenata iz otpadne vode
3. niža koncentracija otopljenog kisika, DO 0-1 mg DO L⁻¹, ima nepovoljni učinak na aktivnost aerobnih granula u smislu uklanjanja C, N i P, od smanjenja omjera KPK/N sa 11,5 na KPK/N 5
4. najveća učinkovitost uklanjanja KPK, NH₄-N, PO₄-P i TN je postignuta pri koncentraciji otopljenog kisika 1-2 mg DO L⁻¹ i pri omjeru KPK/N11,5

6. LITERATURA

- Adav, S. S., Lee, D. J., Lai, J. Y. (2007) Effects of aeration intensity on formation of phenol-fed aerobic granules and extracellular polymeric substances. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **185**, 445 – 449.
- Adav, S. S., Lee, D. J., Lai, J. Y. (2010) Potential cause of aerobic granular sludge breakdown at high organic loading rates. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**, 1601–1610.
- Adav, S. S., Lee, D. J., Show, K. Y., Tay, J. H. (2008) Aerobic granular sludge: Recent advances. *Biotechnol. Adv.* **26**, 411–423.
- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B., Srinath, E. G. (1976) Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed.* **48**, 835-852.
- Bengtsson, S., Blois, M., Wilén, B., Gustavsson, D. (2018). A comparison of aerobic granular sludge with conventional and compact biological treatment technologies. *Environ. Technol.* **13**, 1479-1487.
- Beun, J. J., Hendriks, A., van Loosdrecht, M. C. M., Morgenroth, E., Wilderer, P. A., Heijnen, J. J. (1999) Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Res.* **33**, 2283–90.
- Beun, J. J., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (2001) N-removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. *Biotechnol. Bioeng.* **75**, 82–92.
- Carrera, P., Campo, R., Méndez, R., et al. (2019) Does the feeding strategy enhance the aerobic granular sludge stability treating saline effluents? *Chemosphere* **226**, 865-873.
- Cervantes Francisco, J. (2009) Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution. IWA Publishing. London (UK).
- Coma, M., Verawaty, M., Pijuan, M., Yuan, Z., Bond, P.L. (2012) Enhancing aerobic granulation for biological nutrient removal from domestic wastewater. *Bioresource Technol.* **103** (1), 101-108.
- Corsino, S. F., Campo, R., Di, G., Torregrossa, M. (2015) Cultivation of granular sludge with hypersaline oily wastewater. *Int. Biodeterior. Biodegradation.* **105**, 192–202.
- Dangcong, P., Bernet, N., Delgenes, J. P., Moletta, R. (1999) Aerobic granular sludge — a case report. *Water Res.* **33**, 890–3.

- de Bruin, L. M. M., de Kreuk, M. K., van der Roest, H. F. R., Uijterlinde, C., van Loosdrecht, M. C. M. (2004) Aerobic granular sludge technology: an alternative to activated sludge? *Water Sci. Technol.* **49**, 1–7.
- de Kreuk, M. K., Heijnen, J. J., van Loosdrecht, M. C. M. (2005c) Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. *Biotechnol. Bioeng.* **90**, 761–769.
- de Kreuk, M. K., McSwain, B. S., Bathe, S., Tay, J., Schwarzenbeck, S. T. L., Wilderer, P. A. (2005b) Aerobic granular sludge, water and environmental management series. Munich: IWA Publishing: 165 – 169.
- de Kreuk, M. K., Pronk, M., van Loosdrecht, M. C. M. (2005a) Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. *Water Research*, **39 (18)**, 4476–4484.
- Devlin, T. R., Di Biase, A., Kowalski, M., Oleszkiewicz, J. A. (2017) Granulation of activated sludge under low hydrodynamic shear and different wastewater characteristics. *Bioresour. Technol.* **224**, 229-235.
- Franca, R. D. G., Pinheiro, H. M., van Loosdrecht, M. C. M., Lourenço, N. D. (2019) Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation. *Biotechnol. Adv.* **36**, 228-246.
- Gao, D. W., Liu, L., Liang, H. (2013) Influence of aeration intensity on mature aerobic granules in sequencing batch reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 4213-4219.
- Gao, D., Liu, L., Liang, H., Wu, W. (2010) Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. *Crit. Rev. Biotechnol.* **31**, 137-152.
- Gao, D., Liu, L., Liang, H., Wu, W. M. (2011) Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. *Crit. Rev. Biotechnol.* **31**, 137-152.
- Gebremariam, Y. S., Beutel, M. W., Christian, D., Hess, T. F. (2011) Research Advances and Challenges in the Microbiology of Enhanced Biological Phosphorus Removal-A Critical Review. *Water Environ. Res.* **83**, 195-219.
- Gerardi, M. H. (2002) Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process, 1st ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.

- Hamza, R. A., Sheng, Z., Iorhemem, O. T., Zaghoul, M. S., Tay, J. H. (2018) Impact of food-to-microorganisms ratio on the stability of aerobic granular sludge treating high-strength organic wastewater. *Water Res.* **147**, 287-298.
- Hamza, R-A., Zaghoul, M. S., Iorhemem, O. T., Sheng, Z., Tay, J. H. (2019) Optimization of organics to nutrients (COD:N:P) ratio for aerobic granular sludge treating high-strength organic wastewater. *Sci. Total Environ.* **650**, 3168-3179.
- Harper, J.R., Willie, F., Anise, O., Brown, E. (2006) Polyphosphate buffering by biomass with different phosphorus contents. *Water Res.* **40**, 1599-1606.
- He, Q., Chen, L., Zhang, S., Chen, R., Wang, H. (2019) Hydrodynamic shear force shaped the microbial community and function in the aerobic granular sequencing batch reactors for low carbon to nitrogen (C/N) municipal wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* **271**, 48-58.
- He, Q., Chen, L., Zhang, S., Wang, L., Liang, J., Xia, W., Wang, H., Zhou, J. (2018) Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in aerobic granular sequencing batch reactors with high aeration intensity: impact of aeration time. *Bioresource Technology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.007>
- He, Q., Zhang, W., Zhang, S., Wang, H. (2017) Enhanced nitrogen removal in an aerobic granular sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, endogenous denitrification and phosphorus removal with low superficial gas velocity. *Chem. Eng. J.* **326**, 1223-1231.
- Henze, M., van Loosdrecht, M., Ekama, G., Brdjanovic, D. (2008) Biological wastewater treatment. IWA Publishing London. ISBN: 1843391880.
- Hirota, R., Kuroda, A., Kato, J., Ohtake, H. (2010) Bacterial phosphate metabolism and its application to phosphorus recovery and industrial bioprocesses. *J. Biosci. Bioeng.* **109**, 423-432.
- Hu, Z., Zhang, J., Xie, H.J., Li, S.P., Wang, J.H., Zhang, T.T. (2011) Effect of anoxic/aerobic phase fraction on N₂O emission in a sequencing batch reactor under low temperature. *Bioresour Technol* **102**, 5486-5491.
- Jahn, L, Svardal, K, Krampe, J. (2019) Comparison of aerobic granulation in SBR and continuous-flow plants. *J. Environ. Manage.* 231, 953-961.

- 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.
- Jiang, H. L., Tay, J. H., Liu, Y., Tay, S. T. L. (2003) Ca²⁺ augmentation for enhancement of aerobically grown microbial granules in sludge blanket reactors. *Biotechnol. Lett.* **25**, 95–99.
- Kim, H. G., Ahn, D. H. (2019) Effects on the stability of aerobic granular sludge (AGS) at different carbon/nitrogen ratio. *J. Environ. Sci. Int.* **28**, 719-727.
- Kim, H. G., Kim, J.T., Ahn, D. H. (2021) Effects of carbon to nitrogen ratio on the performance and stability of aerobic granular sludge. *Environ. Eng. Res.* **26**, 190284.
- Kocaturk, I., Erguder, T. H. (2016) Influent COD/TAN ratio affects the carbon and nitrogen removal efficiency and stability of aerobic granules. *Ecol. Eng.* **90**, 12-24.
- Lee, D. J., Chen, Y. Y., Show, K. Y., Whiteley, C. G., Tay, J. H. (2010) Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. *Biotechnology Advances.* **28**, 919-934.
- Lei, W., Chengyao, P., Yongzhen, P., Lingyun, L., Shuying, W., Yong, M. (2011) Effect of wastewater COD/N ratio on aerobic nitrifying sludge granulation and microbial population shift. *J. Environ. Sci.* **24**, 3790–3798.
- Lemaire, R., Webb, R. I., Yuan, Z. (2008) Micro-scale observations of the structure of aerobic microbial granules used for the treatment of nutrient-rich industrial wastewater. *ISME J.* **2**, 528-541.
- Lettinga, G., van Velsen, A. F. M., Hobma, S. W., de Zeeuw, W., Klapwijk, A. (1980) Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological waste water treatment especially for anaerobic treatment. *Biotechnol Bioeng.* **22**, 699–734.
- Li, A.J., Li, X.Y., Yu, H.Q. (2011) Effect of the food-to-microorganism (F/M) ratio on the formation and size of aerobic sludge granules. *Process Biochem.* **46**, n. 12, 2269-2276
- Lin, L. H., Jian, L. W., Xiang, H. W., Yi, Q. (2005) The formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactor (SBR) by seeding anaerobic granules. *Process Biochemistry.* **40**, 1 – 7.

- Liu, S., Daigger, G. T., Liu, B., Zhao, W., Liu, J. (2020) Enhanced performance of simultaneous carbon, nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater in an anaerobic-aerobic-anoxic sequencing batch reactor (AOA-SBR) system by alternating the cycle times. *Bioresource Technology*. **301**, 122-750.
- Liu, Y. Q, Tay, J. H. (2004) State of art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*. **22**, 533–563.
- Liu, Y., Liu, Q. S. (2006) Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. *Biotechnol. Adv.* **24**, 115–127.
- Liu, Y., Tay, J. H. (2002) The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Res.* **36**, 1653 – 1665.
- Liu, Y., Yang, S. F., Tay, J. H. (2003) Elemental compositions and characteristics of aerobic granules cultivated at different substrate N/C ratios. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **61**, 556–561.
- Long, B., Xuan, X., Yang, C., Zhang, L., Cheng, Y., Wang, J. (2019) Stability of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor enhanced by granular particle size control. *Chemosphere* **225**, 460-469.
- Long, B., Yang, C., Pu, W., Yang, J., Liu, F., Zhang, L., Zhang, J., Cheng, K. (2015) Tolerance to organic loading rate by aerobic granular sludge in a cyclic aerobic granular reactor. *Bioresour. Technol.* 182, 314-322 doi: 10.1016/j.biortech.2015.02.029
- Lu, H. F., Zheng, P., Ji, Q. X., Zhang, H. T., Ji, J. Y., Wang, L., Ding, S., Chen, T. T., Zhang, J. Q., Tang, C. J., Chen, J. W. (2012) The structure, density and settlability of anammox granular sludge in high-rate reactors. *Bioresour. Technol.* **123**, 312-317.
- Luo, J., Hao, T., Wei, L., Mackey, H. R., Lin, Z., Chen, G. H. (2014) Impact of influent COD/N ratio on disintegration of aerobic granular sludge. *Water Res.* **62**, 127-135.
- McSwain, B.S., Irvine, R. L., Wilderer, P. A. (2005) Population dynamics during aerobic granule formation: lessons from denaturing gradient gel electrophoresis. *Aerobic Granular Sludge. Water and environmental management series*. IWA Publishing. London (UK), 53-63.
- Metcalf i Eddy (2003) *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, Fourth Edition, McGraw Hill Inc., New York, NY.

- Morgenroth, E., Sherden, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J., Wilderer, P. A. (1997) Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. *Water Res.* **31**, 3191–4.
- Mosquera-Corral, A., de Kreuk, M. K., Heijnen, J. J., van Loosdrecht, M. C. M. (2005b) Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. *Water Res.* **39**, 2676–2686.
- Mosquera-Corral, A., VBzquez-Padin, J. R., Arrojo, B., Campos, J. L., Mendez, R. (2005a) Nitrifying granular sludge in a sequencing batch reactor. Aerobic Granular Sludge. Water and environmental management series. IWA Publishing. London (UK), 63-71.
- Moy, B. Y. P., Tay, J. H., Toh, S. K., Liu, Y., Tay, S. T. L. (2002) High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. *Lett Appl Microbiol.* **34**, 407-415.
- Mullan, A., Mcgrath, J.W., Adamson, T., Irwin, S., Quinn, J.P. (2006) Pilot-Scale evaluation of the application of low pH-inducible polyphosphate accumulation to the biological removal of phosphate from wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 296-301.
- Naessens, W., Maere, T., Nopens, I. (2012) Critical review of membrane bioreactor models- Part 1: biokinetic and filtration models. *Bioresour. Technol* **122**, 95-106.
- Nancharaiah, Y. V., Reddy, G. K. K. (2018) Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. *Bioresour. Technol.* **247**, 1128-1143.
- Nereda. (2017) Aerobic Granular Sludge demonstration. BACWA, Netherlands.
- Ni, B-J., Xie, W-M., Liu, S-G., Yu, H-Q., Wang, Y-Z., Wang, G., Dai, X-L. (2009) Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. *Water Res.* **43**, 751–761.
- Noyola, A., Mereno, G. (1994) Granulation production from raw waste activated sludge. *Water Sci Technol.* **30**, 339–46.
- Olsson, G., Andrews, J. F. (1981) Dissolved oxygen control in the activated sludge process. *J. Wat. Sci. Tech.* **13**, 341-347.
- Pijuan, M., Giusasola, A., Baeza, J.A., Carrera, J., Casas, C., Lafuente, J. (2005) Aerobic phosphorus release linked to acetate uptake: Influence of PAO intracellular storage compounds. *Biochem. Eng.J.* **26**, 184-190.

- Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/2020). Narodne Novine 2020, 26.
- Pronk, M., de Kreuk, M. K., de Bruin, B., Kamminga, P., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M. C. M. (2015) Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. *Water Res.* **84**, 207 – 217.
- Qin, L., Tay, J. H., Liu, Y. (2004) Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. *Process Biochemistry.* **39**, 579–584.
- Rico, C., Montes, J. A., Rico, J. L. (2017) Evaluation of diferente types of anaerobic seed sludge for the high rate anaerobic digestion of pig slurry in UASB reactor. *Bioresour. Technol.* **238**, 147-156.
- Rolleberg, S. L.S. , Barros, A. R. M, Firmino P. I. M., dos Santos A. B. (2018) Aerobic granular sludge; cultivation parameters and removal mechanisms. *Bioresource Technology*, 18; 31234-3 doi:10.1016/j.biortech.2018.08.130.
- Seviour, R.J., McIlroy, S. (2008) The microbiology of phosphorus removal in activated sludge process – the current state of play. *J. Microbiol.* **46**, 115-124.
- Seviour, T.W., Lambert, L.K., Pijuan, M., Yuan, Z. (2010) Structural determination of a key exopolysaccharide in mixed culture aerobic granules using NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 8964-8970.
- Simon, S., Pairo, B., Villain, M., D'Abzac, P., Hullebusch, E. V., Lens, P., Guibaud, G. (2009) Evaluation of diferente types of anaerobic seed sludge for the high rate anaerobic digestion of pig slurry in UASB reactor. *Bioresour. Technol.* **100**, 6258-6268.
- Tarayre, C., Nguyen, H.T., Brognaux, A., Delepierre, A., Clercq, L., D., Charlier, R., Michels, E., Meers, E., Delvigne, F. (2016) Characterisation of Phosphate Accumulating Organisms and Techniques for Polyphosphate Detection: A Review, doi: 10.3390/s16060797
- Tay J. H., Liu Q. S., Liu Y. (2001b) The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. *Applied Microbiology and Biotechnology.* **57**, 227 – 233.
- Tay, J. H., Liu, Q. S., Liu, Y. (2001a) Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *J. Appl. Microbiol.* **91**, 168–178.

- Tay, J. H., Pan, S., He, Y. X., Tay, S. T. L. (2004) Effect of organic loading rate on aerobic granulation. I: reactor performance. *J Environ Eng.* **130**, 1094–1105.
- van Loosdrecht, M.C.M., Smolders, G.J., Kuba. T., Heijnen, J.J. (1997) Metabolism of microorganisms responsible for enhanced biological phosphorus removal from wastewater. *Antonie van Leeuwenhoek* **71**, 109-116.
- Vigneswaran, S., Sundaradivel, M., Chaudhary, D.S. (2009) Sequencing Batch Reactors: Principles, Design/ Operation and Case Studies, vol. II. Waste Water Treatment Technologies, p. 24.
- Wang, H., Song, Q., Wang, J., Zhang, H., He, Q., Zhang, W., Song, J., Zhou, J., Li, H. (2018) Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor with high dissolved oxygen: Effects of carbon to nitrogen ratios. *Sci. Total Environ.* **642**, 1145-1152.
- Wentzel M.C., Comeau Y., Ekama G.A., van Loosdrecht M.C.M., Brdjanovic D. (2008). Enhanced biological phosphorus removal, u M. C. Wentzel; Biological wastewater treatment: Principles Modelling and Design. Edited by M. Henze, M.C.M. van Loosdrecht, G.A. Ekama and D. Brdjanovic. ISBN: 9781843391883. Published by IWA Publishing, London, UK.
- Wilén, B. M., Liébana, R., Persson, F., Modin, O., Hermansson, M. (2018) The mechanisms of granulation of activated sludge in wastewater treatment, its optimization, and impact on effluent quality. *Applied Microbiology and Biotechnology.* **102**, 5005 – 502.
- Winkler M.K.H., Meunier C., Henriot O., Mahillon J., Suárez-Ojeda M.E., Del Moro G., De Sanctis M., Di Iaconi C., Weissbrodt D.G. (2018) An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater. *Chemical Engineering Journal* 336: 489–502
- Wu, L., Peng, C. Y., Peng, Y. Z., Li, L.Y., Wang, S. Y., Ma, Y. (2012) Effect of wastewater COD/N ratio on aerobic nitrifying sludge granulation and microbial population shift. *J. Environ. Sci.* **24**, 234-241.
- Xiao, F., Yang, S. F., Li, X. Y. (2008) Physical and hydrodynamic properties of aerobic granules produced in sequencing batch reactors. *Separation Purification Technol.* **63**, 634 –641.

- Xu, X.Y., Liu, G., Zhu, L. (2011) Enhanced denitrifying phosphorous removal in a novel anaerobic aerobic/anoxic (AOA) process with the diversion of internal carbon source. *Bioresour Technol* **102**, 10340-10345.
- Yae, J., Ryu, J., Van Tuyen, N., Kim, H., Hong, S., Ahn, D. (2019) An aerobic granular sludge process for treating low carbon/nitrogen ratio sewage. *Environmental Engineering Research*. **24(2)**, 238 – 245.
- Yuan, Q., Gong, H., Xi, H., Xu, H., Jin, Z., Ali, N., Wang, K. (2019) Strategies to improve aerobic granular sludge stability and nitrogen removal based on feeding mode and substrate. *J. Environ. Sci.* **84**, 144-154.
- Zhang, D., Li, W., Hou, C., Shen, J., Jiang, X., Sun, X., Li, J., Han, W., Wang, L., Liu, X. (2017) Aerobic granulation accelerated by biochar for the treatment of refractory wastewater. *Chem Eng J.*; **314**:88–97.
- Zhang, Z., Cao, R., Jin, L., Zhu W., Ji, Yatong., Xu, X., Zhu L. (2019) The regulation of N-acetyl-homoserine lactones (AHLs)-based quorum sensing on EPS secretion via ATP synthetic for the stability of aerobic granular sludge. *Sci Total Environ.* **673**:89–91.
- Zhao, Y., Huang, J., Zhao, H., Yang, H. (2013) Microbial community and N removal of aerobic granular sludge at high COD and N loading rates. *Bioresour. Technol.* **143**, 439-446.
- Zheng, Y. M., Yu, H. Q., Liu, S. J., Liu, X. Z. (2006) Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions. *Chemosphere* **63**, 1791–1800.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rad te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Andela Dugandžić