

# Čimbenici formiranja i stabilnosti aerobnog granuliranog mulja u obradi otpadnih voda

---

Šagud, Dora

Undergraduate thesis / Završni 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:159:067164>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-24**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Dora Šagud**

7540/PT

**ČIMBENICI FORMIRANJA I STABILNOSTI  
AEROBNOG GRANULIRANOG MULJA U OBRADI  
OTPADNIH VODA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biotehnologija u zaštiti okoliša

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

**Zagreb, 2021.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**

**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

**Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija**

**Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo**

**Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**

**Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija**

**Čimbenici formiranja i stabilnosti aerobnog granuliranog mulja u obradi otpadnih voda**

***Dora Šagud, 0058212540***

**Sažetak:** Granulirani mulj je samoimobilizirano mikrobno udruženje koje se primjenjuje u obradi otpadnih voda. Aerobne granule su sfernog ili eliptičnog oblika prosječne veličine promjera između 0,2 i 9,0 mm. Karakterizira ih izvrsna taloživost i veliko zadržavanje biomase. Izvanstanične polimerne tvari pridonose strukturnoj stabilnosti aerobnih granula. To su organske makromolekule koje luče mikroorganizmi i tvore trodimenzionalnu matricu u koju se bakterije mogu ugraditi. Aerobni granulirani mulj omogućuje istovremenu nitrifikaciju, denitrifikaciju i uklanjanje fosfora u jednom reaktoru. Istraživanja primjene aerobnog granuliranog mulja provode se u sekvencijalnom šaržnom reaktoru (SBR, engl. *Sequencing Batch Reactor*). Na formiranje i stabilnost aerobnih granula utječe brzina strujanja zraka, trajanje perioda gladovanja, temperatura, duljina vremena skladištenja, značajke mulja, metali, otopljeni kisik, organsko opterećenje, sastav otpadnih voda i drugi čimbenici. Aerobni granulirani mulj izvrsna je alternativa aktivnom mulju.

**Ključne riječi:** aerobne granule, SBR, stabilnost

**Rad sadrži:** 30 stranica, 9 slika, 1 tablica, 50 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici**

**Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23,**

**10 000 Zagreb**

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

**Datum obrane:** 15. srpnja 2021.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Bachelor thesis**

**University of Zagreb**

**Faculty of Food Technology and Biotechnology**

**University undergraduate study Food Technology**

**Department of Food Engineering**

**Laboratory for the Biological Wastewater Treatment**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**

**Scientific field: Food Technology**

### **Parameters of forming and stability of aerobic granular sludge in wastewater treatment**

***Dora Šagud, 0058212540***

**Abstract:** Granulated sludge is a self-immobilized microbial association used in wastewater treatment. Aerobic granules are spherical or elliptical with an average size diameter between 0.2 and 9.0 mm. They are characterized by excellent settling properties and high biomass retention. Extracellular polymeric substances contribute to the structural stability of aerobic granules. These are organic macromolecules secreted by microorganisms and form a three-dimensional matrix into which bacteria can be incorporated. Aerobic granular sludge enables simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in one reactor. Investigations of the application of aerobic granular sludge are carried out in a sequencing batch reactor (SBR). The formation and stability of aerobic granules are influenced by air flow rate, duration of starvation period, temperature, length of storage time, characteristics of sludge, metals, dissolved oxygen, organic load, wastewater composition and other factors. Aerobic granular sludge is an excellent alternative to activated sludge.

**Keywords:** aerobic granules, sequenced batch reactor (SBR), stability

**Thesis contains:** 30 pages, 9 figures, 1 table, 50 references

**Original in:** Croatian

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

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

**Defence date:** July 15, 2021

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. Aerobne granule .....	2
2.2. Formiranje aerobnih granula .....	3
2.3. Čimbenici formiranja i stabilnosti aerobnog granuliranog mulja .....	7
2.3.2. Hidrodinamička posmična sila .....	8
2.3.3. Organsko opterećenje .....	9
2.3.4. Vrijeme taloženja .....	11
2.3.5. Morfologija aerobnih granula – oblik, boja, veličina, starost mulja, mikrobna raznolikost .....	11
2.3.6. Skladištenje aerobnih granula .....	15
2.3.7. Koncentracija otopljenog kisika .....	16
2.3.8. Temperatura .....	16
2.3.9. Sastav otpadnih voda .....	17
2.3.10. Metali .....	17
2.3.11. Učinak selektivnog ispuštanja mulja na poboljšanje dugoročne stabilnosti procesa aerobnog granuliranog mulja .....	18
2.3.12. Učinak bujanja mulja (povećanja mase mulja) na stabilnost aerobnih granula .....	19
2.4. Karakteristike aerobnog granuliranog mulja .....	20
2.4.1. Fizikalne i kemijske karakteristike .....	20
2.5. Razlike aerobnog granuliranog mulja i aktivnog mulja .....	22
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>26</b>
<b>4. POPIS LITERATURE</b> .....	<b>27</b>

## 1. UVOD

U biotehnologiji okoliša velika pozornost je usmjerena na primjenu tehnologije aerobnih granula u obradi otpadnih voda. Aerobni granulirani mulj je vrsta biofilma koji se uglavnom sastoji od bakterija, samoimobiliziranih bez nosača, vrlo kompaktne i guste strukture s visokom taloživosti biomase, što su prednosti u odnosu na flokulirani aktivni mulj. Granulirani mulj karakterizira mogućnost održavanja različitih redoks sustava unutar granule, veliko zadržavanje biomase, mogućnost podnošenja visokog organskog opterećenja i tolerancija toksičnih sastojaka.

Istraživanje stabilnosti aerobnih granula vrlo je važno za unapređenje i razvoj tehnologije aerobnih granula u obradi različitih otpadnih voda. Aerobne granule pokazuju veliki potencijal za daljnji napredak te tehnologije, no potrebna su istraživanja kako bi se bolje proučilo formiranje aerobnih granula i kako poboljšati njihovu učinkovitost i stabilnost. Postoje mnoga istraživanja aerobnih granula na laboratorijskoj razini, no potrebna su istraživanja koja pokazuju kako funkcionira obrada otpadnih voda primjenom granula u realnim sustavima obrade.

U ovom radu istaknuti su čimbenici stabilnosti aerobnih granula i kako je poboljšati, opisano je što su aerobne granule, mehanizam granulacije, te su istaknute prednosti i nedostaci aerobnih granula u odnosu na flokulirani aktivni mulj.

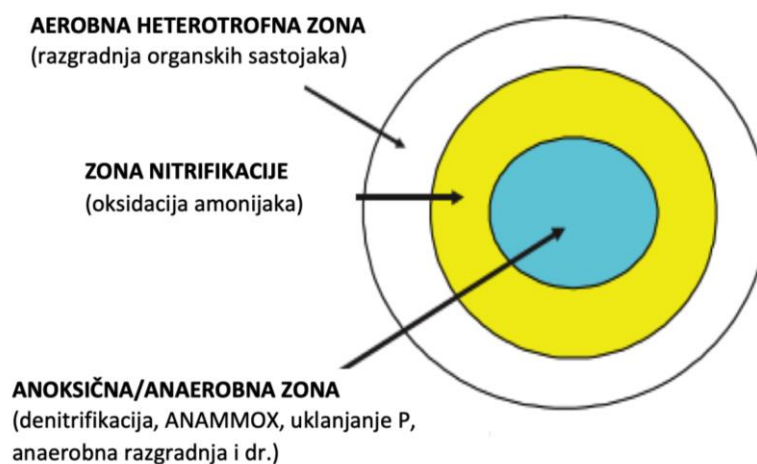
## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Aerobne granule

Aerobni granulirani mulj (AGS, engl. *Aerobic Granular Sludge*) je samoimobilizirana mikrobnna zajednica ugrađena u matricu izvanstaničnih polimernih tvari, bez nosača, velike gustoće i predstavlja obećavajuću tehnologiju obrade otpadnih voda.

Istraživanje AGS-a provodi se primjenom sekvencijalnog šaržnog reaktora (SBR, engl. *Sequencing Batch Reactor*) (Gao i sur., 2011). Mikrobiološka struktura granule ovisi o inokulumu, kemijskom sastavu, koncentraciji otopljenog kisika (DO, engl. *Dissolved Oxygen*) i veličini granule. Aerobne granule mogu se razviti iz mješovitih kultura poput aktivnog mulja (AS, engl. *Activated Sludge*) ili iz definiranih mikrobnih kultura, kao i s gljivicama. Granula može sadržavati mikrobnne vrste koje razgrađuju organsko onečišćenje, nitrificirajuće i denitrificirajuće bakterije, te anaerobne bakterije (ANAMMOX, metanogene, itd.), ako su se granule razvijale u kanalizaciji ili sličnim otpadnim vodama (Gao i sur., 2011).

Koncept strukture aerobnih granula prema Gao i sur. (2011) prikazan je na slici 1. U unutrašnjosti granule je anaerobna zona, potom slijedi nitrifikacijska zona, odnosno zona oksidacije amonijaka, a s vanjske strane granula nalazi se aerobna heterotrofna zona gdje dolazi do razgradnje organskih tvari.



Slika 1. Koncept strukture aerobnih granula (Preuzeto i prilagođeno iz Gao i sur., 2011)

Mikrobiološka zajednica AGS-a može varirati između malog broja vrsta do izuzetno raznolikih vrsta i pod snažnim je utjecajem sastava supstrata ili otpadnih voda, inokuluma, te okolišnih

i procesnih čimbenika. Tako, aerobne granule razvijene s organskim spojevima i nitratom sadrže bakterijske sojeve koji pripadaju rodovima *Poteroiochromonas*, *Epistylis*, *Geotrichum* i *Geotrichum klebahnii*. U AGS-u uzgojenom na podlozi s amonijakom dominiraju amonijak- i nitrit-oksidirajuće bakterije. U AGS-u razvijenom na otpadnim vodama pivovare razvile su se nitaste bakterije uglavnom rodova *Thiothrix* i *Sphaerotilus natans* (Gao i sur., 2011).

Iako na strukturu mikrobne zajednice utječe vrsta podloge, uočen je evolucijski obrazac. Granule hranjene glukozom sadržavale su više nitastih bakterija, dok su one hranjene acetatom na površini imale bakterije slične štapićima (Tay i sur., 2001).

## 2.2. Formiranje aerobnih granula

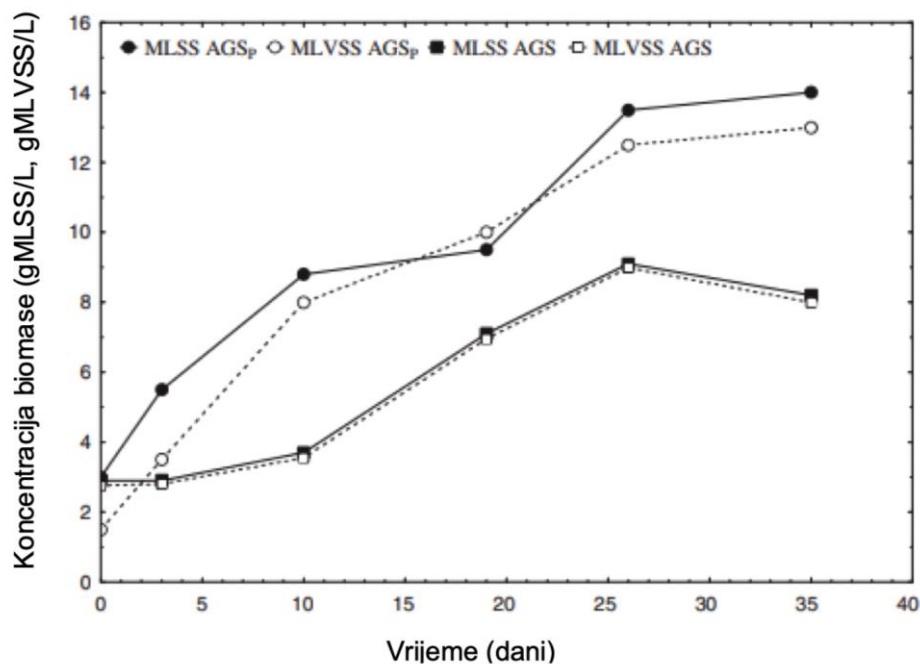
Aerobna granulacija kombinacija je kemijskog inženjstva i bioloških procesa za razvoj kompaktnog oblika AS-a s visokim svojstvima taloženja. Transformacija AS u AGS određuje se povećanjem biomase u reaktoru za granulaciju. Povećanje koncentracije biomase rezultat je udruživanja mikroorganizama u gustu, snažnu i sfernu biomasu (Dahalan i sur., 2015).

Studije su pokazale da se aerobna granulacija u SBR-u može ubrzati s relativno dugim vremenom gladovanja. Veličina aerobnih granula je puno veća kod kraćeg vremena gladovanja od onih s dužim vremenom gladovanja. Razumno trajanje gladovanja je neophodno za stvaranje i stabilnost aerobnih granula u SBR uređaju (Gao i sur., 2011). Veća stopa organskog opterećenja (OLR, engl. *Organic Loading Rate*), rezultirala je sa stvaranjem većih i rahlijih granula unutar kraćih razdoblja, dok je niža stopa OLR-a dovela do stvaranja manjih i čvrsto zbijenih granula tijekom dužeg perioda. Rezultati istraživanja pokazuju da je optimalno opterećenje organskim sastojcima za aerobnu granulaciju u SBR-u 2,52 kg/m<sup>3</sup>d (Kim i sur., 2008).

Song i sur. (2009) izvijestili su da je 30 °C optimalna temperatura za aerobnu granulaciju. Pri 30 °C nastaju granule koje imaju kompaktniju strukturu, bolju sposobnost taloženja i veću bioaktivnost nego pri drugim temperaturama. Odredili su učinkovitost uklanjanja KPK 97%, odnosno fosfora 75%.

Dahalan i sur., (2015) proveli su istraživanje u kojem su usporedili AGS koji se razvio u nefototrofnim uvjetima (AGSnp) i onaj koji se razvio u fototrofnim uvjetima (AGSp) (Slika 2). Početne koncentracije biomase bile su 3 gMLSS/L (MLSS, engl. *Mixed liquor suspended solids*) za obje vrste aerobnih granula. Pokazalo se da AGSp granule imaju veću sposobnost taloženja u usporedbi s AGSnp. Utvrđeno je da zrele aerobne granule na površini imaju dodatnu strukturu zbog vezivanja novih flokula.





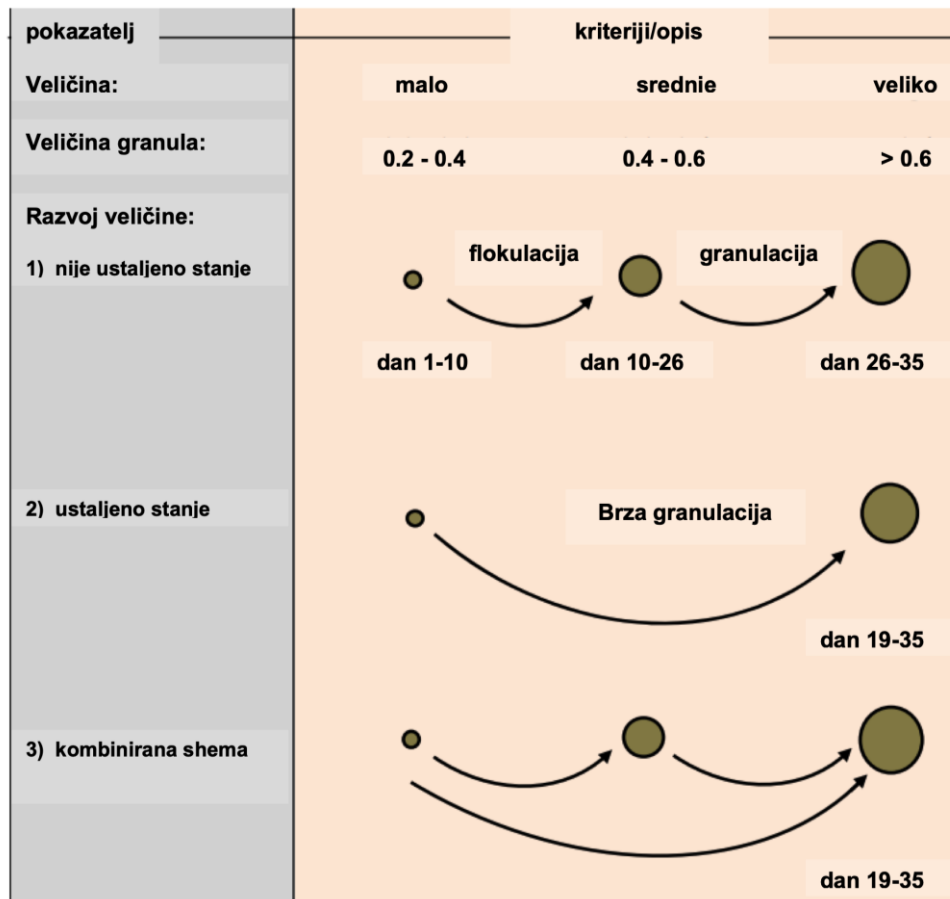
Slika 2. Promjena koncentracije biomase ASPnp i ASPp (Prema: Dahalan i sur., 2015)

Nove flokule imaju tendenciju da se prikvače na AGSp obavijajući vanjsku površinu zrelih granula. Sve nastale granule AGSp bile su u stabilnom, pravilnom, gustom i kompaktnom stanju u kojem se omogućuje dobra sposobnost taloženja u usporedbi s AGSnp. Također se koncentracija mikrobne biomase, MLVSS (engl. *Mixed liquor volatile suspended solids*, hlapljivih suspendiranih čestica u mješanoj tekućini) za ASPnp i ASPp povećala u oba bioreaktora, što ukazuje na obogaćivanje biomase tijekom granulacije mulja. Udio AGSp se nastavio povećavati i na kraju pokusa dosegao preko 50% ukupnog volumena za granule veličine veće od 0,6 mm. Na kraju pokusa AGSp je imao oko 1,5 puta veće granule nego AGSnp (Slika 2).

Dahlan i sur. (2015) su prezentirali shemu mehanizma razvoja aerobnih granula različitih veličina aerobnih granula (Slika 3).

Pokazatelj uspješne granulacije se temelji na kompaktnosti i sposobnosti taloženja granula.

Međutim, u uzgoju aerobnih granula važno je održavati kontroliranu brzinu prozračivanja kako bi se osigurala odgovarajuća posmična sila za miješanje da se spriječi razvoj prevelike ili premale veličine aerobnih granula (Liu i Tay, 2004).



Slika 3. Shema razvoja aerobnih granula (Preuzeto i prilagođeno iz Dahalan i sur., 2015)

U istraživanju koje su proveli Verawaty i sur. (2012) istraženi su odgovorni mehanizmi za brzu granulaciju iz smjese flokuliranog i granuliranog mulja. Uočeno je da se flokule pričvršćuju na površinu granula, što rezultira smanjenjem ispiranja biomase tijekom granulacije. Ovaj mehanizam smanjuje vrijeme granulacije, ali također i održava učinkovito uklanjanje hranjivih tvari u reaktoru. Početna koncentracija biomase bila je 3 g/L MLVSS i to se postupno povećavalo na 7,33 g/L MLVSS tijekom 80 dana rada SBR reaktora. Stvaranje granula vidljivo je iz promjena veličine čestica, one su se znatno povećale s oko 85  $\mu\text{m}$  do oko 980  $\mu\text{m}$ . Usitnjena granula djeluje kao jezgra za koju se flokulirani materijal pričvršćuje. Pukotine u granulama često su promatrane kao povoljna mjesta za vezanje flokula. Poželjna je nepravilna površina zdrobljenih granula jer je takva površina važna za vezanje flokula u početnoj fazi.

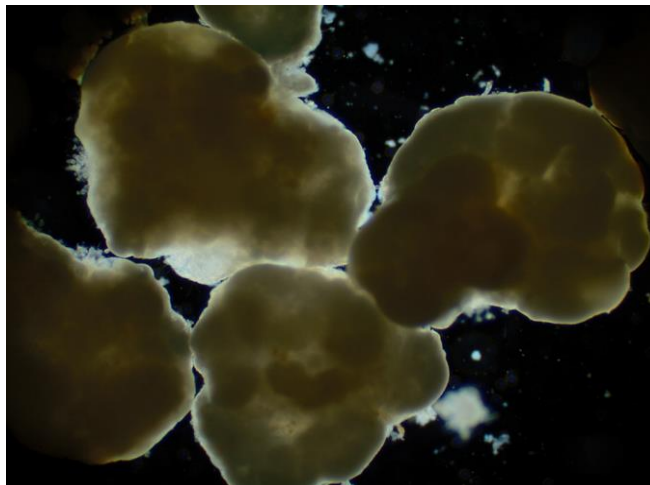
Velika agregacija AGS-a omogućuje istovremenu nitrifikaciju, denitrifikaciju i uklanjanje fosfora u jednom reaktoru zbog velikih difuzijskih gradijenata između donora elektrona i

akceptora, stvarajući različite redoks uvjete unutar granula. To omogućuje rast različitih mikroorganizama u različitim dijelovima granule.

AGS može biti uzgajan iz različitih inokuluma koristeći sintetičke, domaće i industrijske otpadne vode pri različitim uvjetima rada reaktora. Laboratorijski reaktori sa sintetičkom otpadnom vodom daju stabilne granule u roku od nekoliko tjedana ili čak brže, dok pilotni i realni sustavi - reaktori zahtijevaju duža razdoblja pokretanja i nestabilnost granula je česta. Stabilna agregacija biomase je važna za postizanje niske koncentracije suspendiranih tvari u otpadnim vodama, ali također za učinkovito uklanjanje hranjivih sastojaka.

Napravljeno je nekoliko studija za procjenu operativnih parametara presudnih za optimizaciju granulacije, ipak, temeljni mehanizmi koji stoje iza granulacije još su nepoznati (Wilén i sur., 2018).

Mikroskopska slika AGS-a prikazana je na slici 4.

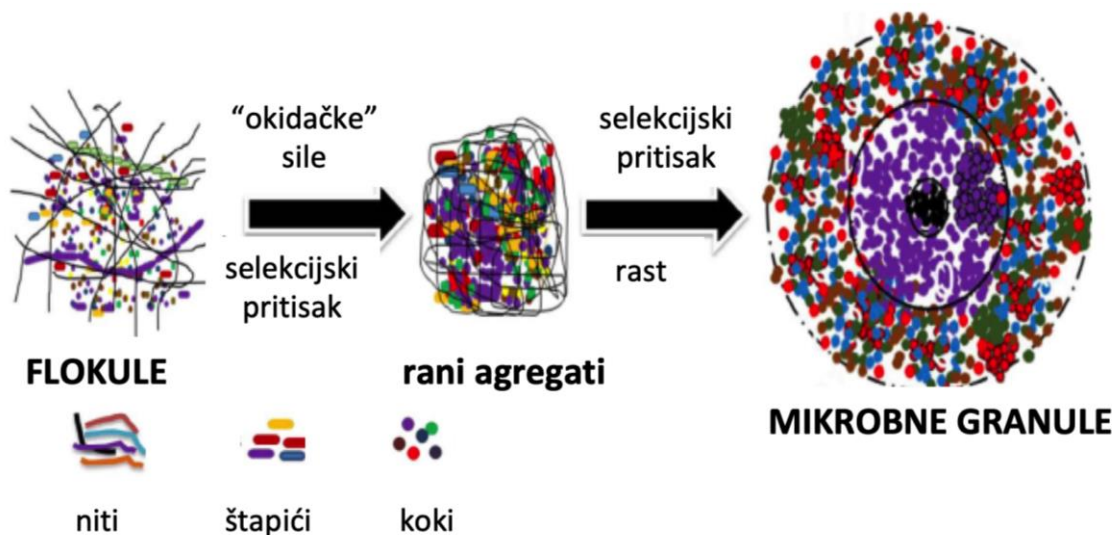


Slika 4. Mikroskopska slika AGS-a (Prema: Wilén i sur., 2018)

Važan mehanizam koji je uključen u granulaciju je sofisticirana organizacija koja je u nekim organizmima pod nadzorom komunikacijskog sustava stanica-stanica, poznat kao «osjet kvoruma» (QS, engl. *Quorum Sensing*). Nedavna istraživanja pokazala su važnost QS-a za granulaciju i granularnu stabilnost. Čini se da je veća QS aktivnost tijekom granulacije povezana s većom proizvodnjom EPS-a za oblikovanje gela, s većom hidrofobnošću, te je uključena u povećanu agregaciju i stabilnost granula. Nekoliko studija je pokazalo da je veća QS aktivnost povezana s višim potencijalom za vezanje mikroba.

Razvoj veličine zrna ovisi o kompleksnoj interakciji različitih parametara okoliša i relativno je nekontroliran. Čini se da granule dosežu veću ili manju stabilnost veličine određene ravnotežom između rasta granula, istrošenosti i lomljenja, što je posljedica procesnih uvjeta poput smicanja.

Granule se opisuju kao višeslojne kugle s opadajućim gradijentima kisika i supstrata izvana prema jezgri granule (Slika 5). Zahvaljujući tim modelima, nitrificirajuće vrste se nalaze u vanjskim slojevima kroz koje prolazi kisik, dok se denitrificirajući i organizmi koji akumuliraju fosfate (PAOs, engl. *Phosphate accumulating organisms*) nalaze u unutarnjim slojevima granule (Winkler i sur., 2013).



Slika 5. Mehanizam stvaranja AGS-a u SBR-u (Preuzeto i prilagođeno iz Nancharaiah i Reddy, 2018)

### 2.3. Čimbenici formiranja i stabilnosti aerobnog granuliranog mulja

Operativni i čimbenici okoliša utječu na stvaranje i stabilnost aerobnih granula, poput: hidrodinamičke posmične sile, vrijeme taloženja, organsko opterećenje, izvanstanične polimerne tvari i drugo (Wilén i sur., 2018).

#### 2.3.1. Izvanstanične polimerne tvari aerobnog granuliranog mulja

Izvanstanične polimerne tvari (EPS, engl. *Extracellular Polymeric Substances*) su organski makromolekulski polimeri koje luče mikroorganizmi (uglavnom bakterije) pod određenim uvjetima okoliša i tvore trodimenzionalnu matricu u koju se bakterije mogu ugraditi. Glavne

komponente EPS-a su proteini, polisaharidi, huminske kiseline, nukleinske kiseline, lipidi i ostali razni materijali. EPS bi i same bakterije mogle iskoristiti, budući je najmanje 50% polisaharida i 30% proteina u EPS-u koji se proizvodi aerobnim granulama biorazgradivo. EPS u aerobnim granulama uključuje dvije glavne komponente: biorazgradive i nebiorazgradive frakcije EPS-a (Gao i sur., 2011). Prosječna brzina biorazgradnje EPS-a u aerobnim granulama je 5x sporija od razgradnje acetata i 50x brža od nebiorazgradivog EPS-a (Wang i sur., 2007; Zhang i Bishop, 2003). Većina biorazgradivog EPS-a je u srži aerobnih granula, dok se uglavnom nebiorazgradivi EPS nalazi u vanjskom sloju granula. Samo nerazgradivi EPS proizveden u aerobnim granulama može pridonijeti strukturnoj stabilnosti aerobnih granula (Wang i sur., 2005).

Jedno istraživanje je pokazalo da je povećana brzina prozračivanja u SBR-u rezultirala povećanjem koncentracije polisaharida i da su se granule počele raspadati kada je došlo do smanjenja polisaharida u granulama. Aerobne granule nisu mogle biti formirane u reaktorima sa smanjenom brzinom prozračivanja. Zaključeno je da hidrodinamička sila smicanja povećava proizvodnju staničnih polisaharida, koji pomažu u formiranju i stabilnosti aerobnih granula. Netopiv  $\beta$ -polisaharid koji je u vanjskom sloju aerobnih granula pruža granulama snagu i čvrstoću (Liu i sur., 2009). Di Iaconi i sur. (2006) izvijestili su da proteinima bogat EPS može poboljšati strukturnu stabilnost granule. Proteini i polisaharidi se razlikuju između AS-a i AGS-a, tako što je sadržaj proteina veći od sadržaja ugljikohidrata u AGS-u. McSwain i sur. (2005) su također potvrdili da srž proteina u središtu granule vjerojatno čini važnu ulogu u formiranju i stabilnosti AGS-a. U vanjskom sloju granula, koji je izravno u kontaktu s otpadnom vodom, dominiraju nitrificirajući mikroorganizmi, dok se denitrificirajući i bakterije koje akumuliraju polifosfate nalaze u središtu granula.

Visok udio mikroorganizama koji imaju sposobnost proizvodnje EPS-a pogodan je za održavanje stabilnosti granula (Cyzdik Kwiatkowska i sur., 2018). Dakle, postoje različiti podaci o ulozi komponenata EPS-a u strukturnoj stabilnosti aerobnih granula.

### 2.3.2. Hidrodinamička posmična sila

Smične sile utječu na oblik i strukturu aerobnih granula. Većina laboratorijskih reaktora AGS projektirana je kao «stupići s mjehurićima» gdje se pri različitim brzinama prozračivanja stvaraju posmične sile, izražene kao površinska brzina protoka, obično u rasponu od 1 do 2  $\text{cm s}^{-1}$ . Liu i Tay (2006) dobili su stabilne granule kada je brzina aeracije smanjena na 0,55  $\text{cm s}^{-1}$  tijekom faze gladovanja, kada su brzina rasta i potrošnja kisika niski.

Novija istraživanja pokazuju da se granule stvaraju pri površinskim brzinama zraka od 0,8 cm s<sup>-1</sup>, ali s poroznijom i nestabilnom strukturom (Wilén i sur., 2018). Granule mogu nastati i pri brzinama od samo 0,41 cm s<sup>-1</sup> tijekom niskog KPK (300 mg KPK L<sup>-1</sup>), ali ne i kod otpadnih voda srednjeg ili velikog KPK (600 ili 1200 mg KPK L<sup>-1</sup>) (Devlin i sur., 2017).

Pri niskoj površinskoj brzini granule pokazuju lošija svojstva taloženja uz smanjeni omjer bjelančevina i polisaharida, ali je povećana brzina uklanjanja dušika.

Granulacija ovisi o različitim parametrima, tako, pri višem OLR-u potrebno je više smične sile za uklanjanje brzo rastućih mikroorganizama na površini, dok je pri niskom OLR-u potrebno manje smične sile. Posmična sila nije uvjet za formiranje oblika granula, ali smicanje ublažava površinsko onečišćenje kada organsko opterećenje premašuje sposobnost anaerobnog unosa (Devlin i sur., 2017).

Hidrodinamička posmična sila utječe na strukturne i funkcionalne aspekte biofilma i selekciju agregacijskih sojeva u biofilmu. Primjerice, veća posmična sila uzrokuje stvaranje tankih i čvrstih biofilmova. Hidrodinamičko smicanje uzrokovano prozračivanjem inducira stvaranje EPS-a, hidrofobnost stanične površine i okidač je interakcije stanica-stanica doprinoseći pokretanju stvaranja granula (Nancharaiah i Reddy, 2018).

Hidrodinamička sila smicanja ima značajan utjecaj na strukturu AGS-a i velika sila smicanja jedan je od ključnih čimbenika za stvaranje aerobnih granula (Dulekgurgen i sur., 2008).

### 2.3.3. Organsko opterećenje

Kod AGS reaktora hranjenih glukozom granule imaju različitu morfologiju i sadržavaju različite mikrobne vrste kada djeluju pri različitim organskim opterećenjima. Veći OLR je dao nižu mikrobnu raznolikost. Primijećen je nitasti rast i nestabilnost granula u studiji o obradi otpadnih voda mliječnih proizvoda pri velikim brzinama organskog opterećenja (Wilén i sur., 2018).

Liu i sur. (2016) proveli su istraživanje u tri paralelna laboratorijska reaktora pri istom OLR-u (promjenom koncentracije KPK između 1.250 i 7.500 mg L<sup>-1</sup>) pri trajanju ciklusa od 3, 5 i 7 sati. QS autoinduktor AI-2 postupno se povećavao tijekom faze gladovanja, a dugotrajnim radom granula postajao je više stabilan sadržavajući veće koncentracije AI-2. U reaktorima su dominirale bakterije rodova: *Proteobacteria*, *Actinobacteria* i *Verrucomicrobia*.

Zhang i sur. (2017) istražili su učinak promjene operativnih uvjeta na stabilnost granula. Proveli su istraživanje u kojem su uzgajali zrele granule promjera 0,7–0,9 cm, pravilnog oblika i žućkaste boje, u dva identična SBR-a (A1 i A2). Nakon 30 dana stabilnih performansi

reaktora i dobro granuliranog mulja OLR je u jednom reaktoru promijenjen u konstantnu vrijednost i duljina ciklusa skraćena je sa 6 na 4 h, dajući kraće razdoblje gladovanja.

OLR u A1 reaktoru promijenjen je u stalni (uz trajanje ciklusa 6 sati) i izvorne granule okruglog oblika počele su gubiti stabilnost 11. dana eksperimenta. Velike granule gotovo su nestale 18. dana eksperimenta, te je ostalo svega nekoliko cjelovitih granula 30. dana pokusa.

OLR A2 reaktora ostao je promjenjiv, uz trajanje ciklusa između 4 i 6 sati. Cjelovite granule jedva da su postojale 22. dana eksperimenta. Promjer granula dosegao je 9. dan eksperimenta 0,74 cm. Nakon toga se veličina granula smanjila, posebno između 13. i 18. dana. Brzina destabilizacije granula u A2 reaktoru se značajno ubrzala od 20. dana, a promjer granula je drastično pao na 0,31 cm do 22. dana eksperimenta. Rezultati su pokazali da dugoročan i konstantan OLR, te kratko vrijeme gladovanja štete stabilnost granula.

Raspad granula primijećen je istovremeno u oba reaktora dok su se koncentracija EPS-a, adhezija stanica i koncentracije AI-2 smanjivali, što ukazuje da su promjenjivi OLR i produženo trajanje gladovanja važni za stabilnost granula (Wilén i sur., 2018). Stopa uklanjanja KPK u oba reaktora pokazala se odlična, no malo se smanjila zajedno s destabilizacijom granula. Ispostavilo se da mijenjanje radnih uvjeta ima negativan utjecaj na sposobnost uklanjanja KPK (Zhang i sur., 2017). Također, navedenim je istraživanjem dokazano da su autoinduktori jako povezani sa stabilnošću granula. Smatra se da je sposobnost mikroba koji proizvode AI ugrožen promjenom radnih uvjeta, što dovodi do destabilizacije granula, čak i do konačnog raspada. Ukupna količina EPS-a smanjila se čim je došlo do destabilizacije granula. Osobito je očit pad proteinskog sadržaja, koji je pao na manje od 25% izvorne koncentracije. Smanjeno lučenje EPS-a jedan je od glavnih razloga za lomljenje granula. Proteini kao hidrofobna komponenta EPS-a i imaju vrlo važnu ulogu u stabilnosti granula. Stoga bi smanjenje sadržaja EPS-a i proteina moglo dovesti do raspada aerobnih granula. Utvrđeno da je promjenjiv OLR kao i produženo razdoblje gladovanja korisno za proizvodnju velikih molekularnih masa EPS-a (Sun i sur., 2016). Kako je tijekom pokusa eliminirano više mikroba, mikrobna raznolikost u dva promatrana reaktora A1 i A2 istovremeno se smanjivala. Nestankom nekih funkcionalnih bakterija EPS se lučio manje što je dovelo do kolapsa granula.

Uočena je i važnost odabira sporo rastućih mikroorganizama za razvoj stabilnih granula u postrojenju za obradu otpadnih voda. Stopu rasta također može kontrolirati konfiguracija ciklusa, ako se uvede anaerobna faza PAOs će uzeti organsku tvar i pohraniti je kao PHA. Ovo dalje potiče razmnožavanje sporo rastućih mikroorganizama. Potrebno je dovoljno dugo

razdoblje gladovanja nakon hranjenja, ovisno o sastavu podloge i opterećenju, kako bi se osigurala stabilnost granula i kako bi se izbjegao rast nitastih vrsta (Wilén i sur., 2018).

Povišeni OLR može biti koristan za stabilnost granula što podrazumijeva jaču čvrstoću granula (Sun i sur., 2016).

#### 2.3.4. Vrijeme taloženja

Vrijeme taloženja vrlo je važan parametar pri odabiru granula. Gao i sur. (2011) usporedili su različite strategije za pojačavanje stvaranja AGS-a i otkrili da je dobivena najbrža granulacija skraćivanjem vremena taloženja s 15 na 5 min u 11 dana.

Liu i sur. (2016) odmah su postigli brzu granulaciju skraćujući vrijeme taloženja na 2 min pri visokom OLR-u. Već nakon 24 sata počele su se pojavljivati granule u tri reaktora koja su funkcionirala pri istom OLR-u, ali pri različitim vremenima hidrauličnog zadržavanja u rasponu od 8 do 4 sata podešavajući koncentraciju KPK u dotoku. Struktura mikrobne zajednice pokazala je brzi pomak tijekom prvih dana, nakon čega se stabilizirao i bilo je malo razlike između tri reaktora, što ukazuje da je vrijeme taloženja bilo najvažnija sila selekcije mikroba.

#### 2.3.5. Morfologija aerobnih granula – oblik, boja, veličina, starost mulja, mikrobna raznolikost

U usporedbi s AS-om, granule pokazuju jasan obris gotovo sfernog ili eliptičnog oblika. Istraživanje aerobnih granula pokazalo je da na morfologiju mogu utjecati brojni operativni čimbenici, poput organskog opterećenja supstrata, mikrobne populacije i operativnih strategija.

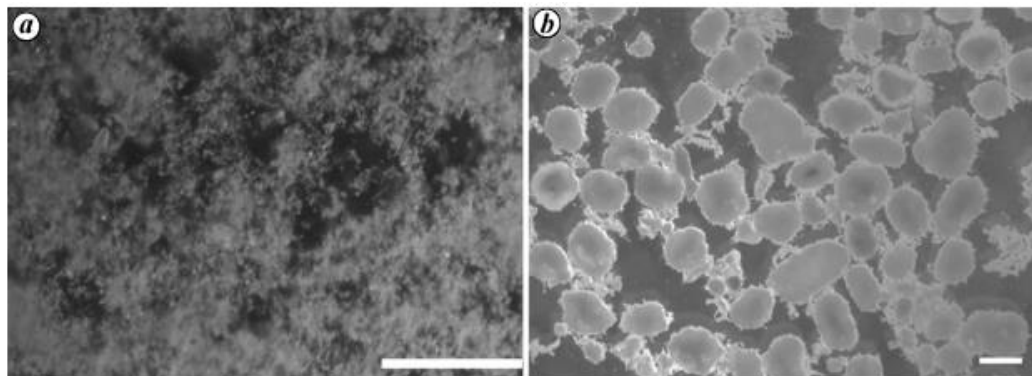
Boja aerobnih granula ovisi o kemijskom sastavu i mikrobnoj populaciji. Granule su uglavnom žute, ali mogu biti i crne boje (Zheng i sur., 2006).

Veličina je važna fizikalna karakteristika aerobnih granula i prosječni promjer aerobne granule ima vrlo širok raspon veličine od 0,2 do najviše 16 mm (Gao i sur., 2011). AGS se uspješno uzgaja u rasponu od 0,02 mm do 9,0 mm. Veličina granula može ograničiti transport i difuziju mase zbog poroznosti strukture koja se smanjuje s povećanjem veličine granula. Općenito su veće granule sklone miješanju koje može uzrokovati raspadanje, a granule male veličine imaju tendenciju slabog taloženja (Dahalan i sur., 2015). Granule imaju bolju sposobnost taloženja i gustoću ako je veličina čestica manja od 4,00 mm. Ako su granule veće od 4,00 mm, povećani promjer može dovesti do pogoršanja sposobnosti



taloženja i gustoće (Toh i sur., 2003). Predloženo je da je optimalna veličina aerobnih granula manja od 0,5 mm zbog najboljih svojstava prijenosa mase (Lin i sur., 2005).

Razlika u morfologiji AS-a i AGS-a prikazana je na slici 6.



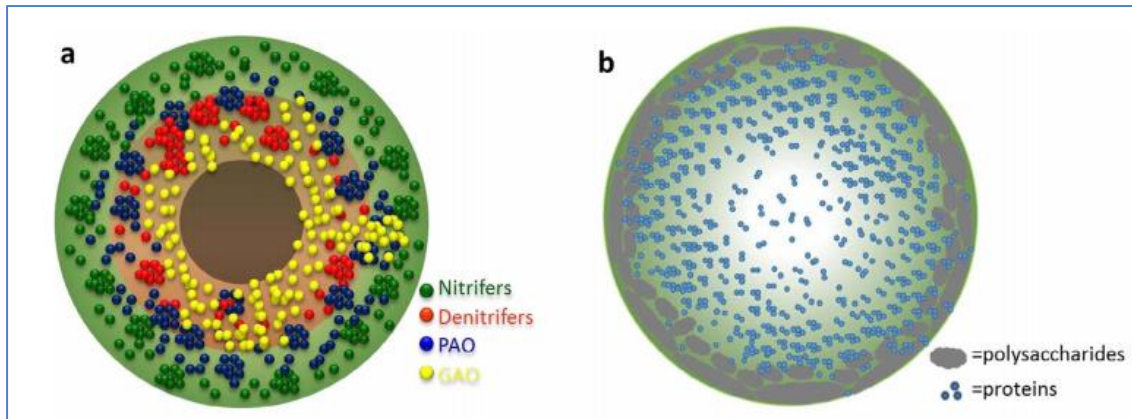
Slika 6. Morfologija aktivnog mulja (a) i aerobnog granuliranog mulja (b) (Prema: Nancharaiah i sur., 2019)

Struktura granula i fizička veličina ključni su za učinak AGS sustava. Tip supstrata, način dodavanja (aerobni/anaerobni), OLR, primjena hidrauličke smične sile, vrijeme taloženja i izmjene volumena utječu na mikrookolinu AGS-a, što posljedično utječe i na njegovu stabilnost.

Mehanizmi koji su uključeni u gubitak integriteta AGS-a uključuju: rast nitastih organizama, lizu stanica i hidrolizu EPS-a, heterotrofni mikroorganizmi koji rastu velikom brzinom, promjene u prostornoj raspodjeli mikrobnih populacija, varijacije u sastavu EPS-a i toksičnost iona teških metala. Ovi mehanizmi dovode do smanjenja gustoće AGS-a, raspadom na male čestice s manjim brzinama taloženja, koje se lako ispiru iz bioreaktora. Nestabilnost zbog visokog OLR-a uglavnom je rezultat brzog heterotrofnog rasta na vanjskoj strani granula i ograničen kisik u unutarnjim slojevima (Franca i sur., 2017).

Među svim aspektima povezanim s granulacijom, odabir mikrobne populacije s niskom maksimalnom stopom rasta nedvojbeno je glavni faktor za stabilizaciju AGS-a. Održavanje stabilnih granula u aerobnim reaktorima moguće je samo uz minimum vrijednosti omjera N/KPK u otpadnoj vodi, radi promicanja dominacije sporo rastućih nitrifikatora. Jedna od strategija za postizanje stabilnosti AGS-a oslanja se na selektivno uklanjanje frakcija AGS-a, npr. povećanje PAOs ili granula odgovarajuće veličine (Franca i sur., 2017).

Raspodjela mikroorganizama, ugljikohidrata i proteina EPS matrice u granuli dan je slikom 7.



Slika 7. Grafički prikaz raspodjele (A) mikroorganizama, (B) ugljikohidrata i proteina EPS matrice (Preuzeto i prilagođeno iz Nancharaiah i Reddy, 2018)

S vanjske strane granule prema unutrašnjosti zastupljeni su nitrificirajući mikroorganizmi, potom denitrificirajući i PAOs, a prema središtu granule u najvećoj koncentraciji se nalaze glikogen akumulirajući mikroorganizmi (GAOs, engl. *Glycogen Accumulating Organisms*).

Polisaharidi su koncentriraniji s vanjske strane granule, a proteini s unutrašnje strane (Nancharaiah i Reddy, 2018).

Neka istraživanja pokazuju da granule uzgojene na različitim izvorima ugljika mogu imati različite mikrobne zajednice, morfologiju granula i unutarnju strukturu. Izvor ugljika utječe na stabilnost i učinkovitost uklanjanja AGS-a, posebno kada se uklanjanje ugljika i hranjivih sastojaka procjenjuje zajedno (de Sousa Rollemberg i sur., 2019).

U istraživanju Zhang i sur. (2017) stopa uklanjanja KPK u oba reaktora se smanjila zajedno s destabilizacijom granula. Ispostavilo se da mijenjanje radnih uvjeta ima negativan utjecaj na stabilnost, a posljedično i sposobnost uklanjanja KPK.

Veličina čestica može izravno utjecati na stabilnost AGS-a, jer je najznačajnija promjena tijekom raspada AGS-a smanjenje veličine čestica. Veličina AGS-a ne utječe samo na stabilnost i učinak denitrifikacije, nego i na prostornu raspodjelu mikroorganizama u granuli. Veličina čestica važna je veza između mikrostrukture AGS-a i njegovih makroskopskih svojstava (Long i sur., 2019). AGS srednjih veličina čestica lakše održava stabilnost. Međutim, još uvijek je nepoznato koja je vrsta raspodjele veličine čestica u reaktoru korisna za održavanje stabilnosti AGS-a (Long i sur., 2019).

Iako se starost mulja može regulirati ispuštanjem mulja, ono ne može učinkovito spriječiti stvaranje velikih čestica sklonih nestabilnosti. Vjeruje se da kontrola starosti mulja s

jednakim načinom ispuštanja mulja, nasuprot selektivnom ispuštanju mulja, nije dugoročno pogodna za održavanje stabilnosti AGS-a. Kako bi se povećala stabilnost reguliranjem veličine čestica, AGS je prvo uzgojen u SBR-u korištenjem metode selektivnog tlaka i kontroliranjem starosti mulja. Nakon što je aerobna granulacija uspješno realizirana u reaktoru, stabilnost aerobnih granula različitih veličina ispitivana je ultrazvučnim eksperimentima drobljenja i ispitivanjima aktivnosti, kako bi se odredio raspon veličine čestica AGS-a s najboljim pokazateljima stabilnosti. AGS s optimalnom veličinom čestica vraćen je u reaktor, a ostale granule različitih veličina pohranjene su za kasnije korištenje. Time se postupno povećavao udio AGS-a s optimalnom veličinom čestica (Long i sur., 2019). Aerobna granulacija uspješno je postignuta u pilot reaktoru u roku od 40 dana. Zatim je istražena stabilnost granula različitih veličina čestica prema njihovoj aktivnosti i otpornosti na ultrazvučno drobljenje. Kada je brzina granulacije u reaktoru po prvi puta premašila 90%, aerobna granulacija uspješno je postignuta. Uspješna aerobna granulacija u eksperimentu kojeg su proveli Long i sur. (2019) postignuta je 40. dana (stopa granulacije bila je 90%), tj. većina mulja pretvorena je iz flokula u AGS nakon 40 dana. Tijekom 41. do 43. dana, strukturna stabilnost AGS-a različitih veličina čestica proučavane su kroz promjene brzine granulacije nakon ultrazvučnog drobljenja (snaga od 5-15 W, vrijeme izlaganja 10 min i MLSS od 2,39-2,47 g/L), što je predstavljalo osnovu za kontrolu veličine čestica radi poboljšanja stabilnosti reaktora. Pod visokom temperaturom, visokim tlakom, mehaničkog smicanja i drugih učinaka uzrokovanih tim mehanizmom, razaranje nekih stanica na kraju je dovelo do strukturnih oštećenja AGS-a. Rezultati su pokazali da su granule manje od 1 mm imale najlošije performanse u otpornosti na ultrazvučno drobljenje, a granule između 2 i 3 mm bile su najbolje u tom pogledu, dok su granule drugih veličina čestica bile između. Rezultati nisu samo pokazali da je koncentracija granula imala mali utjecaj na učinak ultrazvučnog drobljenja kada je volumen uzorka bio 100 ml, nego je također dokazano da AGS veličine 2-3 mm ima najbolju strukturnu stabilnost. Granule promjera 2-3 mm lakše održavaju stabilnost jer je povećanje njihovih čestica najsporije. Povećanje veličine čestica granula promjera 3-4 mm bile su mnogo brže. Smatra se da je i smrt nekih aeroba i rast anaeroba umanjio granularnu čvrstoću s povećanjem otpora prijenosa mase, pa njegova strukturna stabilnost nije bila tako dobra kao kod granula promjera 2-3 mm. Kad je veličina čestica AGS mala, granulacija se nastoji nastaviti. Međutim, kada je njihova veličina čestica premašila određenu granicu, vjerojatnije je da će se raspasti zbog porasta otpora prijenosa mase (Long i sur., 2019).

Osim veličine čestica, znanstvenici su otkrili da su i neka granularna svojstva usko povezana sa stabilnošću AGS-a (Franca i sur., 2017), uključujući specifičnu stopu rasta, sastav EPS-a,

QS, sadržaj anorganskih soli, itd. Međutim, ta su svojstva usko povezana s medijem i načinom rada reaktora, te njihova regulacija očito nije sasvim prikladna.

Postoji mnogo neizvjesnosti oko pitanja može li se granula određene veličine čestica postići prirodnim odabirom. Aerobna granulacija uspješno je postignuta u pilot mjerilu u SBR-u u 40 dana uporabom metode selekcijskog tlaka i kontroliranja starosti mulja. Među različitim veličinama granula, granule 2-3 mm su imale najveću brzinu granulacije nakon ultrazvučnog drobljenja, što je ukazivalo na to da su one najstabilnije granule najbolje strukturne stabilnosti i s najnižom stopom rasta. Odlično uklanjanje onečišćenja i stabilna svojstva postignuta su tijekom 86 dana rada. Rezultati su pokazali da je stabilnost sustava uvelike poboljšalo povećavanje udjela granula od 2,0-3,0 mm u reaktoru ručnim probiranjem, što je dokazalo da je strategija održavanja stabilnosti zasnovana na kontroli veličine čestica izvediva u primjeni (Long i sur., 2019). Prednost ove strategije je u tome što može prevladati nesigurnosti prirodnog odabira i precizno postići obogaćivanje granulama željenih veličina, a time i poboljšati stabilnost sustava (Long i sur., 2019).

#### 2.3.6. Skladištenje aerobnih granula

S obzirom na nestabilnost granula znanstvenici su predložili neke strategije za poboljšanje stabilnosti AGS-a uključujući: primjenu odgovarajućih operativnih parametara (poput brzine OLR-a, koncentracije DO, režim hranjenja itd.), obogaćivanje sporo rastućih mikroorganizama, jačanje granularne jezgre ili inhibicija anaerobnog rasta. Međutim, većina tih strategija postignuta je primjenom SBR-a koji je bio strogo kontroliran u laboratoriju.

Trenutno ne postoji jedinstveni standard za procjenu stabilnosti AGS-a (Long i sur., 2019).

Do danas, istraživanja su pokazala da se stabilnost i integritet aerobne granule mogu održavati tijekom skladištenja ili razdoblja gladovanja od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci. Aktivnost i strukturni integritet aerobnih granula tijekom skladištenja ovisi o temperaturi skladištenja, duljini vremena skladištenja, mediju za skladištenje i značajkama samog AGS-a (Liu i sur., 2004). Tay i sur. (2002) su istraživali aerobne granule razvijene na glukozu i acetatu i otkrili da su izgubile oko 60-90 % aktivnosti nakon 4 mjeseca skladištenja u vodi iz slavine pri 4°C, uz smanjenje čvrstoće 7-8%, u usporedbi sa svježim granulama. Granule čuvane na 4°C u fiziološkoj otopini puferiranoj s fosfatom imale su najmanju promjenu aktivnosti (Ng, 2002; Liu i sur., 2004). Adav i sur. (2007) utvrdili su da niska temperatura skladištenja i toksičnost fenola mogu odgoditi hidrolizu ili biotransformaciju proteina u jezgri granula i povećati stabilnost i aktivnost granula. Zhu i Wilderer (2003) izvijestili su da su se aerobne granule hranjene s glukozom mogle čuvati do 7 tjedana bez

gubitka cjelovitosti granula i njihovog metaboličkog potencijala. Stabilnost aerobnih granula tijekom dugotrajnih razdoblja (> 8 mjeseci) nije zabilježena.

### 2.3.7. Koncentracija otopljenog kisika

AGS se može formirati u širokom rasponu koncentracija DO, od samo 0,7–1,0 do 2–7 mg L<sup>-1</sup> (Winkler i sur. 2018.), ali za DO manji od 2 – 5 mg L<sup>-1</sup> izvješteno je da dovodi do nestabilnosti granula (Wilén i sur., 2018). DO je učinkovit upravljački parametar za istovremeno uklanjanje organskog ugljika, dušika i fosfora zbog jakih ograničenja difuzije u granulama gdje visoke koncentracije DO dovode do većih aerobnih frakcija i time se povećava brzina nitrifikacije, dok niža koncentracija DO povećava brzinu denitrifikacije. Upravljanjem koncentracije DO u SBR-u, može se postići visoka kvaliteta obrađenih otpadnih voda (Wilén i sur., 2018).

Stvaranje stabilnog AGS-a ovisi o više parametara koji omogućavaju rast sporo rastućih mikroorganizama i ispiranje brzo rastućih mikroorganizama. Rane studije pokazale su da su velike brzine ulaznog zraka ključne za formiranje AGS-a, a također i za stabilnost AGS-a. Međutim, u novije vrijeme dokazano je da je formiranje AGS-a moguće čak i pri niskim brzinama prozračivanja (Nancharaiah i Reddy, 2018).

### 2.3.8. Temperatura

AGS procesi uspješno su provedeni pri različitim temperaturama, od 8 do 30°C. Na niskoj temperaturi granule postaju nepravilnog oblika i nestabilne s niskom učinkovitošću uklanjanja hranjivih sastojaka. Budući da je mikrobna aktivnost niska pri niskim temperaturama, sugerira se da DO može prodrijeti do unutarnjeg anoksičnog dijela koji će spriječiti denitrifikaciju.

Zabilježeno je da AGS reaktori mogu raditi s visokom učinkovitošću uklanjanja organskog ugljika, dušika i fosfora pri 10–12 °C. Dodavanje hladno aklimatiziranog AS-a AGS reaktoru bila je uspješna strategija za dobivanje stabilnih granula koje djeluju učinkovito pri uklanjanju organskog ugljika i hranjivih sastojaka pri 7 °C (Gonzalez-Martinez i sur., 2017). Pri višim temperaturama (20–30 °C), poremećaji u biološkom uklanjanju fosfora uočeni su zbog povoljnih uvjeta za rast GAOs.

Istraživanja pokazuju da se uspješno može upravljati i AGS reaktorima pri 30, 40 i 50 °C s visokom učinkovitošću uklanjanja dušika i fosfora (Wilén i sur., 2018).

### 2.3.9. Sastav otpadnih voda

Jedan od kritičnih parametara u radu AGS procesa je koncentracija suspendiranih krutina u otpadnim vodama. Stabilnost granula ključna je za održavanje niske koncentracije suspendiranih čestica u otpadnim vodama. Mikroorganizmi konkuriraju za supstrate unutar granula, ali i za prostor u kojem rastu. Difuzija supstrata i koncentracija DO stvara različite zone; aerobno na vanjskoj površini gdje brzo rastući heterotrofi i filamenti rastu i postaju anoksični, te anaerobne zone dalje prema jezgri granule. Kanali koji mogu pridonijeti boljoj difuziji mogu se začepiti zbog čestica i koloida u otpadnoj vodi te zbog proizvodnje EPS-a (Zheng i Yu, 2007). Izgladnjivanje i aerobni uvjeti u jezgri granula dovode do endogenog staničnog disanja i lize stanica koje u konačnici daju šupljine i dolazi do raspada granula (Franca i sur. 2017). Različiti OLR daju različitu stopu rasta biomase u reaktoru i stoga mogu utjecati na koncentraciju suspendiranih čestica u otpadnim vodama (Wilén i sur., 2018).

Dokazano je da AGS razgrađuje razne vrste toksičnih organskih spojeva kao što su azobojila, fenoli, metalni kelatni agensi, fosfori spojevi, nitroaromatski spojevi, anilini i različiti lijekovi u bioreaktorima na laboratorijskog razini.

Studije o postrojenju obrade otpadne vode AGS-om zabilježile su duga razdoblja pokretanja, do 10 mjeseci, za postizanje razumne granulacije (80% biomase u obliku granula). Treba napomenuti da su ova postrojenja punog opsega korištena za pročišćavanje otpadnih voda koje se sastoje od značajnog udjela (30–70%) industrijskih otpadnih voda (Nancharaiah i sur., 2019).

### 2.3.10. Metali

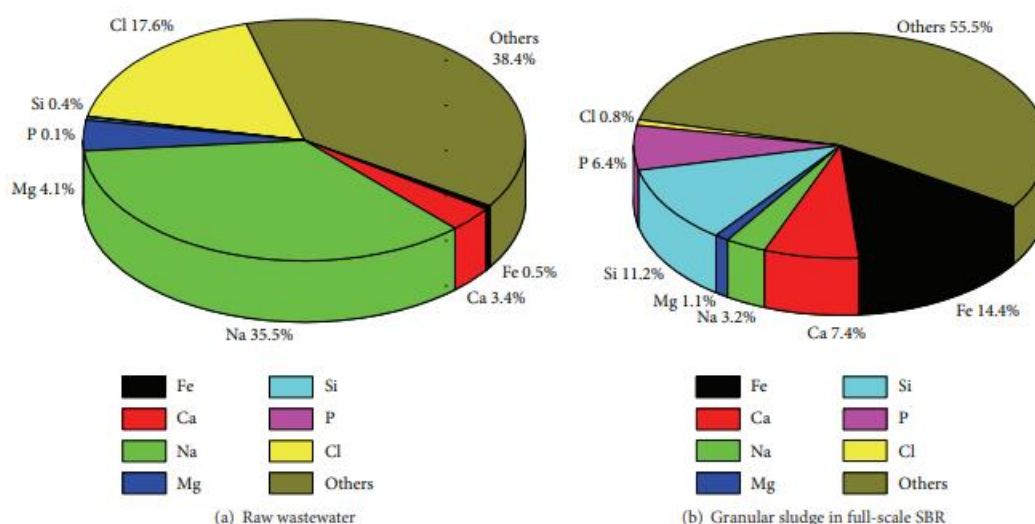
Metali mogu promicati aerobnu granulaciju, i to:

- a) olakšavanjem vezanja među mikroorganizmima smanjenjem negativnih naboja na površini mikrobnih stanica
- b) promicanjem proizvodnje EPS-a
- c) djelujući kao jezgra za vezanje bakterija

Viševalentni kationi pomažu u agregaciji bakterija neutralizacijom negativnih naboja mikrobnih stanica. Dodatak  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$  ne samo da ubrzava stvaranje AGS-a, već i oblikovane granule imaju zbijeniju i gušću mikrobnu strukturu. Metalni kationi pomažu u agregaciji mikroba i stvaranju granula, a također pridonose stabilnosti granula kroz povećanu proizvodnju EPS-a i interakcije EPS-a i metala (Nancharaiah i Reddy, 2018).

Juang i sur., 2010. sugeriraju da kalcij i/ili talozi željeza u unutrašnjosti granula povećavaju strukturnu stabilnost aerobnih granula. Divalentni kationi, posebno  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ , poboljšavaju granularnu stabilnost stvaranjem mostova između EPS-a (Wilén i sur., 2018). Dokazano je da divalentni ioni metala imaju pozitivan utjecaj na granulaciju. Prepoznato je da ioni metala, posebno kalcij i magnezij, pojačavaju granulaciju u SBR-u (Gao i sur., 2011).

Kemijski elementi u sirovoj otpadnoj vodi i u granuliranom mulju u SBR-u analizirani uređajem za rendgensku fluorescentnu analizu (XRF, engl. *X-ray fluorescence analysis*) prikazani su slikom 9. Sadržaj natrija iznosio je 35,43%, a sadržaj klora 17,59% u sirovoj otpadnoj vodi zbog činjenice da se ovo postrojenje nalazilo u blizini mora i pročišćava neke industrijske otpadne vode tog područja (Li i sur., 2014).



Slika 9.: Analiza elemenata sirove otpadne vode i granuliranog mulja u SBR-u uređajem za rendgensku fluorescentnu analizu (XRF) (Prema: Li i sur., 2014)

### 2.3.11. Učinak selektivnog ispuštanja mulja na poboljšanje dugoročne stabilnosti procesa aerobnog granuliranog mulja

U istraživanju učinka selektivnog ispuštanja mulja na izvedbu uklanjanja onečišćujućih tvari i poboljšanje dugoročne stabilnosti procesa aerobnih granula Zhu i sur. (2013) su istaknuli poboljšanje uklanjanja N uz prethodnu granulaciju pri vremenu taloženja mulja od 1 min nakon 15 dana. Nakon formiranja finih granula, 5-10% volumena ukupnog granuliranog mulja je ispušteno zbog kontrole SRT-a, i postignut je učinak uklanjanja  $\text{NH}_4\text{-N}$   $95,9 \pm 2,0\%$  i ukupnog dušika  $75,3 \pm 3,0\%$  pri  $\text{SRT}_{\text{ukupno}}$   $5,3 \pm 0,4$  dana,  $\text{SRT}_{\text{granule}}$   $9,9 \pm 0,9$  dana,  $\text{SRT}_{\text{flokule}}$

2,7±0,5 dana. Brzina granulacije i prosječna veličina dijametra granula se stabilizirala na 80±0,5 % i 2,3±0,3 mm. Istraživanja su provedena u SBR-u radnog volumena 2 L, unutarnjeg dijametra 6 cm i omjera visina/dijametar 2,5. SVI sjemena mulja je iznosio 80 mL/g. Pokusi su provedeni na sintetskoj otpadnoj vodi, volumetrijska brzina izmjene je iznosila 75%, a temperatura je održavana pri 25±2 °C. Sadržaj PN i PS aerobnih granula u bioreaktoru bio je 359,1 ± 2,9 mg/g VSS i 44,3 ± 1,1 mg/g VSS, što je pogodovalo dugoročnoj stabilnosti aerobnog procesa granuliranog mulja. Dugi SRT granuliranog mulja glavni je razlog pogoršanja performansi reaktora, a stabilnost granuliranog reaktora može se ojačati selektivnim ispuštanjem starog granuliranog mulja (Zhu i sur., 2013).

Nekoliko su strategija za izbjegavanje raspada AGS-a predložili Franca i sur. (2017). Na primjer, selektivno ispuštanje mulja. Primijećeno je da je dio mulja koji je zadržan u reaktoru flokuliranog oblika i može biti vezan za raspadanje. Neki su istraživači predložili ispuštanje mulja kao rješenje za poboljšanje stabilnosti AGS-a, održavanjem biomase na određenoj veličini, te prilagodbu brzine prozračivanja - povećanje hidrodinamičke sile smicanja radi suzbijanja prekomjernog rasta velikih granula (de Sousa Rollemberg i sur., 2019).

#### 2.3.12. Učinak bujanja mulja (povećanja mase mulja) na stabilnost aerobnih granula

Glavna barijera praktičnoj inženjerskoj primjeni aerobnog granuliranog mulja je da mulj lako može postupno postati nestabilan u dugotrajnom radu i raspada se nakon duljeg rada.

Bujanje mulja (povećanje mase mulja) (engl. *Sludge Bulking*) je također problem zbog narušavanja stabilnosti granuliranog mulja.

Zhou i sur. (2014) su istražili izvedivost spriječavanja bujanja mulja i povećanje stabilnosti AGS-a u SBR-u optimizacijom radnih uvjeta. Fokusirali su se na uvjete rada, u periodu zrelih granula, poput: DO, OLR, izvor ugljika, omjer KPK/N i temperatura.

Utjecaj prekomjernog rasta nitastih bakterija i stabilnost jezgre granule uzete su u obzir pri odabiru čimbenika procesa. DO i brzina aeracije (prozračivanja) povezani su s kompeticijskom prednošću nitastih bakterija. OLR određuje količinu izvora ugljika koji mogu uzeti mikroorganizmi. Vrsta izvora ugljika, KPK/N i temperatura imaju važnu ulogu u poboljšanju stabilnosti granula.

Rezultati su pokazali da koncentracija DO ima izuzetno snažan učinak na taloženje i stabilnost granuliranog mulja. Niska koncentracija DO negativno je utjecala na taloženje mulja i ograničila je prodor kisika u granulama, što je stvorilo anaerobnu jezgru za promicanje aktivnosti anaerobnih bakterija i potom dezintegraciju granula. Granule su rasle s gubitkom strukture zbog propagiranja filamentoznih bakterija, kojima pogoduje niska



koncentracija DO. Relativno visoka koncentracija DO inhibira konkurentsku prednost nitastih bakterija i pogoduje prodiranju DO u granulama, dok pri nedostatku DO dolazi do brze proliferacije nitastih bakterija (Zhou i sur., 2014).

Omjer polisaharida i proteina u mulju (PS/PN) značajno se povećava s posmičnom silom. I kohezija i agregacija posreduju u staničnim polisaharidima. Čini se da polisaharidi stanica igraju presudnu ulogu u održavanju granuliranog (zrnatog) mulja. Veća posmična sila potiče proizvodnju više polisaharida u usporedbi s proteinima. Istaknuli su da su stanični polisaharidi pogodovali kompaktnoj strukturi i stabilnosti zrnatog mulja (Liu i Tay, 2004).

Pri visokom OLR, veličina granula mogla bi se povećati i prijenos mase bio je ograničen postupno. Ograničenje prijenosa mase velikih granula moglo bi stvoriti anaerobnu jezgru i stimulirati aktivnost anaerobnih sojeva, oslabiti strukturu granula i čine granule nestalnim, do raspadanja granula (Zheng i sur. 2006). Štoviše, visoka koncentracija organskih sastojaka je izvor ugljika za rast nitastih bakterija u oksidnoj fazi.

S druge strane, prijenos supstrata u unutrašnjost granule inhibirana je pri niskoj koncentraciji supstrata, što je činilo površinu granula pahuljastom. Kada je koncentracija supstrata relativno niska, specifična brzina rasta nitastih bakterija je veća, a zatim se velike granule raspadaju i imaju slabe performanse taloženja (Zhou i sur., 2014).

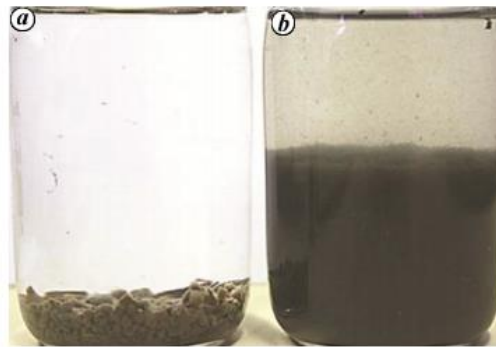
DO povećavanjem brzine prozračivanja pridonio je stabilnosti granula zbog konkurentске prednosti nefilamentnih bakterija i prožimanja kisika pri visokoj koncentraciji DO. Opaženo je da se omjer polisaharida i proteina povećava kako se povećava hidraulička sila posmika. Kada se naizmjenično primjenjuju visoke/niske brzine organskog opterećenja (OLR), velike i pahuljaste granule su se raspadale, dok su nastajale gušće granule okruglog oblika. Sintetička otpadna voda kombinirala je visoko i polako biorazgradivu podlogu, stvarajući visoki gradijent, koji je inhibirao rast nitastih bakterija i sprečavao nakupljanje AS-a. Niži omjer KPK/N pogodovao je hidrofobnosti zrnatog mulja, što je potaknulo stabilnost granula zbog niže brzine difuzije amonijaka (Zhou i sur., 2014).

## 2.4. Karakteristike aerobnog granuliranog mulja

### 2.4.1. Fizikalne i kemijske karakteristike

Brzina taloženja aerobnih granula u reaktorima varira od 18 do 90 m/h, čak i do 130 m/h (Gao i sur., 2011). Te su vrijednosti slične onima dobivenim za anaerobne granule i mnogo veće nego vrijednosti za flokulirani AS (7–10 m/h) (Schmidt i Ahring, 1996).

Vizualni prikaz usporedbe AS-a i AGS-a, koliko volumena zauzima jednaka količina AS-a i AGS-a nakon procesa taloženja prikazana je slikom 8.



Slika 8. Usporedba volumena nakon taloženja jednake količine granuliranog mulja (a) i aktivnog mulja (b) (Prema: Nancharaiah i sur., 2019)

Zbog odlične brzine taloženja i zbog kompaktne strukture granula omogućeno je odvajanje biomase od obrađene otpadne vode i obrada otpadne vode u istom spremniku. Moguće je postići dva do četiri puta veću koncentraciju biomase u postupku u kojem se koristi granulirani mulj u usporedbi s postupkom aktivnog mulja (Nancharaiah i sur., 2019). Brzina taloženja AGS-a ovisi o veličini i gustoći granula (Gao i sur., 2011). Svojstva taloženja kvantificirana su prema indeksu volumena mulja (SVI, engl. *Sludge Volume Index*), koji se definira kao volumen (ml) koji zauzima 1 g mulja nakon 30 minuta taloženja.  $SVI_{30}$  aktivnog mulja najčešće je veći od 100 ml/g. Granule su fizički različite makroskopske čestice biomase određenog oblika i odvajaju se od vodenog dijela taloženjem pri mirnim uvjetima (Nancharaiah i sur., 2019). SVI je parametar važan za određivanje sposobnosti taloženja mulja, te za aerobne granule iznosi između 80 mL/g i 20 mL/g (Gao i sur., 2011). Granule karakteriziraju pojačana svojstva taloženja s nižim SVI vrijednostima (često ispod 50 ml/g) i veće brzine taloženja. Kako se granule taloženjem brzo izdvajaju u vodenom stupcu,  $SVI_{30}$  je revidiran do  $SVI_5$  (indeks volumena mulja nakon 5 minuta taloženja) za granulirane sustave. Za AGS vrijednost  $SVI_5$  je slična  $SVI_{30}$  (Nancharaiah i sur., 2019).

Aerobne granule imaju veliku gustoću i kompaktnu strukturu. Sadržaj vode u granulama iznosi oko 94–97% (Lin i sur., 2005). Aerobne granule obično imaju dovoljno fizičke snage kako bi se održala stabilnost zrnatog oblika i strukture. Fizička snaga granula koje su stvorile bakterije je različita od onih koje uglavnom nastaju od gljivica. Fizička snaga gljivičnih granula bila je slabija i vjerojatnije je da će biti narušena zbog slabo zbijene mikrostrukture (Xiao i sur., 2008).

Hidrofobnost stanične površine važan je čimbenik za inicijaciju razvoja granula. Tijekom granulacije biomasa postaje sve više hidrofobna. Povećanje omjera protein/polisaharid u granulama smanjuje negativni naboj na površini granula, što bi trebalo dovesti do smanjene elektrostatske odbojnosti između bakterijskih stanica i time poboljšati granulaciju (Wilén i sur., 2018). Hidrofobnost stanične površine aerobnih granula je mnogo veća od one u AS-u. Qin i sur. (2004) su otkrili da je hidrofobnost stanične površine granula povećana za 2,5 do 3,5 puta u odnosu na AS. Vanjski sloj aerobnih granula veće je hidrofobnosti od jezgre granula (Wang i sur., 2005). Hidrofobnost površine stanice povećala se od 43,2% na oko 78,2% kako se mulj promijenio iz flokuliranog u granulirani oblik u SBR reaktoru (Zhang i sur., 2007).

Poroznost aerobnih granula usko je povezana s transportom supstrata i ograničenjem koncentracije DO u granulama. Ako su pore začepjene, dolazi do smanjenja difuzije supstrata, što negativno utječe na bioaktivnost aerobnih granula. Rezultati istraživanja pokazuju pozitivnu korelaciju između bioaktivnosti i poroznosti aerobne granule (Tay i sur., 2002a; Zheng i sur., 2007). AS uobičajeno ima poroznost veću od 0,95, a aerobne granule imaju relativno malu poroznost. Poroznost aerobnih granula varira od 0,68 do 0,93 i smanjuje se s veličinom (Zheng i sur., 2007).

## 2.5. Razlike aerobnog granuliranog mulja i aktivnog mulja

AGS se razlikuje od AS-a u smislu kompaktnosti, veličine čestica, brzini taloženja, matrici EPS-a i strukturi mikrobne zajednice. AGS omogućuje gravitacijsko odvajanje biomase i pročišćavanje otpadne vode u jednom bioreaktoru, pridonoseći značajnom smanjenju troškova (Nancharaiah i sur., 2019). Dekanteri nisu nužni u postrojenju s AGS-om. Nedavne procjene sugeriraju do 30% manju potrošnju energije za postupak s granuliranim muljem u odnosu na ostale tehnologije (Nancharaiah i sur., 2019).

AGS u usporedbi s AS-om ima prednosti poput:

- a) AGS ima veliku moć zadržavanja biomase (Gao i sur., 2011).
- b) AGS ima dobra svojstva taloženja (Gao i sur., 2011).
- c) AGS se može koristiti za pročišćavanje različitih vrsta otpadne vode i podnosi veliko opterećenje zbog jedinstvene zrnaste strukture i velike koncentracije biomase u reaktoru (Moy i sur., 2002).
- d) AGS ima mogućnost održavanja različitih redoks okruženja; postojanje oksidnih, anoksidnih i anaerobnih zona u granulama (Nancharaiah i sur., 2019).

- e) AGS i AS razlikuju se u fizikalnim, kemijskim i mikrobiološkim svojstvima. AGS zbog uzgoja u SBR sustavu smanjuje troškove za prostorom, nema potrebu za taložnikom (Nancharaiah i Reddy, 2018).
- f) Postrojenja za obradu otpadnih voda AGS-om imaju manji utrošak energije od ostalih tehnologija obrade (Nancharaiah i sur., 2019).

Razlike u svojstvima između AGS-a i AS-a prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Usporedba karakteristika aktivnog i granuliranog mulja (Preuzeto i prilagođeno iz Nancharaiah i sur., 2019)

<b>Karakteristike</b>	<b>Aktivni mulj</b>	<b>Granulirani mulj</b>
Veličina čestica (mm)	<0,1	>0,1
Mikrostruktura	labava i flokulentna	gusta i kompaktna
Brzina taloženja (m/h)	oko 10	oko 90
SVI – indeks volumena mulja (ml/g)	>100	<50
SVI	vrlo različita pri 5 i 30 min	slična pri 5 i 30 min
Mikrookolina	nisu mogući različiti redoks sustavi unutar flokule	aerobne, anoksične i anaerobne regije unutar jedne granule

Brzina taloženja granula je mnogo veća od brzine taloženja flokula, te je iz tog razloga moguće veće zadržavanje biomase u bioreaktoru. Zrnata struktura granula i povećana biomasa odgovorne su za postizanje boljeg biološkog uklanjanja hranjivih sastojaka u postrojenjima za obradu otpadnih voda AGS-om. Zbog velikih čestica i kompaktne mikrostrukture, moguće je održavati aerobnu, anoksičnu i anaerobnu mikrookolinu unutar pojedine granule čak i tijekom faze aeracije. Održavanje različitih redoks uvjeta u granulama olakšava istovremenu provedbu oksidacije i redukcije te doprinosi istovremenom uklanjanju ugljika, dušika i fosfora iz otpadnih voda. Veće koncentracije biomase mogu postići učinkovito i brzo uklanjanje onečišćenja i poboljšati volumetrijske kapacitete pretvorbe. Također, zbog poboljšanog svojstva taloženja AGS-a, bioreaktori mogu raditi sa 10 g/L, ali i s većim koncentracijama biomase, što može značajno povećati kapacitete postrojenja za obradu. Zbog dizajna sustava s jednim reaktorom, broj spremnika i mehanička oprema potrebna za postupak s granuliranim muljem su mnogo manji u usporedbi s postupkom pomoću AS-a (Nancharaiah i sur., 2019).

Cyzdik Kwiatkowska i sur. (2018) su istražili učinkovitost obrade komunalnih otpadnih voda AGS-om na sustavu za obradu otpadnih voda. Pokazalo se da je AGS izvrsna alternativa AS-u. Nadogradnja na tehnologiju AGS-a doprinijela je poboljšanjem kvalitete obrađene otpadne vode: postignuto je povećanje uklanjanja KPK za oko 10%, a amonijev dušik je potpuno oksidiran. Prosječna učinkovitost uklanjanja fosfora povećana je za oko 20-30%, a poboljšana su i svojstva taloženja. U istraživanju nije primijećeno da je smanjenje temperature utjecalo na stabilnost aerobnih granula, već se pokazalo da započinjanje sa sustavom prilikom ljetnih mjeseci osigurava stabilnost granulacije i prilikom zimskih mjeseci. Istaknuli su da duga razdoblja pokretanja potrebna za razvoj granula iz flokula mulja i gubitak biomase u tom razdoblju dovodi do loših učinaka uklanjanja hranjivih sastojaka, te su to ključni problemi tehnologije aerobnih granula (Cyzdik Kwiatkowska i sur., 2018).

U istraživanju Wilén i sur. (2018) zabilježeno je da tijekom puštanja u rad reaktora AGS-a može doći do smanjenja učinkovitosti uklanjanja dušika vjerojatno zbog značajnog ispiranja biomase, što bi dovelo do dovođenja ugljika iz anaerobne faze hranjenja u aerobnu fazu. Često je potrebno 2–4 mjeseca za učinkovito uklanjanje hranjivih sastojaka. Da bi se postigla istovremena nitrifikacija i denitrifikacija važno je kontrolirati DO koji bi trebao biti dovoljno visok da održi nitrifikaciju u vanjskom sloju i dovoljno nizak da spriječi prodiranje kisika u dublje anoksične dijelove granule gdje se može provoditi denitrifikacija (Wilén i sur., 2018).

Beun i sur. (2001) postigli su učinkovitu nitrifikaciju i denitrifikaciju sa stabilnim granulama pri 40% zasićenju kisikom, dok su Mosquera-Corral i sur. (2005) postigli relativno dobru nitrifikaciju i denitrifikaciju pri sličnom zasićenju kisika, ali je došlo do nestabilnosti granula.

Omjer KPK/N važan je za učinkovitu istovremenu nitrifikaciju i denitrifikaciju. Istraživanja su pokazala da visoke vrijednosti omjera KPK/N (7,5–30) daju velike i pahuljaste granule zbog pogodovanja rastu heterotrofa, dok su niski omjeri KPK/N (2–5) doveli do malih i gustih granula koje sadrže sporije rastuće nitrificirajuće organizme, te je zaključeno da je omjer KPK/N 7,5 optimalan za stabilnost granula (Wilén i sur., 2018).

U AGS sustavima dizajniranim za uklanjanje fosfora važno je podržati rast PAOs. Odabirom sporo rastućih mikroorganizma kao što su PAOs, granule će biti stabilnije i pri niskim koncentracijama DO.

U aktivnom mulju ranije je utvrđeno da PAOs dominiraju pri nižim temperaturama (10 °C), dok GAOs dominiraju pri višim temperaturama (20–30 °C). Stabilno uklanjanje fosfora moglo bi se postići pri visokim temperaturama (30 °C) jer gušće granule u središtu sadrže PAOs-e,

dok je lagana gornja frakcija bila obilnija s GAOs-ima. Također, utvrđeno je da izvor ugljika utječe na stabilnost uklanjanja fosfora (Wilén i sur., 2018).

### 3. ZAKLJUČAK

Aerobni granulirani mulj izaziva veliki interes među znanstvenicima u području biološke obrade otpadnih voda, a problem stabilnosti aerobnih granula tijekom dugotrajnog rada sustava je još uvijek izazov znanstvenicima.

Temeljem činjenica navedenih u radu može se istaknuti:

1. Aerobni granulirani mulj je vrsta kompaktnih mikrobnih samoimobiliziranih agregata.
2. Aerobni granulirani mulj karakterizira kompaktna fizička struktura, izvrsno svojstvo taloživosti, veliko zadržavanje biomase, jednostavno odvajanje granula od miješane tekućine kao i manji zahtjevi za prostorom.
3. Proces granulacije mulja je kompleks fizikalno-kemijskih i bioloških procesa.
4. Istraživanje formiranja i stabilnosti granula je usko povezano sa procesnim čimbenicima, poput: vrsta supstrata, organsko opterećenje, hidrauličke sile smicanja, vrijeme taloženja mulja.
5. Problem nestabilnosti aerobnih granula prisutan je tijekom dugotrajnog rada sustava.
6. U aerobnim granulama održavaju se različita redoks okruženja, povoljna za uklanjanje ugljika, dušika i fosfora iz otpadnih voda.
7. Optimalna veličina aerobnih granula je nešto <0,5 mm, optimalna temperatura granulacije je 30°C.
8. Na stabilnost aerobnih granula utječe niz čimbenika, poput: izvanstanične polimerne tvari, produljeno vrijeme gladovanja, visoka hidrodinamička sila smicanja, organsko opterećenje, način formiranja granula, koncentracija otopljenog kisika, temperatura, koncentracija suspendiranih čestica te ioni kalcija, željeza i magnezija.

## 4. POPIS LITERATURE

1. Adav S.S., Lee D.J., Tay J.H. (2007) Activity and structure of stored aerobic granules. *Environmental technology* **28**: 1227–1235.
2. Beun J.J., Heijnen J.J., Van Loosdrecht M.C.M. (2001) N-removal in a granular sludge sequencing batch reactor. *Biotechnology and Bioengineering* **75**: 82–92.
3. Cydzik Kwiatkowska A., Podlasek M., Nosek D., Jaskulska B. (2018) Treatment Efficiency and Characteristics of Biomass in a Full-Scale Wastewater Treatment Plant with Aerobic Granular Sludge. *Journal of Ecological Engineering* **19**: 95-102.
4. Dahalan F.A., Abdullah N., Yuzir A., Olsson G., Hamdzah M., Din M.F.M., Ahmad S.A., Khalil K.A., Anuar A.N., Noor Z.Z., Ujang Z. (2015) A proposed aerobic granules size development scheme for aerobic granulation process. *Bioresource Technology* **181**: 291-296.
5. Devlin T.R., di Biase A., Kowalski M., Oleszkiewicz J.A. (2017) Granulation of activated sludge under low hydrodynamic shear and different wastewater characteristics. *Bioresource Technology* **224**: 229–235.
6. di Iaconi C., Ramadori R., Lopez A., Passino R. (2006) Influence of hydrodynamic shear forces on properties of granular biomass in a sequencing batch biofilter reactor. *Biochemical Engineering Journal* **30**: 152–157.
7. de Sousa Rollemberg S. L., de Oliveira L. Q., Barros A. R. M., Melo V. M. M., Firmino P. I. M., Dos Santos A. B. (2019) Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge. *Bioresource technology* **278**: 195-204.
8. Dulekgurgen E., Yilmaz M., Wilderer P.A. (2008) Shape and surface topology of anaerobic/aerobic granules influenced by shearing conditions. *4th IWA Specialized Conference on Sequencing Batch Reactor Technology* 311–320.
9. Franca R.D.G., Pinheiro H.M., van Loosdrecht M.C.M., Lourenço N.D. (2017) Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation. *Biotechnology Advances* **36**: 228–246.
10. Gao D., Liu L., Liang H., Wu W. M. (2011) Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. *Critical Reviews in Biotechnology* **31**(2): 137–152.
11. Gonzalez-Martinez A., Muñoz-Palazon B., Rodriguez-Sanchez A., Maza-Márquez P., Mikola A., Gonzalez-Lopez J., Vahala R. (2017) Start-up and operation of an aerobic granular sludge system under low working temperature inoculated with cold-adapted activated sludge from Finland. *Bioresource technology* **239**: 180–189.
12. Juang Y.C., Adav S.S., Lee D.J., Tay J.H. (2010) Stable aerobic granules for continuous-flow reactors, precipitating calcium and Iron salts in granular interiors. *Bioresource Technology* **101**: 8051–8057.
13. Kim I.S., Kim S.M., Jang A. (2008) Characterization of aerobic granules by microbial density at different COD loading rates. *Bioresource Technology*, **99**: 18–25.



14. Li J., Ding L. B., Cai A., Huang G. X., Horn H. (2014) Aerobic sludge granulation in a full-scale sequencing batch reactor. *BioMed research international*
15. 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.
16. Liu Y., Liu Q.S., Qin L., Tay J.H. (2004) Comments on “effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge” by Zhu and Wilderer. *Water Research* **38**: 3465–3466.
17. Liu Y., Tay J.H. (2004) State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnology advances* **22**: 533–563.
18. Liu Y.Q., Tay J.H. (2006) Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge. *Journal of biotechnology* **124**: 338–346.
19. Liu X.W., Yu H.Q., Ni B.J., Sheng G.P. (2009) Characterization, modeling and application of aerobic granular sludge for wastewater treatment. *Biotechnology in China* **113**: 275-303.
20. Liu Y.Q., Zhang X., Zhang R., Liu W.T., Tay J.H. (2016) Effects of hydraulic retention time on aerobic granulation and granule growth kinetics at steady state with a fast start-up strategy. *Applied microbiology and biotechnology* **100**: 469–477.
21. 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.
22. McSwain B.S., Irvine R.L., Hausner M., Wilderer P.A. (2005) Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. *Applied and environmental microbiology* **71**(2): 1051–1057.
23. Mosquera-Corral A., de Kreuk M.K., Heijnen J.J., van Loosdrecht M.C.M. (2005) Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. *Water Research* **39**: 2676–2686.
24. Moy B.P., Tay J.H., Toh S.K., Liu Y., Tay S. L. (2002) High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granule. *Letters in Applied Microbiology* **34**(6): 407-412.
25. Nancharaiah Y.V., Reddy G. K. K. (2018) Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. *Bioresource Technology* **247**: 1128-1143.
26. Nancharaiah Y.V., Sarvajith M., Mohan T. K. (2019) Aerobic granular sludge: the future of wastewater treatment. *Curr Sci* **117**(3): 395-404.
27. Ng P.H. (2002) Storage stability of aerobic granules cultivated in aerobic granular sludge blanket reactor. *Final Year Report of Bachelor of Engineering, Nanyang Technological University, Singapore.*
28. 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.

29. Schmidt J.E., Ahring B.R. (1996) Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering* **49**: 229–235.
30. Song Z.W., Ren N.Q., Zhang K., Tong L.Y. (2009) Influence of temperature on the characteristics of aerobic granulation in sequencing batch airlift reactors. *Journal of Environmental Sciences* **21**: 273–278.
31. Sun S., Liu X., Ma B., Wan C., Lee D.J. (2016) The role of autoinducer-2 in aerobic granulation using alternating feed loadings strategy. *Bioresource Technology* **201**: 58–64.
32. Tay J.H., Liu Q.S., Liu Y. (2001) Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *Journal of Applied Microbiology* **91**: 168–175.
33. Tay J.H., Liu Q.S., Liu Y. (2002) Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors. *Environmental technology* **23**: 931–936.
34. Tay J.H., Ivanov V., Pan S. (2002a) Specific layers in aerobically grown microbial granules. *Letters in Applied Microbiology* **34**: 254–257.
35. Toh S.K., Tay J.H., Moy B.Y.P., Tay S.T.L. (2003) Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. *Applied microbiology and biotechnology* **60**: 687–695.
36. Verawaty M., Pijuan M., Yuan Z., Bond P.L. (2012) Determining the mechanisms for aerobic granulation from mixed seed of floccular and crushed granules in activated sludge wastewater treatment. *Water research* **46**: 761-771.
37. Wang Z.W., Liu Y., Tay J.H. (2005) Distribution of EPS and cell surface hydrophobicity in aerobic granules. *Applied microbiology and biotechnology* **69**: 469–473.
38. Wang Z.W., Liu Y., Tay J.H. (2007) Biodegradability of extracellular polymeric substances produced by aerobic granules. *Applied microbiology and biotechnology* **74**: 462–466.
39. 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**(12): 5005-5020.
40. Winkler M.K.H., Kleerebezem R., de Bruin L.M., Verheijen P.J., Abbas B., Habermacher J., van Loosdrecht M.C. (2013) Microbial diversity differences within aerobic granular sludge and activated sludge flocs. *Applied microbiology and biotechnology* **97**: 7447–7458.
41. 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.
42. Xiao F., Yang S. F., & Li X.Y. (2008) Physical and hydrodynamic properties of aerobic granules produced in sequencing batch reactors. *Separation and Purification Technology* **63**(3): 634-641.
43. Zhang X.Q., Bishop P.L. (2003) Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances. *Chemosphere* **50**: 63–69.

44. Zhang L., Feng X., Zhu N., Chen J. (2007) Role of extracellular protein in the formation and stability of aerobic granules. *Enzyme and Microbial Technology* **41**: 551–557.
45. Zhang C., Sun S., Liu X., Wan C., & Lee D. J. (2017) Influence of operational conditions on the stability of aerobic granules from the perspective of quorum sensing. *Environmental Science and Pollution Research*, **24**(8): 7640-7649.
46. Zheng Y.M., Yu H.Q., Liu S.J. (2006) Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions. *Chemosphere* **63**: 1791–1800.
47. Zheng Y.M., Yu H.Q. (2007) Determination of the pore size distribution and porosity of aerobic granules using size-exclusion chromatography. *Water Research* **41**: 39–46.
48. Zhou J., Wang H., Yang K., Ma F., Lv B. (2014) Optimization of operation conditions for preventing sludge bulking and enhancing the stability of aerobic granular sludge in sequencing batch reactors. *Water Science & Technology* **70**(9): 1519-1525.
49. Zhu J., Wilderer P.A. (2003) Effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge. *Water Research* **37**: 2013–2018.
50. Zhu L., Yu Y., Dai X., Xu X., Qi H. (2013) Optimization of selective sludge discharge mode for enhancing the stability of aerobic granular sludge process. *Chemical Engineering Journal* **217**: 442-446.

## Izjava o izvornosti

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

Dora Šagud  
ime i prezime studenta