

Unaprjeđenje biološkoga uklanjanja fosfora pri obradi otpadnih voda

Šikić, Tanja

Doctoral thesis / Disertacija

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:440556>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Tanja Šikić

**UNAPRJEĐENJE BIOLOŠKOGA
UKLANJANJA FOSFORA PRI OBRADI
OTPADNIH VODA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



University of Zagreb
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Tanja Šikić

**ENHANCEMENT OF BIOLOGICAL
PHOSPHORUS REMOVAL IN
WASTEWATER TREATMENT**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2022.



Sveučilište u Zagrebu
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

TANJA ŠIKIĆ

**UNAPRJEĐENJE BIOLOŠKOGA
UKLANJANJA FOSFORA PRI OBRADI
OTPADNIH VODA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Marin Matošić

Zagreb, 2022.



University of Zagreb
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

TANJA ŠIKIĆ

**ENHANCEMENT OF BIOLOGICAL
PHOSPHORUS REMOVAL IN
WASTEWATER TREATMENT**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Marin Matošić, PhD, Full Professor

Zagreb, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Doktorski rad

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sveučilišni poslijediplomski studij: Biotehnologija i bioproceno inženjerstvo

UDK: 543.632.471:622.794.2:628.3(043.3)

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

UNAPRJEĐENJE BIOLOŠKOGA UKLANJANJA FOSFORA PRI OBRADI OTPADNIH VODA

Tanja Šikić, dipl. ing.

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

Mentor: prof. dr. sc. Marin Matošić

Kratki sažetak Cilj ovog rada je procijeniti mogućnost prilagodbe postojećeg uređaja za pročišćavanje otpadnih voda (UPOV), temeljenog na SBR tehnologiji, za pročišćavanje poboljšanim biološkim uklanjanjem fosfora (EBPR). Otpadna voda koja je pročišćavana na UPOV-u je komunalna otpadna voda srednje jakosti s povremenim vršnim vrijednostima organskih spojeva zbog ispuštanja industrijskih otpadnih voda. Provedena je karakterizacija biomase aktivnog mulja s UPOV Koprivnica. Brzina anaerobnog otpuštanja fosfata uz acetat je bila 0,19-2,41 mgP/gVSS.h. Brzina aerobnog unosa fosfata je u svim testovima bila niža od 0,77 mg P/gVSS.h, a brzina anoksičnog unosa fosfata je u svim testovima bila niža od 0,63 mgP/gVSS.h. Provedena su tri dugoročna laboratorijska pokusa. U prva dva pokusa nije uspjela transformacija u mulj koji provodi EBPR zbog nitrata prisutnog tijekom punjenja, koji je sprečavao uspostavu anaerobnih uvjeta. U trećem pokusu je primjenom prihranjivanja u koracima, denitrifikacija uspješno završena i mulj se transformirao u mulj koji provodi EBPR u manje od 43 dana. FISH analiza je potvrdila da izvorni mulj s UPOV-a nije imao PAO, ali je transformiran u mulj obogaćen PAO roda '*Candidatus Accumulibacter phosphatis*' nakon 43 dana uzgoja. Temeljem rezultata laboratorijskih pokusa, predložena je prilagodba UPOVa obogaćivanjem otpadne vode hlapivim masnim kiselinama pomoću anaerobne fermentacije influenta, te prihranjivanja u koracima. Rezultati matematičkog modeliranja (BioWin) su pokazali da takva strategija može dovesti do dovoljnog uklanjanja fosfata putem EBPR na ovom UPOV-u, osim u slučajevima značajno povišenih vrijednosti koje bi i dalje trebalo smanjivati dodatkom polialuminijevog klorida.

Broj stranica: 207

Broj slika: 35

Broj tablica: 36

Broj literaturnih navoda: 297

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: pročišćavanje komunalne otpadne vode, karakterizacija mulja, poboljšano biološko uklanjanje fosfora (EBPR), modeliranje

Datum obrane: 18. ožujak 2022.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević
2. izv. prof. dr. sc. Josip Ćurko
3. prof. dr. sc. Damir Brdjanović
4. doc. dr. sc. Dijana Grgas (zamjena)

Rad je pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu, Kačićeva 23, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb, Sveučilišta u Zagrebu, Trg Republike Hrvatske 14, Zagreb.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Postgraduate study: Biotechnology and Bioprocess Engineering
UDK: 543.632.471:622.794.2:628.3(043.3)
Scientific Area: Biotechnical Sciences
Scientific Field: Biotechnology

PhD Thesis

ENHANCEMENT OF BIOLOGICAL PHOSPHORUS REMOVAL IN WASTEWATER TREATMENT

Tanja Šikić, BSc

Thesis performed in Laboratory for Water Technology, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb
Supervisor: Marin Matošić, PhD, Full Professor

Short abstract: The objective of this study was to assess the possibility of retrofitting an existing full-scale wastewater treatment plant (WWTP) based on a SBR technology with the enhanced biological phosphorus removal (EBPR) process. Wastewater which was treated at the WWTP was municipal wastewater of medium strength, with some peak organic loads due to industrial discharge. Characterisation of activated sludge from the Koprivnica WWTP was performed. Anaerobic phosphorus release rate on acetate was 0.19-2,41 mgP/gVSS.h. Aerobic P-uptake rate was in all tests lower than 0.77 mg P/gVSS.h and anoxic P-uptake was lower than 0.63 mgP/gVSS.h. Three long-term laboratory tests were performed. The first two tests failed to transform into EBPR performing sludge because of the nitrate present during the filling, which prevented anaerobic conditions to form. In the third test, by applying step feeding, denitrification was successfully completed and sludge transformed into EBPR performing sludge in less than 43 days. A FISH analysis confirmed that the original sludge from the WWTP did not have detectable PAOs, but was transformed into the sludge enriched by PAOs belonging to the genus '*Candidatus Accumulibacter phosphatis*' after 43 days of cultivation. A plant retrofit, based on the results of laboratory experiments, was proposed with the enrichment of the wastewater with volatile fatty acids via primary anaerobic fermentation of influent and step feeding. The results of mathematical modelling (BioWin) showed that such strategy could lead to sufficient P-removal through EBPR in this WWTP, except in cases of significant peak loading, when the dosing of polyaluminium chloride is required.

Number of pages: 207

Number of figures: 35

Number of tables: 36

Number of references: 297

Original in: Croatian

Keywords: municipal wastewater treatment, sludge characterisation, enhanced biological phosphorus removal (EBPR), modelling

Date of the Thesis defence: 18th March 2022

Reviewers:

1. Tibela Landeka Dragičević, PhD, Full Professor
2. Josip Ćurko, PhD, Associate Professor
3. Damir Brdjanović, PhD, Full Professor
4. Dijana Grgas, PhD, Assistant Professor (substitute)

Thesis deposited in: Library of Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb, University of Zagreb, Trg Republike Hrvatske 14, Zagreb.

Tema doktorskog rada prihvaćena je na 2. redovnoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta za akad. god. 2019/2020. održanoj dana 25. studenog 2019. godine, a Senat Sveučilišta u Zagrebu donio je odluku o odobravanju pokretanja postupka stjecanja doktorata znanosti u okviru doktorskog studija 28. travnja 2020. godine na 8. redovitoj elektroničkoj sjednici u 351. akademskoj godini (2019./2020.)

SAŽETAK

Cilj ovog rada je procijeniti mogućnost prilagodbe postojećeg uređaja za pročišćavanje otpadnih voda (UPOV), temeljenog na SBR tehnologiji, za pročišćavanje poboljšanim biološkim uklanjanjem fosfora (EBPR). Preliminarni testovi su provedeni kako bi se karakterizirala otpadna voda i aktivni mulj sa komunalnog uređaja za pročišćavanje otpadnih voda s ciljem procjene mogućnosti uvođenja poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora (EBPR) na uređaj. Otpadna voda koja je pročišćavana na UPOV-u je komunalna otpadna voda srednje jakosti s povremenim povišenim vrijednostima mjerenih parametara zbog ispuštanja industrijskih otpadnih voda. Operativni uvjeti su često mijenjani kako bi se zadovoljili zahtjevi za ispuštanje efluenta. Biološke metode za karakterizaciju mulja uključujući testove anaerobnog otpuštanja fosfata, aerobnog unosa fosfata i anoksičnog unosa fosfata su korišteni kako bi se utvrdila prisutnost i aktivnost polifosfat akumulirajućih organizama (PAO) u mulju s UPOV-a, zajedno s testovima nitrifikacije i denitrifikacije. Brzina anaerobnog otpuštanja fosfata uz acetat je bila niska 0,19-2,41 mgP/gVSS.h. Brzina aerobnog unosa fosfata je u svim testovima bila niža od 0,77 mg P/gVSS.h, a brzina anoksičnog unosa fosfata je u svim testovima bila niža od 0,63 mgP/gVSS.h. Provedena su tri dugoročna laboratorijska pokusa uz optimalne uvjete za EBPR. U prva dva pokusa nije uspjela transformacija u mulj koji provodi EBPR zbog nitrata prisutnog tijekom punjenja, koji je sprečavao uspostavu anaerobnih uvjeta. U trećem pokusu je primjenom prihranjivanja u koracima, denitrifikacija uspješno završena i mulj se transformirao u mulj koji provodi EBPR u manje od 43 dana uz uvjete koji pogoduju PAO. Sastav mikrobiološke zajednice je procijenjen pomoću FISH analize (fluorescence *in situ* hybridization), koja je potvrdila da je izvorni mulj s UPOV-a, koji nije imao PAO, transformiran u mulj obogaćen PAO roda '*Candidatus Accumulibacter phosphatis*' nakon 43 dana uzgoja. Temeljem rezultata laboratorijskih pokusa, predložena je prilagodba UPOVa obogaćivanjem otpadne vode hlapivim masnim kiselinama pomoću anaerobne fermentacije influenta, te prihranjivanja u koracima. Rezultati matematičkog modeliranja (BioWin) su pokazali da takva strategija može dovesti do dovoljnog uklanjanja fosfata putem EBPR na ovom UPOV-u, osim u slučajevima značajno povišenih vrijednosti fosfora u influentu koje bi i dalje trebalo smanjivati dodatkom polialuminijevog klorida.

Ključne riječi: pročišćavanje komunalne otpadne vode, karakterizacija mulja, poboljšano biološko uklanjanje fosfora (EBPR), modeliranje

SUMMARY

The objective of this study was to assess the possibility of retrofitting an existing full-scale wastewater treatment plant (WWTP) based on a sequencing batch reactor (SBR) technology with the enhanced biological phosphorus removal (EBPR) process. Preliminary tests were carried out to characterise the wastewater and the activated sludge from a municipal wastewater treatment plant to evaluate the possibility of introduction of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) into the plant. The wastewater which was treated at the WWTP was municipal wastewater of medium strength, with some peak loads due to industrial discharge. Operating conditions were often changed in order to satisfy effluent discharge requirements. Biological methods for sludge characterisation including anaerobic P-release test, aerobic P-uptake test and anoxic P-uptake test were used to determine the presence and activity of polyphosphate accumulating organisms (PAO) within the sludge of the WWTP, along with nitrification and denitrification tests. Anaerobic phosphorus release rate on acetate was low 0.19-2.41 mgP/gVSS.h. Aerobic P-uptake rate was in all our tests lower than 0.77 mg P/gVSS.h and anoxic P-uptake was lower than 0.63 mgP/gVSS.h. Three long-term laboratory tests were performed with optimal conditions and regime for EBPR. The first two tests failed to transform into EBPR performing sludge because of the nitrate present during the filling, which prevented anaerobic conditions to form. In the third test, by applying step feeding during the anoxic phase, denitrification was successfully completed and the sludge transformed into EBPR performing sludge in less than 43 days under favorable conditions for PAOs. The microbial community composition was assessed by using a FISH (fluorescence in situ hybridization) analysis, which confirmed that the original sludge from the WWTP, which did not have detectable PAOs, was transformed into the sludge enriched by PAOs belonging to the genus '*Candidatus Accumulibacter phosphatis*' after 43 days of cultivation. A plant retrofit, based on the results of laboratory experiments, was proposed with the enrichment of the wastewater with volatile fatty acids via primary anaerobic fermentation of influent and step feeding. The results of mathematical modelling (BioWin) showed that such strategy could lead to sufficient P-removal through EBPR in this WWTP, except in cases of significant peak influent phosphorus loading, when the dosing of polyaluminium chloride is required.

Keywords: municipal wastewater treatment, sludge characterisation, enhanced biological phosphorus removal (EBPR), modelling

Prvenstveno se zahvaljujem svome mentoru prof. dr. sc. Marinu Matošiću na iskazanom povjerenju, strpljenju, te sveukupnoj pomoći prilikom izrade ovog rada. Zahvaljujem se svim kolegama iz Laboratorija za tehnologiju vode na nesebičnoj pomoći i podršci tijekom izrade ovog rada.

Uzorci influenta i aktivnog mulja su uzimani na UPOV Koprivnica, stoga se zahvaljujem upravi Koprivničkih voda d.o.o. i voditeljici UPOV-a na osiguranom pristupu i ustupanju podataka o radu UPOV-a.

Zahvaljujem se prof. dr. sc. Tibeli Landeka Dragičević, prof. dr. sc. Damiru Brdjanoviću i kolegama s IHE Instituta iz Delfta, te izv. prof. dr. sc. Josipu Ćurku na svim konstruktivnim savjetima prilikom pisanja ovog rada.

Moj doktorski studij je financiran sredstvima Hrvatskih voda, te se ovim putem zahvaljujem svima odgovornima na podršci, a posebno svojim neposrednim voditeljima.

Na kraju, zahvaljujem se svojoj obitelji na pruženoj pomoći i podršci, te svima ostalima koje nisam uspjela spomenuti.

Informacije o mentoru:

prof. dr. sc. Marin Matošić

Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

ŽIVOTOPIS

Prof. dr. sc. Marin Matošić, redoviti profesor u trajnom zvanju i znanstveni savjetnik u trajnom zvanju, rođen je 22. veljače 1970. U Zagrebu. Diplomirao je 1996. godine na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Magistar znanosti postao je u travnju 1999. godine, a doktorski rad je obranio u svibnju 2003.

Od 1996. godine zaposlen je u Laboratoriju za tehnologiju vode, prvo kao znanstveni novak, pa mlađi asistent i asistent, a od 2003 kao viši asistent. U zvanje docenta izabran je 2005. godine, izvanrednog profesora 2009, a u zvanje redovitog profesora 2015. godine, a od 2021. u trajnom zvanju. Od 2015. godine obnaša dužnost pročelnika Laboratorija za tehnologiju vode na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, a od 2013. do 2017. obnašao je dužnost zamjenika predstojnika Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo.

U svom radu u Laboratoriju za tehnologiju vode sudjelovao je u izvođenju nastave na više predmeta Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Trenutačno je nositelj temeljnog predmeta Tehnologija vode na preddiplomskom studiju Biotehnologija, izbornog predmeta struke Membranski bioreaktori u zaštiti okoliša kojeg je sam osmislio i uveo na diplomskom studiju Upravljanje sigurnošću hrane te izbornog predmeta Membranski procesi u obradi voda na doktorskom studiju. Osim toga, sudjeluje kao nastavnik na predmetima Tehnologija vode na preddiplomskom studiju Prehrambena tehnologija te Mineralne, izvorske i stolne vode na diplomskom studiju Upravljanje sigurnošću hrane. Aktivno sudjeluje i u nastavi na predmetu Kemija voda na sveučilišnom interdisciplinarnom studiju Ekoinženjerstvo, gdje je i član Vijeća studija. Nekoliko godina predavao je i na Veleučilištu u Karlovcu na predmetu Vode za piće, tehnološke i otpadne vode. Svi predmeti kojima je nositelj izvode se i kao e-kolegiji, a za e-kolegij Tehnologija vode dobio je nagradu za najbolji e-kolegij Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 2014. godine. Za sve predmete kojima je nositelj napisao je i objavio recenzirane skripte koje se koriste kao obavezna literatura na predmetima. Studentski zbor Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 2019. mu je dodijelio priznanje za najboljeg nastavnika preddiplomskih studija. Po svim studentskim anketama je uvijek izvrsno ocijenjen kao nastavnik. Od 2011. do 2019. godine bio je predsjednik Odbora za e-učenje Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koji je osmislio i proveo strategiju uvođenja e-učenja na Prehrambeno-biotehnološkom

fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Do danas je bio mentor 22 diplomskih rada, 23 završna rada te po jednog magistarskog i doktorskog rada.

Znanstveni rad prof. dr. sc. Marina Matošića vezan je najviše uz tehnologiju obrade vode membranskim procesima i biološkim metodama. Rezultate svojih znanstvenih istraživanja objavio je kroz 25 radova u znanstvenim časopisima, 34 rada na znanstvenim skupovima, autor je dva poglavlja u inozemnim znanstvenim knjigama, a usmenim priopćenjima i posterima na znanstvenim skupovima svoje radove je prezentirao 21 put. Sudjelovao je kao istraživač na pet domaćih znanstvenih projekata i dva međunarodna projekta. Recenzirao je 23 znanstvena rada, jedan znanstveni projekt i jednu znanstvenu knjigu.

Stručna djelatnost prof. dr. sc. Marina Matošića vidljiva je kroz više od 30 idejnih i izvedbenih projekata u području obrade voda, pet stručnih radova i sudjelovanje na tri tehnologijska projekta uz brojna sudjelovanja na domaćim znanstveno-stručnim skupovima u području obrade voda.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. STANJE PROČIŠĆAVANJA OTPADNIH VODA U HRVATSKOJ	2
2.2. SPOJEVI S DUŠIKOM I NJIHOVO UKLANJANJE IZ OTPADNE VODE	5
2.2.1. <i>Nitrifikacija</i>	5
2.2.2. <i>Denitrifikacija</i>	8
2.3. SPOJEVI S FOSFOROM I NJIHOVO UKLANJANJE IZ OTPADNE VODE	10
2.3.1. <i>Povijesni pregled</i>	13
2.3.2. <i>Stanični metabolizam PAO skupine mikroorganizama</i>	15
2.3.2.1. PAO roda <i>Accumulibacter</i>	16
2.3.2.2. Denitrificirajući PAO (DPAO)	18
2.3.3. <i>Metabolizam glikogen akumulirajućih mikroorganizama (GAO)</i>	19
2.3.4. <i>Faktori koji utječu na učinkovitost EBPR procesa</i>	20
2.3.4.1. Izvor ugljika u influentu	20
2.3.4.2. Prisutnost kationa u influentu	23
2.3.4.3. Prisutnost kisika, nitrata ili nitrita u anaerobnom bioreктору	23
2.3.4.4. Hidrauličko vrijeme zadržavanja (HRT)	24
2.3.4.5. Starost mulja (SRT)	25
2.3.4.6. Koncentracija otopljenog kisika, produljena aeracija i gladovanje	26
2.3.4.7. pH-vrijednost	26
2.3.4.8. Temperatura	27
2.3.4.9. PAO – GAO kompeticija	27
2.3.4.10. Istovremeno kemijsko taloženje fosfora	29
2.4. BIOLOŠKO UKLANJANJE DUŠIKA I FOSFORA IZ OTPADNE VODE	30
2.4.1. <i>Strategija prihranjivanja u koracima</i>	31
2.4.2. <i>Naizmjenična aeracija</i>	31
2.4.3. <i>Starost mulja (SRT)</i>	32
2.4.4. <i>SBR tehnologija</i>	33
2.5. OBRADA VIŠKA MULJA	34
2.6. KARKTERIZACIJA AKTIVNOG MULJA POMOĆU FISH TEHNIKE	34
2.7. MODELIRANJE UREĐAJA ZA PROČIŠĆAVANJE OTPADNIH VODA	35
2.7.1. <i>Karakterizacija influenta</i>	37
2.7.2. <i>Kalibracija</i>	38
2.7.3. <i>Validacija (provjera)</i>	39
2.7.4. <i>BioWin simulator</i>	39
3. MATERIJALI I METODE	43
3.1. KARAKTERIZACIJA UREĐAJA ZA PROČIŠĆAVANJE OTPADNIH VODA GRADA KOPRIVNICE	43
3.1.1. <i>Sustav odvodnje i uređaj za pročišćavanje otpadnih voda grada Koprivnice</i>	43
3.1.2. <i>Karakterizacija influenta i efluenta UPOV-a Koprivnica</i>	46

3.1.3.	<i>Karakterizacija aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica</i>	47
3.1.3.1.	Test otpuštanja fosfata aerobnog mulja u anaerobnim uvjetima	50
3.1.3.2.	Test unosa fosfata aktivnim muljem u aerobnim uvjetima	52
3.1.3.3.	Test unosa fosfata aktivnim muljem u anoksičnim uvjetima	53
3.1.3.4.	Testovi nitrifikacije i denitrifikacije	54
3.2.	LABORATORIJSKI POKUSI MOGUĆNOSTI USPOSTAVE POBOLJŠANOG BIOLOŠKOG UKLANJANJA FOSFORA NA UPOV-U	56
3.2.1.	<i>Prvi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	57
3.2.2.	<i>Drugi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	59
3.2.3.	<i>Treći laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	61
3.2.4.	<i>Karakterizacija aktivnog mulja pomoću FISH tehnike</i>	62
3.3.	PROCJENA MOGUĆNOSTI IMPLEMENTACIJE LABORATORIJSKI DOBIVENIH REZULTATA NA UPOV KOPRIVNICA MODELIRANJEM POMOĆU PROGRAMA BIOWIN	63
3.4.	ANALITIČKE METODE	64
3.4.1.	<i>Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK) titrimetrijski</i>	64
3.4.2.	<i>Izračun otopljenog biorazgradivog KPK</i>	65
3.4.3.	<i>Određivanje biološke potrošnje kisika (BPK₅)</i>	65
3.4.4.	<i>Određivanje acetata</i>	66
3.4.5.	<i>Ukupni organski ugljik (TOC)</i>	66
3.4.6.	<i>Određivanje ukupnog dušika</i>	67
3.4.7.	<i>Određivanje dušika po Kjeldahlu</i>	67
3.4.8.	<i>Određivanje koncentracije amonijaka i nitrata</i>	68
3.4.9.	<i>Određivanje ukupnog i otopljenog fosfora</i>	69
3.4.10.	<i>Određivanje pH-vrijednosti</i>	69
3.4.11.	<i>Određivanje koncentracije otopljenog kisika</i>	70
3.4.12.	<i>Određivanje alkaliteta (Standard methods 2320 B)</i>	70
3.4.13.	<i>Određivanje kalcija (Standard methods 3500-Ca B)</i>	70
3.4.14.	<i>Određivanje magnezija</i>	71
3.4.15.	<i>Određivanje ukupne suspendirane tvari (TSS)</i>	71
3.4.16.	<i>Određivanje ukupne organske suspendirane tvari (VSS)</i>	71
4.	REZULTATI.....	73
4.1.	KARAKTERIZACIJA UREDAJA ZA PROČIŠĆAVANJE OTPADNIH VODA GRADA KOPRIVNICE	73
4.1.1.	<i>Uvjeti rada UPOV-a Koprivnica</i>	73
4.1.2.	<i>Karakterizacija influenta i efluenta UPOV-a Koprivnica</i>	74
4.1.3.	<i>Karakterizacija biomase aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica</i>	81
4.2.	LABORATORIJSKI POKUSI MOGUĆNOSTI USPOSTAVE POBOLJŠANOG BIOLOŠKOG UKLANJANJA FOSFORA	86
4.2.1.	<i>Prvi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	86

4.2.2.	<i>Drugi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	89
4.2.3.	<i>Treći laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	92
4.2.4.	<i>Karakterizacija aktivnog mulja pomoću FISH tehnike (fluorescence in situ hybridization - FISH)</i>	97
4.3.	PROCJENA MOGUĆNOSTI IMPLEMENTACIJE LABORATORIJSKI DOBIVENIH REZULTATA NA UPOV KOPRIVNICA MODELIRANJEM POMOĆU PROGRAMA BIOWIN	99
5.	RASPRAVA	121
5.1.	KARAKTERIZACIJA UREĐAJA ZA PROČIŠĆAVANJE OTPADNIH VODA GRADA KOPRIVNICE	121
5.1.1.	<i>Uvjeti rada UPOV-a Koprivnica</i>	121
5.1.2.	<i>Karakterizacija influenta i efluenta UPOV-a Koprivnica</i>	123
5.1.3.	<i>Karakterizacija biomase aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica</i>	128
5.2.	LABORATORIJSKI POKUSI MOGUĆNOSTI USPOSTAVE POBOLJŠANOG BIOLOŠKOG UKLANJANJA FOSFORA	135
5.2.1.	<i>Prvi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	135
5.2.2.	<i>Drugi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	138
5.2.3.	<i>Treći laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora</i>	140
5.3.	PROCJENA MOGUĆNOSTI IMPLEMENTACIJE LABORATORIJSKI DOBIVENIH REZULTATA NA UPOV-U KOPRIVNICA MODELIRANJEM POMOĆU PROGRAMA BIOWIN	144
6.	ZAKLJUČCI.....	153
7.	LITERATURA	156
	PRILOG 1. POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU	195
	PRILOG 2. POPIS ZADANIH KINETIČKIH I STEHIOMETRIJSKIH PARAMETARA IZ PROGRAMA BIOWIN 6.0	197

1. UVOD

Ulaskom u EU, Hrvatska je uskladila nacionalno zakonodavstvo s pravnom stečevinom Europske Unije u području upravljanja vodama kojom EU postavlja obvezujuće standarde svojim članicama. Cilj je osigurati visoku kvalitetu i dostupnost vode za ljudsku potrošnju, te smanjiti onečišćenje uzrokovano nekontroliranim ispuštanjem otpadnih voda u okoliš kako bi se postiglo dobro stanje vodnih tijela.

Sve stroži zakonski okvir potiče razvoj novih tehnologija i optimizaciju postojećih. Zbog kompleksnosti je potreban interdisciplinarni pristup ovoj problematici. Znanstvenici iz područja biotehnologije, procesne tehnologije, građevinarstva, strojarstva provode mnoga istraživanja s ciljem učinkovitog i pouzdanog pročišćavanja otpadnih voda uz minimalne troškove.

Hrvatsku očekuju značajna ulaganja u komunalnu infrastrukturu kako bi se zadovoljili zakonski zahtjevi. Većina postojećih uređaja za pročišćavanje otpadnih voda (UPOV-a) ne zadovoljava propisane zahtjeve, stoga im je potrebna nadogradnja. Uz nadogradnju postojećih, potrebna je i izgradnja mnogo novih UPOV-a.

Nadogradnja postojećih UPOV-a je zahtjevan proces koji obuhvaća sagledavanje postojećeg UPOV-a (učinkovitost rada, starost i potreba zamjene opreme, dostatan kapacitet), te mogućnosti njegove nadogradnje s obzirom na dostupnost prostora, postizanje traženih karakteristika efluenta, obrade mulja i njegove finalne depozicije, uz racionalizaciju troškova i minimalan negativan utjecaj na okoliš.

S obzirom na brojne prednosti poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora (EBPR) nad kemijskim, cilj ovog rada je prikazati prednosti i nedostatke EBPR, te odrediti mogućnosti i način uvođenja poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora na jednom konkretnom primjeru – na UPOV u Koprivnici uzimajući u obzir utjecaj doziranja polialuminijevog klorida (PAC). Istraživanje se provelo karakterizacijom influenta, provedbom šaržnih testova i laboratorijskih pokusa s biomasom aktivnog mulja, te matematičkim modeliranjem.

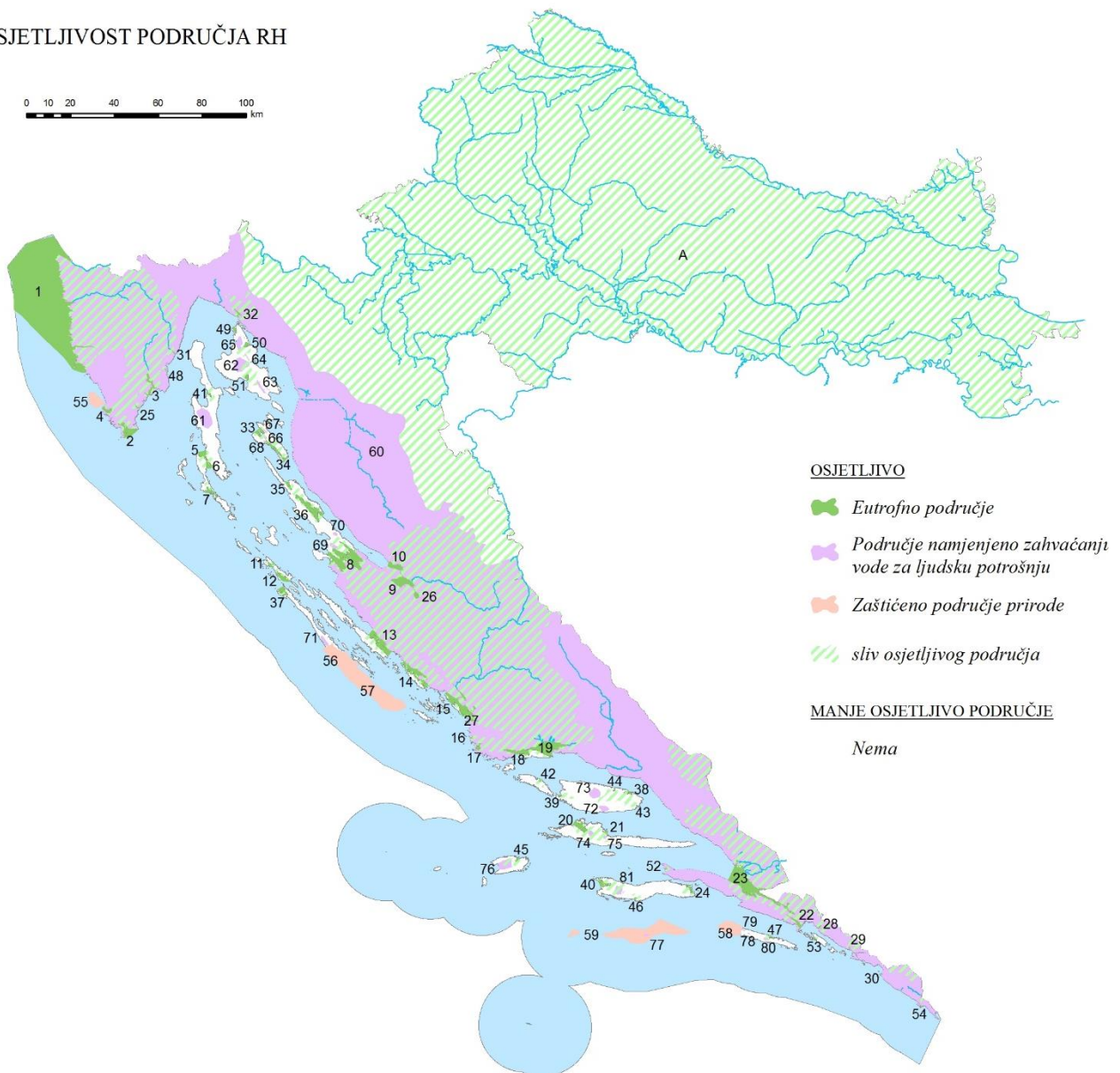
2. TEORIJSKI DIO

2.1. Stanje pročišćavanja otpadnih voda u Hrvatskoj

Postizanje dobrog stanja vodnih tijela je obveza svake države članice EU, a glavni uzrok nepostizanja tog uvjeta su opterećenja organskim i hranjivim tvarima iz točkastih (ispusti otpadnih voda – komunalni i industrijski) i raspršenih izvora (poljoprivreda). Racionalnijom upotrebom gnojiva moguće je smanjiti utjecaj na okolne recipijente, dok se otpadna voda industrije i kućanstava treba prikupiti i pročistiti prije ispuštanja u cilju smanjenja sadržaja fosfora, ali i dušika, te organskih tvari.

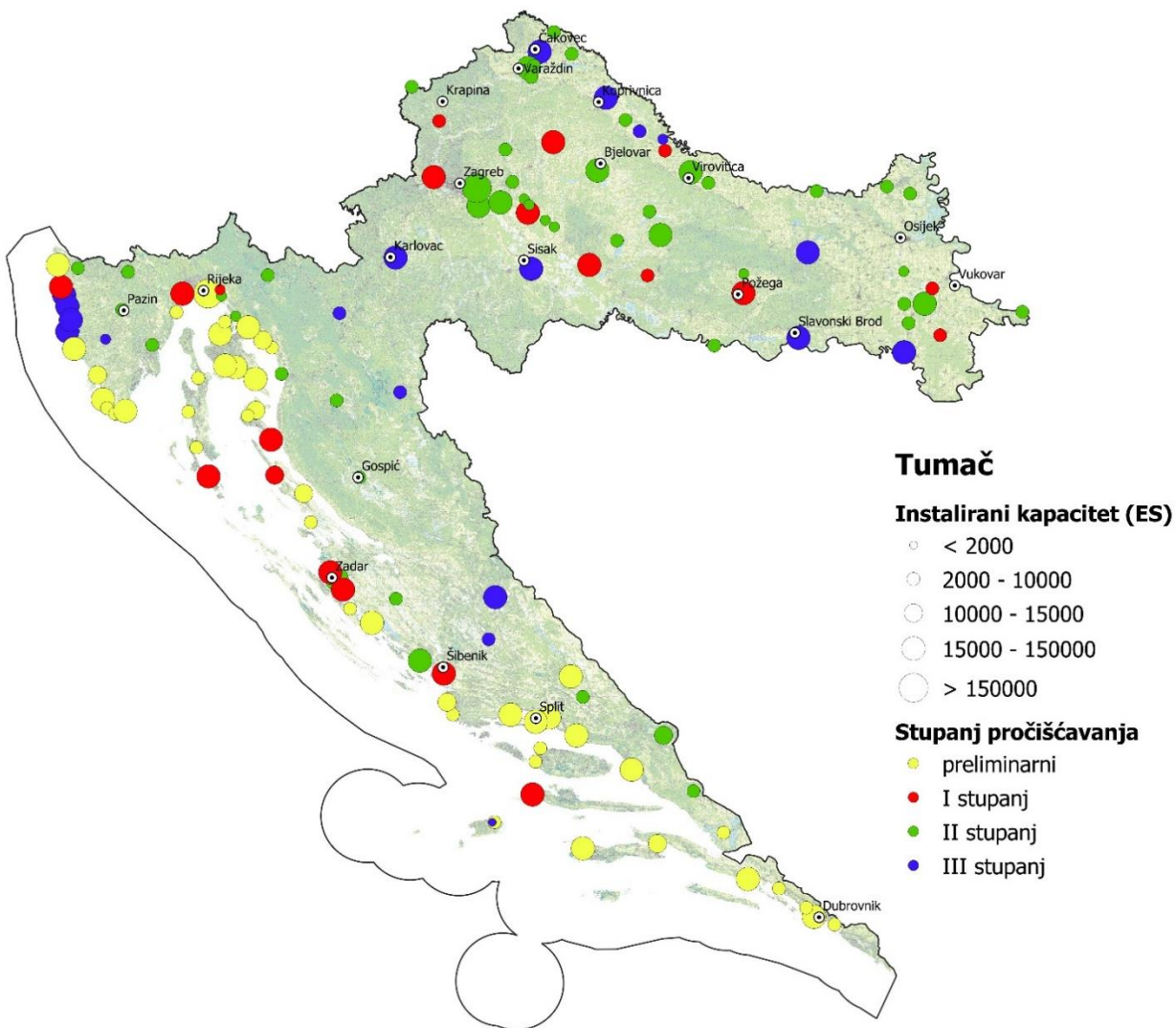
Prema Direktivi o odvodnji i pročišćavanju komunalnih otpadnih voda (CEU, 1991) obvezno je prikupljanje i odgovarajuće pročišćavanje otpadnih voda aglomeracija većih od 2.000 ekvivalent stanovnika (ES). „Aglomeracija je područje na kojem su stanovništvo i/ili gospodarske djelatnosti dovoljno koncentrirani da se komunalne otpadne vode mogu prikupljati i odvoditi do uređaja za pročišćavanje otpadnih voda ili do krajnje točke ispuštanja“ (Zakon o vodama, NN 66/19 i 84/21) i u Hrvatskoj ih je određeno 260 koje su veće od 2.000 ES. Ekvivalent stanovnik predstavlja organsko biorazgradivo opterećenje od 60g O₂ dnevno, iskazano kao petodnevna biološka potrošnja kisika (BPK₅) (Zakon o vodama, NN 66/19 i 84/21). U osjetljivim područjima, u kojima postoji mogućnost značajnije degradacije vodnih tijela, potrebno je pročišćavanje trećeg stupnja za aglomeracije veće od 10.000 ES, odnosno uklanjanje spojeva s dušikom i fosforom, dok je za ostala područja potreban drugi stupanj pročišćavanja otpadnih voda (uklanjanje suspendiranih tvari i organskog onečišćenja) kojim se postižu zahtjevi iz Pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20) (Tablica 1). Odlukom o određivanju osjetljivih područja (NN 81/10 i 141/15), vodno područje rijeke Dunav je u cijelosti proglašeno slivom osjetljivog područja (Slika 1). Na jadranskom vodnom području, sva područja određena kao eutrofna, područja namijenjena zahvaćanju vode za ljudsku potrošnju i zaštićena područja prirode čine osjetljivo područje. Većina postojećih UPOV-a u dunavskom slivu su drugog stupnja pročišćavanja i trebat će njihova nadogradnja na treći stupanj pročišćavanja, dok u su na jadranskom vodnom području najčešće prisutna preliminarna pročišćavanja s dugim podmorskim ispustima (Slika 2) stoga će biti potrebno izgraditi cijeli niz novih UPOV-a trećeg stupnja pročišćavanja u Hrvatskoj.

OSJETLJIVOST PODRUČJA RH



Slika 1. Karta Hrvatske s označenom osjetljivošću područja (izvor: Odluka o određivanju osjetljivih područja (NN 81/10 i 141/15)).

Brojevima su označena područja osjetljiva na dušik i fosfor u Republici Hrvatskoj. Od 1 do 54 su eutrofna i potencijalno eutrofna područja. Od 55 do 59 su zaštićena područja prirode. Od 60 do 81 su zaštićena područja zahvata vode za ljudsku potrošnju. Slovom A je označen dunavski sliv. Kriteriji određivanja osjetljivosti područja su dani u Uredbi o standardu kakvoće voda (NN 96/19).



Slika 2. Karta Hrvatske s ucrtanim lokacijama postojećih uređaja za pročišćavanje otpadnih voda po kapacitetu i stupnju pročišćavanja (izvor: Hrvatske vode, stanje u 2022 .g.).

Tablica 1. Granične vrijednosti koje moraju zadovoljavati otpadne vode pročišćene II. i III. stupnjem pročišćavanja (Pravilnik, NN 26/20).

Pokazatelji (II. stupanj)	Granična vrijednost	Najmanji postotak smanjenja onečišćenja
Ukupne suspendirane tvari (TSS)	35 mg/L	90
Biokemijska potrošnja kisika BPK ₅ (20°C)	25 mg O ₂ /L	70
Kemijska potrošnja kisika – KPK _{Cr}	125 mg O ₂ /L	75
Pokazatelji (III. stupanj)		
Ukupni fosfor (TP)	2 mg P/L (10 000 - 100 000 ES) 1 mg P/L (>100 000 ES)	80
Ukupni dušik (TN) (organski N + NH ₄ -N + NO ₂ -N + NO ₃ -N)	15 mg N/L (10 000 - 100 000 ES) 10 mg N/L (>100 000 ES)	70

2.2. Spojevi s dušikom i njihovo uklanjanje iz otpadne vode

U komunalnoj otpadnoj vodi, dušik je najčešće u obliku iona amonija (NH₄⁺). Ovisno o udjelu industrijskih otpadnih voda, influent može sadržavati i organski dušik (DNK, RNK, proteini), te nitrite (NO₂⁻) i nitrate (NO₃⁻). Ukupni dušik (TN – engl. total nitrogen) predstavlja sve oblike dušika u otpadnoj vodi, amonij, nitrate, nitrite i organski dušik. Ukupni Kjeldalov dušik (TKN – engl. total Kjeldahl nitrogen) predstavlja organski dušik i amonij (Gerardi, 2002; Volcke i sur., 2020).

Ispuštanje otpadnih voda bogatih spojevima s dušikom u prirodne prijemnike pogoduje pojavi eutrofikacije, a dušikovi ioni su i toksični za vodene organizme (Gerardi, 2002).

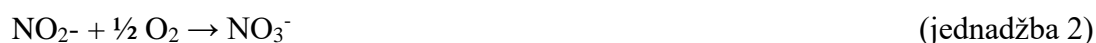
Uklanjanje spojeva s dušikom se najčešće provodi putem dva procesa – nitrifikaciju i denitrifikaciju koji slijede jedan za drugim.

2.2.1. Nitrifikacija

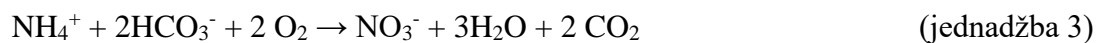
Nitrifikacija je biološka oksidacija amonija iz otpadne vode u dva stupnja. Prvi stupanj provode amonij oksidirajuće bakterije (AOB – *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosococcus*

itd. Wang i sur., 2010a) koje oksidiraju amonij do nitrita. Ovaj stupanj se naziva nitritacija. Zbog otpuštanja H⁺ iona dolazi do sniženja pH-vrijednosti. Drugi stupanj provode nitrit oksidirajuće bakterije (NOB – *Nitrobacter*, *Nitrospira* itd. Blackburne i sur., 2007) koje provode nitrataciju, odnosno oksidaciju nitrita do nitrata. Nitrifikanti su autotrofni organizmi koji kao izvor ugljika koriste CO₂ (alkalitet), te im nije potreban dodatan izvor ugljika. Također su kemolitotrofi jer energiju za rast dobivaju oksidacijom amonija ili nitrita za što im je potreban kisik.

Nitrifikacija je proces koji je osjetljiv na mnoge faktore: koncentraciju otopljenog kisika, pH-vrijednost, alkalitet, temperaturu, prisutnost toksičnih tvari poput teških metala (Juliastuti i sur., 2003; Tchobanoglous i sur., 2003; Ekama i sur., 2020).



ukupno:



Iz jednadžbi 1, 2 i 3 je vidljiva potreba za kisikom za provedbu nitrifikacije. Za potpunu oksidaciju amonija do nitrata, potrebno je ukupno 4,57 mgO₂/mg NH₃-N. Za oksidaciju amonijaka do NO₂-N je potrebno 3,43 mg O₂/mg NH₃-N, a za oksidaciju NO₂-N do NO₃-N 1,14 mg O₂/mg NO₂-N. (Tchobanoglous i sur., 2003; Ekama i sur., 2020). S obzirom da se dio amonija asimilira u biomasu aktivnog mulja za potrebe rasta i razmnožavanja, stvarna potrošnja kisika je nešto manja, otprilike 4,2 mgO₂/mg NH₃-N.

Nitrifikanti su obvezatni aerobi, te se pri koncentraciji otopljenog kisika ispod 0,5 mgO₂/L nitrifikacija odvija zanemarivom brzinom. Pri koncentraciji otopljenog kisika ispod 1,0 mgO₂/L, veća je aktivnost i brzina rasta amonij oksidirajućih bakterija (AOB) od nitrit oksidirajućih bakterija (NOB) (Tokutomi, 2004), pa dolazi do akumulacije nitrita. Koncentracija otopljenog kisika u aerobnoj zoni bi trebala biti između 2 i 3 mg/L za učinkovitu nitrifikaciju. Kod određivanja potrebne koncentracije otopljenog kisika tijekom aerobne faze obrade otpadne vode potrebno je voditi računa i o koncentraciji biorazgradivih organskih tvari u otpadnoj vode koje aerobni heterotrofni mikroorganizmi oksidiraju, te tako konkuriraju nitrifikantima za raspoloživi kisik. S obzirom da su nitrifikanti strogi aerobi, dulja razdoblja bez kisika, više od 4 sata, nepovoljno utječu na njihovu aktivnost (Gerardi, 2002). Nitrit oksidirajućim bakterijama (NOB) je potrebno dulje

vrijeme za ponovnu uspostavu aktivnosti nakon perioda bez kisika od AOB (Kornaros i sur., 2010). Prilikom izgradnje UPOV-a potrebno je razmotriti mogućnost nestanka električne energije tijekom dužeg razdoblja, te predvidjeti agregate ukoliko je potrebno, kako ne bi došlo do odumiranja mikrobne populacije nitrifikanata.

Optimalna pH-vrijednost za provedbu nitrifikacije iznosi od 7,0 do 8,5 (Ekama i sur., 2020). Brzina nitrifikacije će se značajno usporiti ispod pH 6,8 (EPA, 2010).

Tijekom nitrifikacije dolazi do smanjenja alkaliteta (potreba za 2HCO_3^- vidljiva u jednadžbi 3) i pH-vrijednosti (nastajanje H^+ iona u jednadžbi 1). Za svaki gram oksidiranog $\text{NH}_4\text{-N}$ je potrebno 7,14 g alkaliteta (izraženog kao CaCO_3) (Ekama i sur., 2020). Kada je alkalitet niži od 50 g CaCO_3/m^3 (= 1 mol $\text{HCO}_3^-/\text{m}^3$), postoji opasnost naglog pada pH-vrijednosti (nakon iskorištenja puferskog kapaciteta), što negativno utječe na nitrifikaciju. Ukoliko alkalitet otpadne vode nije dostatan, moguće ga je nadoknaditi dodatkom vapna, natrijeva karbonata ili natrijeva bikarbonata (Tchobanoglous i sur., 2003).

Nitrifikanti su spororastući mikroorganizmi, te je minimalana starost mulja (engl. SRT – sludge retention time) potreban za provedbu nitrifikacije 8-10 dana (Ekama i sur., 2020). S obzirom da je pri niskim temperaturama smanjena aktivnost i razmnožavanje mikroorganizama, u zimskim je periodima potrebno obratiti posebnu pozornost na duljinu SRT (Guo i sur., 2013).

Optimalna temperatura za provedbu nitrifikacije je 25-30°C (Gerardi, 2002). Pri temperaturama oko 10°C dolazi do inhibicije AOB i NOB (Rodriguez-Caballero i sur., 2012). Zbog inhibicije procesa nitrifikacije dolazi do zasićenja otopljenim kisikom, te je nakon prestanka aeracije teško postići anoksične uvjete što utječe i na proces denitrifikacije (Ilies i Mavinic, 2001). Budući da se brzina nitrifikacije značajno smanjuje s temperaturom, Pravilnikom o граниčnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20) je propisano da se граниčne vrijednosti za ukupni dušik u efluentu moraju zadovoljiti ukoliko je temperatura influenta veća od 12°C.

Nitrifikanti su osjetljiviji od heterotrofnih bakterija na mnoge organske i anorganske sastojke u otpadnim vodama poput organskih otapala, fenola, teških metala (Tchobanoglous i sur., 2003).

2.2.2. Denitrifikacija

Denitrifikacija je redukcija nitrata (NO_3^-) do plinovitog dušika (N_2) koja se odvija u četiri stupnja ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$). Provode je obični heterotrofni mikroorganizmi (OHO – *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, itd., Payne i sur., 1981; Gayle i sur., 1989) koji imaju sposobnost koristiti nitrat i nitrit kao elektron akceptore (u nedostatku kisika) koji nastaju tijekom nitrifikacije. Najčešće su fakultativni aerobi i čine većinu mikroorganizama aktivnog mulja (Gerardi, 2002). Sastav populacije denitrifikanata uvelike ovisi o izvoru ugljika (Lu i sur., 2014). Za proces denitrifikacije potreban je izvor ugljika i anoksični uvjeti, stoga brzina denitrifikacije prvenstveno ovisi o dostupnosti i biorazgradivosti izvora ugljika, koncentraciji otopljenog nitrata (nitrita) i kisika, te udjelu denitrificirajućih heterotrofnih mikroorganizama u aktivnom mulju (Lu i sur., 2014).

Za samu provedbu denitrifikacije je potrebno $2,86/(1-Y_H)$ g izvora ugljika izraženog kao KPK po g dušika (Y_H predstavlja prirast heterotrofnih mikroorganizama). Pod pretpostavkom da je Y_H 0,67 (Henze i sur., 1987), teoretska potreba za biorazgradivim izvorom ugljika potrebnom za redukciju 1 g nitrata iznosi 8,67 g izvora ugljika izraženog kao KPK. Ukoliko uključimo i dušik potreban za rast i razmnožavanje denitrifikanata, vrijednost potrebnog biorazgradivog izvora ugljika iznosi 3,5-4,5 gBPK₅/gN (Henze i sur., 1994.; Tchobanoglous i sur., 2003; Ekama i sur., 2020). Brzina denitrifikacije je veća kada je izvor ugljika otopljen i biorazgradiv poput acetata, metanola, glukoze (Kujawa i Klapwijk, 1999). Postoje i mikroorganizmi koji provode autotrofnu denitrifikaciju koristeći anorganske elektron donore poput vodika (H_2), reduciranih oblika sumpora, iona željeza (Fe^{2+}), željezo-sulfids, arsenita i mangana (Di Capua i sur., 2019) no njihova je brzina denitrifikacije niža od one koju provode heterotrofni denitrifikanti (Pang i Wang 2021).

S obzirom na slijed procesa denitrifikacije i nitrifikacije, UPOV-e je moguće podijeliti na preddenitrifikacijske, postdenitrifikacijske, te s izmjeničnom nitrifikacijom – denitrifikacijom. Kod preddenitrifikacijske konfiguracije UPOV-a, spremnik za denitrifikaciju se nalazi ispred spremnika za nitrifikaciju, te se nitrati nastali tijekom nitrifikacije recirkuliraju u denitrifikacijski spremnik gdje dolazi influent bogat organskim tvarima. Specifična brzina denitrifikacije je u tom slučaju najbrža i iznosi od 0,03 do 0,20 g $\text{NO}_3\text{-N}$ /gMLVSS.dan (EPA, 2010). Kod postdenitrifikacijske konfiguracije UPOV-a, denitrifikacijski spremnik se nalazi nakon nitrifikacijskog. U tom slučaju su

heterotrofni mikroorganizmi oksidiraju lako-biorazgradive organske tvari (lbKPK) iz influenta istovremeno s procesom nitrifikacije, te su za denitrifikaciju preostali sporo biorazgradivi izvori ugljika, te oni dobiveni endogenom respiracijom. Specifična brzina odvijanja denitrifikacije je u tom slučaju značajno niža u odnosu na preddenitrifikaciju i iznosi 0,01-0,03 gNO₃-N/gMLVSS.dan. Izmjenična nitrifikacija – denitrifikacija se provodi u istom spremniku izmjenjujući razdoblja s aeracijom i bez nje pri čemu se postižu specifične brzine denitrifikacije između prethodne dvije.

Izvor ugljika za denitrifikaciju se najčešće nalazi u samoj otpadnoj vodi. Ukoliko su izvori ugljika u influentu nedovoljni za sve potrebne procese na UPOV-u, potrebno ih je dodati u sustav. Izvori ugljika tada mogu biti vanjski (kemikalije poput metanola, etanola, industrijski nusproizvodi, itd.) ili unutarnji (dobiveni fermentacijom otpadne vode, primarnog ili viška aktivnog mulja). Najčešće korišteni vanjski izvor ugljika je metanol, no za njega je potreban određeni period privikavanja biomase aktivnog mulja. Ukoliko je potreba za dodatnim izvorom ugljika izražena samo tijekom određenih perioda (s niskim temperaturama, puno oborina), potrebno je odabrati supstrat za koji nije potreban period privikavanja poput etanola ili acetata (EPA, 2010).

Brzina denitrifikacije (redukcije nitrata) ovisi o brzini asimilacije izvora ugljika, a ona se može opisati jednažbom 4 (EPA, 2010).

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

r_{Ss} = brzina asimilacije izvora ugljika (supstrata) [mg/L.dan]

Y_H = prirast heterotrofne biomase po utrošenom KPK [gVSS/gKPK]

μ_{\max} = maksimalna specifična brzina rasta denitrificirajućih heterotrofa [gVSS/gVSS.dan]

S_S = koncentracija otopljenog biorazgradivog izvora ugljika - supstrata [mg/L]

K_S = konstanta zasićenja supstratom (koncentracija supstrata pri polovini maksimalne specifične brzine rasta) [mg/L]

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

K_{NO} = konstanta zasićenja nitratom [mg/L]

$K_{O,H}$ = konstanta inhibicije redukcije nitrata kisikom [mg/L]

S_0 = koncentracija otopljenog kisika [mg/L]

η = udio heterotrofnih bakterija koje mogu provoditi denitrifikaciju

X_H = koncentracija heterotrofnih bakterija [mg/L]

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

Većina denitrifikanata su fakultativni anaerobi koji oksidacijom izvora ugljika uz prisustvo kisika dobivaju više energije u odnosu na oksidaciju uz prisustvo nitrata i nitrita, stoga preferiraju aerobnu oksidaciju (Gerardi, 2002). Prisustvo kisika iznad 0,2 mg/L tako ima nepovoljan utjecaj na proces denitrifikacije (Lu i sur., 2014).

Optimalna temperatura za provedbu denitrifikacije je 20-30 °C, a pH 6-8 (Pang i Wang, 2021) Brzina denitrifikacije opada sa smanjenjem temperature, a pri temperaturama nižim od 5 °C je zanemariva (Gerardi, 2002).

Tijekom denitrifikacije dolazi do obnove alkaliteta (oko 3,57 g izraženog kao CaCO₃ po gramu reduciranog nitrata) (Ekama i sur., 2020), te povećanja pH-vrijednosti zbog otpuštanja hidroksid iona (Holman i Wareham, 2005), stoga je poželjno da se na UPOV-ima gdje postoji mogućnost odvijanja nitrifikacije predvidi i denitrifikacija radi obnove alkaliteta i pH-vrijednosti, te redukcije nitrata do plinovitog dušika. Cao i suradnici (2012) su proučavali utjecaj pH-vrijednosti na proces denitrifikacije i zaključili da pri pH 6,5 dolazi do nakupljanja nitrita zbog smanjene brzine redukcije nitrita u odnosu na brzinu redukcije nitrata. S povećanjem pH-vrijednosti se taj utjecaj smanjuje.

2.3. Spojevi s fosforom i njihovo uklanjanje iz otpadne vode

Fosfor je element nužan za rast i metabolizam svih živih bića. Dio je stanične membrane, nukleinskih kiselina (DNK i RNK) i adenzin trifosfata (ATP) koji je neophodan za većinu procesa u stanici koji zahtijevaju energiju. Svaki mikroorganizam koji je dio aktivnog mulja ima potrebu za određenom količinom fosfora za normalan rast i razmnožavanje, no količine fosfora iz otpadne vode koje se ovim putem uklanjaju su zanemarive.

Ispuštanjem povećanih količina fosfora i dušika u prirodne prijemnike (rijeke, jezera, mora) dolazi do pojačanog rasta algi, posebice cijanobakterija. Posljedica je nedostatak kisika u vodi, što dovodi do odumiranja biljaka i životinja, zamućenja i smanjenja kakvoće prijemnika tj. dolazi do pojave eutrofikacije (Correll, 1998; Conley i sur., 2009). Koncentracije fosfora veće od 0,02 mgP/L u vodenim sustavima se smatraju rizičnima za pojavu eutrofikacije (Corell, 1998). S obzirom da cijanobakterije mogu fiksirati dušik iz zraka, limitirajući faktor rasta je fosfor. Kortstee i suradnici (1994) su pokazali da se eutrofikacija neće odvijati ako su koncentracije fosfora 8-10 µg P/L čak ni kada su koncentracije dušika visoke (4-5 mgN/L). U vodenom okolišu, 1 kg fosfora kojeg asimiliraju alge, stvara 111 kg biomase algi, što je ekvivalentno 138 kg KPK. Ako sastav algi izrazimo pomoću formule $C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P$, Randall i suradnici (1992b) su izračunali da ispuštanje 6 mg/L fosfora potencijalno može rezultirati onečišćenjem od 828 mg/L KPK. Stoga je nužno ukloniti fosfor iz otpadnih voda prije ispuštanja u prirodne prijemnike kako bi se očuvali vodeni ekosustavi.

Izvori fosfora u prirodnim prijemnicima su procjeđivanje s poljoprivrednih površina tretiranih gnojivom koje sadrži fosfor, zatim otpadne vode s farma i otpadne vode gradova koje obuhvaćaju industrijska otpadne vode i otpadne vode kućanstava (Yeoman i sur., 1988).

Glavni izvor fosfora u komunalnim otpadnim vodama su urin i detergentski. Pojavom detergenata bez fosfata 80-tih godina prošlog stoljeća, smanjuje se upotreba detergenata s fosfatima, a s time i količina fosfata ispuštena u otpadne vode iz ovog izvora. Prosječan sadržaj fosfora ispušten po stanovniku iznosi 1,4-1,8 gP/danu i stanovniku (DWA, 2016: 1ES (TP) = 1,8 g/d).

Većina fosfora u komunalnim otpadnim vodama se nalazi u obliku ortofosfata, te manje u obliku polifosfata i organski vezanog fosfora (EPA, 2010; Volcke i sur., 2020). Ortofosfat dolazi u otopljenom stanju. Polifosfat je također topljiv u otpadnim vodama, ali se ne može taložiti dodatkom metalnih soli. Organski vezan fosfor koji je u koloidnom stanju se uglavnom taloži i uklanja s viškom mulja, dok se onaj u čestičnoj formi može hidrolizirati do ortofosfata (Goel i Motlagh, 2013).

Otpadne vode gradova se pročišćavaju na uređajima za pročišćavanje otpadnih voda gdje se fosfor uklanja fizikalno-kemijskim (kemijskim taloženjem, ionskom izmjenom, adsorpcijom) ili (mikro)biološkim putem (unosom u stanice mikroorganizama aktivnog mulja) (Tchobanoglous i

sur., 2003; Volcke i sur., 2020) ili kombinacijom navedenih ovisno o maksimalnoj dopuštenoj koncentraciji fosfora u efluentu.

Najčešće korištena kemijska metoda na UPOV-ima u Hrvatskoj je taloženje fosfata dodatkom soli željeza ili aluminija (aluminijev sulfat, željezni klorid, željezni sulfat, polialuminijev klorid) s kojima fosfor tvori netopive spojeve. Prednosti su visoka učinkovitost uklanjanja (do 90%), prilagodljivost promjenama u influentu, bolja taloživost mulja i jednostavnost primjene (Morse i sur., 1998; de Haas i sur., 2000a). Kemijskim taloženjem se mogu postići vrlo niske koncentracije ukupnog fosfora u efluentu. Nedostaci su veće količine viška mulja zbog akumulacije taloživih soli fosfata (čak do 40%), troškovi kemikalije za taloženje, povećani troškovi obrade takvog mulja, manja produkcija bioplina pri anaerobnoj obradi takvog mulja (Parsons i Smith, 2008), nemogućnost izdvajanja i ponovne uporabe fosfora zbog čvrste veze s metalnim ionima (Strickland, 1999), povećani salinitet efluenta (najčešće kloridi i sulfati), te inhibicija poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora. Troškovi u fazi izgradnje su za kemijsko uklanjanje fosfora manji, no operativni troškovi su veći u usporedbi s poboljšanim biološkim uklanjanjem fosfora.

Na učinkovitost kemijskog uklanjanja fosfora utječu pH-vrijednost, alkalitet, intenzitet miješanja na mjestu doziranja, te flokulacija. Optimalna pH-vrijednost se kreće od 5,5 do 7,0 (Szabó i sur., 2008).

Poboljšano biološko uklanjanje fosfora (engl. Enhanced Biological Phosphorus Removal – skraćeno EBPR) je tehnologija koja omogućava uklanjanje fosfora iz otpadne vode pomoću fosfor-akumulirajućih organizama (PAO) koji imaju sposobnost nakupljanja fosfata u svojim stanicama iznad metaboličkih potreba. Na UPOV-ima s EBPR, otpadna voda najprije dolazi u anaerobnu zonu u kojoj se miješa s biomasom aktivnog mulja. Nakon anaerobne zone, aktivni mulj zajedno s otpadnom vodom prolazi kroz aerobne odnosno anoksične uvjete. Izdvajanjem viška mulja, s biomasom se izdvaja i fosfat akumuliran u stanicama PAO (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Prednosti poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora pred kemijskim su brojne: smanjenje ili potpuno izbacivanje dodatka kemikalija za kemijsko uklanjanje fosfora, smanjene potrebe za kisikom tijekom pročišćavanja, smanjenje produkcije mulja, potencijalni povrat fosfora, te visoka selektivnost uklanjanja fosfora (Kortstee i sur., 1994; Tchobanoglous i sur., 2003; Barat i van Loosdrecht, 2006). To je ujedno i najekonomičnije uklanjanje fosfora iz otpadne vode ponajviše zato što nije potrebno nabavljati kemikalije za kemijsko taloženje, te se ne stvara dodatan mulj

zbog njihovog dodatka kojeg je potrebno zbrinuti. EBPR je proces prihvatljiv za okoliš, budući se njime smanjuje ugljični otisak (engl. carbon footprint), te s obzirom da se ne koriste kemikalije s aluminijem ili željezom koje mogu imati negativan utjecaj na okoliš (Houweling i sur., 2010). U dobro podešenim EBPR sustavima, moguće je postići uklanjanje fosfora do razine 1 mg/L (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Prirodni izvori fosfora su limitirani, a potražnja je sve veća, stoga se sve više razmatraju mogućnosti obnavljanja fosfora iz otpadne vode. U nekim zemljama EU su već postavljene i zakonske obveze (Njemačka, Švicarska) za obnavljanje fosfora iz otpadnih voda na većim UPOV-ima (Vučić i sur., 2020). Nakon poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode, višak mulja koji se izdvaja je bogat fosforom. Obradom takvog mulja, moguće je taloženje magnezija, dušika i fosfora u obliku struvita ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$) koji se direktno može koristiti kao gnojivo (Yuan i sur., 2012; Melia i sur., 2017; Chrispim i sur., 2019; Siciliano i sur., 2020). Primjenom procesa taloženja struvita, moguće je postići učinkovitost uporabe fosfora do 97% (Tutić i sur. 2021).

Nedostaci su osjetljivost samog procesa na brojne faktore, njegova nestabilnost i posljedično povećani angažman, te potrebna razina znanja djelatnika na UPOV-u vezano uz praćenje i upravljanje procesom. S obzirom na brojne faktore koji utječu na proces, upotreba simulacija u matematičkim modelima može dati dobar uvid u pojedini sustav i mogućnosti njegove optimizacije (Brdjanovic i sur., 2000).

2.3.1. Povijesni pregled

Proces uklanjanja fosfora iz otpadne vode u količinama koje su iznad potreba za rast i diobu mikroorganizama aktivnog mulja prvi je uočio Srinath sa suradnicima (1959) u Indiji. Levin i Shapiro (1965) su zaključili da je proces biološki, te da se tijekom faze bez aeracije otpušta fosfor, a tijekom aerobne faze unosi u stanice biomase aktivnog mulja. Levin je 1966. godine patentirao Phostrip proces kojim se u zasebnom bazenu odvijalo ispuštanje fosfata i njegovo taloženje. Sedamdesetih godina prošlog stoljeća su istraživači, većinom inženjeri građevine, proučavali UPOV-e na kojima je uočen EBPR i pokušavali objasniti uočene procese i dati preporuke za projektiranje UPOV-a s povećanim uklanjanjem fosfora (Milbury i sur., 1971; Nicholls i Osborn, 1979) bez stvarnog razumijevanja biokemijskih procesa koji se odvijaju. Osamdesetih godina prošlog stoljeća, istraživanja u ovom polju su postala interdisciplinarna. Kako bi se identificirali

mikroorganizmi odgovorni za EBPR, te razumjeli kompleksni procesi koji se odvijaju u stanicama PAO, provedeno je mnogo mikrobioloških istraživanja. Paralelno su se razvijale i mikrobiološke tehnike. Fuhs i Chen (1975) su izolirali bakterije roda *Acinetobacter* za koje su vjerovali da su fosfor akumulirajući organizmi. Smatrali su da je anaerobna faza potrebna za stvaranje hlapivih masnih kiselina koje služe kao supstrat za PAO u kasnijim aerobnim uvjetima za rast i povećani unos fosfata. Rensink je 1981. godine prvi povezao otpuštanje fosfora u anaerobnim uvjetima i unos u aerobnim. Postavio je hipotezu da su anaerobni uvjeti i prisustvo hlapivih masnih kiselina (engl. VFA – volatile fatty acids) uvjeti u kojima PAO imaju prednost za unos VFA u stanice nad heterotrofnim mikroorganizmima. Kasnija istraživanja na mikrobnim kulturama obogaćenim PAO su otkrivala pojednosti metaboličkih procesa (Comeau i sur., 1986; Arun i sur, 1987; Smolders i sur., 1994 a i c).

Pomoću FISH tehnike su Wagner i suradnici (1994) dokazali da bakterije iz roda *Acinetobacter* nisu odgovorne za poboljšano biološko uklanjanje fosfora. Proučavajući aktivne muljeve s UPOV-a koji su pokazivali učinke poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora, Bond i suradnici (1995, 1999) su uočili dominaciju mikroorganizama iz podklase 2 *Betaproteobacteria* srodne *Rhodocyclus*, nazvanih „*Candidatus Accumulibacter Phosphatis*“. Daljnja istraživanja su pokazala da *Accumulibacter* pokazuju karakteristike fosfor akumulirajućih organizama, tj. da imaju mogućnost nakupljanja fosfata u svojim stanicama (Hesselmann i sur., 1999; Crocetti i sur., 2000). Uočena je korelacija između postotka mikroorganizama roda *Accumulibacter* u aktivnom mulju i učinkovitosti EBPR procesa (Saunders i sur., 2003). S obzirom da je *Candidatus Accumulibacter* identificiran na mnogim UPOV-ima s EBPR, smatrano je da ima najveći učinak na EBPR, te se većina istraživanja usredotočila na njegovo proučavanje. Istraživanja Zilles i suradnika (2002), te Wong i suradnika (2005) dala su naslutiti da postoje različite grupe mikroorganizama koji imaju sposobnost poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora poput mikroorganizama roda *Tetrasphaera* (Kristiansen i sur., 2013). Istraživanjem mikrobnih vrsta na 18 danskih UPOV-a tijekom 9 godina, Stokholm-Bierregaard i suradnici (2017) su potvrdili da su mikroorganizmi roda *Tetrasphaera*, *Candidatus Accumulibacter*, i *Dechloromonas* važni predstavnici PAO. Proučavajući njihovu zastupljenost u aktivnom mulju UPOV-a s EBPR, zaključili su da su bakterije roda *Tetrasphaera* zastupljenije od *Candidatus Accumulibacter*. Ge i suradnici (2019) su kao PAO detektirali mikrobnu populaciju *α-Proteobacteria*, *β-Proteobacteria*, *γ-proteobacteria*, *Rhodococcus sp.* and *Pseudomonas sp.* Stanice *Candidatus Accumulibacter* imaju mogućnost pohrane tri puta više

polipeptidnih lanaca uspoređujući sa stanicama *Tetrasphaera*, no stanice *Tetrasphaera* su 3-5 puta manje od *Candidatus Accumulibacter* (Nielsen i sur., 2019). Kao potencijalni PAO navode se još i *Microlunatus phosphovorus*, *Tessaracoccus*, te *Candidatus Obscuribacter* (Roy i sur., 2021).

Učinkovitost EBPR procesa ovisi o udjelu fosfor-akumulirajućih organizama (PAO) u aktivnom mulju (Marais i sur., 1983). Nakupljanju PAO u aktivnom mulju pogoduju anaerobni uvjeti na početku pročišćavanja uz prisustvo hlapivih masnih kiselina u influentu, nakon čega slijede aerobni i/ili anoksični uvjeti (Mino i sur., 1998). Fosfor akumuliran u stanicama PAO se uklanja s uklanjanjem viška aktivnog mulja.

Mnogo faktora utječe na učinkovitost EBPR-a poput pH-vrijednosti (Smolders i sur., 1994b; Liu i sur., 1996; Filipe i sur., 2001a i b), sastava otpadne vode (Kapagiannidis i sur., 2012), posebice izvor ugljika (Shen i Zhou, 2016; Fang i sur., 2020) i prisutnost kationa (Brdjanovic i sur., 1996), temperatura (Brdjanovic i sur., 1998c; Panswad i sur., 2003), prisustvo kisika (Brdjanovic i sur., 1998a) i nitrata i nitrita u povratnom mulju (Lee i sur., 2009; Yuan i Oleszkiewicz, 2011; Zhou i sur., 2012), starost mulja (Brdjanovic i sur., 1998b; Ersu i sur., 2010), simultano kemijsko taloženje (de Haas i sur., 2000a i b, 2001; Liu i sur., 2011), te prisutnost glikogen akumulirajućih organizama (GAO) (Oehmen i sur., 2007; Lopez-Vazquez i sur., 2009a; Wang i sur., 2010b).

Prvi UPOV projektiran za EBPR je počeo s radom 1970-ih (van Loosdrecht i sur., 1997). Od tada su razvijene mnoge procesne konfokuracije UPOV-a koje podržavaju poboljšano biološko uklanjanje fosfora.

Za simultano uklanjanje spojeva s ugljikom, dušikom i fosforom razvijene su kompleksnije konfiguracije koje uključuju i anoksičnu fazu. Operativni uvjeti rada UPOV-a se podešavaju ovisno o sastavu influenta, temperaturi, zahtjevima za kvalitetu efluenta i viška mulja.

2.3.2. Stanični metabolizam PAO skupine mikoorganizama

Poboljšano biološko uklanjanje fosfora (EBPR) je efikasan i ekonomičan proces prihvatljiv za okoliš koji se može uklopiti u proces pročišćavanja otpadnih voda u cilju uklanjanja fosfora.

Aktivni mulj na UPOV-ima bez EBPR-a za potrebe rasta i razmnožavanja u stanice unosi otprilike 0,02 mgP/mgVSS (0,015 mgP/mgTSS). U sustavima s EBPR, kada uz obične heterotrofne mikroorganizme, aktivni mulj sadrži i PAO, unos fosfata u stanice iznosi 0,06-0,15 mgP/mgVSS (0,05-0,10 mgP/mgTSS) ovisno o udjelu PAO u aktivnom mulju (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Sami PAO, u stanice mogu unesti do 0,38 mgP/mgVSS (0,17 mgP/mgTSS) (Wentzel i sur., 1987 i 1988; Schuler i Jenkins, 2003; Lopez-Vazquez i sur., 2020). S povećanjem udjela PAO u biomasi aktivnog mulja, povećava se i učinkovitost EBPR procesa, stoga je potrebno podesiti uvjete koji pogoduju rastu i diobi PAO skupine mikroorganizama.

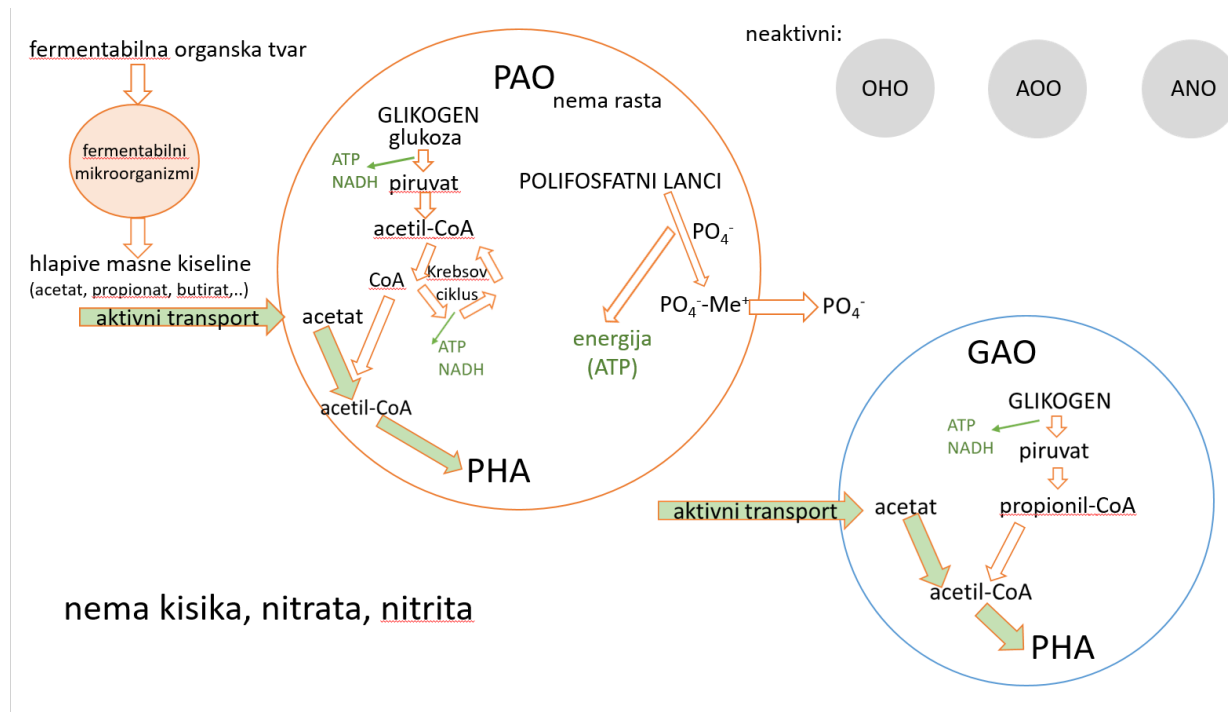
Najvažniji uvjet je osiguranje anaerobnih uvjeta na početku pročišćavanja, te dostatne količine hlapivih masnih kiselina (engl. volatile fatty acids –VFA) u anaerobnoj zoni. Udio PAO u aktivnom mulju se povećava s povećanjem VFA u influentu, a s time i efikasnost uklanjanja fosfora. U dobro podešenim EBPR sustavima PAO mogu činiti do 40% mikroorganizama aktivnog mulja (15% VSS, 11% TSS) uz učinak uklanjanja 10-12 mgP/L na 500 mg KPK/L u influentu (Lopez-Vazquez i sur., 2020)

Za identifikaciju PAO se koriste molekularne tehnike poput FISH (fluorescentna *in situ* hibridizacija) (Nielsen, 2009), pomoću knjižnice klonova temeljene na 16S rRNA ili DGGE (elektroforeza u gradijentu denaturirajućega gela) (Seviour i sur., 2003).

2.3.2.1.PAO roda Accumulibacter

PAO roda *Accumulibacter* su heterotrofni mikroorganizmi koji u anaerobnim uvjetima imaju sposobnost da unose u svoje stanice hlapive masne kiseline iz influenta i skladište ih u obliku poli-hidroksi-alkanoata (PHA) (Smolders i sur., 1994a; Oehmen i sur., 2007; He i McMahan, 2011). U anaerobnim uvjetima koriste polifosfatne (poli-P) lance unutar stanice kao izvor energije potrebne za aktivni transport hlapivih masnih kiselina u stanice (Mino i sur., 1998, Smolders i sur., 1994c, Oehmen i sur., 2007). Smolders i suradnici (1994a i b) su uočili da se energetske potrebe za unos acetata povećavaju s povećanjem pH-vrijednosti. Cijepanjem polifosfatnih lanaca, dolazi do stvaranja ATP-a, molekule koja ima tri fosfatne skupine povezane energijom bogatim vezama (Martín i sur. 2006). Cijepanjem energijom bogatih veza, dolazi do oslobađanja fosfatnih skupina (PO_4^{3-}) koje se stabiliziraju pomoću kationa magnezija (Mg^{2+}) ili kalija (K^+) i ispuštaju iz stanice. Omjer $\text{P}:\text{Mg}^{2+}:\text{K}^+$ koji se otpušta iz stanice je 1:0,33:0,33 (Brdjanovic i sur., 1996). Na taj način, u anaerobnim uvjetima dolazi do povećanja koncentracije fosfata u vodenom mediju. Osim cijepanja polifosfatnih lanaca, dolazi do razgradnje i glikogena pri čemu nastaju ATP kao izvor energije, NADH i CoA koji služe za pretvorbu acetata u acetil-CoA, propionata u propionil-CoA koji su prekursori za stvaranje poli-hidroksialkanoata (PHA) (Mino i sur., 1998; Oehmen i sur., 2007; Saunders i sur., 2007; He i McMahan, 2011; Li i Chen, 2011). Ovisno o vrsti VFA u influentu,

PHA mogu biti u obliku poli- β -hidroksibutirata (PHB – dobiven povezivanjem 2 acetata), poli-hidroksivalerata (PHV – dobiven povezivanjem acetata i propionata) ili poli- β -hidroksi-2-metilvalerata (PH2MV - dobiven povezivanjem 2 propionata) (Smolders i sur., 1994c, Oehmen i sur., 2005c i 2007). Kada je influent bogat acetatima, PAO u najvećem dijelu stvaraju PHB, te malo PHV (Sato i sur., 1992; Smolders i sur., 1994a; Mino i sur., 1998). Ovakav metabolizam PAO daje prednost pred ostalim skupinama mikroorganizama koje su dio aktivnog mulja i nemaju mogućnost korištenja niti skladištenja organske tvari bez prisustva elektron akceptora (kisika, nitrata ili nitrita).



Slika 3. Pojednostavljeni shematski prikaz metabolizma fosfat-akumulirajućih organizama (PAO) i glikogen-akumulirajućih organizama (GAO) u anaerobnim uvjetima. (OHO – obični heterotrofni organizmi, AOO – amonij oksidirajući organizmi, ANO – autotrofni nitrificirajući organizmi).

U aerobnim (i/ili anoksičnim) uvjetima, PAO koriste nakupljeni PHA kao izvor energije za unos fosfora u stanice kojeg skladište u obliku polifosfatnih lanaca, zatim za sintezu glikogena i rast i razmnožavanje biomase. S obzirom da u aerobnim uvjetima PAO rastu i razmnožavaju se, dolazi do povećanog unosa fosfata u odnosu na ispušteni u anaerobnoj fazi. Fosfati, zajedno s ionima magnezija i kalija, prelaze iz otpadne vode u stanice PAO i uklanjaju se zajedno s viškom aktivnog

mulja (Oehmen i sur., 2007). Neki PAO kao elektron akceptor za unos fosfata koriste kisik, a neki (denitrificirajući PAO ili DPAO) imaju mogućnost korištenja nitrita ili nitrata (Kern-Jespersen i Henze, 1993; Carvalho i sur., 2007).

Razlikujemo tip I i tip II *Accumulibacter* sojeve (He i sur., 2007, Welles i sur., 2015) koji se razlikuju po fenotipu. Soj IA ima mogućnost korištenja nitrata kao elektron akceptora, tako da uz unos fosfora provodi i redukciju nitrata u plinoviti dušik (Flowers i sur., 2009). Soj IIA nema tu sposobnost kao niti soj IC (Rubio-Rincon i sur., 2019).

2.3.2.2. Denitrificirajući PAO (DPAO)

Prednost DPAO je u simultanom uklanjanju dušika i fosfora bez potrebe za dodatnim izvorom ugljika (Kern-Jespersen i Henze, 1993). Denitrificirajući fosfat akumulirajući organizmi (DPAO) imaju isti anaerobni metabolizam kao i PAO, no mogu koristiti nitrite i nitrata kao elektron akceptore umjesto kisika za unos fosfata. Na taj način se smanjuje potreba za aeracijom koja predstavlja najveći operativni trošak UPOV-a. Pritom vrše denitrifikaciju što je dodatna prednost jer se smanjuje potreba za izvorom ugljika koji je potreban denitrificirajućim heterotrofima za provedbu denitrifikacije. Specifična brzina denitrifikacije koju provode DPAO je nešto niža od brzine heterotrofnih mikroorganizama, no brža je od brzine endogene denitrifikacije (Lee i Yun, 2014). Imaju sposobnost ukloniti 4-5 gNO₃⁻-N po gramu P bez potrebe za izvorom ugljika (Brdjanovic i sur., 1998d). DPAO imaju nižu brzinu rasta nego PAO, stoga nastaje i 20-30% manje biomase aktivnog mulja (Kuba i sur., 1996 i 2000).

Mikroorganizmi roda *Accumulibacter*, *Dechloromonas* i *Zoogloea* su identificirani kao DPAO (Li i sur., 2020).

Tetrasphaera su gram pozitivne bakterije prisutne u aktivnom mulju na UPOV s EBPR procesom. Njihov metabolizam se razlikuje od onog kod PAO roda *Accumulibacter*. U anaerobnim uvjetima imaju sposobnost asimilirati i fermentirati širok spektar organskih tvari uključujući aminokiseline i glukozu, te ih nazivamo fermentativnim PAO. U anaerobnim uvjetima, ne stvaraju PHA, već u stanici skladište glikogen, te aminokiseline i produkte fermentacije (Fernando i sur., 2019). Energiju za sintezu glikogena dobivaju cijepanjem polifosfatnih lanaca i fermentacijom (Kristiansen i sur., 2013). U aerobnim uvjetima imaju sposobnost unosa fosfata u stanicu i njegovu akumulaciju u obliku polifosfatnih lanaca kao i *Accumulibacter*, no kao izvor energije koriste

nakupljeni glikogen umjesto PHA. Također imaju sposobnost denitrifikacije, te uz fermentaciju i unos fosfata značajno doprinose učinkovitosti i stabilnosti EBPR procesa. (Nguyeni sur., 2011).

S obzirom da se fosfor nakuplja u stanicama PAO koji su dio aktivnog mulja. Uklanjanje fosfora se odvija uklanjanjem viška aktivnog mulja (engl. waste activated sludge - WAS) na kraju aerobne ili anoksične faze kada stanice PAO sadrže najviše polifosfata.

Omjer ispuštenih fosfata i unesenog acetata (P/C) u anaerobnim uvjetima je bitan stehiometrijski indikator PAO metabolizma (Dorofeev i sur., 2020). Omjer P/C iznosi otprilike 0,5 u neutralnom mediju, te se povećava s porastom pH-vrijednosti medija (Smolders i sur., 1994a). U većini slučajeva iz literature, P/C vrijednosti se kreću između 0,25 i 0,75 molP/mol C, te uvelike ovise o količini polifosfatnih lanaca akumuliranih u stanici tijekom aerobne faze (Welles i sur., 2017).

Omjer ukupnog fosfora uklonjenog iz influenta i apsorbirane organske tvari varira od 8 do 25 mg organske tvari po 1 mg uklonjenog fosfora (Welles i sur., 2017).

2.3.3. Metabolizam glikogen akumulirajućih mikroorganizama (GAO)

GAO imaju mogućnost unosa VFA i njegovog skladištenja u obliku PHA u anaerobnim uvjetima poput PAO, no nemaju mogućnost povećanog unosa fosfata u aerobnim i/ili anoksičnim uvjetima koji slijede. GAO stvaraju više PHV oblika PHA kada je influent bogat acetatima (Liu i sur., 1994; Satoh i sur., 1994; Filipe i sur., 2001d; Zeng i sur., 2003; Lopez-Vazquez i sur., 2007a). Njihov metabolizam koristi glikogen kao izvor energije za unos VFA umjesto polifosfatnih lanaca, stoga nema otpuštanja fosfata u anaerobnoj fazi (Mino i sur., 1998). Iz glikogena energiju dobivaju procesom glikolize koji je osjetljiv na niske temperature, te je i rast GAO pri niskim temperaturama jako spor. U aerobnoj fazi, u stanice unose fosfata samo onoliko koliko im je potrebno za izgradnju stanica, bez nakupljanja u obliku polifosfatnih lanaca. Glikogen akumulirajući organizmi (GAO) se natječu s PAO za hlapive masne kiseline u anaerobnim uvjetima (Saunders i sur., 2003; Kong i sur., 2007) i zato je njihova prisutnost nepovoljna za EBPR. Akumulacija GAO dovodi do smanjenja učinkovitosti EBPR (Filipe i sur., 2001a i c, Liu i sur., 2014). Njihova prisutnost dovodi i do povećanih troškova rada UPOV-a zbog stvaranja veće količine mulja, a nepovoljno je i što koriste lako-biorazgradive izvore ugljika kojih često nedostaje za proces denitrifikacije (Tayá i sur., 2013).

Istraživanja su pokazala da metabolizam specifičan za GAO pokazuju mikroorganizmi roda *Gammaproteobacteria* (*Candidatus Competibacter phosphatis* – skraćeno *Competibacter*) koje najčešće nalazimo na UPOV-ima čiji je influent bogat glukozom ili acetatima, dok *Deffluvicoccus vanus* (*Alphaproteobacteria*) najčešće nalazimo na UPOV-ima influenta bogatog propionatima (Pijuan i sur. 2004; Oehmen i sur., 2005a; Wang i sur., 2010b; Zengin i sur., 2010).

GAO roda *Micropruina* nazivamo fermentativnim GAO jer imaju sposobnost rasta i fermentacije u anaerobnim uvjetima. Energiju i izvore ugljika dobivene fermentacijom koriste za rast i skladištenje glikogena unutar stanica. U anaerobnim uvjetima se natječu s *Tetrasphaera* PAO za šećere i aminokiseline (Nielsen i sur., 2019). S obzirom da mogu rasti i u anaerobnim i aerobnim uvjetima, fermentativni PAO (*Tetrasphaera*) i fermentativni GAO (*Micropruina*) su najčešće zastupljeniji u aktivnom mulju od klasičnih PAO i GAO (Stokholm-Bjerregaard i sur., 2017).

Istraživanja u laboratorijskim uvjetima pokazala su da se i PAO, u uvjetima kada su im ograničene količine polifosfatnih lanaca u stanicama, mogu ponašati kao GAO, tj. koristiti glikogen kao izvor energije umjesto polifosfatnih lanaca (Zhou i sur., 2008; Acevedo i sur., 2012; Welles i sur., 2017).

2.3.4. Faktori koji utječu na učinkovitost EBPR procesa

2.3.4.1. Izvor ugljika u influentu

U anaerobnim uvjetima, bez prisustva vanjskog elektron akceptora (nitrata, nitrita ili kisika), obični heterotrofni organizmi (OHO) ne mogu koristiti prisutne hlapive masne kiseline, dok fosfor akumulirajući organizmi (PAO) imaju tu mogućnost kao i skupina mikroorganizama koja se naziva glikogen akumulirajući organizmi (GAO). GAO imaju negativan učinak na EBPR proces zato jer se natječu s PAO za VFA u anaerobnim uvjetima. Kritičan faktor za uspješnost EBPR procesa je omjer koncentracija lako-biorazgradivog izvora ugljika, posebice VFA i koncentracije fosfora u influentu (Gu i sur., 2008).

Influent sadrži biorazgradivi KPK (bKPK) koji se može podijeliti na sporo-biorazgradivi KPK (sbKPK) i lako-biorazgradivi KPK (lbKPK). Sporo-biorazgradivi KPK se hidrolizom pretvara u lbKPK, te fermentacijom dalje do VFA koje PAO unose u stanice tijekom anaerobne faze.

Pod pretpostavkom da je sav biorazgradivi KPK (bKPK) hidroliziran, fermentiran i asimiliran u PAO, Houweling i suradnici (2010) su izračunali maksimalni potencijal EBPR procesa koji iznosi 0,055 do 0,09 kg P po kg bKPK u influentu. Kada se radi o fermentaciji biomase aktivnog mulja,

uzeli su u obzir rast mikroorganizama aktivnog mulja uz asimilaciju bKPK iz influenta, odumiranje i lizu stanica, te fermentaciju staničnih dijelova. Izračunali su da je maksimalni potencijal EBPR-a 0,009 do 0,014 kg P po kg bKPK u influentu. Ovi izračuni idu u prilog fermentaciji influenta.

Na UPOV-ima koji uklanjaju spojeve s dušikom i fosforom, veličina aerobne zone je obično kritična zbog SRT potrebnog za nitrifikaciju. U cilju smanjenja troškova izgradnje, smanjuju se volumeni anaerobnih i anoksičnih zona. U anaerobnim uvjetima se odvija proces fermentacije i unosa VFA u stanice PAO, pri čemu je fermentacija sporiji proces. Smanjenjem anaerobne zone se smanjuje vrijeme za hidrolizu lako-biorazgradivog supstrata kako bi bio dostupan PAO. Dold i Conidi (2019) smatraju da anaerobna masena frakcija mulja (masa mulja u anaerobnom reaktoru/ukupna masa mulja u sustavu) treba biti između 15 i 25% ovisno o sastavu influenta kako bi se postiglo učinkovito uklanjanje fosfora od oko 0,02 mgP/mgKPK u influentu. Također smatraju da se veća učinkovitost EBPR procesa može postići povećanjem volumena anaerobnog bazena, umjesto fermentacije dijela povratnog mulja u reaktoru izvan glavne linije vode (engl. side-stream).

Najčešće VFA prisutne u influentu su acetat i propionat (Mino i sur., 1998, , Chen i sur., 2004). O vrsti hlapivih masnih kiselina prisutnih u anaerobnoj fazi, ovisi i brzina otpuštanja fosfora iz stanica PAO. Brzina otpuštanja je veća uz prisutnost acetata i propionata, nego uz prisutnost ostalih hlapivih masnih kiselina kao što su laktat, sukcinat, malat i piruvat (Sato i sur., 1996). Složenijim VFA poput butirata, valerata i laktata je potrebna daljnja razgradnja da bi mogli biti iskorišteni od PAO mikrobne biomase (Barnard i sur., 2017). PAO imaju mogućnost brže i učinkovitije prilagoditi svoj metabolizam na unos propionata u odnosu na GAO (Oehmen i sur., 2005a). Ta se činjenica može upotrijebiti u korist PAO kod PAO-GAO kompeticije za supstrat u anaerobnim uvjetima (Chen i sur., 2004; Randall i Chen, 2008). Otpadne vode koje sadrže 75% acetata i 25% propionata pogoduju razvoju PAO i pokazuju veći učinak uklanjanja fosfora (Lopez-Vazquez i sur., 2009a; Carvalheira i sur., 2014b; Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Hlapive masne kiseline nastaju procesom fermentacije koja se može odvijati u kanalizacijskom sustavu ukoliko su pogodni uvjeti (sporo tečenje i dugo zadržavanje vode u sustavu, bez puno precrpnih stanica – bez aeriranja otpadne vode, viša temperatura, mali utjecaj oborinskih voda i infiltracije - koncentrirana otpadna voda). Fermentacijom otpadne vode se dobiva povoljan omjer acetata i propionata koji pogoduje PAO u kompeticiji s GAO (Oehmen i sur., 2005a).

Hlapive masne kiseline, posebice acetat i propionat, pokazale su se kao najbolji izvor ugljika za provedbu procesa EBPR (Shen i Zhou, 2016). Ukoliko influent nije bogat hlapivim masnim kiselinama, moguće ih je dodati u sustav izvana ili proizvesti u sustavu fermentacijom. Dodavanje vanjskih izvora lako-biorazgradivih ugljika je najčešće najskuplja opcija. Osim troškova nabave vanjskog izvora ugljika, njegovim dodavanjem nastaje više mulja kojeg je potrebno zbrinuti, te je veća produkcija stakleničkih plinova, posebice N₂O (Caniani i sur., 2015; Liu i sur., 2021). U cilju smanjenja troškova i što manjeg negativnog utjecaja na okoliš, sve se više proučavaju mogućnosti proizvodnja VFA na samom UPOV-u (Fang i sur., 2020; Tong i Chen, 2007).

VFA se mogu dobiti fermentacijom otpadne vode (Barajas i sur., 2002) ili fermentacijom primarnog ili viška aktivnog mulja (Zeng i sur., 2006, Zhang i sur., 2009, Soares i sur., 2010). Fermentativni heterotrofni organizmi provode fermentaciju kompleksnih supstrata kao što su lipidi, ugljikohidrati i proteini provodeći procese hidrolize, acidogeneze, acetogeneze i metanogeneze. Kompleksni supstrati se tijekom procesa hidrolize cijepaju na manje, lakše topive međuprodukte pomoću izvanstaničnih enzima. Acidogenezom nastaju većinom VFA i vodik. Acetogene bakterije proizvode acetat i vodik koje koriste metanogene bakterije za proizvodnju bioplina (metan i ugljični dioksid) (van Lier i sur., 2020). Metanogeneza je nepoželjna kod proizvodnje VFA. Zbog različite brzine rasta bakterija koje provode acidogenezu i metanogenezu, podešavanjem uvjeta (pH, temperatura, HRT, SRT) moguće je eliminirati metanogene bakterije (Fang i sur., 2020).

Većina acidogenih bakterija ne može živjeti u uvjetima vrlo niske ($\text{pH} \leq 3$) ili visoke ($\text{pH} \geq 12$) pH-vrijednosti. Optimalne pH-vrijednosti za stvaranje VFA fermentacijom viška aktivnog mulja iznosi od 8-11 pH jedinica. Alkalna pH-vrijednost pridonosi boljoj hidrolizi organske tvari u mulju, a neutralna pH-vrijednosti pridonosi boljoj acidogenezi mulja (Ma i sur., 2016).

S povišenjem temperature, povećava se brzina provedbe hidrolize. Yuan i sur., (2011) su izmjerili povećanje brzine hidrolize za 50% prilikom povećanja temperature sa 14.6 na 24°C.

Pri SRT vrijednostima manjim od 8 dana prevladavaju procesi acidogeneze prilikom fermentacije primarnog mulja, dok pri SRT većim od 10 dana prevladavaju procesi metanogeneze (Miron i sur., 2000, Yuan i sur., 2019). Budući je rast bakterija koje provode fermentaciju ovisan o temperaturi, preporučeni SRT kod fermentacije primarnog mulja u ljetnim mjesecima ($t > 16\text{C}$) iznosi 3-5 dana, a u zimskim mjesecima ($t < 15$) 4 do 8 dana (WEF, 2006).

Fermentacija se može odvijati u predfermentorima koji mogu biti u liniji vode ili izvan nje. Predfermentori u liniji vode su primarni taložnici s dužim vremenom zadržavanja kako bi se provela fermentacija, nakon čega se ugušćeni primarni mulj odvaja i anaerobno digestira, a supernatant ispušta u anaerobnu zonu. U predfermentorima izvan linije vode se odvija fermentacija izdvojenog primarnog mulja.

Kod fermentacije viška aktivnog mulja, proces hidrolize, tj. razgradnje stanica i pretvorba u otopljeno stanje, traje najduže. Fermentacijom viška aktivnog mulja dobiva se više otopljenog fosfora, a manje VFA u usporedbi s fermentacijom primarnog mulja (Zurzolo i sur., 2016).

U procesu pročišćavanja otpadne vode trećeg stupnja i obrade nastalog mulja, potrebno je zadovoljiti mnoge uvjete koji su često kontradiktorni. Potrebno je osigurati dovoljno KPK za provedbu EBPR-a te za denitrifikaciju. Kada se mulj obrađuje anaerobno, u cilju veće produkcije bioplina i proizvodnje energije iz njega, poželjno je izdvojiti što više KPK u primarnom taložniku.

Primarnim taloženjem se izdvaja taloživi dio organske tvari iz influenta, te se smanjuje omjer KPK i BPK_5 u odnosu na TP i TN što je nepovoljno za EBPR.

Miješanje influenta s vodom nastalom obradom primarnog ili viška aktivnog mulja (ugušćivanje, dehidracija) također nije povoljna za EBPR zbog visokog sadržaja dušika i fosfora u tim vodama.

2.3.4.2. Prisutnost kationa u influentu

Kationi, K^+ ili Mg^{2+} su potrebni kako bi stabilizirali fosfatne skupine (PO_4^{3-}) nastale cijepanjem polifosfatnog lanca i omogućili njihovo ispuštanje iz stanice u anaerobnim uvjetima. Brdjanovic i suradnici (1996) su uočili smanjenje učinkovitosti EBPR kod nedostatka kalija u influentu. Za svaki mol fosfata koji je ispušten iz stanica PAO u anaerobnom reaktoru, potrebno je 0,27-0,36 mola kalija i 0,29-0,32 mola magnezija (Jonsson i sur., 1996). Dodatak kalcija i magnezija u otpadnu vodu doprinosi boljem taloženju, tj. pozitivno utječe na flokule aktivnog mulja i volumni indeks mulja. Dodatak natrija ima suprotan učinak (Sobeck i Higgins, 2002).

2.3.4.3. Prisutnost kisika, nitrata ili nitrita u anaerobnom bioreaktoru

PAO imaju prednost nad iskorištavanjem hlapivih masnih kiselina u odnosu na OHO samo ako nema prisutnog kisika ili nitrata odnosno nitrita. Ukoliko je u anaerobnom spremniku prisutan kisik ili nitrat, učinak poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora je značajno smanjen (Lopez-Vazquez i

sur., 2020). Prisutnost kisika u zoni koja bi trebala biti anaerobna, omogućava običnim heterotrofnim mikroorganizmima (OHO) da koriste VFA kao izvor lako-biorazgradivog ugljika učinkovitije nego PAO. Za svaki 1 mg O₂ koji dospije u anaerobni reaktor, iskoristi se 3 mg fermentabilnog KPK (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Prisutnost nitrata ili nitrita u zoni koja bi trebala biti anaerobna, omogućava odvijanje procesa denitrifikacije koju provode denitrificirajući heterotrofni mikroorganizmi (dOHO) koristeći lako-biorazgradive izvore ugljika koji tada više nisu dostupni PAO (Puig i sur., 2007). Za svaki 1 mg N-NO₃ koji dospije u anaerobni reaktor, OHO iskoriste 8,6 mg fermentabilnog KPK (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Nitrit u koncentraciji većoj od 2 mgNO₂-N/L ima inhibitorni učinak na aerobni unos fosfata u mulju obogaćenom PAO (Saito i sur., 2004). Slobodna nitritna kiselina u koju se nitrit pretvara otapanjem u vodenim otopinama je inhibitor anaboličkih procesa (Zhou i sur., 2007 i 2012). Pri koncentraciji od 0,5 x 10⁻³ mg HNO₂-N dolazi do 50% inhibicije svih anaboličkih procesa, a pri 6,0 x 10⁻³ mg HNO₂-N dolazi do potpune inhibicije (Pijuan i sur., 2010).

Prisustvo kisika i nitrata u anaerobnoj zoni posljedica je njihovog prisustva u povratnom mulju ili kao posljedica nehotičnog aeriranja tijekom punjenja ili miješanja anaerobne zone, stoga je potrebno posebnu pozornost obratiti tijekom projektiranja kako bi se to izbjeglo ili smanjilo na najmanju moguću razinu. Potrebno je izbjegavati intenzivno miješanje, kaskade, vijčane pumpe i mamut pumpe, te konfiguracijom UPOV-a smanjiti mogućnost prisustva nitrata u anaerobnoj zoni.

2.3.4.4. Hidrauličko vrijeme zadržavanja (HRT)

Hidrauličko vrijeme zadržavanja u anaerobnom bioreaktoru ovisi o tome koliko je vremena potrebno PAO da unesu hlapive masne kiseline u stanice i spremne ih u obliku PHA. Taj proces je vrlo brz (Lopez-Vazquez i sur., 2020), no ukoliko anaerobno vrijeme zadržavanja nije dovoljno dugo, nastale količine PHA neće biti dovoljan izvor energije za učinkovit unos fosfata u aerobnim uvjetima koji slijede. Ukoliko u influentu nema dovoljno hlapivih masnih kiselina, ali ima lako-biorazgradive organske tvari koju heterotrofni mikroorganizmi mogu fermentirati, potrebno je osigurati dodatno vrijeme zadržavanja kako bi procesom fermentacije nastale dodatne količine VFA. Također, potrebno je uzeti u obzir i zimske uvjete rada pri nižim temperaturama, kada je i metabolizam PAO usporen, te je tada potrebno osigurati dulje vrijeme zadržavanja. Preporučeno hidrauličko vrijeme zadržavanja u anaerobnoj fazi iznosi 0,5-2h (Zhang i sur., 2016) ovisno o dostupnoj koncentraciji VFA u influentu. Ako je hidrauličko vrijeme zadržavanja u anaerobnoj fazi

prekratko, doći će do smanjenog unosa VFA, te posljedično do nedovoljnog izvora energije za kasniji unos fosfata. Kod vrlo dugih anaerobnih HRT (duljih od 12 sati), Lopez i suradnici (2006) su uočili smanjenje brzine aerobnog unosa fosfora. Nakon što iz otpadne vode nestane VFA, dolazi do fenomena koji su Barnard i Fothergill (1998) opisali kao „sekundarno ispuštanje fosfata“. Nakon što su unesli sav raspoloživi VFA u stanice i spremili ga u obliku PHA, mikroorganizmi nastavljaju s hidrolizom polifosfata kao izvora energije za održavanje i preživljavanje, te koncentracija fosfata u otpadnoj vodi raste bez obzira što nema više unosa VFA. Ukoliko takvo stanje potraje, doći će do poremećaja ravnoteže između otpuštenog fosfata i uskladištenog PHA potrebnog za aerobni unos fosfata, te će se smanjiti učinkovitost EBPR procesa (Wang i Park, 1997; Coats i sur., 2011). S obzirom da je izvor ugljika potreban i za denitrifikaciju, vrlo dugi anaerobni HRT ima negativan učinak i na proces denitrifikacije.

Prilikom simultanog uklanjanja spojeva s dušikom i fosforom na UPOV-u, potrebno je voditi računa o HRT anaerobne odnosno anoksične faze s obzirom na limitirajući izvor ugljika. Uklanjanje spojeva s dušikom je učinkovitije pri kraćim anaerobnim HRT i duljim anoksičnim HRT, dok je za učinkovitost uklanjanja spojeva s fosforom situacija obrnuta. Brown sa suradnicima (2011) preporuča optimalan anaeroban HRT od 2h, a anoksičan HRT 4h za optimalno uklanjanje i spojeva s dušikom i spojeva s fosforom. Anaerobni HRT na UPOV-u 3. stupnja pročišćavanja može varirati od 5 do 15% (EPA 2010) od ukupnog HRT, uzevši u obzir da li je dovoljna koncentracija VFA u influentu ili je potrebno osigurati dodatno vrijeme za fermentaciju. Lopez-Vazquez sa suradnicima (2008a) je prikupio podatke o HRT u 7 nizozemskih UPOV-a, pri čemu je HRT anaerobne zone iznosio 0.5 do 2h, anoksične zone od 0 do 12h, a aerobne zone 7 do 46h ovisno o konfiguraciji UPOV-a.

2.3.4.5. Starost mulja (SRT)

Veća učinkovitost EBPR-a je uočena pri nižim SRT vrijednostima jer se na taj način smanjuje korištenje polifosfata za održavanje stanica, te se povećava izdvajanje viška aktivnog mulja (WAS) a s njime i fosfora ugrađenog u stanice PAO. S povećanjem starosti mulja, sve je veći udio neaktivne (endogene) biomase u aktivnom mulju. Za uklanjanje fosfora iz influenta, pogodno je SRT držati ispod 10 dana (Onnis-Hayden i sur., 2020). Minimalni aerobni SRT ovisi o sadržaju PHA u stanicama PAO i kinetici njegove konverzije (Brdjanovic i sur., 1998b). Ukoliko se na

UPOV-u simultano odvija i uklanjanje spojeva s dušikom, tada će duljinu SRT-a diktirati proces nitrifikacije koji provode spororastući mikroorganizmi.

PHA koji se akumulira u stanicama PAO tijekom anaerobne faze, mora se potrošiti tijekom aerobne. U suprotnom, došlo bi do nakupljanja PHA u stanicama PAO dok se ne bi postigao maksimum, a nakon toga bi došlo do smanjenja učinkovitosti EBPR-a (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

2.3.4.6. Koncentracija otopljenog kisika, produljena aeracija i gladovanje

Željena koncentracija otopljenog kisika se postiže aeracijom. Potrošnja električne energije za aeraciju čini jedan od najvećih operativnih troškova, čak 45-75% (Rosso i sur., 2008). Za uspješan unos fosfata je potrebna koncentracija otopljenog kisika od oko 2 mg/L. Kada se simultano provodi i nitrifikacija, potreba za kisikom raste i preporuča se koncentracija od 3-4 mg/L (Shebab i sur., 1996). Koncentracije otopljenog kisika iznad 4 mg/L ne doprinose većoj učinkovitosti ovih procesa. Novija istraživanja pokazuju da je nakon perioda adaptacije, moguće provesti učinkovitu nitrifikaciju pri koncentracijama od samo 0,2 mgO₂/L, te uklanjanje fosfora pri samo 0,33 mgO₂/L (Keene i sur., 2017) pri čemu dolazi do uštede oko 25% energije potrebne za aeraciju.

U uvjetima produljene aeracije i gladovanja dolazi do trošenja unutarstaničnih skladišnih polimera (PHA) koji su nužni za proces poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora. U ovakvim uvjetima je smanjen učinak poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora (Lopez i sur., 2006; Lu i sur., 2007; Brdjanovic i sur., 1998a; Temmink i sur., 1996). Nakon potrošnje PHA iz stanica PAO, u aerobnim uvjetima se počinju trošiti i polifosfatni lanci zbog čega dolazi do sekundarnog ispuštanja fosfata i povećanih koncentracija fosfora u efluentu (Carvalho i sur., 2014a). Smanjene koncentracije unutarstaničnih polifosfatnih lanaca uzrokuju manji unos VFA u anaerobnim uvjetima, što ostavlja mogućnost za proliferaciju GAO.

2.3.4.7. pH-vrijednost

Održavanje pH-vrijednosti stabilnom i neutralnom je vrlo važno za stabilnost sustava.

pH-vrijednost je posebno važna u anaerobnoj fazi (Janssen i sur., 2002, Xu i sur., 2015). Otpuštanju fosfata pogoduje povišena pH-vrijednost, te omjer otpuštenog fosfata i unesenog acetata raste s povećanjem pH-vrijednosti (Smolders i sur., 1994a i b). Količina energije potrebne za transport acetata kroz staničnu membranu jako ovisi i pH-vrijednosti. Pri niskim pH-vrijednostima nije

potrebna energija za transport acetata kroz staničnu membranu PAO, te je cijepanje polifosfatnih lanaca potrebno samo za dobivanje energije za pretvorbu acetata u acetylCoA. Na taj način je i manje otpuštenihog fosfata. Omjer otpuštenog fosfata u odnosu na uneseni acetat se kreće od 0,25-0,75 molP/molC (Smolders i sur., 1994a). Liu (1996) je predložio optimalnu pH-vrijednost od $6,8 \pm 0,7$ za otpuštanje fosfata i unos acetata u stanice PAO u aneobnim uvjetima. Pri pH manjim od 5,5 u anaerobnoj zoni, teško je uspostaviti EBPR (Randall i Chapin, 1997). Vrijednost pH iznad 8 uzrokuju smanjenje efikasnosti EBPR-a (Oehmen i sur., 2007).

2.3.4.8. Temperatura

Optimalna temperatura za rast PAO je oko 20°C, no lako se može prilagoditi i nižim temperaturama (Erdal i sur., 2003a). Visoke temperature uzrokuju povećane energetske potrebe za održavanjem stanica PAO i njihovo smanjeno umnažanje, te se smanjuje njihov udio u biomasi aktivnog mulja (Panswad i sur., 2003).

Pri niskim temperaturama se usporava aktivnost fermentabilnih mikroorganizama, zatim nitrifikanata čija se brzina nitrifikacije smanjuje za pola spuštanjem temperature za 8 do 10°C, te denitrifikanata. Posljedica je smanjena koncentracija VFA, te povećana mogućnost prisustva otopljenog kisika i nitrata u anaerobnoj zoni, što nepovoljno utječe na EBPR.

2.3.4.9. PAO – GAO kompeticija

Na PAO-GAO kompeticiju utječe mnogo faktora poput: temperature (Whang i Park, 2006; Lopez-Vazquez i sur., 2009a i b), izvora ugljika i omjera P/VFA u influentu (Oehmen i sur., 2006, Lopez-Vazquez i sur., 2009a), pH-vrijednosti (Filipe i sur., 2001a; Lopez-Vazquez i sur., 2009a), SRT (Whang i Park, 2006, Lopez-Vazquez i sur., 2009a), aeracije (Carvalho i sur., 2014a i b).

Temperatura ima značajan utjecaj na kompeticiju između PAO i GAO. PAO su mezofili i optimalna temperatura za rast im je oko 20°C ili malo niža, dok je optimalna temperatura za GAO 25-32,5°C (Panswad i sur., 2003). Pri temperaturama nižim od 20°C, GAO se ne mogu natjecati s PAO za supstrat (Erdal i sur., 2003b; Lopez-Vazquez i sur., 2009a i b) dok pri temperaturi od 5°C dolazi do ispiranja GAO iz sustava.

GAO preferiraju acetat kao izvor ugljika, dok PAO imaju mogućnost lakše prilagodbe na promjenu VFA u influentu i lako asimiliraju i acetat i propionat (Wang i sur., 2001, Oehmen 2004, 2005a, 2006). Prisutnost propionata u influentu, čak i u niskim koncentracijama, pogoduje razvoju PAO,

a ne GAO (Randall i sur., 1997, Carvalheira i sur., 2014b). GAO preferiraju visoki omjer KPK/P (oko 50 mgKPK/mgP), dok omjeri od 10-20 mgKPK/mgP pogoduju razvoju PAO (Oehmen i sur., 2007). Na omjer otpuštenog fosfata i unesenih hlapivih masnih kiselina utječe udio PAO i GAO u biomasi aktivnog mulja, pH-vrijednost, izvor ugljika u influentu, koncentracija kalcija u influentu itd. Saunders i suradnici (2003), te Schuler i Jenkins (2003) su predložili da se iz omjera $P_{\text{otpušteni}}/VFA_{\text{uneseni}}$ procjeni relativna aktivnost PAO i GAO, no to nije precizna procjena budući da postoje PAO mikroorganizmi skupine II koji imaju sposobnost energiju dobiti razgradnjom glikogena kada u stanicama nema dovoljno polifosfatnih lanaca (Welles i sur., 2015).

Wang i suradnici (2021) su uočili da na UPOV-ima u toplijim klimama, influent bogat butiratom daje prednost PAO umjesto GAO. Postupnom promjenom sastava influenta od influenta bogatog acetatima prema influentu bogatom butiratom, došlo je do promjene strukture biomase aktivnog mulja. U PAO populaciji je došlo do smanjenja udjela *Candidatus Accumulibacter phosphatis*, ali se povećao udio PAO roda *Rhodocyclaceae*. Uočeno je smanjenje udjela GAO (*Candidatus Competibacter phosphatis*).

Vargas i suradnici (2013) su proučavali utjecaj gladovanja na PAO i GAO, te zaključili da obje skupine mogu preživjeti dugotrajno "gladovanje" i brzo povratiti svoju aktivnost u uvjetima s dovoljno supstrata. Tijekom prvih 14 dana "gladovanja" PAO su trošili polifosfatne lance kao izvor energije, dok su GAO trošili glikogen prvih 26 dana. Dugotrajno gladovanje je imalo veći negativni utjecaj na PAO.

Pri pH-vrijednostima nižim od 6,5 uočena je smanjena koncentracija fosfora u mulju što upućuje na dominaciju GAO (Erdal i sur., 2008). Pri pH-vrijednostima iznad 7,25, PAO imaju prednost pri unosu VFA u anaerobnim uvjetima (Schuler i Jenkins, 2002). Osim pH-vrijednosti u anaerobnim uvjetima, bitna je i u aerobnim uvjetima. Liu i suradnici (2007) predlažu pH-vrijednost iznad 7 u aerobnoj fazi kako bi se ostvario visoki unos fosfata. Zhang i suradnici (2005) su uočili da pri niskim pH-vrijednostima, ispod 6,5, dolazi do inhibicije rasta PAO, a utjecaj na GAO nije toliko izražen.

PAO roda *Accumulibacter* imaju veći afinitet za kisik, te im pogoduju niže koncentracije otopljenog kisika (ispod 3 mg/L) u bioreaktoru za razliku od GAO (Carvalheira i sur., 2014a). Produljenje trajanja aerobnog HRT čak i pri koncentracijama otopljenog kisika od 2 mg/L,

podržuje proliferaciju GAO skupine mikroorganizama (Carvalho i sur., 2014a) radi potrošnje unutarstaničnih polimera (PHA i polifosfata) kod PAO skupine mikroorganizama.

Kod UPOV-a s trećim stupnjem pročišćavanja, potrebno je voditi računa o dovoljnoj koncentraciji kisika i aerobnom HRT-u za provedbu procesa nitrifikacije. Smanjenjem koncentracije otopljenog kisika s 2 mgO₂/L na 0,8 mgO₂/L uočeno je povećanje učinkovitosti uklanjanja fosfora, no i smanjenje brzine nitrifikacije (Ginige i sur., 2013) uz povećanje N₂O emisije (Kampschreur i sur., 2009). Niske koncentracije kisika (manje od 1,1 mgO₂/L) u aerobnoj fazi mogu imati za posljedicu i otežano taloženje mulja u sekundarnim taložnicima (Martins i sur., 2003) zbog pojave filamentoznih bakterija koje uzrokuju plivajući mulj, ili zbog pojave denitrifikacije u sekundarnim taložnicima.

Vrlo visoki SRT, viši od onog potrebnog za nitrifikaciju, pridonosi razvoju GAO i nije povoljan za EBPR (Onnis-Hayden i sur., 2020; Whang i Park, 2006).

Istraživanja vezana uz kompeticiju PAO i GAO su najčešće provedena u laboratorijskim uvjetima. Na UPOV-ima su istraživanja pokazala da je moguće imati učinkovit EBPR proces bez obzira na prisutnost GAO (Stokholm-Bjerregaard i sur., 2017; Saunders i sur., 2003; Lanham i sur., 2013) čak i u toplijim klimama (Qiu i sur., 2019; Ong i sur., 2014). Nielsen i suradnici (2019) smatraju da je prisutnost GAO na UPOV-ima dobar znak, jer će se pojaviti samo kada ima fermentabilog supstrata i VFA u suvišku.

2.3.4.10. Istovremeno kemijsko taloženje fosfora

Kemijsko taloženje fosfora dodatkom soli aluminijske i željezne se često koristi na UPOV-ima za postizanje željenih koncentracija fosfora u efluentu. S obzirom na osjetljivost EBPR procesa na mnoge faktore, često se UPOV-ima dodatno ugrađuje i oprema za kemijsko uklanjanje fosfora kako bi se osiguralo konstantno poštivanje zakonskih ograničenja za ispuštanje efluenta. Doziranje kemikalija može biti u primarni taložnik, direktno u bioeracijske bazene, izgradnjom dodatnih bazena i taložnica ili filtracija za naknadno taloženje ili izgradnjom dodatne linije za taloženje fosfora iz mulja (Phostrip proces). Liu i suradnici (2011) su proučavali utjecaj kemijskog taloženja na EBPR. Zaključili su da soli aluminijske imaju značajan inhibitorni utjecaj na anaerobno otpuštanje fosfata (skoro 25% prilikom dodavanja 10 mg/L Al-soli). Dugotrajnim dodavanjem soli aluminijske dolazi do akumulacije aluminijske u aktivnom mulju, te je inhibitorni učinak još izraženiji. Nakon 6

mjeseci doziranja soli aluminijske, otpuštanje fosfata u anaerobnim uvjetima je zanemarivo. S dugotrajnim dodavanjem aluminijske u sustav i njegovom akumulacijom u aktivnom mulju, povećava se i inhibitorni učinak na AOB skupinu mikroorganizama, no s prestankom dodavanja aluminijske, aktivnost AOB se vraća. S obzirom na navedeno, Liu i suradnici (2011) predlažu povremenu obustavu doziranja na nekoliko dana kako bi se povratila nitrifikacijska aktivnost. Osim inhibitornog utjecaja na nitrifikante i PAO, doziranje PAC utječe i na mikrobnu raznolikost aktivnog mulja, te strukturu flokula aktivnog mulja (Zheng i sur., 2017). Flokule postaju manje i kompaktnije, te nestaju filamentozne bakterije (Yang i sur., 2019).

Dodavanje soli željeza (Fe^{2+} i Fe^{3+}) u manjim koncentracijama (do 30 mg/L) ima puno manji inhibitorni učinak na EBPR od soli aluminijske.

2.4. Biološko uklanjanje dušika i fosfora iz otpadne vode

Uvođenjem biološkog uklanjanja nutrijenata (dušika i fosfora, engl. BNR – biological nutrient removal) ostvaruju se mnoge prednosti. Uvođenje anaerobne zone na početku poboljšat će taloženje mulja. Smanjit će se rast filamentoznih bakterija, te će gustoća mulja biti veća zbog prisutnog fosfora u stanicama PAO.

Negativni utjecaji se odnose na povećanje operativnih troškova UPOV-a u odnosu na pročišćavanje drugog stupnja, te emisiju stakleničkog plina N_2O i NO . Povećani troškovi se najčešće odnose na izgradnju dodatnih bazena, potrebu dodatnih pumpi za recirkulacije, dodatnu aeraciju, te ponekad troškovi dodatka vanjskog izvora ugljika. Poznato je da tijekom procesa uklanjanja dušika može doći do stvaranja stakleničkih plinova N_2O (Ahn i sur., 2009).

Uvođenjem pred denitrifikacije doći će do uštede na troškovima za aeraciju tijekom nitrifikacije s obzirom da će denitrificirajući heterotrofi koristiti nitrat umjesto kisika za uklanjanje dijela BPK_5 .

Prilikom uvođenja biološkog uklanjanja dušika i fosfora nadogradnjom postojećih UPOV-a ili izgradnje novih, potrebno je voditi računa o nekoliko ključnih parametara. Potrebno je uskladiti potrebu za lako-biorazradivim izvorom ugljika u influentu koji je potreban za EBPR kao i za denitrifikaciju, zatim uskladiti starost mulja, te obratiti pozornost na procese tijekom taloženja mulja.

2.4.1. Strategija prihranjivanja u koracima

Prilikom simultanog uklanjanja spojeva s dušikom i fosforom na UPOV-u, potrebno je voditi računa i o izvoru ugljika potrebnom za proces denitrifikacije. Ukoliko je prisutan anaerobni bioreaktor u kojem PAO asimiliraju VFA, često nakon procesa nitrifikacije, kada uz prisustvo kisika obični heterotrofni mikroorganizmi oksidiraju biorazgradivu organsku tvar, nema dovoljno izvora ugljika za provedbu procesa denitrifikacije. U tom je slučaju moguće primijeniti strategiju prihranjivanja u koracima (engl. step-feed), gdje se dio influenta kao izvor spojeva s ugljikom dodaje direktno u bazen gdje/kada se provodi denitrifikacija. Mnogi autori (Lee i sur., 2007; Cao i sur., 2013) su objavili značajno poboljšanje efikasnosti uklanjanja nutrijenata nakon primjene prihranjivanja u koracima. Na taj se način smanjuje koncentracija organskih tvari na početku aerobne faze što ima za posljedicu smanjenu potrebu za kisikom tijekom aerobne faze (Guo i sur., 2008). Smanjeno organsko opterećenje ima povoljan utjecaj na autotrofne nitrifikante i na PAO-GAO kompeticiju.

Ukoliko influent ne sadrži dovoljne količine biorazgradivog izvora ugljika za provedbu denitrifikacije, potrebno je osigurati vanjski izvor poput acetata, metanola, etanola, nusproizvoda prehrambene industrije (npr. proizvodnje šećera ili piva) ili izvor ugljika osigurati na samom UPOV-u fermentacijom primarnog ili sekundarnog mulja. Omjer ugljika i dušika za potpunu denitrifikaciju (uz KPK potreban za rast biomase) iznosi otprilike 3,5-4,5 gKPK/gN (Henze i sur., 1994). Brzina denitrifikacije ovisi o biorazgradivosti izvora ugljika, te je najveća uz acetat (Tam i sur., 1992).

Niski omjer KPK/N tijekom denitrifikacije, te povećane koncentracije nitrita i niske koncentracije otopljenog kisika tijekom nitrifikacije i denitrifikacije su najznačajniji operativni parametri povezani s emisijom stakleničkog plina N_2O (Kampschreur i sur., 2009).

2.4.2. Naizmjenična aeracija

Naizmjenična aeracija (engl. intermittent aeration) ima brojne prednosti u odnosu na kontinuiranu aeraciju poput poboljšanog uklanjanja spojeva s dušikom (Pan i sur., 2013), smanjene potrebe za aeracijom i izvorom ugljika, te smanjene produkcije aktivnog mulja što sve utječe na smanjenje operativnih troškova (Asteriadis i sur., 2021; Miao i sur., 2022). Liu i suradnici (2021) su uočili da, uz veću učinkovitost uklanjanja spojeva s dušikom i fosforom, naizmjenična aeracija povoljno utječe na smanjenje emisije plina N_2O koji se smatra dominantnim u razgradnji ozonskog sloja.

2.4.3. Starost mulja (SRT)

Za EBPR je poželjan kraći SRT, no zbog potrebe provedbe nitrifikacije, potrebno je podesiti SRT tako da se spororastući nitrifikanti stignu namnožiti u dovoljnoj koncentraciji. Kako bi se osigurala potpuna nitrifikacija i tijekom zime, kada su temperature i aktivnost mikroorganizama niže, potrebno je proces voditi s dužim SRT. Posljedično, to znači veći volumen bazena i veće investicijske troškove. Uzimajući u obzir brzinu rasta ($\mu=0,516 \text{ d}^{-1}$) i brzinu odumiranja nitrifikanata ($b=0,135 \text{ d}^{-1}$) pri minimalnoj temperaturi pri kojoj je potrebno postići uklanjanje spojeva s dušikom (12°C), te potrebnu anaerobu i anoksičnu masenu frakciju mulja ($f=45\%$) uz uključen sigurnosni faktor ($SF=2.5$) zbog varijacija u protoku, Dold i Conidi (2019) su pomoću jednadžbe 5 izračunali da bi SRT trebao biti otprilike 17 dana.

$$SRT = \frac{1}{(1-f)*\mu-b} * (SF) \quad \text{jednadžba (5)}$$

Prema Ekama i suradnici (2020), minimalni aerobni SRT bi trebao iznositi između 8 i 10 dana.

Moguće je i uvođenje nosača za stvaranje biofilma kako bi se povećala koncentracija biomase aktivnog mulja u bazenu. Time se smanjuje potreban volumen bazena, no povećavaju se troškovi aeracije (Hu i sur., 2012).

Ukoliko se neposredno prije taloženja provodi aeracija, te ako postoji dovoljno izvora ugljika, tijekom taloženja će se odvijati proces denitrifikacije pri čemu nastaje plinoviti dušik. Plinoviti dušik će prilikom izlaska remetiti proces taloženja mulja.

Također postoji velika mogućnost da se nitrati i nitriti nastali tijekom zadnje aerobne faze, prenesu u početnu anaerobnu zonu. Tada dolazi do smanjenja učinkovitosti EBPR-a zbog anoksičnih umjesto anaerobnih uvjeta gdje denitrificirajući heterotrofi efikasnije koriste lako-biorazgradive izvore ugljika, posebice VFA, od PAO. To je primjećeno kod A²/O konfiguracije gdje gdje influent prolazi kroz anaerobni, zatim anoksični, pa aerobni bioreaktor nakon čega slijedi taložnik. Projektirane su nove konfiguracije koje smanjuju mogućnost pojave nitrata u anaerobnom bioreaktoru poput Bardenpho konfiguracije s 5 faza, UCT konfiguracije (University of Cape Town) i njegove modifikacije, Johannesburg konfiguracije (Osborn i Nicholls, 1978).

Uvođenje nitrifikacije povećava troškove za aeraciju za oko 50% uspoređujući s troškovima aeracije za organske sastojke (KPK). Ukoliko se na UPOV-u provodi nitrifikacija, poželjno je

osigurati uvjete i za denitrifikaciju kako bi se dovršio proces uklanjanja spojeva s dušikom, te obnovilo alkalitet i ostvarilo uštede na operativnim troškovima. Naime, uvođenjem denitrifikacije, pogotovo preddenitrifikacije, dio spojeva s ugljikom se utroši tijekom anoksične faze, te za njih nije potreban kisik. Ušteda na troškovima aeracije nadmašuje troškove miješanja i recirkulacije.

Troškovi za aeraciju rastu s porastom SRT, zbog potrebe za dodatnim kisikom za stabilizaciju biomase i nitrifikaciju amonija otpuštenih iz stanica koje su odumrle.

Postoje mnoge procesne konfiguracije, a zajedničko im je da je anaerobna zona prva u nizu, te da su recirkulacije osmišljene tako da se na najmanju moguću mjeru smanji mogućnost pojave nitrata u anaerobnoj zoni.

2.4.4. SBR tehnologija

SBR tehnologija (engl. Sequencing Batch Reactor) se temelji na odvijanju svih procesa u jednom bioreaktoru, bez potrebe za sekundarnim taložnikom. Glavni koraci u radu su punjenje, obrada, taloženje, dekantiranje i mirovanje do početka novog ciklusa. Trajanje svake od faza se može podesiti kako bi najbolje odgovaralo potrebama pročišćavanja. Prvenstveno je zamišljen za uklanjanje organskih tvari (smanjenje KPK i BPK₅), te suspendiranih tvari (TSS). Uvođenjem faze bez miješanja i aeracije na početku – tijekom i nakon punjenja (anaerobna faza), te faze bez aeracije ali uz miješanje tijekom faze obrade (anoksična faza), SBR može učinkovito uklanjati i spojeve s dušikom i fosforom (Surampalli i sur., 1997). Kada u bioreaktor dolazi influent bogat izvorima ugljika i miješa se s prisutnom biomasom aktivnog mulja, stvaraju se uvjeti visokog F/M omjera (omjer hrane i mikroorganizama, engl. food to microorganisms) koji pogoduju stvaranju kompaktnih flokula aktivnog mulja i pridonose boljem taloženju aktivnog mulja. Tijekom faze punjenja, bioreaktor može biti aeriran ili bez aeracije. Uvjeti bez aeracije i uz obilje izvora ugljika pogoduju razvoju PAO skupine mikroorganizama odgovornih za poboljšano biološko uklanjanje fosfora. Faza punjenja se može odvijati uz aeraciju ili bez nje. Tijekom aeracije se odvijaju procesi oksidacije organskih tvari i nitrifikacija, dok se tijekom faze bez aeracije odvija denitrifikacija.

SBR se jednostavno može prilagoditi uvjetima promjenom SRT, te podešavanjem trajanja ciklusa i pojedinih faza tijekom obrade otpadnih voda, te je zbog toga posebno pogodan za obradu otpadne vode promjenjivog sastava. Upotrebom on-line senzora pH, otopljenog kisika (engl. DO – dissolved oxygen) i oksidacijsko redukcijskog potencijala (ORP) moguće je u realnom vremenu

optimizirati rad i postići vrlo visoku kvalitetu efluenta (Lee i sur., 2001) uz uštedu na operativnim troškovima u usporedbi s konvencionalnim sustavom pročišćavanja.

Učinkovito taloženje, bez pojave plivajućeg mulja ili denitrifikacije također je bitno za postizanje tražene kakvoće efluenta. Ovisno o sadržaju fosfora u aktivnom mulju, svakih 10 mgTSS/L u efluentu doprinosi s 0,5 do 0,18 mgP/L (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Učinkovito uklanjanje TSS iz efluenta se može postići filtracijom na pješčanom filtru ili ultrafiltracijom (kod membranskih bioreaktora).

2.5. Obrada viška mulja

Kada se mulj obogaćen fosforom drži u anaerobnim uvjetima (bez kisika, nitrata i nitrita) gdje nema hlapivih masnih kiselina doći će do ispuštanja fosfora iz stanica PAO. Obzirom da su stanične rezerve PHB potrošene, naknadnom aeracijom takvog mulja, neće doći do ponovnog unosa fosfata u stanice bez prisustva VFA (Barnard, 2006). Ovakve se okolnosti susreću pri anaerobnoj obradi mulja.

Pri mehaničkom ugušćivanju će doći do ispuštanja manje fosfata nego pri gravitacijskom zbog kraćeg vremena zadržavanja (Bott i sur., 2007), dok je DAF (engl. dissolved air flotation) proces najpovoljniji u tom pogledu.

U anaerobnom digestoru, višak mulja obogaćen PAO će ispuštati fosfate koji će s magnezijem i amonijem stvarati struvit (magnezij-amonij-fosfat $MgNH_4PO_4$) koji se brzo formira. Stvaranjem struvita, fosfor prevodimo u oblik u kojem se može ponovno upotrijebiti. Dehidracija takvog mulja može uzrokovati začepeljivanje kod centrifuga, dok u radu presa nije uočeno većih problema. Treba imati na umu da će i u vodi od dehidracije biti prisutni fosfati. Ukoliko u influentu nema dovoljno VFA, treba razmisliti o kemijskom taloženju u superntantu nakon anaerobne digestije ili u samom digestiranom mulju kako bi se oslobođeni fosfat istaložio i izdvojio s dehidriranim muljem umjesto da se ponovno vraća na obradu (Bott i sur., 2007)

2.6. Karakterizacija aktivnog mulja pomoću FISH tehnike

Razvoj PAO skupine mikroorganizama može se pratiti putem. FISH je kratica za Fluorescentnu *In Situ* Hibridizaciju. Ova tehnika koja omogućava vizualizaciju pojedinačnih stanica

mikroorganizama u složenim sredinama kao što je aktivni mulj u bioreaktorima UPOV-a (Nielsen, 2009).

Pomoću FISH mikroskopske analize moguće je procijeniti koliko je mikroorganizam od interesa zastupljen u aktivnom mulju. Koriste se oligonukleotidne probe (kratki lanci nukleinske kiseline) koje ulaze u stanice mikroorganizama aktivnog mulja i stvaraju čvrste veze s komplementarnim dijelovima nukleinskih kiselina ako ih ima. Oligonukleotidne probe sadrže i boju koja je vidljiva na mikroskopu ukoliko dođe do hibridizacije.

2.7. Modeliranje uređaja za pročišćavanje otpadnih voda

Model predstavlja pojednostavljen prikaz sustava kojim opisujemo najvažnije procese (Wentzel i Ekama, 1997). Razumijevanje procesa obrade otpadne vode je doseglo razinu kada ih je moguće opisati matematičkim jednadžbama i vršiti simulacije (Gernaey i sur. 2004).

Modeliranje procesa s aktivnim muljem danas je uobičajeno prilikom projektiranja i optimizacije rada UPOV-a. Upotreba modela omogućuje razmatranje mnogih scenarija na UPOV-u bez da se mijenjaju uvjeti na stvarnom UPOV-u. To omogućava bolje razumijevanje procesa, te racionalizaciju njegovog rada. Simulatorski softveri su moćan alat koji nam pomaže u tome.

Kod modela stacionarnog stanja se koriste konstantni protoci i koncentracije, te su relativno jednostavni i korisni pri projektiranju. Potrebno je puno manje podataka. Dinamički modeli su puno kompliciraniji jer uzimaju u obzir varijacije u protoku i koncentracijama tijekom vremena. Vrlo su korisni kod predviđanja odgovora sustava na promjene. Za postavljanje dinamičkog modela potrebno je puno više podataka o sustavu, te kinetičkih i stehiometrijskih konstanti.

Godine 1982. osnovana je radna skupina koja je razvila prvi dinamički model nazvan Activated Sludge Model (ASM1) (Henze i sur., 1987). Temelji se na Monodovoj kinetici i opisuje procese uklanjanja organske tvari (izražene kao KPK) i dušika, te potrošnju kisika i produkciju mulja. ASM2 model (Henze i sur., 1995) dodatno opisuje i poboljšano biološko uklanjanje fosfora (rast PAO u aerobnim uvjetima i reakcije u aerobnim anoksičnim i anaerobnim uvjetima). ASM2d model (Henze i sur., 1999) je obuhvatio i DPAO procese. S porastom znanja o procesima koji se odvijaju unutar stanice mikroorganizama aktivnog mulja, razvijen je ASM3 model, koji detaljnije opisuje iste procese kao i ASM1 model (Gujer i sur., 1999, Henze i sur., 2000).

ASM modeli su implementirani u većinu simulacijskih softwera poput GPS-X, SIMBA, BioWin, WEST, AQUASIM,...

Prednosti korištenja modela su brojne. Pomoću njih se može dobiti uvid u rad UPOV-a, provjeriti različite mogućnosti njihove nadogradnje, optimizacije procesa. Modeli su također jako korisni pri procjeni projekata novih UPOV-a, usporedbi razmatranih tehnologija i njihovom vrednovanju. Modeli se koriste i prilikom edukacije osoblja na UPOV-u i na fakultetima. Promjenom uvjeta rada UPOV-a ili sastava influenta u modelu, jednostavno se može vidjeti kakve će posljedice imati na rad UPOV-a i kvalitetu efluenta.

Modeli se mogu koristiti u cijelom životnom ciklusu UPOV-a, od odabira tehnologije, preko projektiranja, edukacije osoblja, pokusnog rada, optimizacije, rješavanja problema u radu. Najveće uštede se mogu učiniti kod upotrebe modela na početku ciklusa, tijekom odabira tehnologije i projektiranja.

Izrada matematičkog modela podrazumijeva kvantitativni opis sustava – brzine odvijanja procesa, stehiometrijski omjeri tvari koje međusobno reagiraju, njihove koncentracije.

Važni koraci u procesu modeliranja UPOV-a su (Meijer i Brdjanovic, 2012):

1. Definicija cilja/svrhe projekta
2. Opis svih objekata UPOV-a, shema protoka
3. Prikupljanje i vrednovanje prikupljenih podataka o radu UPOV-a
4. Kalibracija i simulacija modela
5. Nadogradnja i validacija
6. Procjena rada UPOV-a
7. Modeliranje scenarija

Za potrebe matematičkog modeliranja je razvijeno nekoliko protokola koji uključuju različite metode karakterizacije influenta, metode procjene različitih kinetičkih parametara, različite eksperimentalne pristupe, odabir različitih parametara koje kalibriramo itd. Najpoznatiji su:

- STOWA protokol (Hulsbeek i sur., 2002)
- BIOMATH protokol (Vanrolleghem i sur., 2003)
- WERF protokol za kalibraciju modela (Melcer i sur., 2003)

- HSG smjernice (Langergraber i sur., 2003)

Zajedničke karakteristike svih protokola su definiranje cilja, provjera i usklađivanje kakvoće podataka, dodatna mjerenja i validacija modela. Ono po čemu se razlikuju su oblikovanje dodatnih mjerenja, odabir eksperimentalnih metoda za procjenu influenta i kinetičkih parametara, te kalibraciji parametara modela. Svaki od protokola ima svoje prednosti i nedostatke koje je analizirao Sin sa suradnicima (2005) upotrebom SWOT analize (engl. Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats).

2.7.1. Karakterizacija influenta

U bioreaktoru se odvijaju razne pretvorbe, fizikalne, kemijske i biološke, stoga je potrebno poznavati sastav otpadne vode, tj. znati koliko je onečišćenja u otopljenom, netaloživom ili taloživom stanju, da li su organskog ili anorganskog porijekla, da li su biorazgradivi ili nisu.

Tablica 2. Transformacije organskih i anorganskih tvari iz otpadne vode na UPOV-u (preuzeto iz Ekama i Wentzel, 2020)

sastavni dio otpadne vode			reakcija	sastavni dio mulja		
organski	toplјiv	otoplјen	nebiorazgradiv	izlazi s efluentom		
			biorazgradiv	transformira se u biomasu aktivnog mulja	TSS	VSS
	čestični	suspendiran	nebiorazgradiv	upliće se u aktivni mulj (organske suspendirane nerazgradive tvari)		
			biorazgradiv	transformira se u biomasu aktivnog mulja		
		taloživ	nebiorazgradiv	upliće se u aktivni mulj		
			biorazgradiv	transformira se u biomasu aktivnog mulja		
anorganski	čestični	taloživ	upliće se u aktivni mulj (anorganske suspendirane tvari)			
		suspendiran				
	toplјiv	taloživ	transformira se u taložive tvari			
		biološki iskoristiv	prelazi u	krutine	izlazi kao plin	
				plin		
nije moguće istaložiti niti biološki iskoristiti	izlazi s efluentom					

Tvari su prvo podijeljene na organske i anorganske, zatim na otopljene i čestične (suspendirane i taložive), te na posljertku na biorazgradive i ne biorazgradive (Tablica 2).

Biorazgradive organske tvari (otopljene, taložive ili netaložive) se prevode u biomasu heterotrofnih organizama (X_{BH}). Umiranjem heterotrofne biomase nastaju biološki nerazgradive čestične organske tvari (stanične stijenje) nazvane endogeni ostatak (X_{EH}). Biološki nerazgradive suspendirane i taložive organske tvari iz influenta (X_I) se upliću u flokule aktivnog mulja u bioreaktoru. Sve zajedno čini organsku komponentu taloživih tvari koja se nakuplja u bioreaktoru i koju je moguće izraziti pomoću hlapivih suspendiranih tvari (engl. VSS – volatile suspended solids) u bioreaktoru (Tablica 2).

Anorganske taložive i suspendirane tvari, te taložive otopljene anorganske tvari čine anorganske taložive tvari (ISS). Anorganske tvari (amonij, nitriti, nitrati) koje biomasa aktivnog mulja može iskoristiti, prevode se u plin (najčešće N_2) procesima nitrifikacije i denitrifikacije. Anorganske tvari koje su biološki nerazgradive i u otopljenom stanju izlaze iz bioreaktora s efluentom. Sav čestični materijal, se upliće u biomasu aktivnog mulja.

Biološki nerazgradiva čestična tvar se nakuplja u bioreaktoru i tako utječe na količinu nastalog mulja. Biološki nerazgradiva otopljena tvar izlazi iz UPOV-a s efluentom.

Određivanje BPK_5 je dugotrajno i podložno mnogim utjecajima (vrijeme proteklo od uzorkovanja do analize, primjenjena razrjeđenja, adaptiranost naci jepljenih mikroorganizama na influent, prisutnost S_2^- u influentu, itd), te je stoga neprecizno. Preciznije i brže je određivanje KPK. Mjerenjem KPK u određenim frakcijama influenta i efluenta, te računskim putem, dobivamo bolji uvid u sastav otpadne vode po pitanju izvora ugljika.

2.7.2. Kalibracija

Kalibracija predstavlja podešavanje parametara modela za svaki pojedini slučaj kako bi razlike između mjerenih podataka i onih iz modela bile što manje. Za uspješnu kalibraciju, potrebno je detaljno poznavanje i razumijevanje principa modela, jer inače kalibracija može postati dugotrajna i mukotrpan posao s upitnim rezultatom.

Kako bi se model prilagodio eksperimentalnim podacima, obično je potrebno promijeniti, odnosno uskladiti samo nekoliko parametara. Većina parametara će ostati nepromijenjena jer su njihove vrijednosti kod većine UPOV-a iste ili slične. Neki od takvih parametara su prirast rasta

heterotrofne biomase na produktima fermentacije i fermentabilnom lako-biorazgradivom organskom supstratu, te prirast autotrofne biomase na nastalom nitratu (Henze i sur., 2000). Prilikom kalibracije se u isto vrijeme ne bi trebalo mijenjati više od jednog parametra zbog njihove složene međuovisnosti.

2.7.3. Validacija (provjera)

Validacija predstavlja usporedbu izlaznih podataka modela s neovisnom grupom podataka (koji nisu korišteni za kalibraciju) kako bi se utvrdilo da li je model odgovara svrsi utvrđenoj na početku.

Za validaciju je potrebno koristiti podatke koji su izmjereni u različitim vremenskim uvjetima od onih korištenih za kalibraciju.

Matematički modeli koji opisuju procese uklanjanja ugljika, dušika i fosfora su vrlo kompleksni. Razvijeni su posebni kompjutorski programi (simulatori) koji nam omogućavaju bolji pregled i rad s modelom. Prilikom izrade matematičkog modela UPOV-a u simulatoru, potrebno je napraviti shemu protoka otpadne vode kroz UPOV (bazeni s različitim uvjetima, taložnici, ...), unesti podatke o influentu, te operativnim parametrima. Svaki model je prije upotrebe potrebno kalibrirati i validirati.

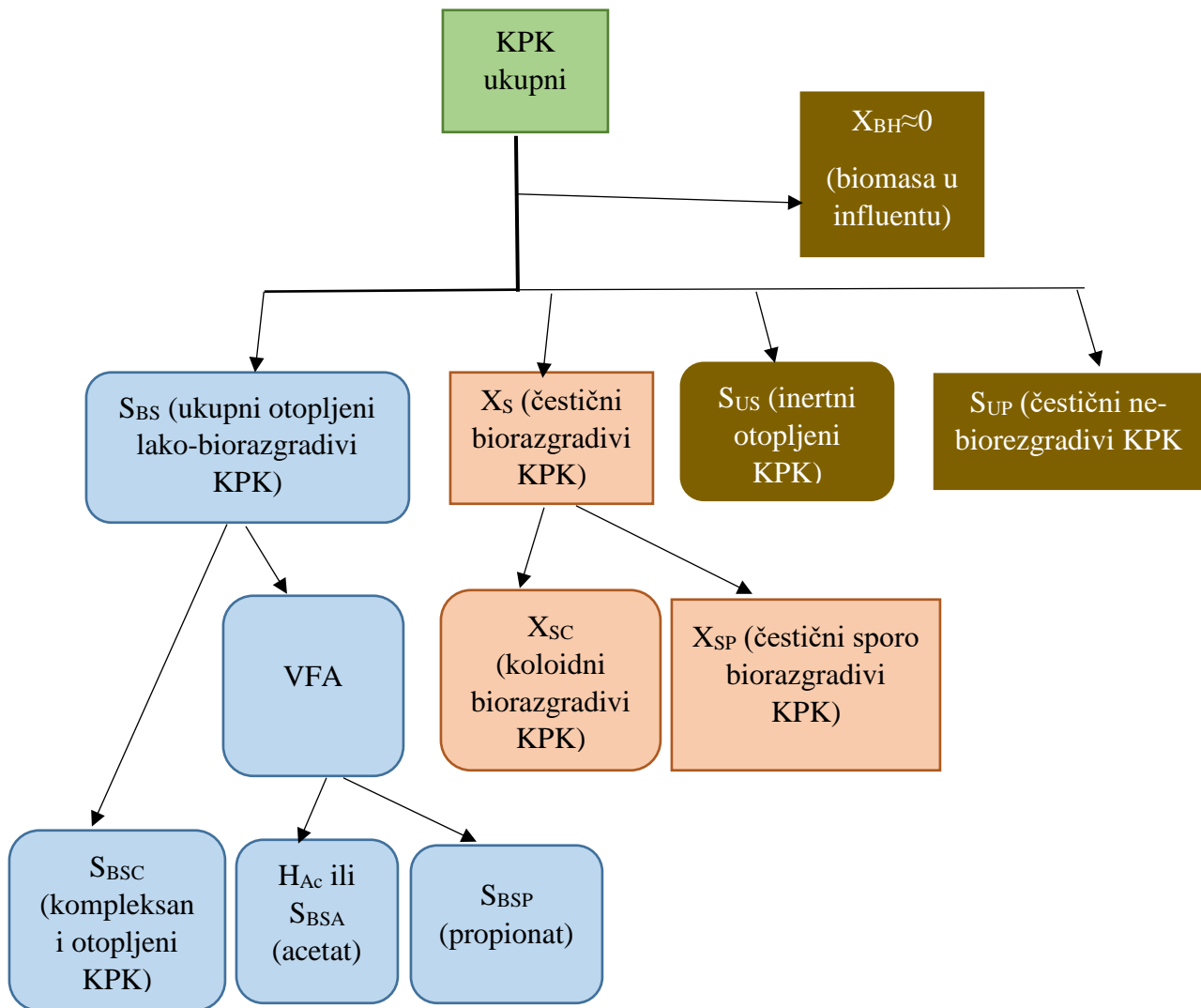
2.7.4. BioWin simulator

Za simulacije rada UPOV Koprivnica, korišten je softver za simulaciju UPOV-a BioWin. koji je razvila tvrtka EnviroSim Ltd. (at www.envirosim.com). BioWin je simulator koji se temelji na Microsoft Windows-ima i koristi se za analize i projektiranje UPOV-a. Koristeći procesne module BioWina mogu se konstruirati mnogi tipovi UPOV-a bez obzira na tehnologiju, tj. različiti SBR, MBBR, MBR, konvencionalni sustavi s aktivnim muljem (s površinskom i dubinskom aeracijom), zatim aerobni i anaerobni digestori, te različiti tipovi sekundarnih taložnika. U konfiguraciju se mogu uključiti i dodatni elementi poput kemijskog taloženja fosfora, dodatka metanola za denitrifikaciju, egalizacijski bazeni, razdjelnici protoka, jedinice za ugušćivanje mulja (Meijer i Brdjanovic, 2012).

Kako bi simulacijski model davao razumne pretpostavke ponašanja sustava, potrebno je dobro poznavati sastav influenta, te kinetičke karakteristike procesa, pogotovo nitrifikacije. Prilikom karakterizacije influenta potrebno je provesti ispitivanja kako bi se odredile frakcije organskog materijala (biorazgradive, ne-biorazgradive, otopljene, čestične) koje su iznimno bitne za

predviđanje koncentracije KPK u efluentu, količine stvorenog mulja i potrebu za kisikom. Također, potrebno je odrediti i koncentracije spojeva s dušikom, te fosforom.

BioWin u odnosu na STOWA protokol karakterizacije influenta sadrži dodatne frakcije KPK (propionat, te podjelu čestičnog biorazgradivog KPK na koloidni i sporo biorazgradivi čestični materijal), što je prikazano na slici 4. Plavom bojom su označeni lako-biorazgradivi organski spojevi, narančastom sporo-biorazgradivi, a smeđom inertni i teško biorazgradivi organski spojevi.



Slika 4. Podjela ukupnog KPK u BioWin simulatoru (Meijer i Brdjanovic, 2012).

Osim karakteristika influenta, potrebno je definirati i cijeli niz parametara (stehiometrijskih i kinetičkih) poput prirasta biomase, brzine rasta itd. kako bi model mogao predvidjeti ponašanje sustava. Istraživanja su pokazala da se mnogi od tih parametara ne mijenjaju značajno za različite sustave obrade otpadne vode. Iznimka je maksimalni specifični rast nitrificirajućih organizama koji je nužno odrediti na UPOV-ima s uklanjanjem spojeva s dušikom. Kinetika nitrifikacije je, uz protoke i terete u otpadnoj vodi, iznimno važna prilikom proračuna veličine bazena za biološku obradu, što direktno utječe na cijenu samog UPOV-a. Predložene vrijednosti kinetičkih i stehiometrijskih parametara su sastavni dio simulatora i mogu se koristiti ukoliko nemamo vlastita, preciznija mjerenja (Prilog 2).

U BioWin simulatoru je moguće pratiti i prilagođavati kinetičke i stehiometrijske parametre za ove skupine mikroorganizama:

Amonij oksidirajuće bakterije (AOB, BioWin: Ammonia Oxidizing Biomass) su autotrofi i provode pretvorbu amonija u nitrite.

Nitrit oksidirajuće bakterije (NOB, BioWin: Nitrite Oxidizing Biomass) su također autotrofi i provode pretvorbu nitrita u nitrate.

Anaerobne amonij oksidirajuće bakterije (AAO, BioWin: Anaerobic Ammonia Oxidizers) prevode amonij direktno u plinoviti dušik koristeći nitrit kao elektron akceptor umjesto kisika. Imaju vrlo nisku brzinu rasta, stoga je potrebna veća starost mulja.

Obligatne anaerobne mikroorganizme dijeli na acetoklasitične metanogene organizme (BioWin: Acetoclastic methanogenic) i hidrogenotrofne metanogene organizme (BioWin: Hydrogenotrophic methanogenic). Acetoklastični metanogeni organizmi pretvaraju acetat (ili metanol) u metan i ugljični dioksid. Hidrogenotrofni metanogeni organizmi prevode ugljični dioksid ili metanol) i vodik u metan i vodu.

Acetogene bakterije (BioWin: Propionic acetogenic) također rastu samo u anaerobnim uvjetima. One prevode propionat u acetat, vodik i ugljični dioksid. Nastali vodik, inhibira sam proces pri visokim koncentracijama.

Obični heterotrofni organizmi (OHO, BioWin: Ordinary Heterotrophic Organisms) mogu u aerobnim uvjetima rasti na acetatu, propionatu, lako-biorazgradivom i teže-biorazgradivom supstratu i metanolu. U anoksičnim uvjetima ne mogu koristiti metanol. Od OHO koji mogu

provoditi denitrifikaciju, dio može koristiti i nitrat i nitrit i prevoditi ih u plinoviti dušik, a ostali dio denitrificirajućih OHO može samo koristiti nitrate i prevoditi ih u nitrite.

Metilotrofi (BioWin: Methylophilic) su specijalizirani heterotrofi zaduženi za anoksičnu razgradnju metanola.

Fosfor akumulirajući organizmi (PAO, BioWin: Phosphorus Accumulating Organisms) u anaerobnim uvjetima unose hlapive masne kiseline i otpuštaju fosfate, koje u aerobnim i/ili anoksičnim uvjetima unose u svoje stanice

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Karakterizacija uređaja za pročišćavanje otpadnih voda grada Koprivnice

3.1.1. Sustav odvodnje i uređaj za pročišćavanje otpadnih voda grada Koprivnice

Sustav odvodnje grada Koprivnice prikuplja otpadne vode s područja grada Koprivnice i prigradskih naselja Štaglinec, Reka, Kunovec Breg, Starigrad, Draganovec, Herešin, Koprivnički Bregi, Koprivnički Ivanec, Bakovčice, Glogovac i Peteranec, te industrijske zone. Na području grada Koprivnice, te naselja Štaglinec, Reka i Herešin, izgrađen je mješoviti sustav odvodnje koji prikuplja otpadne vode kućanstava i oborinske vode. Sustav odvodnje prigradskih naselja Starigrad, Draganovec, Kunovec Breg, Koprivnički Bregi, Koprivnički Ivanec, Glogovac i Peteranec je izgrađen kao fekalni sustav odvodnje.

Industrijska zona grada Koprivnice, “Danica” ima razdjelni sustav odvodnje i tri uređaja za predtretman industrijskih otpadnih voda i to otpadnih voda pivovare “Carlsberg Croatia”, mesne industrije “Danica” d.o.o. i tvornice Kvasca koja nije u funkciji. U Koprivnici posluju i Podravka d.d. (prehrambena industrija), Bilokalnik IPA d.d. i Hartmann (papirna industrija), te Belupo d.d. (farmaceutska industrija). Predtretmanom se iz industrijskih otpadnih voda uklanjaju uglavnom suspendirane tvari i lako-biorazgradive organske tvari do razine dopuštene za ispuštanje u sustav odvodnje grada Koprivnice koje su im propisane vodopravnim dozvolama.

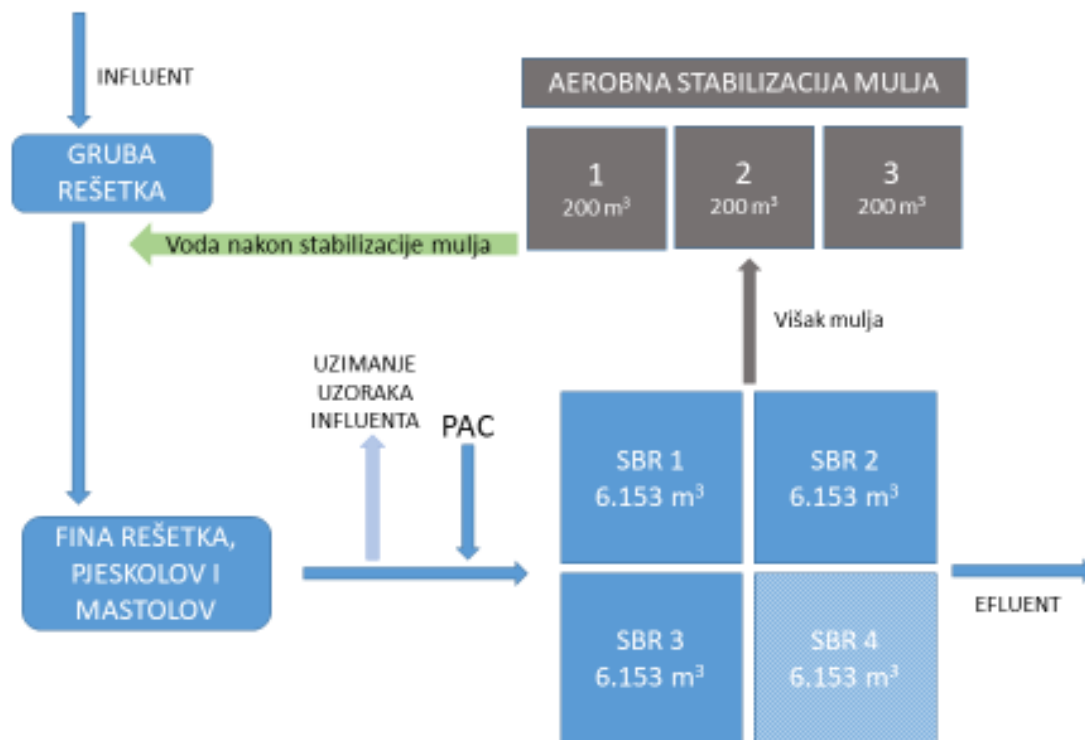
Sustav odvodnje je dugačak oko 218 km, većinom je gravitacijski, uz 23 crpne stanice.

UPOV grada Koprivnice, smješten je u naselju Herešin. Izgrađen je 2007. godine kao uređaj trećeg stupnja pročišćavanja kapaciteta 100.000 ES. Treći stupanj pročišćavanja uključuje uklanjanje spojeva s dušikom i fosforom uz uklanjanje organskih i suspendiranih tvari.

UPOV se sastoji od grube rešetke, kompaktne mehaničke obrade koja uključuje finu rešetku, pjeskolov i mastolov u samo jednom kućištu (Slika 6). Biološka obrada s aktivnim muljem se odvija SBR (engl. Sequencing Batch Reactor) procesom u 4 bioreaktora, svaki volumena 6.153 m³ (Slika 5). U svakom SBR bazenu se izmjenjuju faze obrade otpadne vode: punjenje, obrada, taloženje i dekantiranje, te faza mirovanja do početka novog ciklusa. Izmjenom aerobnih i anoksičnih faze tijekom faze obrade dolazi do uklanjanja spojeva s dušikom procesima nitrifikacije

i denitrifikacije. Fosfor se uklanja kemijskim putem dodavanjem polialuminijevog klorida (PAC) u tlačni cjevovod između mehaničke i biološke obrade (Slika 7).

Od gašenja tvornice Kvasca 2007. godine, UPOV Koprivnica radi sa 75% kapaciteta, tj. u funkciji su tri od četiri SBR bazena. Hidrauličko opterećenje kućanstva iznosi otprilike 1.265.000 m³/g, a industrije 1.270.000 m³/g. Shematski prikaz UPOV-a je prikazan na slici 5.



Slika 5. Shema uređaja za pročišćavanje otpadnih voda u Koprivnici

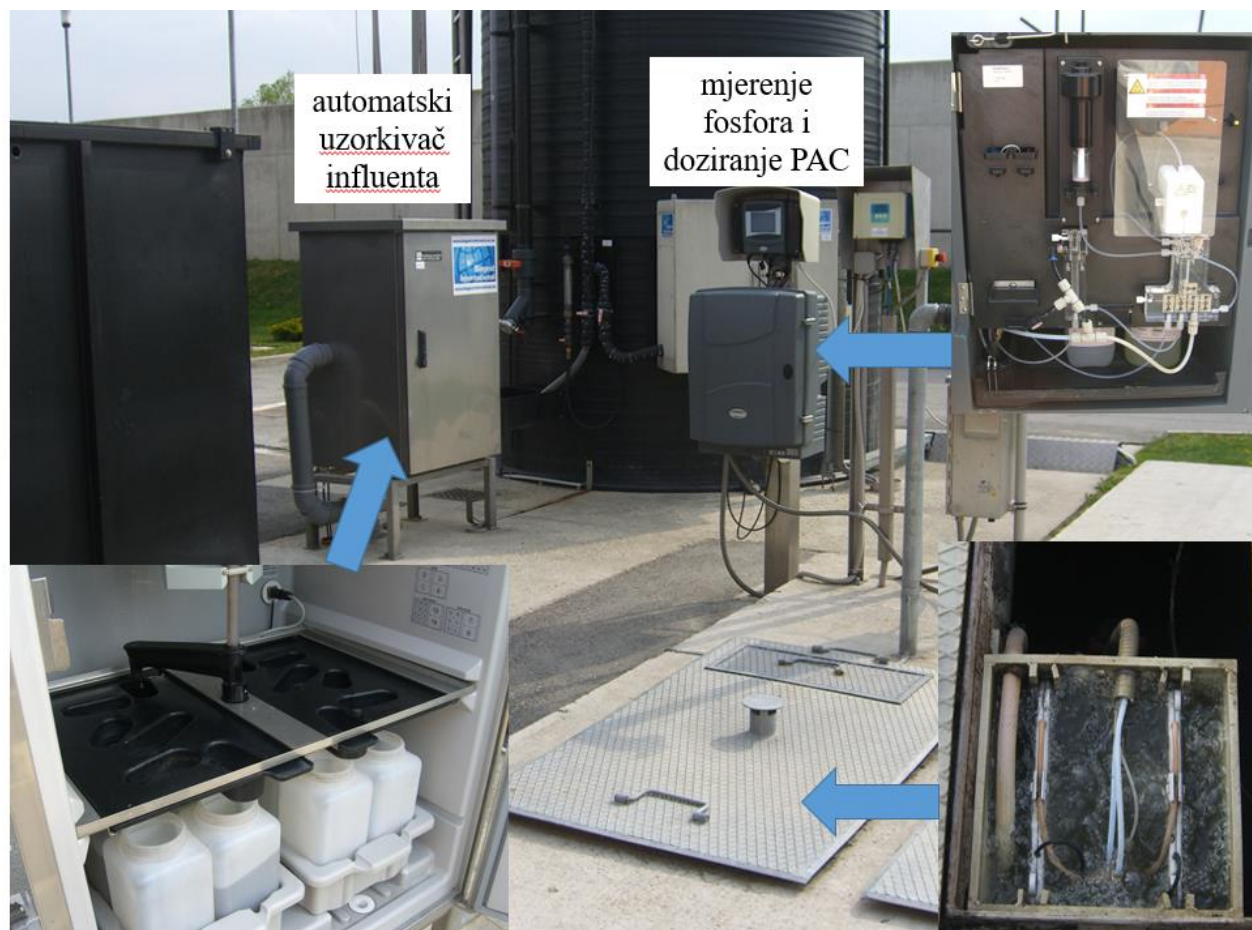


Slika 6. Kompaktni mehanički tretman influenta (fina rešetka, pjeskolov i mastolov)

Višak aktivnog mulja se odvodi u bazene za aerobnu stabilizaciju mulja (3 bazena, svaki volumena 200 m^3), dehidraciju i obradu posebnim patentiranim MID-MIX® tehnološkim postupkom, a pročišćena voda se ispušta u kanal Moždanski jarak koji utječe u vodotok Bistru, pa potom u rijeku Dravu. Voda koja nastaje u procesu obrade viška aktivnog mulja se vraća u proces, tj. mješa s otpadnom vodom nakon grube rešetke.

Izdvajanje viška aktivnog mulja nije provođeno nakon svakog ciklusa, već ovisno o koncentraciji aktivnog mulja (engl. MLSS – mixed liquor suspended solids) u SBR reaktoru.

Aerobna stabilizacija (obrada) viška aktivnog mulja se vrši u zasebnim bioreaktorima izmjenjivanjem perioda s aeracijom i bez nje kako bi se uklonili spojevi s dušikom nastali aerobnom razgradnjom aktivnog mulja. Pri aerobnoj stabilizaciji dolazi do raspada stanica biomase aktivnog mulja i ispuštanja dijelova stanica i staničnih membrana u vodenu fazu. Voda koja nastaje u procesu obrade viška mulja, periodički se vraća u process nakon grube rešetke (Slika 5).



Slika 7. Automatski uzorkivač i mjesto doziranja PAC

3.1.2. Karakterizacija influenta i efluenta UPOV-a Koprivnica

Na UPOV Koprivnica se nalaze dva automatska uzorkivača koji prikupljaju 24-satne kompozitne uzorke otpadne vode nakon mehaničkog predtretmana (influenta) i pročišćene otpadne vode (efluenta). Uzorkivač influenta uzima uzorke nakon mehaničkog predtretmana (Slika 7), a prije doziranja PAC i transporta u SBR reaktore. Osoblje UPOV-a svakog radnog dana uzima 24-satne kompozitne uzorke influenta i efluenta i provodi mjerenja kemijske potrošnje kisika (KPK - Hach

kivetni test za KPK, dikromat metoda ISO 6060-1989, DIN 38409-H41-H44), petodnevne biološke potrošnje kisika (BPK₅ -Hach kivetni test za BPK₅, EN 1899-1), ukupnog dušika (TN - engl. total nitrogen, Laton Kivetni test za ukupni dušik, EN ISO 11905-1, Koroleffova razgradnja (perokso-disulfat) i fotometrijsko otkrivanje s 2,6-dimetilfenolom, Standardna metoda: EN ISO 11905-1 razgradnja s perokso-disulfatom), ukupnog fosfora (TP - engl. total phosphorus, Hach Kivetni test za fosfate (orto/ukupne), metoda: Fosfor molibden plava, ISO 6878_2004, DIN EN 6878 / D11, Standard method: EN ISO 6878), i suspendiranih tvari (SS - engl. suspended solids).

U Laboratoriju za tehnologiju vode Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta su provedena mjerenja ukupnog fosfora i ortofosfata (Sepctroquant crack set - Merck, Njemačka), amonija (amonijeva elektroda ECNH40310B), ukupnih suspendiranih tvari (engl. TSS – total suspended solids), anorganskih suspendiranih tvari (engl. ISS – inorganic suspended solids), hlapivih/organskih suspendiranih tvari (engl. VSS – volatile suspended solids), ukupni Kjeldalov dušik sukladno Standardnim metodama (A.P.H.A., 1998), KPK iz nefiltriranog i filtriranog uzorka titrimetrijski i BPK₅ (WTW OxiTop metodom) u 3-satnim kompozitnim uzorcima tijekom 24 sata.

3.1.3. Karakterizacija aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica

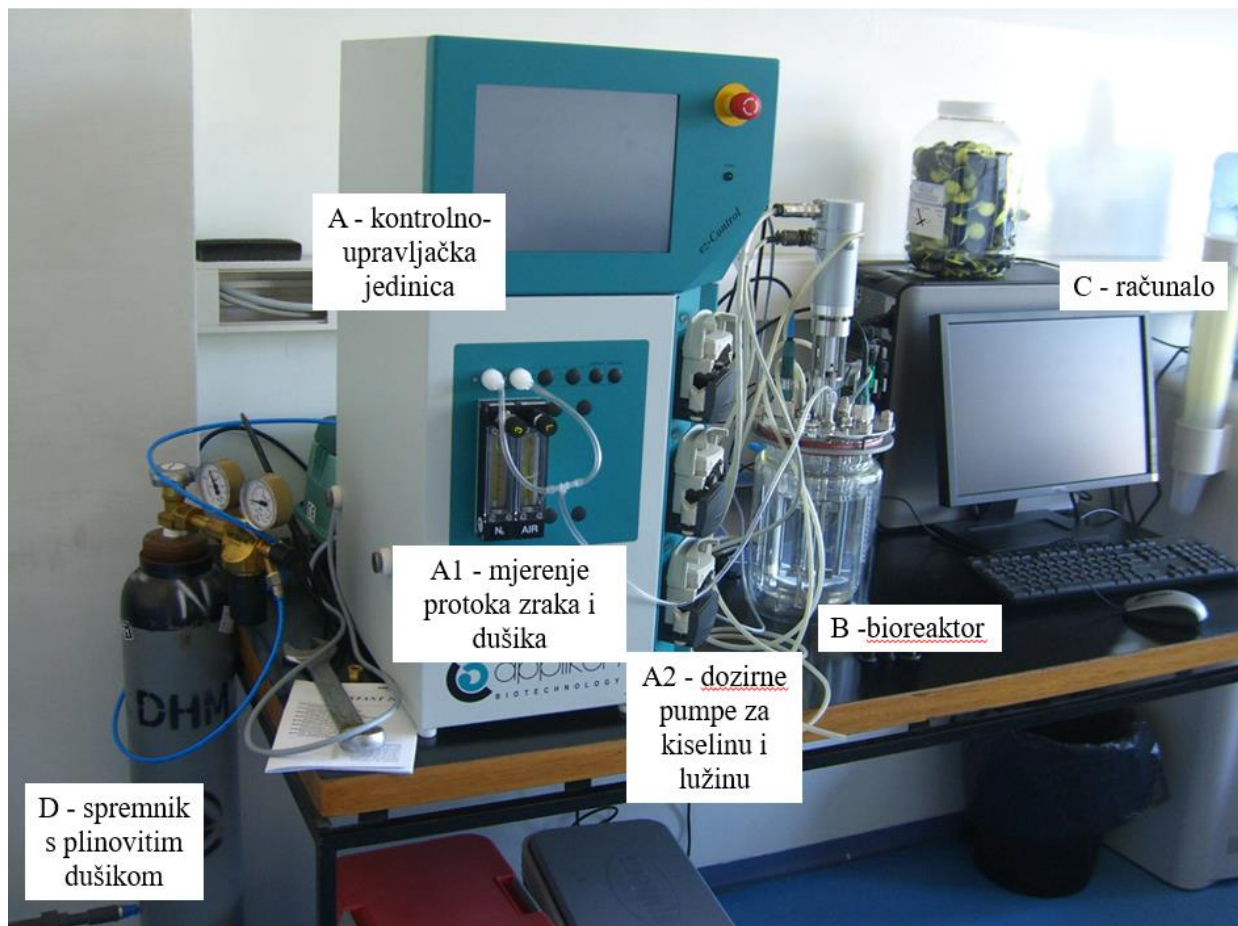
Kako bi se odredila prisutnost i aktivnost određenih skupina mikroorganizama, posebice fosfor-akumulirajućih organizama (engl. PAO – Phosphorus Accumulating Organisms i engl. DPAO – Denitrifying Phosphorus Accumulating Organisms), nitrifikanata (amonij-oksidirajući organizmi – engl. AOB - Ammonia Oxidizing Bacteria i nitrit-oksidirajući organizmi – engl. NOB - Nitrite-Oxidizing Bacteria), te denitrificirajućih običnih heterotrofnih organizama (engl. dOHO – denitrifying Ordinary Heterotrophic Organism), provedeni su slijedeći šaržni testovi aktivnosti aktivnog mulja: test otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima (uz dodatak ugljika), test unosa fosfata u aerobnim i anoksičnim uvjetima, test nitrifikacije i test denitrifikacije.

Uzorci aktivnog mulja su uzimani direktno iz sredine SBR reaktora na kraju zadnjeg aerobnog perioda tijekom kojeg se mulj aerira i miješa. Nakon taloženja je izdvojen supertanant iz uzorka i u hladnjaku su uzorci dopremljeni u laboratorij gdje su se testovi vršili unutar 48 sata od uzorkovanja.

Uzorci mulja su prije započinjanja testa nekoliko puta isprani s otopinom za ispiranje kako bi se uklonila otopljenja faza iz uzorka koja sadrži influent s UPOV-a Koprivnica, ali i polialuminijev

klorid koji se dodaje influentu prije SBR bazena. Otopina za ispiranje je bila sobne temperature i sastava: 0,6g $MgSO_4 \cdot 7H_2O/L$ + 0,07g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ + 0,1g KCl/L . Dodana je mineralna otopina sastava: $FeCl_3$, $MnCl_2$, $NiSO_4$, $ZnSO_4$, Na_2MoO_4 , $CuSO_4$, $CoCl_2$, H_3BO_3 kako bi se osigurali svi potrebni elementi u tragovima potrebni za rast biomase aktivnog mulja tijekom testova. Ukoliko je uzorak prethodno bio čuvan u hladnjaku pri 4°C, mulj je aeriran u laboratorijskom bioreaktoru do postizanja sobne temperature. Čuvanjem uzoraka mulja pri 4°C dolazi do usporavanja metabolizma u stanicama biomase aktivnog mulja. Iz tri usporedna uzorka, određene su srednje početne vrijednosti MLSS-a koje su za testove otpuštanja i unosa fosfata iznosile između 1,0 i 3,65 g/L, a za testove nitrifikacije i denitrifikacije između 2,1 i 5,8 g/L. Vrijednosti MLVSS (engl. Mixed liquor volatile suspended solids) za svaki od provedenih testova su prikazane u tablicama 3-7. pH-vrijednost je održavana na $7,2 \pm 0,1$ dodavanjem 1 M HCl i 1 M NaOH u svim testovima osim u prvom kada je iznosila 7,9 jer tada još nije bila uspostavljena kontrola pH-vrijednosti. Temperatura u bioreaktoru nije kontrolirana, već je ovisila o sobnoj temperaturi u laboratoriju i iznosila od 22°C do 27°C ovisno o testu. Tijekom svakog pojedinog testa nije bilo fluktuacije temperature veće od 1°C.

Testovi su provedeni u laboratorijskom SBR reaktoru (Applikon B.V.) radnog volumena 2,5 L (Slika 8). Bioreaktor (Slika 8 – oznaka B) ima dvostruku stijenku koja omogućava kontrolu temperature. Opremljen je mješalicom koja osigurava uvjete potpunog miješanja. Ispod lopatica mješalice se nalazi završetak cijevi s difuzorom kroz koju se u bioreaktor upuhuju plinovi. Poklopac ima otvore za instalaciju senzora poput pH elektrode (AppliSens pH+ elektroda, Applikon), sonde za mjerenje kisika (AppliSens DO elektroda, Applikon), termometra, zatim za doziranje kiselina i lužina u svrhu kontrole pH-vrijednosti, otvore za uzimanje uzoraka i dodavanje otpadne vode ili drugih supstrata potrebnih za provođenje testova, te otvor za izlaz plinova. Elektroda za mjerenje pH-vrijednosti šalje podatke u kontrolno-upravljačku jedinicu (Slika 8 – oznaka A) koja, prema zadanim vrijednostima, prema potrebi automatski vrši korekciju uključujući crpke kiseline i lužine (Slika 8 – oznaka A2). Na računalo (Slika 8 – oznaka C) je instaliran računalni program za kontrolu i vođenje procesa, te za pohranu podataka. Sukladno zadanim ciklusima, kontrolno-upravljačka jedinica automatski uključuje aeraciju ili upuhivanje plinovitog dušika (Slika 8 – oznake A1 i D), miješanje određenom brzinom.

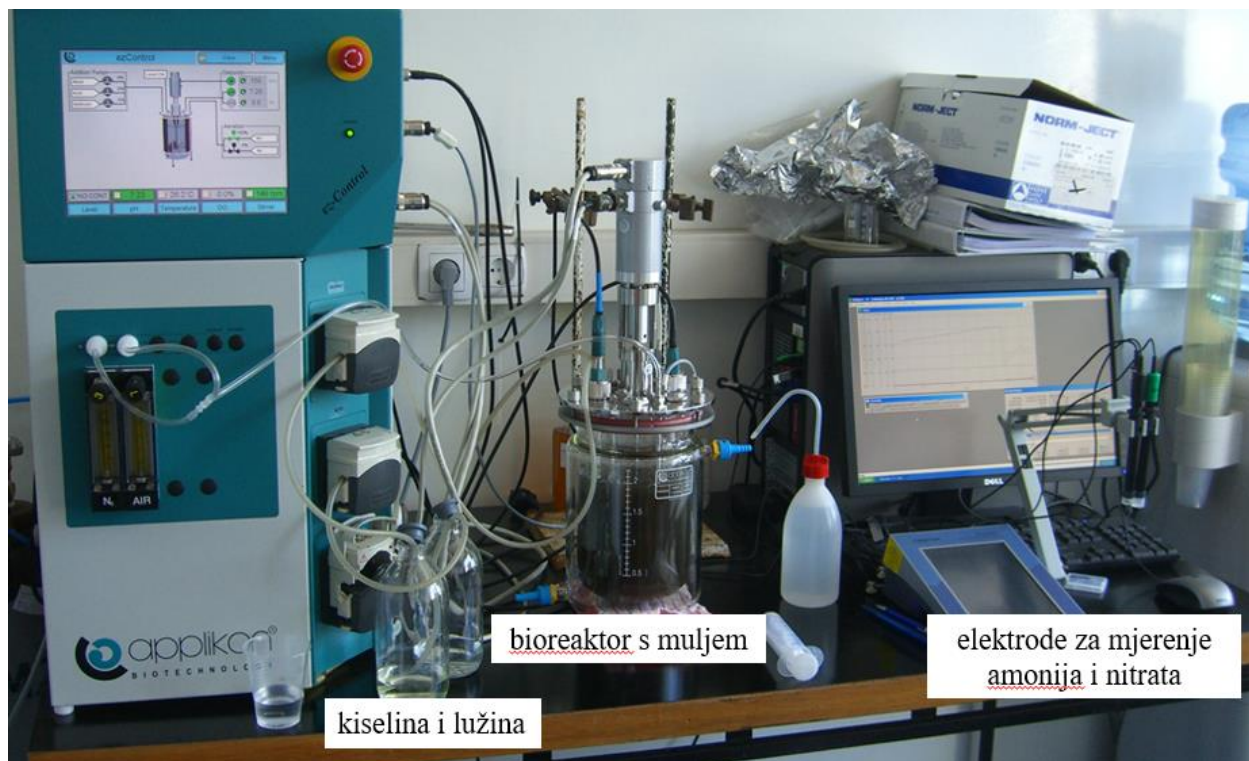


Slika 8. Laboratorijski bioreaktor s kontrolno-upravljačkom jedinicom i računalom

Za stvaranje anaerobnih uvjeta u bioreaktoru, u njega je upuhivan plinoviti dušik 10 minuta (protok 30 L/h) prije početka provedbe testa, te kontinuirano tijekom same provedbe. Na taj način se eliminirao kisik prisutan u aktivnom mulju, te kisik prisutan u samom bioreaktoru iznad aktivnog mulja. Kontinuiranim upuhivanjem se sprječava prodor kisika u bioreaktor kroz otvor za izlaz plinova. Koncentracija kisika je kontinuirano praćena putem sonde za mjerenje kisika u samom bioreaktoru. Kako ne bi došlo do neželjenog taloženja, aktivni mulj je miješan brzinom od 100 okretaja u minuti (engl. rpm – rotation per minute).

Aerobni uvjeti su osigurani kontinuiranim upuhivanjem zraka puhalom (protok 60 L/h), te intenzivnim miješanjem (300 rpm). Koncentracija otopljenog kisika je u aerobnim uvjetima uvijek bila iznad 2 mg/L.

Svaki od testova je napravljen najmanje tri puta, svaki puta s novim uzorkom mulja s UPOV-a Koprivnica. Uzorci mulja su uzimani osam puta i nisu svi testovi rađeni sa svakim uzorkom.



Slika 9. Laboratorijski set za provedbu šaržnih testova

Tijekom provedbe procesa, uzimani su uzorci suspenzije aktivnog mulja iz bioreaktora koji su filtrirani preko filter papira pora veličine $0,45\mu\text{m}$ i u njima su mjereni sljedeći parametri. Ukupni organski ugljik (engl. TOC – Total Organic Carbon) je mjereno na TOC Analyzer Shimadzu 5000A. KPK je mjereno titrimetrijski. BPK_5 je mjereno WTW OxiTop metodom. Ukupni fosfor i ortofosfati su mjereno pomoću kivetnog testa proizvođača Merck. MLSS, MLVSS i TKN su mjereno sukladno Standardnim metodama (A.P.H.A., 1998). Amonij i nitrati su mjereno pomoću ion-selektivnih elektroda na Eutech CyberScan 6500 multimetru (PH 6500, amonijeva elektroda ECNH40310B, nitratna elektroda ECNO30301B), a acetat pomoću enzimatskog kit testa Megazyme Acetic Acid kit.

3.1.3.1. Test otpuštanja fosfata aerobnog mulja u anaerobnim uvjetima

Kao izvor lako-biorazgradivog ugljika u bioreaktor je dodano 0,35 g natrijevog acetata otopljenog u 50 ml demineralizirane vode. Smanjenje koncentracije acetata praćeno je mjerenjem ukupnog organskog uljika (TOC) u filtriranim uzorcima mulja iz bioreaktora. Kontinuiranim upuhivanjem dušika (protok 30 L/h) za vrijeme testa se sprečava prodor kisika u bioreaktor kako bi se koncentracija otopljenog kisika u bioreaktoru održala na nuli što je mjereno pomoću sonde za

mjerenje kisika. Uvjeti provedbe testova otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima su prikazani u tablici 3. Testovi su se odvijali dok se koncentracija fosfora i acetata (mjereno kao TOC) ne bi ustalila. Hidrauličko vrijeme zadržavanja (engl. HRT - hydraulic retention time) u anaerobnim uvjetima, u testovima otpuštanja fosfata je iznosilo od 1h 45 min u testu 5 do 5 h u testu 2. Kako nedostatak acetata kao izvora ugljika ne bi ograničio mogućnost biomase aktivnog mulja da otpusti fosfate, acetat je dodan u suvišku, te ga je na kraju testa uvijek ostalo što je potvrđeno mjerenjem TOC-a. Na taj je način izmjerena maksimalna količinu fosfora koji biomasa aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica može ispustiti i maksimalnu količinu acetata (mjenog kao TOC) koju može konzumirati u anaerobnim uvjetima tijekom testa. Mjerene su vrijednosti ortofosfata pomoću kivetnog testa proizvođača Merck i TOC u uzorcima iz bioreaktora uzimanim svakih 15-20 minuta tijekom prvih sat i pol provedbe testa, a kasnije svakih 40-60 minuta.

Po završetku testa otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima, ugašeno je miješanje, te se mulj istaložio. Izdvojen je supernatant s preostalim acetatom i ispuštenim fosfatom. Dodan je isti volumen otopine za ispiranje, te je mulj promiješan. Postupak je ponovljen dva puta. Mulj je tada podijeljen u dva jednaka dijela, jedan za provedbu aerobnog testa unosa fosfata koji je slijedio odmah nakon anaerobnog testa otpuštanja fosfata, a drugi dio za anoksičan test unosa fosfata koji je spremljen u hladnjak na 4°C.

Tablica 3. Uvjeti provedbe testova otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima

naziv (uzorak mulja)	test 1	test 2	test 3	test 4	test 5	test 8
datum	26.4.2011.	4.7.2011.	12.7.2011.	12.8.2011.	19.8.2011.	13.3.2012.
temperatura (°C)	23	25	26	26	27	22
MLVSS (g/L)	2,39	2,38	1,3	2,07	1,96	2,03

Brzina anaerobnog otpuštanja fosfata je izračunata pomoću jednadžbe 4 i izražava se jedinicom mgP/gVSS.h.

$$\text{brzina otpuštanja fosfata} = \frac{c(P)_{\text{kraj}} - c(P)_{\text{poč}}}{MLVSS * t} \quad (\text{jednadžba 4})$$

- $c(P)_{\text{kraj}}$ - koncentracija fosfata na kraju testa [mgP/L]
- $c(P)_{\text{poč}}$ - koncentracija fosfata na početku testa [mgP/L]

- MLVSS - masa organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju [gVSS]
- t – vrijeme [h]

Maksimalna brzina anaerobnog otpuštanja fosfata predstavlja brzinu otpuštanja u prvih 50-60 minuta trajanja pokusa kada koncentracija ispuštenog fosfora u vremenu čini pravac. Specifično anaerobno otpuštanje fosfata izračunato je kao razlika krajnje i početne koncentracije fosfora podijeljena s masom organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju (MLVSS). MLVSS je određivan na početku i na kraju testa, a za izračun je korištena srednja vrijednost.

Omjer ispuštenog fosfata i unesenog acetata izraženog kao TOC tijekom testa anaerobnog otpuštanja izračunat je kao omjer razlike završne i početne koncentracije ispuštenog fosfora i razlike početne i završne koncentracije TOC.

3.1.3.2. Test unosa fosfata aktivnim muljem u aerobnim uvjetima

Za provedbu testa unosa fosfata u aerobnim uvjetima, ispranom mulju nakon provedenog testa otpuštanja fosfata je dodana otopina s elementima u tragovima. Aerobni uvjeti su osigurani kontinuiranim upuhivanjem zraka puhalom (protok 60 L/h), te intenzivnim miješanjem (300 rpm). Uvjeti provedbe testova unosa fosfata u aerobnim uvjetima su prikazani u tablici 4. Koncentracija otopljenog kisika u bioreaktoru je uvijek bila iznad 2 mg/L. Zbog ispiranja mulja, iz bioreaktora je uklonjen acetat, ali i ispušteni fosfat iz prethodnog testa, stoga je u bioreaktor dodan izvor fosfata u obliku KH_2PO_4 u suvišku. Početne vrijednosti ortofosfata u bioreaktoru su iznosile od 7,8-10,0 $\text{mgPO}_4^{3-}\text{-P/L}$ ovisno o testu, što je više od količine ispuštene tijekom anaerobnih uvjeta u prethodnom testu. Na taj način je osigurano da koncentracija fosfata nije limitirajuća, te se tako provodi test maksimalnog unosa fosfata u aerobnim uvjetima. Smanjenje koncentracije ortofosfata je mjereno pomoću kivetnog testa proizvođača Merck u filtriranim uzorcima mulja iz bioreaktora.

Tablica 4. Uvjeti provedbe testova unosa fosfata u aerobnim uvjetima

naziv (uzorak mulja)	test 1	test 2	test 3	test 4	test 8
datum	26.4.2011.	4.7.2011.	12.7.2011.	12.8.2011.	13.3.2012.
temperatura (°C)	23	25	26	26	22
MLVSS (g/L)	2,39	2,38	1,3	2,2	1,5

Brzina aerobnog unosa fosfata je izračunata pomoću jednadžbe 5 i izražava se jedinicom mgP/gVSS.h.

$$\text{brzina unosa fosfata} = \frac{c(\text{P})_{\text{kraj}} - c(\text{P})_{\text{poč}}}{MLVSS \cdot t} \quad (\text{jednadžba 5})$$

- $c(\text{P})_{\text{kraj}}$ - koncentracija fosfata na kraju testa [mgP/L]
- $c(\text{P})_{\text{poč}}$ - koncentracija fosfata na početku testa [mgP/L]
- MLVSS - masa organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju [gVSS]
- t – vrijeme [h]

Maksimalna brzina aerobnog unosa fosfata predstavlja brzinu unosa u prvih 50-60 minuta trajanja pokusa kada koncentracija unesenog fosfora u vremenu čini pravac. Ukupni aerobni unos fosfata izražen po masi organskih suspendiranih tvari (VSS) u aktivnom mulju je izračunat kao razlika početne i krajnje koncentracije fosfora podijeljena s masom organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju (MLVSS). MLVSS je određivan na početku i na kraju testa, a za izračun je korištena srednja vrijednost.

3.1.3.3. Test unosa fosfata aktivnim muljem u anoksičnim uvjetima

Uzorak mulja je izvađen iz hladnjaka i reaktiviran na sobnoj temperaturi, te mu je dodana otopina s elementima u tragovima. Za stvaranje anoksičnih uvjeta u bioreaktoru, provedena je procedura kao i kod osiguranja anaerobnih uvjeta. Uvjeti provedbe testova unosa fosfata u anoksičnim uvjetima su prikazani u tablici 5. Zbog prethodnog ispiranja mulja, iz uzorka je uklonjen acetat, ali i ispušteni fosfat iz testa otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima, stoga je u bioreaktor je dodan izvor fosfata u obliku KH_2PO_4 u suvišku. Početne koncentracije su iznosile od 8,0-11,2 mg PO_4^{3-} -P/L. Akceptor elektrona, u ovom slučaju nitrat, dodan je u bioreaktor dodatkom KNO_3 u suvišku, čije su početne koncentracije mjerene pomoću ion-selektivnih elektroda i iznosile su 16,0-22,1 mg $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ovisno o testu. Anoksični uvjeti su održavani upuhivanjem plinovitog dušika (protok 30 L/h) u bioreaktor tijekom cijelog testa. U filtriranim uzorcima mulja iz bioreaktora određivane su koncentracije ortofosfata pomoću kivetnog testa proizvođača Merck i nitrata pomoću ion-selektivne elektrode.

Tablica 5. Uvjeti provedbe testova unosa fosfata u anoksičnim uvjetima

naziv (uzorak mulja)	test 2	test 5	test 8
datum	4.7.2011.	19.8.2011.	13.3.2012.
temperatura (°C)	25	26	22
MLVSS (g/L)	2,22	1,97	0,78

Brzina anoksičnog unosa fosfata je izračunata pomoću jednadžbe 5 i izražava se jedinicom mgP/gVSS.h. Maksimalna brzina anoksičnog unosa fosfata predstavlja brzinu unosa u prvih 50-60 minuta trajanja pokusa kada koncentracija ispuštenog fosfora u vremenu čini pravac. Ukupni anoksični unos fosfata izražen po masi organskih suspendiranih tvari (VSS) u aktivnom mulju je izračunat kao razlika početne i krajnje koncentracije fosfora podijeljena s masom organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju (MLVSS). MLVSS je određivan na početku i na kraju testa, a za izračun je korištena srednja vrijednost.

3.1.3.4. Testovi nitrifikacije i denitrifikacije

Testovi nitrifikacije i denitrifikacije su provedeni dan nakon uzorkovanja s uzorkom mulja koji je čuvan u hladnjaku na 4°C kako bi se usporio metabolizam mikroorganizama aktivnog mulja. Uzorak mulja je nakon vađenja iz hladnjaka ispran otopinom za ispiranje sobne temperature (0,6g MgSO₄x7H₂O/L + 0,07g CaCl₂x2H₂O + 0,1g KCl/L), te aeriran u laboratorijskom bioreaktoru do postizanja sobne temperature, uz dodatak mineralnih soli (FeCl₃, MnCl₂, NiSO₄, ZnSO₄, Na₂MoO₄, CuSO₄, CoCl₂, H₃BO₃). Uvjeti provedbe testova nitrifikacije su prikazani u tablici 6, a uvjeti provedbe testova denitrifikacije u tablici 7. Određena je MLSS i MLVSS i dodan je NH₄Cl u bioreaktor kao izvor amonija uz početnu koncentraciju od 30 mgNH₄-N/L kolika je prosječna koncentracija amonija u influentu s UPOV-a Koprivnica. Test nitrifikacije se provodio uz upuhivanje zraka (protok 60 L/h) i intenzivno miješanje (300 rpm) kako bi se osigurala koncentracija otopljenog kisika iznad 2 mg/L. U testovima je pH-vrijednost održavana na 7,2 osim u prvom testu kada je iznosila 7,7, a temperatura je tijekom svih testova iznosila 24±0,5°C.

Tablica 6. Uvjeti provedbe testova nitrifikacije

naziv (uzorak mulja)	test 1	test 3	test 4	test 6	test 7	test 8
datum	27.4.2011.	12.7.2011.	14.8.2011.	16.9.2011.	17.9.2011.	13.3.2012.
MLVSS (g/L)	2,39	2,77	2,93	2,80	3,63	1,5

Tablica 7. Uvjeti provedbe testova denitrifikacije

naziv (uzorak mulja)	test 3	test 4	test 8
datum	12.7.2011.	14.8.2011.	13.3.2012.
MLVSS (g/L)	2,69	2,73	1,36

Pomoću ion selektivnih elektroda je praćena koncentracija amonija i nitrata u bioreктору tijekom vremena. Koncentracija amonija se smanjuje linearno tijekom vremena. Iz jednadžbe pravca ($y=Ax+B$) kojom je prikazano smanjenje koncentracije amonija, uzet je koeficijent pravca A za izračun brzine nitrifikacije prema jednadžbi 6. Vrijednost R^2 je uvijek bila veća od 0,99.

$$\text{brzina nitrifikacije} = \frac{A \cdot 60}{MLVSS} \quad (\text{jednadžba 6})$$

Nakon završene nitrifikacije, zaustavljeno upuhivanje zraka i uključeno upuhivanje plinovitog dušika (protok 30 L/h) kako bi se osigurali anoksični uvjeti za provedbu denitrifikacije, te su uzeti uzorci za određivanje MLSS i MLVSS. Kao izvor ugljika za proces denitrifikacije, u bioreaktor je dodana otopina 0,5g natrijevog acetata u demineraliziranoj vodi čije je smanjenja praćeno pomoću TOC. U testu denitrifikacije je praćeno smanjenje koncentracije nitrata tijekom vremena pomoću ion selektivne elektrode.

Koncentracija nitrata se smanjuje linearno tijekom vremena. Iz jednadžbe pravca ($y=Ax+B$) kojom je prikazano smanjenje koncentracije nitrata, uzet je koeficijent pravca A za izračun brzine denitrifikacije prema jednadžbi 7. Vrijednost R^2 je uvijek bila veća od 0,99.

$$\text{brzina denitrifikacije} = \frac{A \cdot 60}{MLVSS} \quad (\text{jednadžba 7})$$

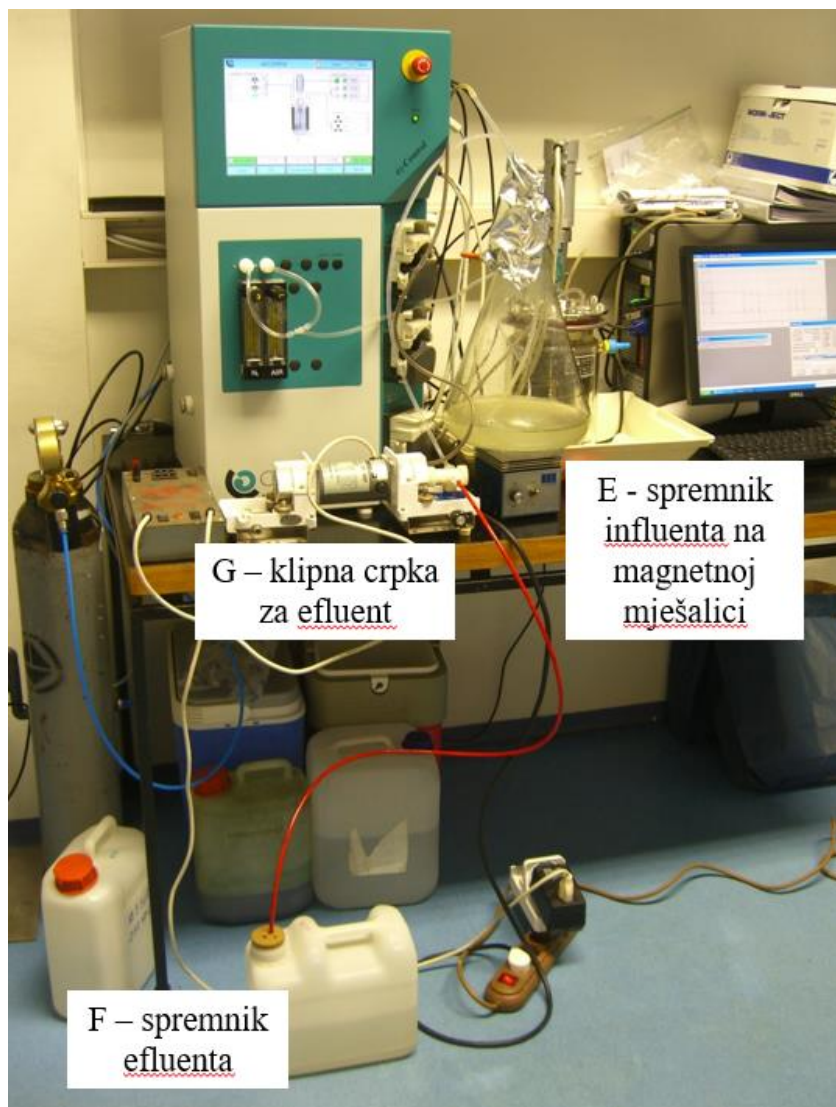
3.2. Laboratorijski pokusi mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora na UPOV-u

Uzorak aktivnog mulja je izuzet iz jednog od tri aktivna SBR-a i to na kraju aerobne faze kada PAO sadrže najviše fosfata unutar svojih stanica. Nakon taloženja mulja u spremniku (otprilike 30 minuta), uklonjen je supernatant odlijevanjem. Ugušćeni mulj je u zatvorenom spremniku (bez aeracije) transportiran na ledu do laboratorija.

U laboratoriju je aktivni mulj kontinuirano kultiviran u laboratorijskom SBR bioreaktoru radnog volumena 2,5 L, marke Applikon (Slike 8, 9 i 10). Rad bioreaktora je automatski kontroliran putem računala i Applikon ADI kontrolera. Podaci koji su se kontinuirano prikupljali poput pH, temperature i razine kisika, spremni su u BioXpert program na računalu. Tijekom pokusa nije kontrolirana pH-vrijednost u bioreaktoru, nego je pH bio pod utjecajem procesa obrade vode kao što je to slučaj pri obradi na UPOV-ima.

Tijekom faze punjenja laboratorijskog bioreaktora sintetičkim influentom nije bilo aeracije. Koncentracija otopljenog kisika je u aerobnim fazama bila održavana upuhivanjem zraka automatski, pomoću upravljačkog uređaja, te je održavana na 2 mg/L uz intenzivno miješanje (300 rpm). Anoksična faza obrade se odvijala bez aeracije uz miješanje 100 okretaja u minuti kako bi se spriječilo taloženje aktivnog mulja. Na kraju zadnje anoksične faze se izuzimao višak mulja kako bi se održala željena starost mulja.

Na slici 10 je prikazan laboratorijski bioreaktor tijekom provedbe pokusa mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora. Sintetički influent se iz spremnika influenta (Sika 10 – oznaka E), pomoću peristaltičke pumpe prepumpavao u laboratorijski bioreaktor. Kako bi se sintetički influent održao homogenim, u spremniku je miješan pomoću magnetne mješalice. Iz laboratorijskog bioreaktora je nakon taloženja efluent prepumpavan pomoću klipne crpke Fluid Metering, Inc (Slika 10 – oznaka G) u spremnik efluenta (Slika 10 – oznaka F) iz kojeg su se uzimali uzorci za analize kakvoće efluenta.



Slika 10. Laboratorijski bioreaktor u laboratoriju PBF-a tijekom provedbe pokusa mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

3.2.1. Prvi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

Mulj je izuzet iz SBR reaktora broj 3 UPOV-a Koprivnica. Početne karakteristike mulja u laboratorijskom bioreaktoru su bile: KPK 1.770 mgO₂/L, TSS 1.900 mg/L, VSS mg/L 1.475 mg/L, TP 97 mgP/L, TN 158,5 mgN/L.

Pripremljen je sintetički influent karakteristika sličnih sirovom influentu na UPOV Koprivnica po udjelu suspendiranog KPK u ukupnom KPK (50%), te po prosječnim vrijednostima KPK (550 mgO₂/L), amonija (35 mg/L), ukupnog fosfora (12 mgP/L), ukupnog dušika (53 mgN/L) i alkaliteta

(440 mg CaCO_3/L). Sintetički influent sadrži izvore ugljika, minerale i elemente u tragovima potrebne za rast biomase aktivnog mulja. Njegov sastav je: Mlijeko u prahu 100 mg/L (Dukat, Zagreb), Gustin 300 mg/L (Dr. Oetker, Mađarska), Pepton 150 mg/L (Biolife Italiana S.r.l), NaAc 41 mg/L (p.a. Merck – Alkaloid, Skopje), Kvašćev ekstrat 2 mg/L (Kvasac d.o.o , Hrvatska), NaHCO_3 738,1 mg/L (Lach-Ner, Tovarni 157·277 11 Neratovice, Češka), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 364,9 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), CaCl_2 166,1 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), NH_4Cl 136,2 mg/L (Gram – mol d.o.o., Črnovečka 4, Zagreb, Hrvatska), KH_2PO_4 51,7 mg/L (POCH, 44 – 101 Gliwice, ul. Sowinskiego, Poljska), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,51 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,9 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), Na_2MoO_4 0,02 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), CuSO_4 0,502 mg/L (Merck – Alkaloid, Skopje, Makedonija), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2,52 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,403 mg/L (Kemika, Zagreb, Hrvatska), H_3BO_3 0,049 mg/L (Gram – mol d.o.o., Črnovečka 4, Zagreb, Hrvatska). Sintetički influent je pripreman svaki drugi dan, te je autoklaviran.

Prvi pokus je trajao 41 dan tijekom kojega je laboratorijski bioreaktor je radio s volumenom 1,9 L u ciklusima od 12 sati. Izdvajanjem 0,1 L/d viška mulja, SRT je nominalno iznosio 19 dana, no stvarni SRT je uvijek bio iznad 18 dana. U tablici 8 je prikazano trajanje različitih faza ciklusa.

Temperatura nije kontrolirana i kretala se od 22 do 25°C. Test se provodio tijekom ljetnog perioda kada je sobna temperatura održavana klima uređajem.

Tablica 8. Trajanje različitih faza ciklusa tijekom provedbe prvog pokusa

POKUS 1				
dani pokusa (trajanje)		1-21 (22)	22-29 (8)	30-41 (11)
Punjenje (min) bez O ₂		240	240	240
Obrada	uz O ₂	30	40	35
Obrada	bez O ₂	90	80	85
Obrada	uz O ₂	30	40	35
Obrada	bez O ₂	90	80	85
Obrada	uz O ₂	30	40	35
Obrada	bez O ₂	90	80	85
Taloženje		60	60	60
Dekantiranje		60	60	60
Ukupno trajanje faze uz aeraciju (min)		90	120	105
Ukupno trajanje faze bez aeracije (min)		270	240	255

Rad laboratorijskog bioreaktora je praćen kontinuiranim mjerenjem temperature, otopljenog kisika i pH-vrijednosti, zatim mjerenjima ortofosfata (PO₄³⁻) i ukupnog fosfora, KPK, TKN, amonija, nitrata i nitrita u efluentu, te MLSS i MLVSS svakog radnog dana. Uzorci efluenta su filtrirani preko filtera pora veličine 0,45µm. Iz filtriranih uzoraka je mjereno KPK, TKN, TP i PO₄³⁻. KPK, TP, PO₄³⁻, MLSS (TSS), MLVSS (VSS) i TKN su mjereni sukladno Standardnim metodama (A.P.H.A., 1998). Koncentracija amonijaka i nitrata je određivana pomoću ion selektivnih elektroda (amonijeva elektroda ECNH40310B i nitratna elektroda ECNO30301B) spojenih na uređaj Eutech Cyberscan.

3.2.2. *Drugi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora*

Mulj je izuzet iz SBR reaktora broj 1 UPOV-a Koprivnica. Početne karakteristike mulja u laboratorijskom bioreaktoru su bile: KPK 1.800 mgO₂/L, TSS 2.860 mg/L, VSS mg/L 2.130 mg/L, TP 72 mgP/L, TN 162,5 mgN/L.

Pripremljen je sintetički influent kao i u prvom pokusu. Nakon 39 dana je povećan udio lakobiorazgradivog izvora ugljika, a smanjen udio sporije biorazgradivog izvora ugljika uz zadržavanje

iste vrijednosti ukupnog KPK od 550 mgO₂/L. Povećao se udio acetata (sa 40 na 120 mg/L), a smanjen je udio gustina (sa 215 na 165 mg/L).

Drugi pokus je trajao 54 dana tijekom kojega je SBR bioreaktor radio s volumenom 1,9 L u ciklusima od 12 sati. SRT je nominalno prvih 21 dan pokusa iznosio 19 dana (0,1 L/d viška mulja), a nakon toga je SRT povećan na 24 dana (0,08 L/d viška mulja). Stvarni SRT je prvih 21 dan pokusa je uvijek bio 18 dana, a nakon toga barem 22,5 dana. U tablici 9 je prikazano trajanje različitih faza ciklusa.

Tablica 9. Trajanje različitih faza ciklusa tijekom provedbe drugog pokusa

POKUS 2		trajanje (min)
trajanje pokusa (dan)		54
Punjenje (min) bez O ₂		240
Obrada	uz O ₂	30
Obrada	bez O ₂	90
Obrada	uz O ₂	30
Obrada	bez O ₂	90
Obrada	uz O ₂	30
Obrada	bez O ₂	90
Taloženje		60
Dekantiranje		60
Ukupno trajanje faze uz aeraciju (min)		90
Ukupno trajanje faze bez aeracije (min)		270

Temperatura nije kontrolirana i kretala se od 22 do 25°C. Test se provodio tijekom ljetnog perioda kada je sobna temperatura održavana klima uređajem.

Rad laboratorijskog bioreaktora je praćen mjerenjima jednako kao i u prvom laboratorijskom pokusu.

3.2.3. Treći laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

Mulj je izuzet iz SBR reaktora broj 3 UPOV-a Koprivnica. Početne karakteristike mulja u laboratorijskom bioreaktoru su bile: KPK 1.364 mgO₂/L, TSS 1.480 mg/L, VSS mg/L 1.100 mg/L, TP 40 mgP/L, TN 62,4 mgN/L.

U trećem pokusu su pripremljena dva sintetička influenta za prihranjivanje u koracima (engl. step feed). Prvi sintetički influent je sadržavao natrijev acetat kao izvor ugljika i dodan je na početku faze punjenja kako bi stimulirao rast PAO, dok je drugi influent s mliječnom kiselinom kao izvorom ugljika dodan na početku anoksične faze kako bi se osigurala provedba denitrifikacije. Sastav influenta 1 u trećem pokusu: 376 mg/L NaAc·3H₂O, 118 mg/L NH₄Cl, 134 mg/L NaH₂PO₄·H₂O, 180 mg MgSO₄·7H₂O, 14 mg CaCl₂·2H₂O, 73 mg KCl i 0.3 mL otopine s elementima u tragovima pripremljenu prema Smolders i sur., (1994a). (po 1 litri: 10 g EDTA, 1,5 g FeCl₃·6H₂O, 0,15 g H₃BO₃, 0,03 g CuSO₄·5H₂O, 0,12 g MnCl₂·4H₂O, 0,06 g Na₂MoO₄·2H₂O, 0,12 g ZnSO₄·7H₂O, 0,18 g KI i 0,15 g CoCl₂·6H₂O). Drugi influent je sadržavao 164 mg/L mliječne kiseline (CH₃CH(OH)CO₂H) umjesto acetata.

Treći pokus je trajao 43 dana tijekom kojega je SBR bioreaktor je radio s volumenom 2,5 L u ciklusima od 8 sati, uz nominalni SRT 16 dana (0,156 L/d viška mulja). Stvarni SRT je uvijek bio iznad 15 dana. U tablici 10 je prikazano trajanje različitih faza ciklusa.

Tablica 10. Trajanje različitih faza ciklusa tijekom provedbe trećeg pokusa

POKUS 3		trajanje (min)
trajanje pokusa (dan)		43
Punjenje (min) bez O ₂		90
Obrada	uz O ₂	195
Obrada	bez O ₂	105
Taloženje		60
Dekantiranje		30
Ukupno trajanje faze uz aeraciju (min)		195
Ukupno trajanje faze bez aeracije (min)		105

Budući je uzorak mulja s UPOV-a Koprivnica uzet u veljači kada je temperatura u SBR bazenima iznosila 16°C, temperatura je u laboratorijskom bioreaktoru kontrolirana i iznosila je 16°C.

Rad laboratorijskog bioreaktora je praćen mjerenjima ortofosfata i ukupnog fosfora, TOC, KPK, TKN, amonija, nitrata i nitrita, te MLSS i MLVSS. Ukupni organski ugljik je mjereno na TOC Analyzer Shimadzu 5000A. KPK, TP, PO_4^{3-} , MLSS (TSS), MLVSS (VSS) i TKN su mjereni sukladno Standardnim metodama (A.P.H.A., 1998). Amonij je mjereno spektrofotometrijskom metodom sukladno ISO 7510-1. Nitrat je mjereno spektrofotometrijskom metodom koristeći 2,6-dimetilfenol sukladno ISO 7890/1-1986.

3.2.4. Karakterizacija aktivnog mulja pomoću FISH tehnike

Aktivni mulj se sastoji od različitih bakterija, funga i protozoa. FISH tehnika (engl. fluorescence in situ hybridization - FISH) je metoda u kojoj se selektivno detektiraju mikoorganizmi od interesa koristeći specifičnu 16S rRNA sekvencu (Nielsen, 2009; van Loosdrecht i sur., 2016). Ovom tehnikom se detektira prisutnost, no ne i zastupljenost određene skupine mikoorganizama. U trećem laboratorijskom pokusu su kompletna zajednica bakterija, te PAO i GAO skupine mikoorganizama, vizualizirani putem FISH tehnike na početku i na kraju pokusa.

Kompletna zajednica bakterija je označena probom EUB338mix (Amann i sur., 1990; Daims i sur., 1999). '*Candidatus Accumulibacter phosphatis*' su označeni pomoću PAOMIX probe (mješavina proba PAO462, PAO651 i PAO846 – Tablica 11) (Crocetti i sur., 2000) dok su sa GAOMIX probom (mješavina proba GAOQ431 i GAOQ989 – Tablica 11) (Crocetti i sur., 2002) označeni '*Candidatus Competibacter phosphatis*'.

Uzorci aktivnog mulja uzeti na kraju anoksične faze obrade su fiksirani sa svježe pripremljenim 4% paraformaldehidom. Nakon fiksacije, stanice se imobiliziraju na mikroskopskom stakalcu, osuše i dehidriraju etanolom. Slijedi hibridizacija koja se provodi pri 48°C tijekom 1,5h s hibridizacijskim puferom i fluorescentnom probom. Hibridizacija se prekida ispiranjem stakalca hibridizacijskim puferom u kojem se inkubira 10 do 20 minuta pri 48°C. Stakalce se ispiru destiliranom vodom i dodaje se kap "Vectashield" koji pojačava fluorescenciju i sprječava da uzorak izbledi. Stavlja se pokrovno stakalce i suši, te mikroskopira.

Tablica 11. Probe koje su korištene za FISH

Naziv probe	Sekvenca (5'-3')	Literatura
PAO462	CCGTCATCTACWCAGGGTATTAAC	Crocetti i sur., (2000)
PAO651	CCCTCTGCCAAACTCCAG	Crocetti i sur., (2000)
PAO846	GTTAGCTACGGCACTAAAAGG	Crocetti i sur., (2000)
GAOQ431	TCCCCGCCTAAAGGGCTT	Crocetti i sur., (2002)
GAOQ989	TTCCCCGGATGTCAAGGC	Crocetti i sur., (2002)
EUB338	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	Amann i sur., (1990)
EUB338-II	GCAGCCACCCGTAGGTGT	Daims i sur., (1999)
EUB338-III	GCTGCCACCCGTAGGTGT	Daims i sur., (1999)

3.3. Procjena mogućnosti implementacije laboratorijski dobivenih rezultata na UPOV Koprivnica modeliranjem pomoću programa BioWin

Za simulaciju unapređenja rada UPOV-a Koprivnica korišten je BioWin simulacijski softver verzija 6.0 (www.envirosim.com). U BioWinu su integrirani modeli ASM 1, ASM2d i ASM3 zajedno s modelom anaerobne digestije (ADM) i nekoliko pod-modela za procese poput primarnog taloženja, dehidracije mulja, sustave s biofilmom i membranama itd.

Za razvoj modela u BioWin-u je korištena projektna dokumentacija UPOV Koprivnica, podaci o influentu dobiveni od voditeljice UPOV-a, podaci dobiveni detaljnom karakterizacijom influenta u laboratoriju PBF-a, te rezultati provedbe laboratorijskih pokusa.

Podaci iz projektne dokumentacije UPOV Koprivnica:

- volumen svakog od 4 SBR bioreaktora – 6.153 m³
- površina svakog od 4 SBR bioreaktora – 1.118,73 m²
- maksimalna visina punjenja svakog od 4 SBR bioreaktora – 5,5 m
- minimalna visina punjenja svakog od 4 SBR bioreaktora – 3,3 m

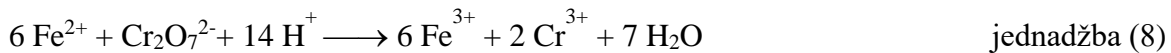
Podaci dobiveni s UPOV Koprivnica:

- koncentracija otopljenog kisika tijekom aeracije – 2 mgO₂/L
- temperatura otpadne vode zimi – 15-16°C

3.4. Analitičke metode

3.4.1. Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK) titrimetrijski

Kemijska potrošnja kisika predstavlja utrošak $K_2Cr_2O_7$ potrebnog za oksidaciju organske tvari u vodi izražen u mg/L O_2 . $K_2Cr_2O_7$ oksidira 95 do 100% prisutne organske tvari, a ne može oksidirati pirol i derivate piridina, amonijak, te neke ugljikovodike poput benzena i njegovih homologa. Za potpuniju oksidaciju organskih spojeva koji teže oksidiraju (npr. octena kiselina, alkohol, aminokiseline) koristi se Ag_2SO_4 kao katalizator oksidacije.



U staklenu kivetu od 12 mL s čepom otpipetirano je 3 mL uzorka vode, 1,5 mL otopine $K_2Cr_2O_7$ ($c=1/24$ mol/L), te 4,5 mL otopine $Ag_2SO_4 + H_2SO_4$ ($c=10$ g/L). Isti postupak primijenjen je i za pripremu slijepa probe, ali uzorak vode je zamijenjen s 3 mL demineralizirane vode. Pripremljeni uzorci kuhani su dva sata u termoreaktoru TR420 tvrtke „Merck“ na 150 °C. Nakon kuhanja sadržaj kivete ohlađen je vodom i prebačen u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 mL, a zaostali sadržaj kivete ispran je demineraliziranom vodom. U Erlenmeyerovu tikvicu dodano je 2 do 3 kapi feroin indikatora i titrirano otopinom feroamonijevog sulfata ($c=0,1$ mol/L) do promjene boje iz smeđe u tirkizno plavu, te iz tirkizno plave u izrazito crveno-smeđu boju što predstavlja kraj titracije (ponovo vraćanje tirkizne boje nakon kraćeg vremena je prihvatljivo). Na temelju provedenog mjerenja izračunata je kemijska potrošnja kiska pomoću jednadžbe 9.

$$KPK [mg O_2 L^{-1}] = \frac{(V_1 - V_2) \times c_{fas} \times 6 \times M_{O_2} \times 1000}{V_{uzorak} \times 4 \times 6} = \frac{(V_1 - V_2) \times c_{fas} \times 8000}{V_{uzorak} [mL]} \quad \text{(jednadžba 9)}$$

- V_1 - volumen [mL] feroamonijevog sulfata ($c=0,1$ mol/L) potrošen za titraciju slijepa probe
- V_2 - volumen [mL] feroamonijevog sulfata ($c=0,1$ mol/L) potrošen za titraciju uzorka
- c - koncentracija feroamonijevog sulfata (0,1 mol/L)

KPK je određivan u uzorcima influenta i efluenta. Određivan je ukupni KPK influenta, te otopljeni i koloidni dio KPK u uzorcima influenta filtriranim na filterima pora veličine 0,45 μm i 1,2 μm . KPK filtriranog influenta (uključujući koloidne čestice) se označava KPK_{GF_IN} (GF – engl. glass filter – stakleni filter). KPK je određen u influentu nakon filtracije preko staklenog filtera veličine pora 1,2 mikrona. KPK filtriranog influenta (bez koloidnih čestica) se označava KPK_{MF_IN} (MF-

engl. membrane filtration). KPK je određen u influentu nakon flokulacije i membranske filtracije preko filtera veličine pora 0,45 mikrona.

3.4.2. Izračun otopljenog biorazgradivog KPK

Osim KPK i BPK₅ parametara koji su određivani laboratorijskim analizama, izračunat je i otopljeni biorazgradivi KPK pomoću jednadžbi 10 i 11.

$$\text{otopljeni biorazgradivi KPK} = \text{KPK}_{\text{otopljeni}} - \text{KPK}_{\text{efluent}} \quad (\text{jednadžba 10})$$

$$\text{KPK}_{\text{otopljeni}} = \text{KPK}_{\text{influent}} * (\text{prosjeck} \frac{\text{KPK}_{\text{filtrirani influent}}}{\text{KPK}_{\text{influent}}}) \quad (\text{jednadžba 11})$$

Prosječni omjer KPK u filtriranom i nefiltriranom influentu dobiven je iz svih analiza trosatnih kompozitnih uzoraka uzetih 2.5.2011. i 16.11.2011. godine. Vrijednosti KPK influenta i efluenta dobivene su svakodnevnim mjerenjima na UPOV-u.

3.4.3. Određivanje biološke potrošnje kisika (BPK₅)

Biološka potrošnja kisika predstavlja količinu kisika otopljenog u vodi koju potroše mikroorganizmi prisutni u vodi za 5 dana (120 h +/- 1 h) inkubacije pri 20 °C +/- 0,5 °C . Određuje se iz razlike kisika na početku i na kraju inkubacije koja se provodi u mraku da se spriječi rast algi, pri pH 6,5-6,7.

Očekivana BPK₅ vrijednost uzorka otpadne vode iznosi do 80% mjerene vrijednosti KPK (što znači da se mora znati KPK vrijednost danog uzorka). Prema određenom mjernom području određuje se volumen uzorka i faktor razrjeđenja.

BPK₅ je mjereno u OxiTop bocama (WTW, Njemačka). U OxiTop bocu dodana je točno izmjerena zahtijevana količina uzorka, te je u bocu ubačen magnet. U grlo boce umetnut je gumeni tobolac i u njega su stavljene dvije tablete NaOH koje vežu CO₂ nastao biološkom razgradnjom. Na osnovu potrošenog kisika nastaje CO₂ koji se veže na NaOH, dolazi do stvaranja podtlaka koji očitava vakuum metar na OxiTop boci i na osnovu podtlaka i stehiometrijskim jednadžbama izračunava vrijednost BPK₅.

$$\text{BPK} = \frac{M_{O_2}}{R \times T_m} \times \left(\frac{V_t - V_l}{V_l} + \alpha \frac{T_m}{T_0} \right) \times \Delta p_{O_2} \quad (\text{jednadžba 12})$$

- M_{O_2} Molekularna masa [32000 mg/mol]
- R plinska konstanta [83.144 L·mbar/mol·K]
- T_0 Referentna temperatura [273,15 K]
- T_m Temperatura tijekom mjerenja [K]
- V_t Volumen boce - nominalni volumen [mL]
- V_1 Volumen uzorka [mL]
- α Bunsenov koeficijent absorpcije [0,03103]
- Δp_{O_2} Razlika u parcijalnom tlaku [mbar]

Mjerna boca s OxiTop-om je stavljena na magnetsku miješalicu tijekom 5 dana u inkubator na 20 °C (kada se dostigne 20 °C OxiTop automatski počinje mjeriti vrijednost potrošnje kisika). OxiTop automatski pohranjuje jednu vrijednost svaka 24 sata tijekom 5 dana.

3.4.4. Određivanje acetata

Acetat je mjereno pomoću enzimatskog kit testa Megazyme Acetic Acid kit.

Pomoću jednadžbi 13 i 14, koncentracija acetata se može izraziti kao KPK.



$$\frac{2M(O_2)}{M(CH_3COOH)} = \frac{2 \times 16}{60} = 1,07 \quad (\text{jednadžba 14})$$

3.4.5. Ukupni organski ugljik (TOC)

Ukupni organski ugljik je mjereno na TOC Analyzer Shimadzu 5000A. Metoda se temelji na spaljivanju uzorka vode u peći i mjerenju nastalog CO_2 . Organski ugljik određuje se kao NPOC (engl. non purgable organic carbon - nehlapljivi organski ugljik), a uređajem se još mogu mjeriti ukupni ugljik TC (engl. total carbon) i anorganski ugljik IC (engl. inorganic carbon). Za određivanje NPOC (TOC) uzorak iz laboratorijskog bioreaktora filtriranog kroz filter pora 0,45 μ m se prvo zakiseli s koncentriranom HCl (pH=1-3) da bi se uklonio anorganski ugljik u obliku karbonata i hidrogenkarbonata. Uzorak se zatim otplinjava 9 minuta inertnim plinom dušikom kroz

cjevčicu za injektiranje uzorka kako bi se uklonio CO₂ nastao reakcijom karbonatne tvrdoće s kiselinom. Uzorak je injektiran tri puta i određen je NPOC. U obzir je uzeta srednja vrijednost tri mjerenja.

Mjerenjem parametra TOC mjeren je posredno KPK, odnosno acetat.

3.4.6. Određivanje ukupnog dušika

Digestijom se oslobađa dušik vezan na organske spojeve te prevodi u nitrat. Razrijeđeni uzorak efluenta otpipetiran je u kivetu, dodane su kemikalije iz Crack seta 20 (Merck, Njemačka). U dvije paralele razrijeđenog uzorka od 10 mL dodana je jedna doza R1 reagensa (K₂CO₃) i 6 kapi R2 reagensa (K₂S₂O₈). Priređeni uzorak je digestiran u termoreaktoru na 120°C jedan sat.

Upotrijebljena metoda određivanja nitrata u vodi temelji se na pretvorbi nitrata sa 2,6-dimetilfenolom u 4-nitro-2,6-dimetilfenol crveno obojenje koje se determinira fotometrijski. Apsorbancija je mjerena spektrofotometrom WTW Photolab S12 na 525 nm. Korištene su kemikalije tvrtke Merck iz Spectroquant seta br. 1.14764 prema uputama proizvođača koje su dodane u prethodno digestirani uzorak.

3.4.7. Određivanje dušika po Kjeldahlu

U prisutnosti sulfatne kiseline, K₂SO₄ i CuSO₄ kao katalizatora, amino dušik većine organskih spojeva se prevodi u amonij ion tijekom kuhanja na 380 °C. Nakon dodatka lužine, nastaje amonijak koji se destilacijom uvodi u bornu kiselinu s dodanim indikatorima (1% otopina bromkrezol zelenog, 1% otopina metilnog crvenila) nakon čega se destilat u bornoj kiselini titrira s kloridnom kiselinom (c(HCl)=0,1mol/L).

U 6 čistih kiveta za digestiju stavljeni su uzorci razrijeđeni destiliranom vodom tako da ukupni volumen bude barem 50 mL (maksimalni volumen može iznositi 250 mL). Pri svakom određivanju u dvije kivete stavljena je slijepa proba (sadrži samo 50 mL destilirane vode). U kivete su potom dodane dvije tablete s katalizatorima i 10 mL koncentrirane sulfatne kiseline (H₂SO₄). Kivete su stavljene u termoreaktor i začepljene vakuum čepovima, te zagrijavane uz postepeno povećavanje temperature do maksimuma kroz 90 minuta.

Digestija se provodila tako dugo dok uzorak nije poprimio blijedo zelenu boju bez vidljivih tragova organske tvari, te su nakon toga kivete izvađene i hladene na zraku. U svaku kivetu je oprezno dodano 75 mL destilirane vode, a potom je uzorak podvrgnut procesu destilacije.

Uređaj za destilaciju je podešen tako da je vrijeme trajanja destilacije bilo 4 minute, a zadani volumen lužine 50 mL. U Erlenmayerovu tikvicu od 250 mL otpipetirano je 25 mL 4% borne kiseline s dodanim indikatorima i tikvica je montirana u uređaj za destilaciju, te je pokrenuta destilacija. Prilikom destilacije ljubičasta boja indikatora u bornoj kiselini prelazi u zelenu. Nakon postupka destilacije sadržaj tikvice s bornom kiselinom i destilatom je titrirana s 0,1 M kloridnom kiselinom (HCl) do promjene boje iz zelene u ljubičasto-crvenu boju koja se više nije mijenjala. Koncentracija dušika je izračunata pomoću jednadžbe 15.

$$TKN = \frac{(V(\text{HCl uzorak}) - V(\text{HCl slijepa proba})) \cdot c(\text{HCl}) \cdot M(\text{N})}{V(\text{uzorka})} \quad (\text{jednadžba 15})$$

- TKN – ukupni Kjeldahlov dušik [mgN/L]
- V(HCL uzorak) – volumen kloridne kiseline utrošen za titraciju uzorka [mL]
- V(HCLslijepa proba) – volumen kloridne kiseline utrošen za titraciju slijepa probe [mL]
- c(HCl) – koncentracija kloridne kiseline korištene za titraciju
- M(N) – molarna masa dušika [14,007]
- V(uzorka) – volumen uzorka koji se titrira [L]

3.4.8. Određivanje koncentracije amonijaka i nitrata

Koncentracija amonijaka i nitrata određivana je pomoću ion selektivnih elektroda (amonijeva elektroda Eutech-ECNH40310B i nitratna elektroda Eutech-ECNO30301B) spojenih na uređaj za Eutech Cyberscan 6500. Za svakodnevno baždarenje su korištena dva standarda koncentracije 100 mg/L. Prvi standard kojim je baždarena elektroda za određivanje amonijaka sadržavao je amonijev klorid (NH₄Cl) i pomoću njega su pripravljene otopine kojima je podešen željeni koncentracijski interval [5 mg/L – 20 mg/L]. Drugi standard kojim je baždarena elektroda za određivanje nitrata sadržavao je natrijev nitrat (NaNO₃). Standardi su pripravljani razrjeđivanjem otopinom istog mineralnog sastava kao influent, bez organskih spojeva i amonijevog klorida, da bi se smanjio utjecaj ostalih iona na mjerenje.

Određivanje koncentracije amonijevih iona vršilo se i sukladno ISO 7150-1 pomoću kivetnog testa LCK 304 0,015 – 2 mg/L NH₄ – N tvrtke Hach Lange. Amonijevi ioni iz uzorka reagiraju s hipokloritnim ionima pri pH 12,6 u prisutnosti natrijeva nitroprusida i tvore plavo obojenje. Nakon 15 minuta je pomoću spektrofotometra očitana koncentracija amonijaka u uzorku.

Određivanje koncentracije nitratnih iona vršilo se i sukladno ISO 7890-1-1986 pomoću kivetnog testa LCK 339 0,23 – 13,50 mg/L NO₃ – N tvrtke Hach Lange. Nitratni ioni iz uzorka, u otopini sumporne (60%) i fosfatne (33%) kiseline, reagiraju s 2,6 – dimetilfenolom i tvore 4 – nitro – 2,6 dimetilfenol koji daje crveno obojenje u kivetnom testu. Nakon 15 minuta je pomoću spektrofotometra očitana koncentracija nitrata u uzorku.

3.4.9. Određivanje ukupnog i otopljenog fosfora

Određivan je ukupan fosfor i otopljeni fosfor. Da bi odredili ukupan fosfor uzorak je potrebno digestirati. Digestijom se oslobađa fosfor koji je vezan za organske spojeve. Razrijeđeni uzorak efluenta otpipetiran je u kivetu, dodane su kemikalije iz Sepctroquant crack seta 10 (Merck, Njemačka). U dvije paralele razrijeđenog uzorka od 10 mL dodana je jedna doza R2 reagensa ((NH₄)₂S₂O₈) i kap R1 reagensa (koncentrirana H₂SO₄). Priređeni uzorak je digestiran u termoreaktoru na 120°C jedan sat. Nakon digestiranja i hlađenja u uzorak je dodano tri kapi R3 reagensa (NaOH).

Nakon digestiranja, vezani fosfor je preveden u otopljeni te je određivan pomoću aksorbinske kiseline iz Spectorquant crack seta 1 (Merck, Njemačka). Amonij-molibdat i fosfor-antimonil-tartarat reagiraju u kiselom mediju s ortofosfatom, te se formira heteropolna kiselina (fosfomolibdatna kiselina) koja se reducira s askorbinskom kiselinom do molibdata uz intenzivno plavo obojenje. U 5 mL uzorka dodano je pet kapi reagensa P1-A (fosfor-antimonil-tartarat) i jedna žličica reagensa P2-A (amonij-molibdat). Spektrofotometrijski je određena koncentracija prisutnog fosfora u uzorku u staklenoj kiveti od 10 mm. Konačna koncentracija fosfora dobivena je tako da se srednja vrijednost uzetih paralela pomnožila s razrjeđenjem.

3.4.10. Određivanje pH-vrijednosti

Vrijednost pH vode određivana je pomoću staklene elektrode tipa AppliSens pH+, spojene na kontrolno upravljačku jedinicu laboratorijskog SBRa. Elektroda je stalno bila uronjena u reaktor,

te je pH-vrijednost stalno mjerena. Kalibracija elektrode je provođena uranjanjem u pufer otopinu pH 7.

3.4.11. Određivanje koncentracije otopljenog kisika

Koncentracija otopljenog kisika je određivana pomoću elektrode tipa Applisens DO, tvrtke Applikon, spojene na kontrolno upravljačku jedinicu laboratorijskog SBR-a. Elektroda je stalno bila uronjena u reaktor, te je koncentracija otopljenog kisika stalno mjerena. Kalibracija elektrode je provođena uranjanjem elektrode u otopinu zasićenu otopljenim kisikom.

3.4.12. Određivanje alkaliteta (Standard methods 2320 B)

Alkalitet je određivan titracijom s 0,1 M HCl, te je krajnja točka titracije određena promjenom boje indikatora metil oranža.

Alkalitet je izračunat pomoću jednadžbe 16.

$$\text{alkalitet} = \frac{V(\text{HCl}) \cdot c(\text{HCl}) \cdot M(\text{CaCO}_3)}{V(\text{uzorka}) \cdot 2} \quad (\text{jednadžba 16})$$

- V(HCl) – volumen kloridne kiseline utrošen za titraciju
- c(HCl) – koncentracija kloridne kiseline
- M(CaCO₃) – molarna masa kalcijevog karbonata
- V(uzorka) – volumen uzorka koji se titrira

3.4.13. Određivanje kalcija (Standard methods 3500-Ca B)

Kalcij je u uzorcima određivan titracijom s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) pri pH 12 uz indikator Murexid. Prilikom dodavanja EDTA u uzorak koji sadrži i kalcij i magnezij, EDTA reagira prvo s kalcijem. Kalcij se može direkto određivati s EDTA pri visokim pH-vrijednostima pri kojima se magnezij taloži u obliku hidroksida. Koncentracija kalcija je izračunata pomoću jednadžbe 17.

$$\text{kalcij} = \frac{V(\text{EDTA}) \cdot c(\text{HCEDTA}) \cdot M(\text{Ca})}{V(\text{uzorka})} \quad (\text{jednadžba 17})$$

- V(EDTA) – volumen EDTA utrošene za titraciju
- c(EDTA) – koncentracija EDTA
- M(Ca) – molarna masa kalcija
- V(uzorka) – volumen uzorka koji se titrira

3.4.14. Određivanje magnezija

Koncentracija magnezija u uzorcima je izračunata kao razlika ukupne tvrdoće određene titrimetrijski s EDTA uz indikator Eriokrom crni T pri pH 10 (Standard methods 2340 C) i izmjerene koncentracije kalcija.

3.4.15. Određivanje ukupne suspendirane tvari (TSS)

Najprije je uzorak filtriran na staklenom filter papiru (Lab Logistics Group GmbH, Meckenheim, Njemačka). Prije filtracije na analitičkoj vagi je određena masa čistog filterarskog papira. Nakon filtracije, filter s uzrokom je sušen u sušioniku na 105°C do konstante mase. Osušeni filter s talogom je izvagan, te je iz razlike mase čistog filtera i filtera s talogom izračunata TSS (engl. Total Suspended Solids). Uzimana su tri usporedna uzorka iz kojih je izračunata srednja vrijednost.

3.4.16. Određivanje ukupne organske suspendirane tvari (VSS)

Ukupna organska suspendirana tvar (engl. Volatile Suspended Solids – VSS) se određuje nakon određivanja TSS. Filter papir s talogom od određivanja TSS je spaljen na plameniku, te žaren u mufolnoj peći na 550°C otprilike 3 sata. Filter papir je zatim ohlađen u eksikatoru prije samog vaganja kako ne bi povukao vlagu iz zraka. Razlika masa čistog filtera i filtera s talogom nakon žarenja jednaka je ukupnoj anorganskoj suspendiranoj tvari. Ukupna organska suspendirana tvar (VSS) jednaka je razlici dobivenih koncentracija TSS i anorganskih suspendiranih tvari (ISS).

Masa organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju (MLVSS) je određivana na početku i na kraju svakog testa iz tri usporedna uzorka.

4. REZULTATI

4.1. Karakterizacija uređaja za pročišćavanje otpadnih voda grada Koprivnice

4.1.1. *Uvjeti rada UPOV-a Koprivnica*

UPOV Koprivnica je uređaj trećeg stupnja pročišćavanja s kemijskim taloženjem fosfora kapaciteta 100.000 ES pri čemu polovicu hidrauličkog dotoka čini industrijska otpadna voda. Prema riječima voditeljice UPOV-a, ispuštanje industrijskih otpadnih voda uzrokuje neujednačenost kakvoće influenta, pa su i trajanja određenih faza u ciklusu rada biološkog dijela UPOV-a Koprivnica mijenjana češće nego je to uobičajeno na UPOV-ima bez utjecaja industrijskih otpadnih voda.

U travnju 2011. godine, SBR ciklus je trajao 14 sati, uz 2 sata punjenja bez aeracije i 3 sata punjenja uz aeraciju. Faza obrade se odvijala tijekom 6,5 sati od čega je 2 sata bilo uz aeraciju, 3 bez aeracije i 1 h uz aeraciju i 0,5 bez aeracije. Taloženje je trajalo 1,5h, a dekantiranje 0,5h, nakon čega je slijedilo mirovanje do početka ponovnog punjenja.

U srpnju 2011. godine, ciklus je trajao 12 sati, od čega je punjenje svakog od SBR-a trajalo 4 sata. Prva dva sata punjenja su se odvijala bez aeracije, zatim 1 sat uz aeraciju, pa 1 sat bez aeracije. Faza obrade je trajala 4 sata te bi u svakom satu 15 min trajala aeracija i 45 min bez aeracije. Slijedilo je taloženje u trajanju od 1,5h, dekantiranje u trajanju 30 min, te mirovanje u trajanju 2h do ponovnog početka punjenja.

U ožujku 2017. je punjenje trajalo 5 sati uz 2 sata bez aeracije, faza obrade je trajala 7 sati uz izmjenu aeracije i bez nje svakoga sata. Na kraju faze obrade je bila podfaza bez aeracije. Taloženje je trajalo 1,5h, a dekantiranje 0,5h, nakon čega je slijedilo ponovno punjenje.

U svibnju 2017. godine, UPOV je radio u ciklusima trajanja 15 sati, od čega se 5 sati odvijalo punjenje SBR-a (uz 2 sata aeracije), 5 sati se odvijala reakcija u kojoj su se izmjenjivali periodi uz aeraciju (u ukupnom trajanju 3 sata) i bez nje (2 sata kada se odvijala dentrifikacija), 1 sat se odvijalo taloženje, 1 sat dekantiranje, te 3 sata mirovanja.

Otopljeni kisik se u aerobnim fazama održavao na 2 mgO₂/L.

Na UPOV Koprivnica, višak mulja nije izdvajan nakon svakog ciklusa, već prema MLSS u bioreaktoru koji se kretao između 3,2 i 5,4 g/L. Na temelju podataka o količinama viška mulja koji je izdvajan dnevno i koncentracijama mulja u SBR bazenima, procijenjeno je da se SRT na UPOV-u kreće od 15 do 30 dana.

4.1.2. Karakterizacija influenta i efluenta UPOV-a Koprivnica

Svrha karakterizacije influenta je procjena da li je otpadna voda grada Koprivnice pogodna za pročišćavanje otpadne vode trećeg stupnja uz poboljšano biološko uklanjanje fosfora umjesto dosadašnjeg kemijskog uklanjanja. Vrijednosti izmjerene u 2011. i 2017. godini su prikazane u tablicama 12 i 13.

Tablica 12. Karakteristike influenta u 2011. godini mjerene svakog radnog dana na UPOV Koprivnica (analizirano 250 dnevnih kompozitnih uzoraka influenta). Podatke ustupila voditeljica UPOV-a Koprivnica.

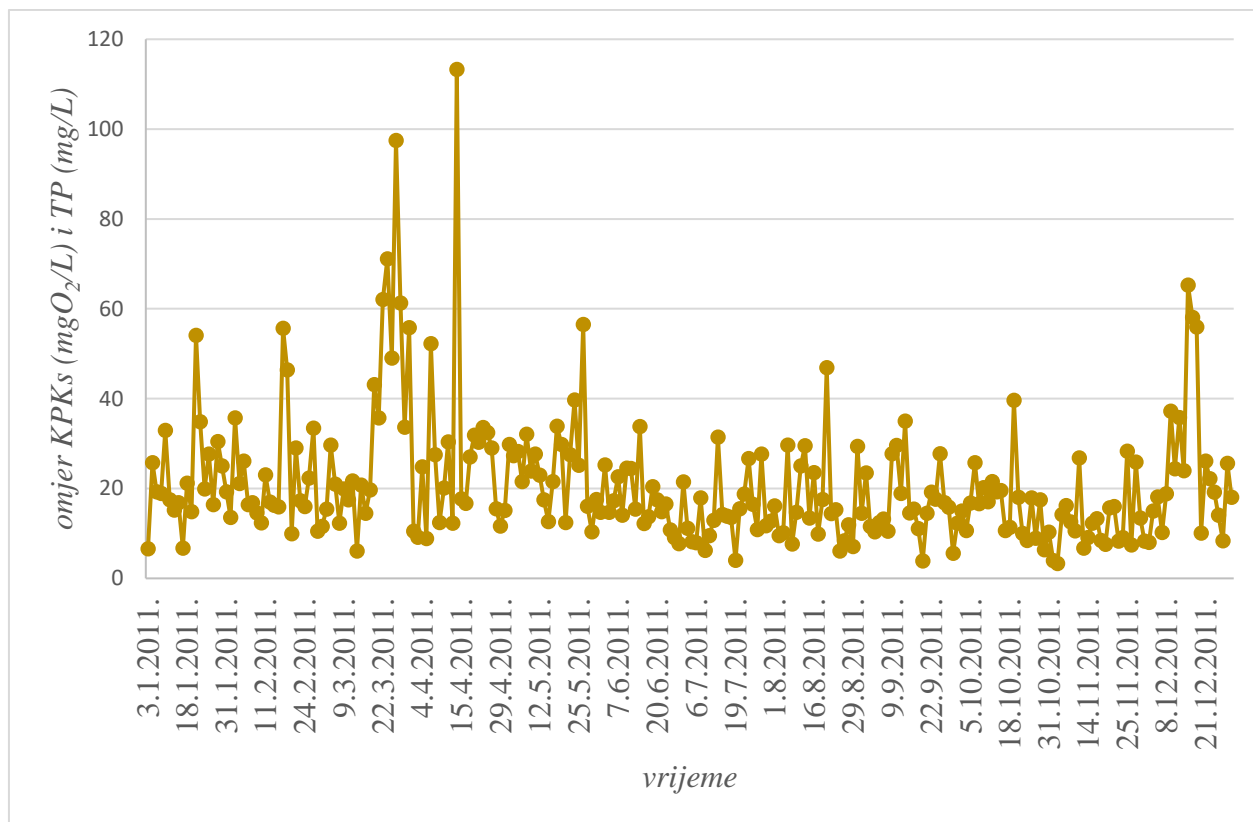
Karakteristike influenta	min	max	prosjeak	st.dev.
KPK (mgO ₂ /L)	200	3.012	622	328
BPK ₅ (mgO ₂ /L)	90	1.100	341	150,5
Ukupni N (mgN/L)	10,8	92,2	34,6	14,3
Ukupni P (mgP/L)	1,6	48,7	12,9	6,7
Suspendirane tvari (mg/L)	102	2.245	317	180
Omjer KPK/BPK ₅	1	6,7	1,9	0,8
Omjer KPK/TN	4,6	202	21,6	18,9
Omjer KPK/TP	9,3	303	58,6	38,9
Omjer BPK ₅ /TP	4,2	202,4	32,4	24,1

Tablica 13. Karakteristike influenta u 2017. godini mjerene svakog radnog dana na UPOV Koprivnica (analizirano 248 dnevnih kompozitnih uzoraka influenta). Podatke ustupila voditeljica UPOV-a Koprivnica.

Karakteristike influenta	min	max	prosjek	stdev
KPK (mgO ₂ /L)	84	1.748	529	231
BPK ₅ (mgO ₂ /L)	35	1.200	270	140
Ukupni N (mgN/L)	6	218	63	27
Ukupni P (mgP/L)	1	25	6	3,4
Suspendirane tvari (mg/L)	56	1.280	198	135
Omjer KPK/BPK ₅	1	4,6	2,1	0,6
Omjer KPK/TN	1,9	97	10,2	8,5
Omjer KPK/TP	24,4	930	126	125
Omjer BPK ₅ /TP	11,3	503	62,6	62,8

Na slici 11 i 12 su prikazani omjeri računski dobivenog otopljenog biorazgradivog KPK i ukupnog fosfora u influentu tijekom 2011. i 2017. godine.

Određivanje BPK₅ vrijednosti je dugotrajno i podložno mnogim utjecajima poput vremena koje je proteklo od uzorkovanja do analize, primjenjena razrjeđenja ili adaptiranost naciepljenih mikroorganizama na otpadnu vodu. Budući da je određivanje BPK₅ manje pouzdano od KPK (Meijer i Brdjanovic, 2012), iz izmjerenih vrijednosti KPK influenta, KPK efluenta, te omjera KPK određenog u filtriranom i nefiltriranom influentu, izračunat je otopljeni biorazgradivi KPK (jednadžbe 10 i 11 u poglavlju 3. Materijali i metode).



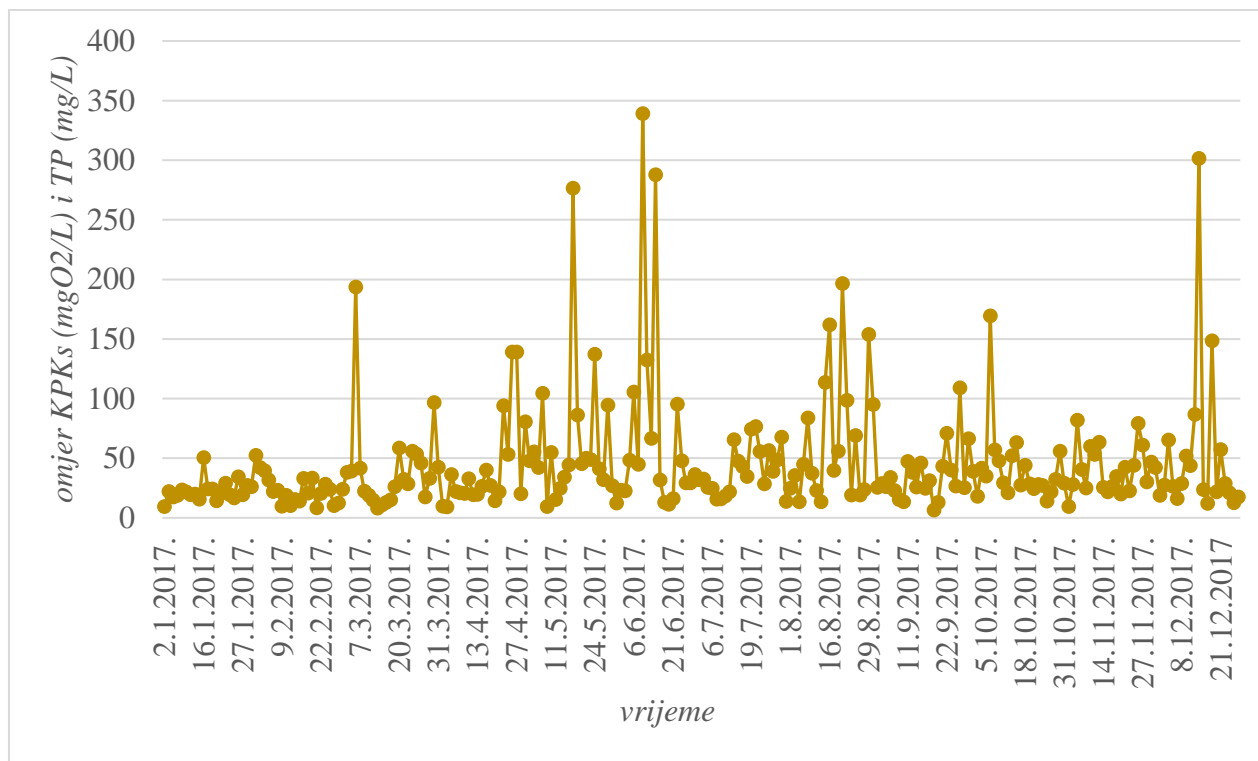
Slika 11. Varijacije u omjeru otopljenog biorazgradivog KPK (KPKs) i ukupnog fosfora (TP) u influentu tijekom 2011. godine.

Najniža vrijednost omjera KPKs i TP u 2011. g. je 3,3, a u 2017. g. 6,6.

Najviša vrijednost omjera KPKs i TP u 2011. g. je 113,3, a u 2017. g. 339.

Prosječna godišnja vrijednost omjera u 2011. g iznosi 21, a u 2017. g 44,9 (Slike 11 i 12).

Prosječne mjesečne vrijednosti omjera otopljenog biorazgradivog KPK (KPKs) i ukupnog fosfora (TP) u influentu su u 2017. godini uvijek iznad 20, a u 2011. godini iznad 13.



Slika 12. Varijacije u omjeru otopljenog biorazgradivog KPK (KPKs) i ukupnog fosfora (TP) u influentu tijekom 2017. godine.

Prosječna pH-vrijednost influenata bila je 6,4. Prosječna pH-vrijednost pitke vode u vodoopskrbnom sustavu iznosi 6,9. Temperatura influenta na UPOV Koprivnica se kreće od oko 15-16°C zimi, a oko 20°C ljeti.

U tablici 14 i 16 su prikazani rezultati mjerenja ukupnog fosfora (TP), ortofosfata (P-PO₄), amonija (N-NH₄), ukupnih suspendiranih tvari (TSS), anorganskih suspendiranih tvari (ISS), organskih suspendiranih tvari (VSS), KPK nefiltriranog i filtriranog uzorka, TKN, te BPK₅ iz nefiltriranog i filtriranog uzorka u 3-satnim kompozitnim uzorcima uzimanima tijekom 24 sata u svibnju i studenom 2011. godine provedeni u Laboratoriju za tehnologiju vode Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta. Iz rezultata navedenih mjerenja izračunati su omjeri VSS i TSS, KPK u filtriranom i nefiltriranom uzorku, BPK₅ i KPK, KPK i TP, te KPK i TKN koji su prikazani u tablici 15 i 17.

Tablica 14. Rezultati analiza u trosatnim kompozitnim uzorcima uzetima 2. svibnja 2011.godine

Uzorak	TP	P-PO₄	N-NH₄	TSS	ISS	VSS	KPK	KPK filt	TKN	BPK₅	BPK₅ filt
jedinica	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
00-03h	5,5	4,16	36,5	356	128	228	257	121		150	50
03-06h	5,9	4,13	35,6	330	110	220	257	112	56		
06-09h	6,05	4,87	45,0	362	120	242	248	116		140	50
09-12h	6,5	5,5	46,1	184	50	134	275	154	59		
12-15h	6,65	5,56	41,7	114	20	94	257	149		140	50
15-18h	7,95	5,12	34,3	330	88	242	266	126	53		
18-21h	7,65	5,42	38,0	214	46	168	275	144		150	50
21-24h	6,85	5,18	37,4	126	26	100	224	158	53		
prosječna vrijednost	6,63	4,99	39,3	252	73,5	178,5	257	135	55,25	145	50

Tablica 15. Omjeri VSS i TSS, KPK u filtriranom i nefiltriranom uzorku, BPK₅ i KPK, KPK i TP, te KPK i TKN u uzorcima uzetima 2. svibnja 2011.godine

Uzorak	VSS/TSS	KPKfilt/KPK	BPK₅/KPK	KPK/TP
00-03h	0,64	0,47	0,58	46,73
03-06h	0,67	0,44		43,56
06-09h	0,67	0,47	0,56	40,99
09-12h	0,73	0,56		42,31
12-15h	0,82	0,58	0,54	38,65
15-18h	0,73	0,47		33,46
18-21h	0,79	0,52	0,55	35,95
21-24h	0,79	0,71		32,70
prosječna vrijednost	0,73	0,53	0,56	39,29

Tablica 16. Rezultati analiza u trosatnim kompozitnim uzorcima uzetima 16. studenog 2011. godine.

Uzorak	TP	P-PO₄	N-NH₄	TSS	ISS	VSS	KPK	KPK filt	TKN	BPK₅	BPK₅ filt
jedinica	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
00-03h	9,40	4,68	36	345	25	320	615	124		280	60
03-06h	9,60	4,72	37	310	15	295	589	106	67	380	60
06-09h	13,80	4,78	38	146	4	142	350	92		170	50
09-12h	18,04	4,54	38	318	46	272	595	140	67	300	60
12-15h	8,68	3,85	29	56	4	52	317	93	53	140	20
15-18h	7,04	4,47	26	242	22	220	384	87	53		
18-21h	6,88	4,38	32	170	12	158	357	127	56		
21-24h	8,40	4,71	36	152	6	146	317	79		240	40
prosječna vrijednost	10,23	4,52	34	217	17	201	441	106	59	252	48

Tablica 17. Omjeri VSS i TSS, KPK u filtriranom i nefiltriranom uzorku, BPK₅ i KPK, KPK i TP, te KPK i TKN u uzorcima uzetima 16. studenog 2011. godine.

Uzorak	VSS/TSS	KPKfilt/KPK	BPK₅/KPK	KPK/TP
00-03h	0,93	0,20	0,46	65,43
03-06h	0,95	0,18	0,65	61,35
06-09h	0,97	0,26	0,49	25,36
09-12h	0,86	0,24	0,50	32,98
12-15h	0,93	0,29	0,44	36,52
15-18h	0,91	0,23		54,55
18-21h	0,93	0,36		51,89
21-24h	0,96	0,25	0,76	37,74
prosječna vrijednost	0,93	0,25	0,55	45,73

U svibnju 2011. godine su izmjerene i vrijednosti kalcija, magnezija, te alkalitet kompozitnih uzoraka i oni iznose: 60 mg/L Ca, 36 mg/L Mg i 440 mg CaCO₃/L.

U dva kompozitna trosatna uzorka 16. studenog je određen acetat. Rezultati analiza su 32,5 i 13,2 mgAc/L.

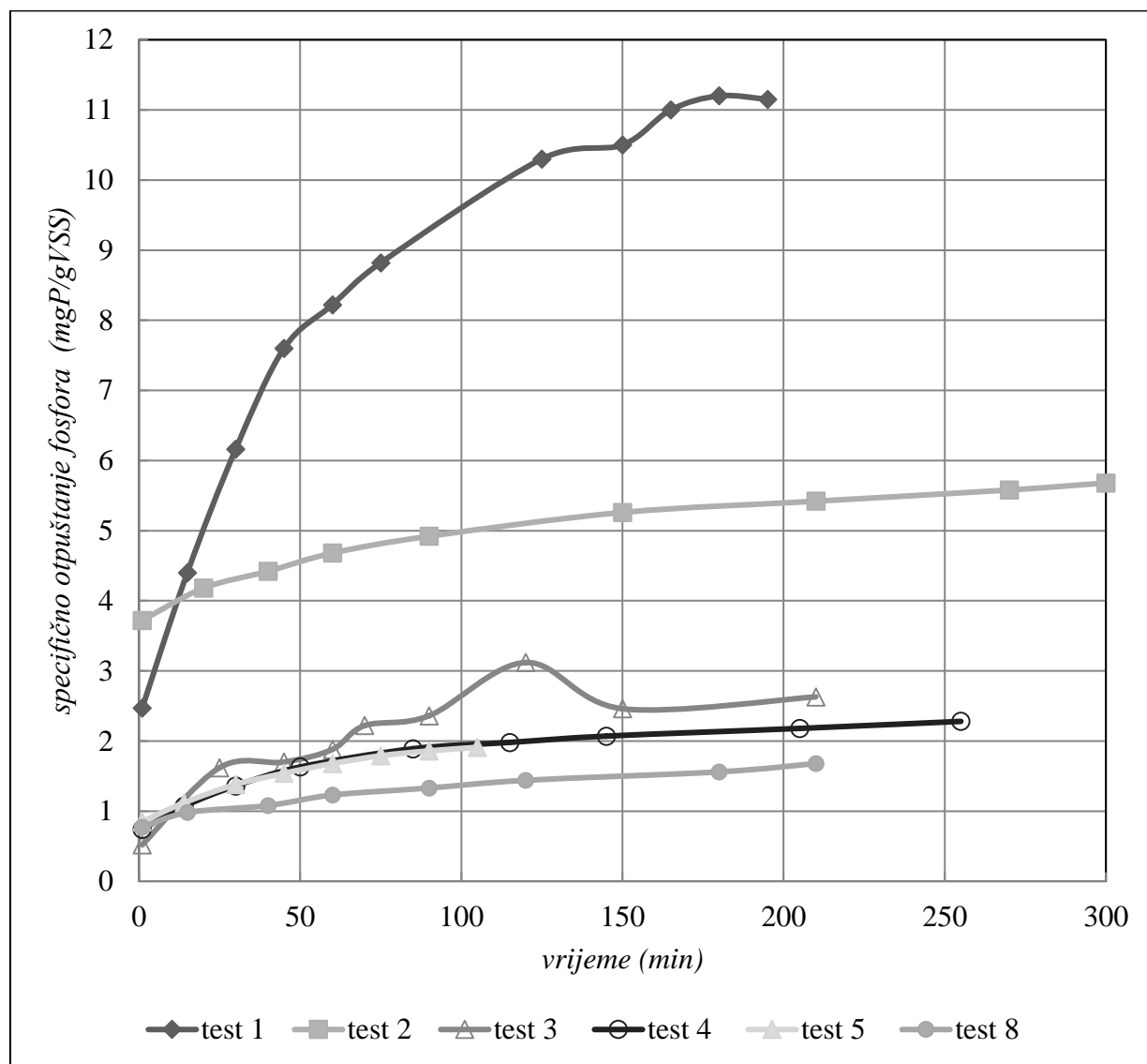
Tablica 18. Karakteristike efluenta u 2011. (250 dnevnih kompozitnih uzoraka) i 2017. godini (248 dnevnih kompozitnih uzoraka) mjerene svakog radnog dana na UPOV Koprivnica izražene kroz minimalne, maksimalne i prosječne vrijednosti, te standardne devijacije (MDK – maksimalno dozvoljene koncentracije iz vodopravne dozvole). Podatke ustupila voditeljica UPOV-a Koprivnica.

Karakteristike efluenta	min		max		prosjek		stdev		MDK
	2011.	2017.	2011.	2017.	2011.	2017.	2011.	2017.	
KPK (mgO ₂ /L)	7	1	38	44,5	19,1	18,5	5,5	6,13	125
BPK ₅ (mgO ₂ /L)	1	1	19	16	4,6	3,6	3,4	2,28	25
Ukupni N (mgN/L)	1,1	1,6	13,2	14,1	6,7	6,8	2,4	3	15
Ukupni P (mgP/L)	0,2	0,03	2	1,88	1,3	0,88	0,4	0,44	2
Suspendirane tvari (mg/L)	2	1	21	12	7,3	3,6	2,8	1,9	35

4.1.3. Karakterizacija biomase aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica

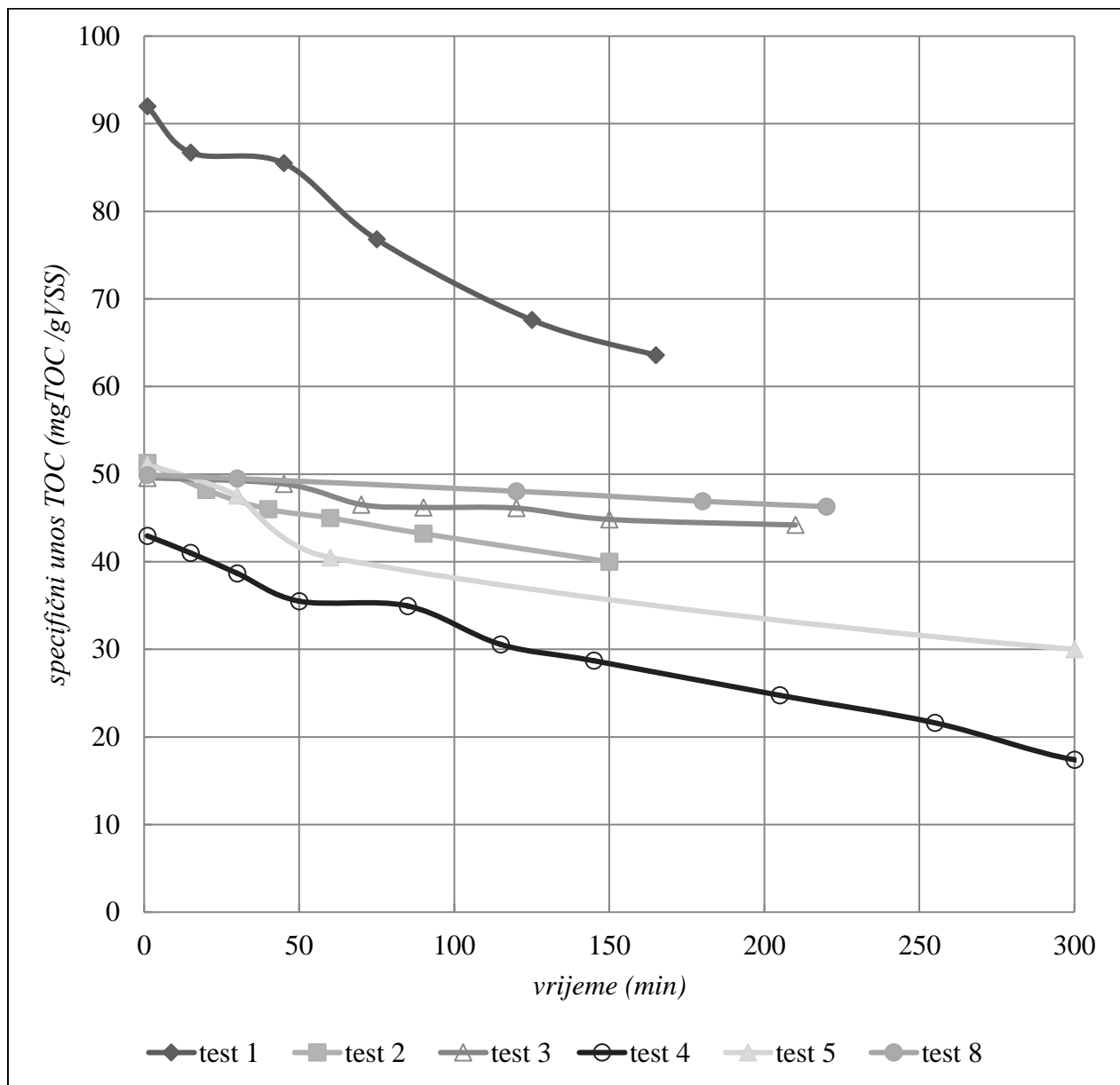
Tijekom 2011. i 2012. godine, provedeni su šaržni testovi i određene su kinetičke brzine procesa od interesa. U svim uzorcima aktivnog mulja uzetima s UPOV-a Koprivnica omjer MLVSS i MLSS je bio od 0,64 do 0,66.

Na slici 13 su prikazani rezultati testova otpuštanja fosfora u anaerobnim uvjetima provedenih sa šest različitih uzoraka mulja s UPOV Koprivnica.



Slika 13. Masa otpuštenog fosfora po masi organske suspendirane tvari aktivnog mulja tijekom anaerobnih uvjeta uz prisustvo acetata kao izvora ugljika.

U testu 1 je otpušteno najviše fosfora, 8,68 mgP/L. U ostalim testovima je otpušteno manje od 2,15 mgP/L (redom 1,96 mgP/L, 2,11 mgP/L, 1,54 mgP/L, 1,06 mgP/L i 0,91 mgP/L).



Slika 14. Smanjenje koncentracije acetata mjenenog kao ukupni organski ugljik izražen po masi organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju tijekom anaerobne faze testa

Na slici 14 su prikazane koncentracije ukupnog organskog ugljika tijekom anaerobne faze u 6 provedenih testova. S obzirom da je acetat jedini dodani supstrat u testu, pomoću TOC je praćeno smanjenje koncentracije acetata u testu. Dubber i Gray (2010) su proveli usporedbu vrijednosti

TOC i KPK influenta sa 11 UPOV-a i uočili linearnu ovisnost ta dva parametra ($KPK=49,2+3,00 \times TOC$). Teorijska KPK vrijednost acetata iznosi $1,07 \text{ mgO}_2/\text{L}$ (jednadžba 14).

Tablica 19. Ukupni unos acetata (HAc) po masi organske suspendirane tvari aktivnog mulja i omjer ispuštenog fosfata i unesenog acetata izraženog kao TOC tijekom testa anaerobnog otpuštanja fosfora uz acetat kao izvor ugljika.

Omjer/broj testa	test 1	test 2	test 3	test 4	test 5	test 8
Ukupni unos HAc (mgTOC/gVSS)	11,89	4,75	4,13	13,65	14,77	1,78
PO ₄ /TOC omjer (mgP/mgTOC)	0,30	0,17	0,39	0,06	0,06	0,23

Tablica 20. Maksimalne brzine anaerobnog otpuštanja fosfata uz prisustvo acetata, te aerobnog i anoksičnog unosa fosfata na uzorcima aktivnog mulja sa UPOV-a Koprivnica, i iz literature.

Broj testa:	maks. brzina anaerobnog P-otpuštanja (mgP/gVSS.h)	maks. brzina aerobnog P-unosa (mgP/gVSS.h)	maks. brzina anoksičnog P-unosa (mgP/gVSS.h)
test 1	2,41	0,48	
test 2	0,40	0,77	0,34
test 3	1,04	0,54	
test 4	0,51	0,47	
test 5	0,34		0,20
test 8	0,19	0,69	0,63
Objavljeni podaci:	Brzina anaerobnog P-otpuštanja (mgP/gVSS.h)	Brzina aerobnog P-unosa (mgP/gVSS.h)	Brzina anoksičnog P-unosa (mgP/gVSS.h)
Zhang i sur., (2011)	0,22-7,9	0,43-8,11	0,00-3,45
Monclus i sur., (2010)	3,97-4,94	6,24-8,00	2,26-3,29
Gu i sur., (2008)	5,6-31,9	2,4-9,7	/
Lopez-Vazquez i sur., (2008a)	9,6-20,9	6,2-19,2	0,0-5,9
He i sur., (2008)	11,1-19,2	1,9-11,0	/
Monti i sur., (2007)	5-30	2-10	1-6
Akin i Ugurlu (2004)	4,38/3,11	1,98/1,32	/

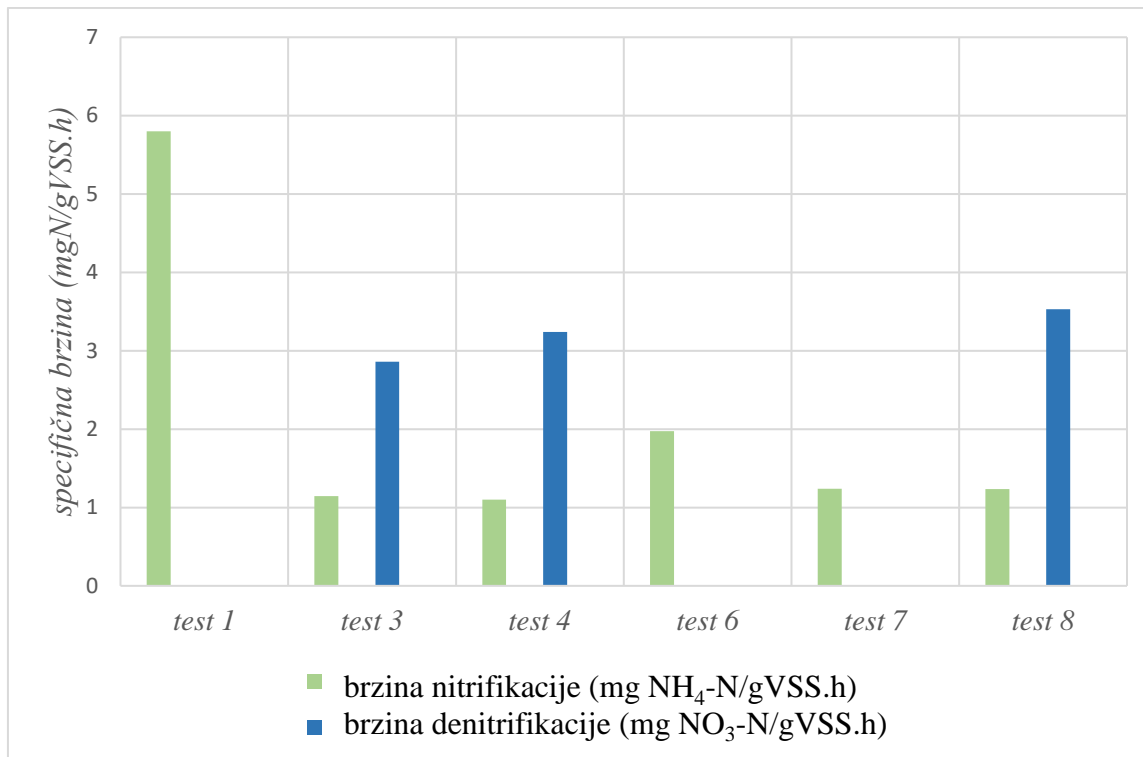
Zhang i suradnici (2011) su istraživali aktivnost mulja s 10 UPOV-a različitih tehnologija i uvjeta rada kako bi utvrdili učinkovitost EBPR-a. Monclus i suradnici (2010) su uzgajali mulj u pilot postrojenju koristeći komunalnu otpadnu vodu (omjer C:N:P iznosi 100:11:0,8). Gu i suradnici (2008) su istraživali aktivnost muljeva sa 6 UPOV-a koji provode EBPR, uz acetat kao izvor ugljika. Lopez-Vazquez i suradnici (2008a) su vršili testove s muljevima iz 7 UPOV-a različitih tehnologija tijekom zimskog perioda. Monti i suradnici (2007) su u testovima aktivnosti biomase na pilot postrojenju koristili komunalni influent uz dodatak acetata kada ga nije bilo dovoljno. Akin i Ugurlu (2004) su proučavali aktivnost biomase aktivnog mulja uzgojene u laboratoriju uz sintetički influent (izvori ugljika su glukoza i acetat).

Tablica 21. Vrijednosti ukupnog fosfora izraženog po masi organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju otpuštenog tijekom anaerobne faze i unesene tijekom aerobne i anoksične faze za svaki od provedenih testova.

Parametar / broj testa (uzorak mulja)	test 1	test 2	test 3	test 4	test 5	test 8
ukupno specifično anaerobno otpuštanje P (mgP/gVSS)	3,63	0,82	1,62	0,74	0,53	0,45
ukupni specifičan aerobni unos P (mgP/gVSS)	2,85	1,96	1,31	0,89	NM	1,23
ukupni specifičan anoksični unos P (mgP/gVSS)	NM	0,91	NM	NM	0,48	1,76

NM – nije mjereno

Na slici 15 su prikazane izmjerene brzine nitrifikacije i denitrifikacije. Sa uzorcima mulja 1, 6 i 7 nije rađen test denitrifikacije.



Slika 15. Specifična brzina nitrifikacije i denitrifikacije

4.2. Laboratorijski pokusi mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

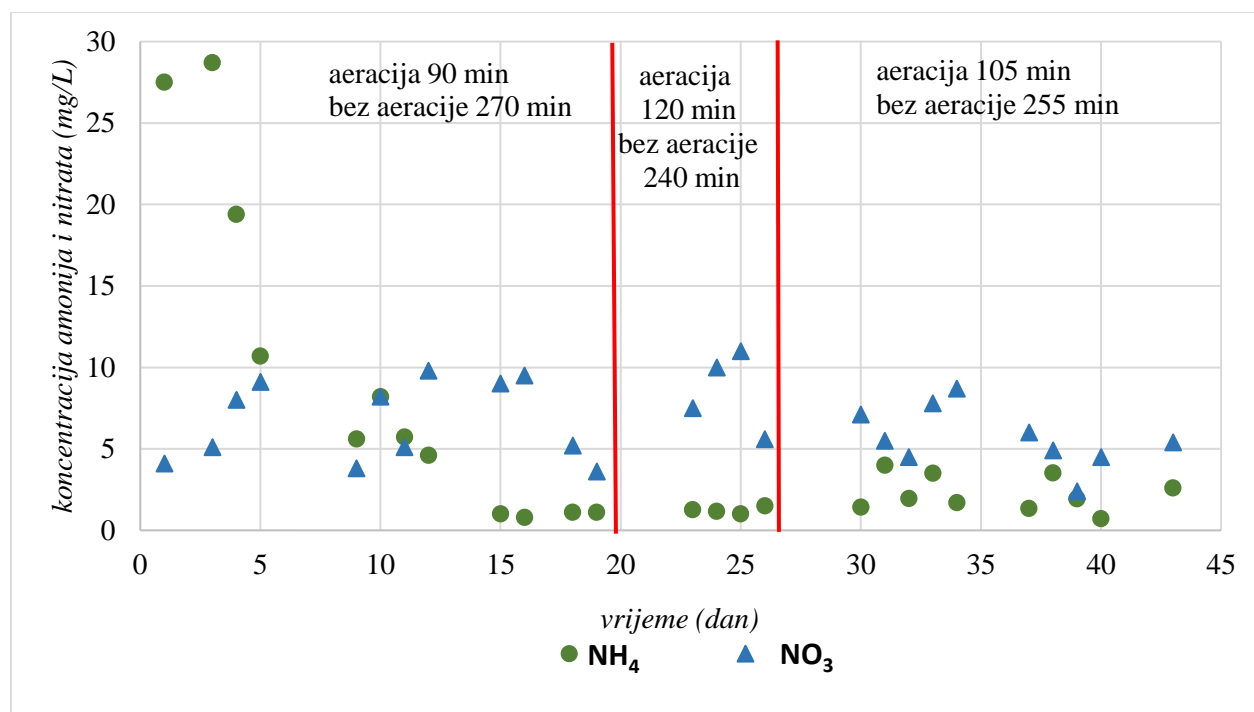
Kako bi se provjerila mogućnost i brzina razvoja PAO u biomasi aktivnog mulja, aktivni mulj sa UPOV-a Koprivnica je kultiviran u laboratorijskim uvjetima.

4.2.1. Prvi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

Prvi pokus je trajao 43 dana.

Tijekom prvog laboratorijskog pokusa mijenjano je trajanje faza uz aeraciju i bez nje. Prvih 21 dan, je aeriranje trajalo tri puta po 30 minuta, od 22.-29. dana tri puta po 40 minuta, a od 30.-43. dana je aeracija trajala tri puta po 35 minuta. Crvenim linijama na slici 16, 17 i 18 su prikazani dani kada su promijenjeni uvjeti rada.

U sintetičkom influentu su vrijednosti KPK iznosile 550 mgO₂/L, a u efluentu od 20-40 mgO₂/L.

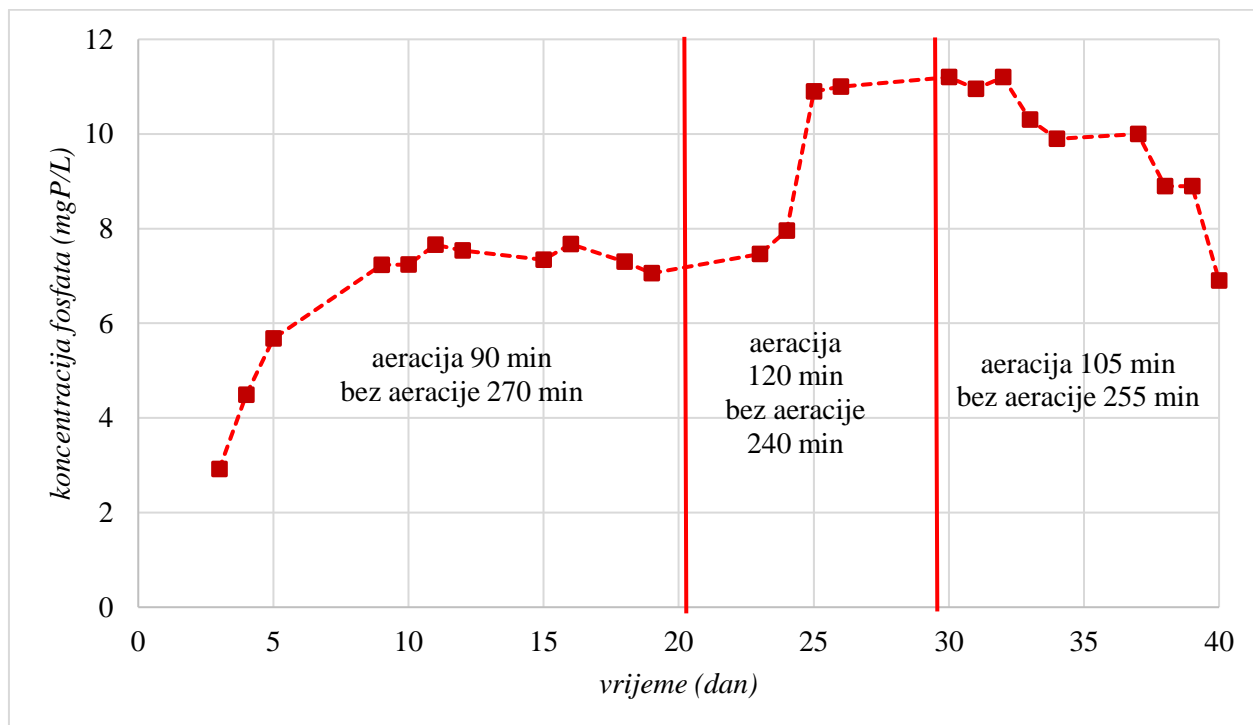


Slika 16. Koncentracije nitrata i amonija u efluentu laboratorijskog bioreaktora tijekom provedbe prvog laboratorijskog pokusa.

Koncentracija amonija u sintetičkom influentu je iznosila 35 mgN/L, a u efluentu su vrijednosti u prvih 13 dana padale od 28 mgN/l do 2 mgN/l, nakon čega su se ustalile na vrijednostima ispod 4

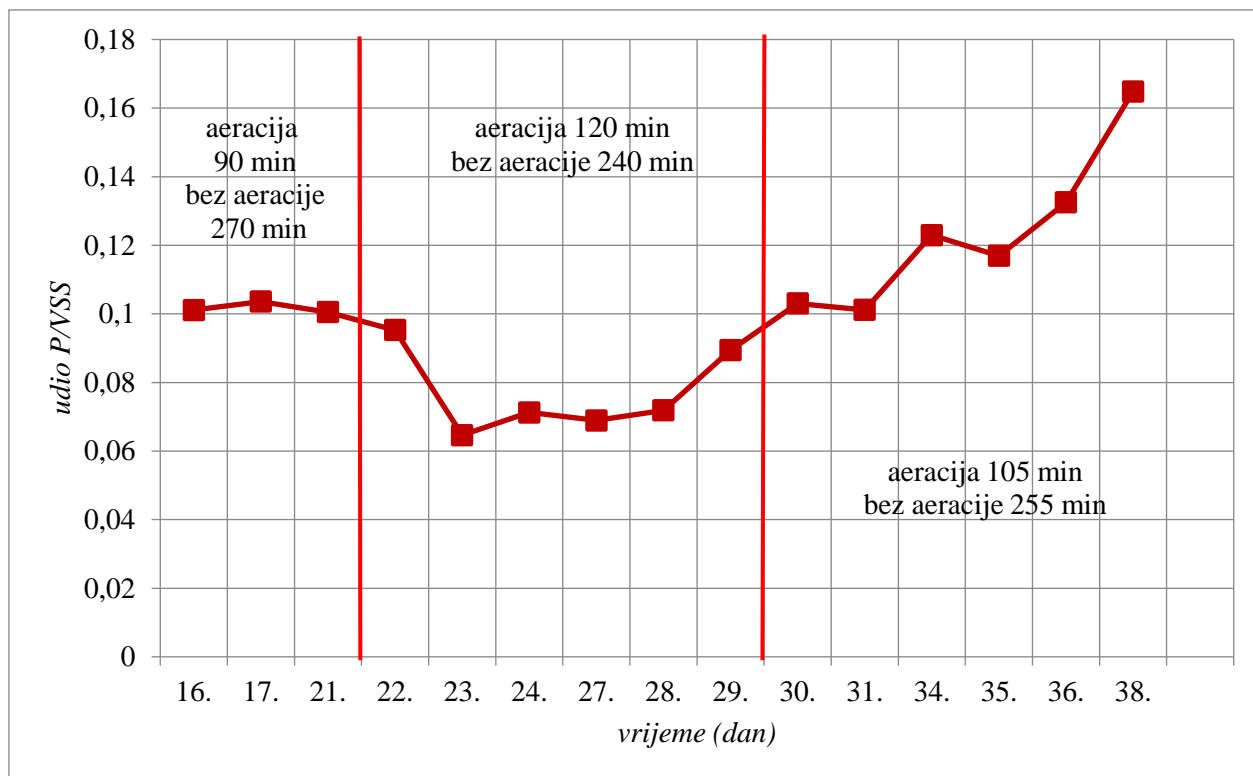
mgN/L. Vrijednosti nitrata u efluentu su varirale od 2,4 do 11 mgN/L. Prosječna vrijednost nitrata u efluentu u drugoj fazi uz vrijeme uz aeraciju od 120 min, a vrijeme bez aeracije od 240 min je iznosila 8,53 mgN/L, dok je u trećoj fazi, kada je ukupno trajanje faze bez aeracije trajalo 255 min, prosječna vrijednost nitrata u efluentu iznosila 5,68 mgN/L. Nakon 8. dana su vrijednosti amonija i nitrata zajedno bile niže od 15 mgN/L.

Koncentracija fosfata u influentu je iznosila 12 mgP/L.



Slika 17. Koncentracije fosfata u efluentu tijekom provedbe prvog laboratorijskog pokusa.

U početku su vrijednosti fosfata u efluentu bile niže od 6 mgP/L. Od 9.-23. dana su se vrijednosti kretale od 7,06 do 7,67 mgP/L, nakon čega je koncentracija fosfata u efluentu porasla. Nakon 32. dana provedbe pokusa, koncentracija fosfata u efluentu je počela padati.



Slika 18. Udio fosfora u masi organske suspendirane tvari aktivnog mulja tijekom provedbe prvog laboratorijskog pokusa

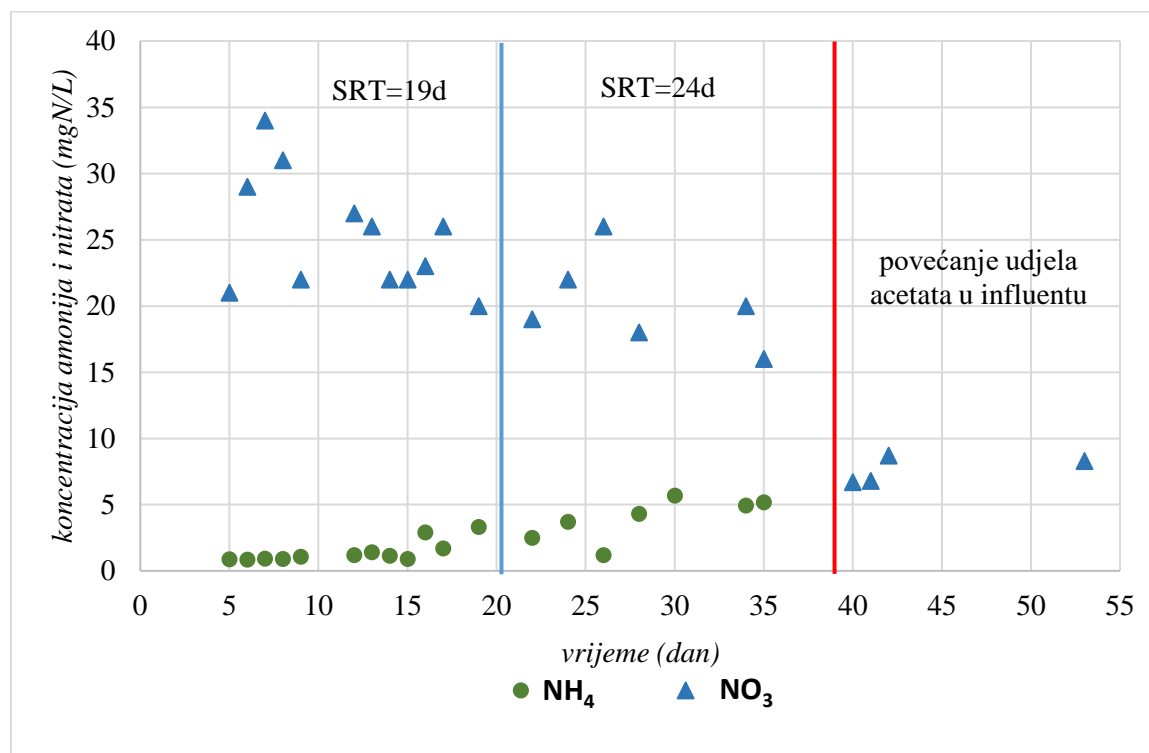
Udio fosfora u masi organske suspendirane tvari aktivnog mulja prvo pada, a zatim raste nakon 23. dana provedbe pokusa. Mulj je u početku (prvih 22 dana) sadržavao viši udio anorganske suspendirane tvari. Tijekom provedbe pokusa, u aktivnom mulju se povećavao udio organske suspendirane tvari i ustalio se iznad 90% nakon 20 dana provedbe pokusa.

4.2.2. Drugi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

Drugi laboratorijski pokus je trajao 54 dana, uz promjenu SRT-a 21. dana pokusa s 19 na 24 dana (označeno plavom linijom), te uz povećanje udjela lako-biorazgradivog izvora ugljika (acetat) i smanjenje udjela sporije biorazgradivog izvora ugljika (škrob) 39. dana pokusa (označeno crvenom linijom).

Uvjeti rada su podešeni tako da tijekom punjenja nema aeracije, dok se tijekom faze obrade izmjenjuju razdoblja sa aeracijom i bez aeracije kako bi se provelo uklanjanje spojeva s dušikom kroz nitrifikaciju i denitrifikaciju (Tablica 9). Budući da je produljenje ukupnog trajanja faze bez aeracije u prvom pokusu imala povoljan učinak na proces denitrifikacije, drugi pokus je proveden uz fazu obrade koja se sastoji od tri ciklusa od 30 minuta uz aeraciju i 90 minuta bez aeracije.

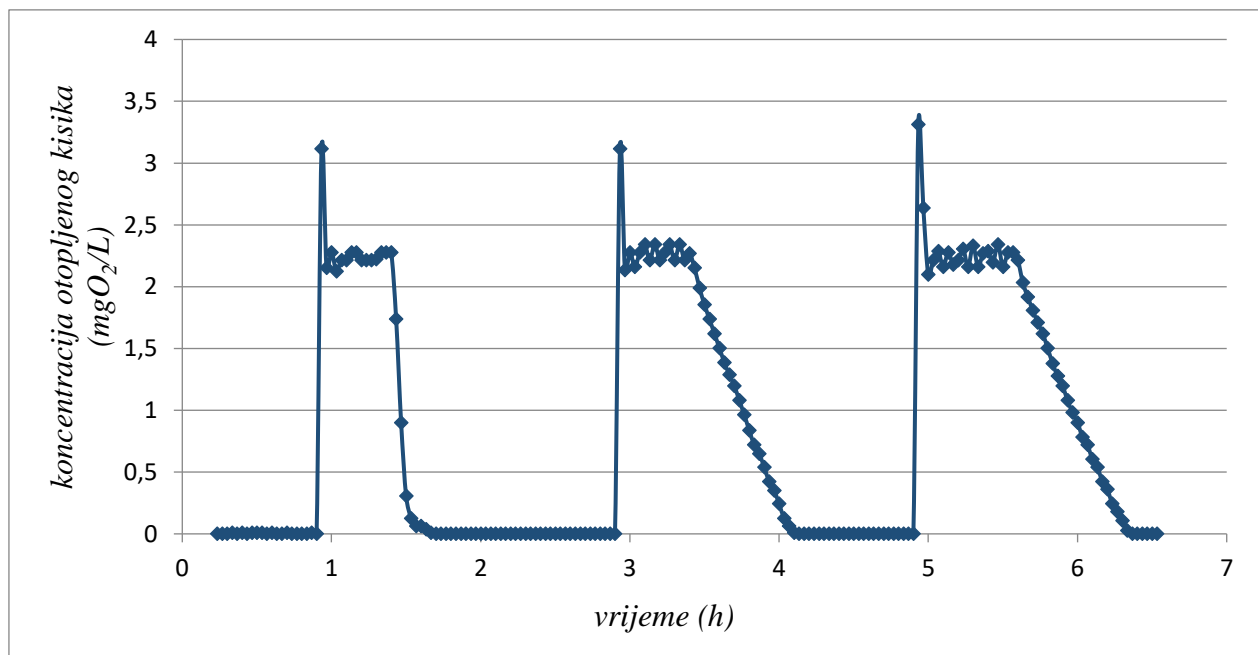
U influentu su vrijednosti KPK iznosile 550 mgO₂/L, a u efluentu od 10-80 mgO₂/l.



Slika 19. Koncentracije amonija i nitrata u efluentu tijekom provedbe drugog laboratorijskog pokusa. Crvenom linijom je označen dan kada je promijenjen sastav influenta, a plavom kada je promijenjen SRT.

Ukupni dušik u influentu je iznosio 55 mgN/L. Izvor dušika u sintetičkom influentu bio je pepton i mlijeko u prahu kao organski dušik, te amonijev klorid kao izvor amonija.

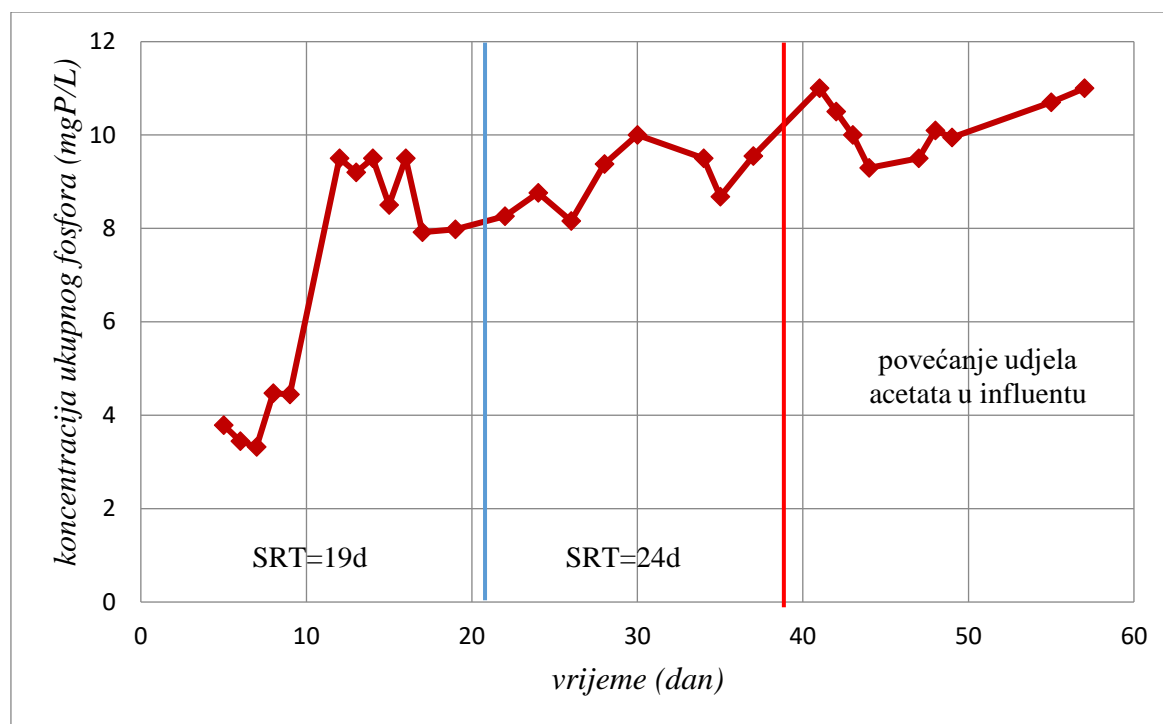
Koncentracije amonija u efluentu su se prvih 15 dana pokusa kretale od 0,85 do 1,4 mgN/L nakon čega su počele rasti do 5,7 mgN/L (Slika 19). Koncentracije nitrata su se s vremenom smanjivale, od 34 mgN/L do 16 mgN/L (35. dan provedbe pokusa), no i dalje nedovoljno za uspostavu anaerobnih uvjeta tijekom punjenja bioreaktora. S obzirom na nedovršen proces denitrifikacije, 39. dana pokusa je izmjenjen sastav influenta na način da je povećan udio lako-biorazgradivog izvora ugljika (acetat s 40 na 120 mg/L), a smanjen udio sporije biorazgradivog izvora ugljika (škrob s 215 na 165 mg/L) uz zadržavanje iste vrijednosti ukupnog KPK od 550 mgO₂/L. Specifična brzina denitrifikacije mjerena 35-tog dana procesa iznosila je 0,1 mgNO₃-N/mgVSS.d, a 54-tog dana 0,19 mgNO₃-N/mgVSS.d. Prosječna vrijednost nitrata zadnjih 15 dana pokusa iznosila je 7,6 mgN/L.



Slika 20. Promjene u koncentraciji otopljenog kisika u laboratorijskom bioreaktoru 16. dana pokusa tijekom jedne faze obrade tijekom provedbe drugog laboratorijskog pokusa u kojoj se izmjenjuju faze uz aeraciju i bez nje.

Na slici 20 su prikazane koncentracije otopljenog kisika mjerene tijekom jedne faze obrade kada se izmjenjuju razdoblja uz aeraciju i bez nje. Nakon prvog razdoblja aeracije koja je trajala 30 minuta, vrijednost otopljenog kisika naglo pada s 2,3 mgO₂/L do 0 mg O₂/L u 15 minuta. U roku

od 8 minuta je koncentracija kisika pala ispod 0,2 mgO₂/L. Nakon drugog i trećeg razdoblja aeracije, vrijednosti otopljenog kisika padaju sve sporije. Nakon drugog razdoblja uz aeraciju, potrebno je 38 minuta da koncentracija kisika padne ispod 0,2 mgO₂/L, a nakon trećeg razdoblja uz aeraciju čak 52 minute.



Slika 21. Koncentracije ukupnog fosfora u efluentu tijekom provedbe drugog laboratorijskog pokusa. Crvenom linijom je označen dan kada je promijenjen sastav influenta, a plavom kada je promijenjen SRT.

Vrijednosti ukupnog fosfora u influentu su iznosile 12 mgP/L. Prvih 10 dana provedbe laboratorijskog pokusa su koncentracije ukupnog fosfora u efluentu bile od 3,3 do 4,5 mgP/L. Od 12 do 38 dana se koncentracija fosfora se u efluentu ustalila između 7,9 i 10 mgP/L, a zatim je još malo porasla, te se do kraja pokusa kretala od 9,3 do 11 mgP/L, što je znatno iznad 2 mgP/L koliko iznosi maksimalna dopuštena koncentracija propisana vodopravnom dozvolom.

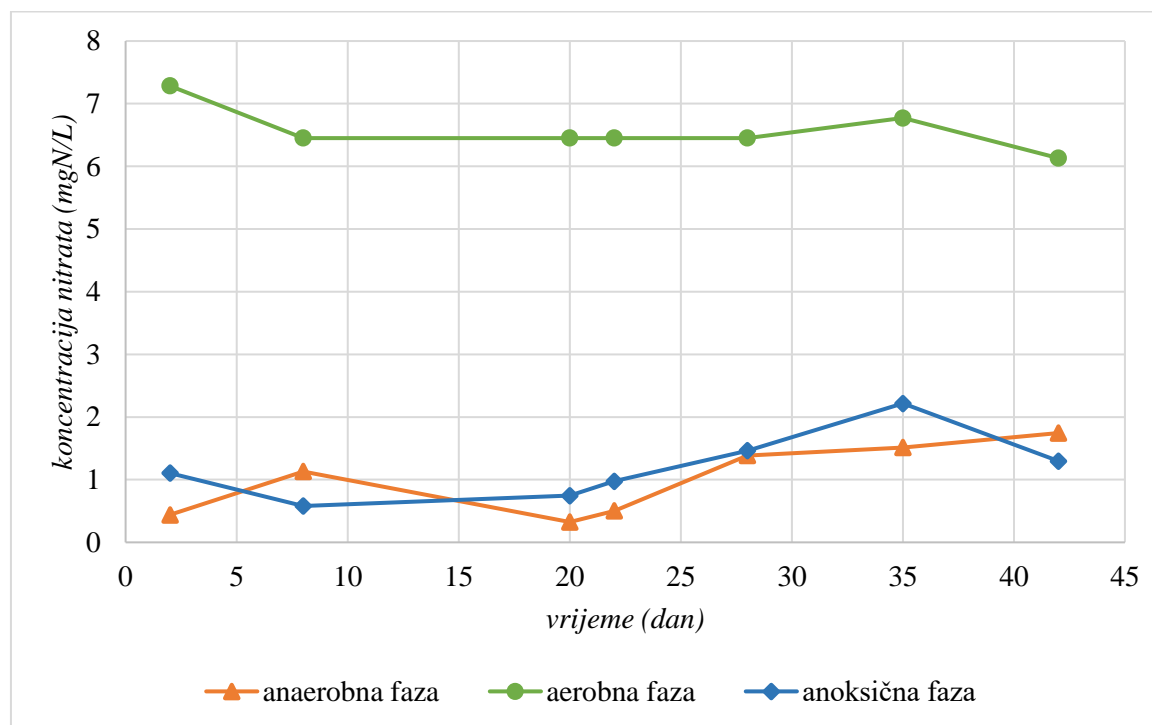
Mulj je u početku (prvih 15 dana) sadržavao viši udio anorganske suspendirane tvari. Tijekom provedbe pokusa, u aktivnom mulju se povećavao udio organske tvari i ustalio se iznad 90% nakon 20 dana provedbe pokusa. Udio fosfora u ukupnoj organskoj suspendiranoj tvari mulja se tijekom čitavog pokusa kretao od 0,025 do 0,045 mgP/gVSS.

4.2.3. Treći laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

U ovom laboratorijskom pokusu su pripremljena dva influenta. Sintetički influent 1 je bogat acetatima i njime se bioreaktor puni tijekom anaerobne faze, a sintetički influent 2 sadrži laktat i njime se reaktor puni u anoksičnoj fazi. Za razliku od prethodna dva pokusa, ukinuto je naizmjenično aeriranje tijekom faze obrade.

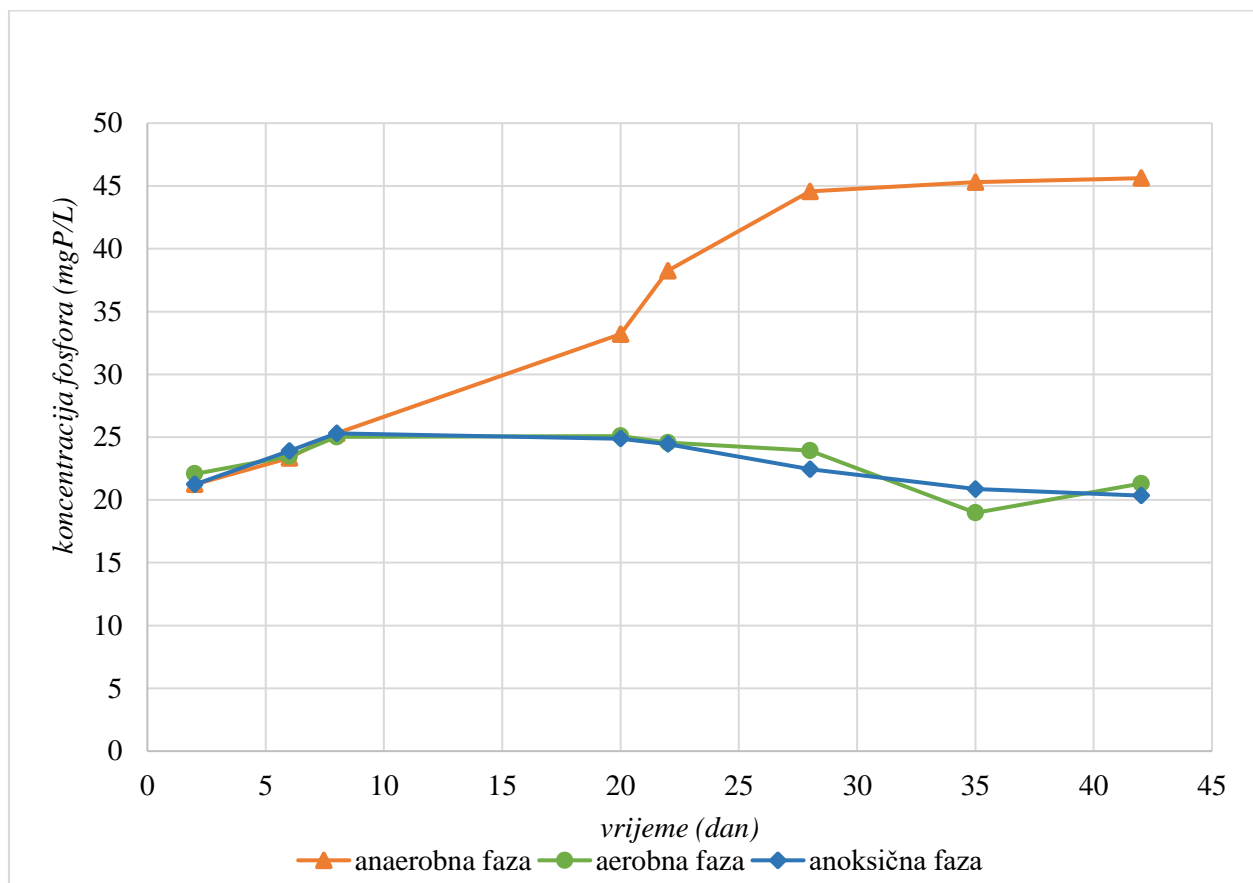
Budući da se faza obrade sastojala samo od jednog ciklusa aeracije (195 min) i bez aeracije (105 min) praćene su koncentracije parametara od interesa u filtriranom uzorku mulja nakon svake faze (anaerobne – neposredno prije početka aeracije, aerobne – neposredno prije gašenja aeracije i anoksične – neposredno prije početka taloženja).

Koncentracija amonija u influentu je iznosila 30 mgN/L, te je nakon faze uz aeraciju koja je trajala 195 minuta smanjena na vrijednosti ispod 0,5 mgN/L.



Slika 22. Koncentracije nitrata nakon anaerobne, aerobne i anoksične faze tijekom provedbe trećeg laboratorijskog pokusa.

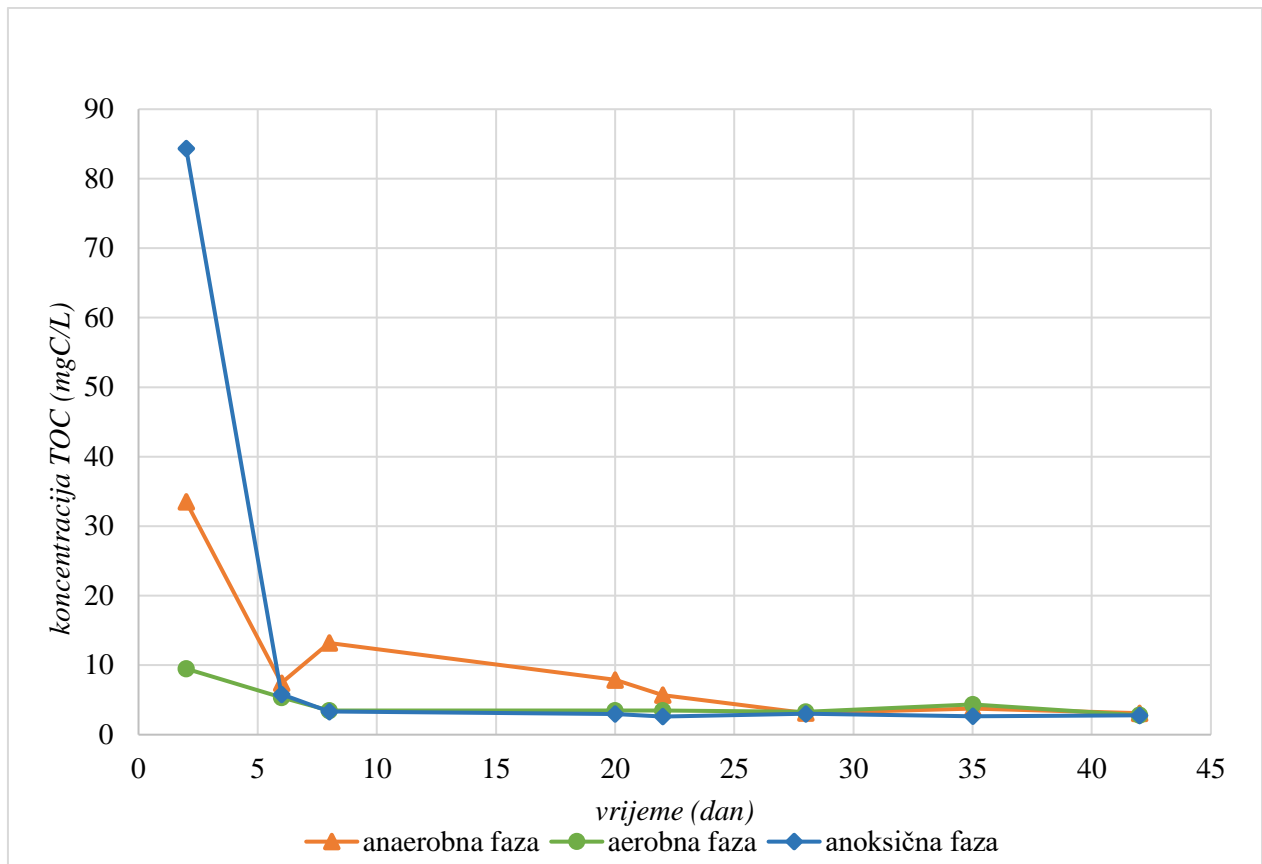
Koncentracije nitrata na kraju anoksične faze su se kretale od 0,58 do 1,46 mgN/L, uz jednu povećanu vrijednost (2,2 mgN/L) 35. dana pokusa (Slika 22).



Slika 23. Koncentracije fosfora u filtriranom uzorku mulja na kraju anaerobne, aerobne i anoksične faze tijekom provedbe trećeg laboratorijskog pokusa.

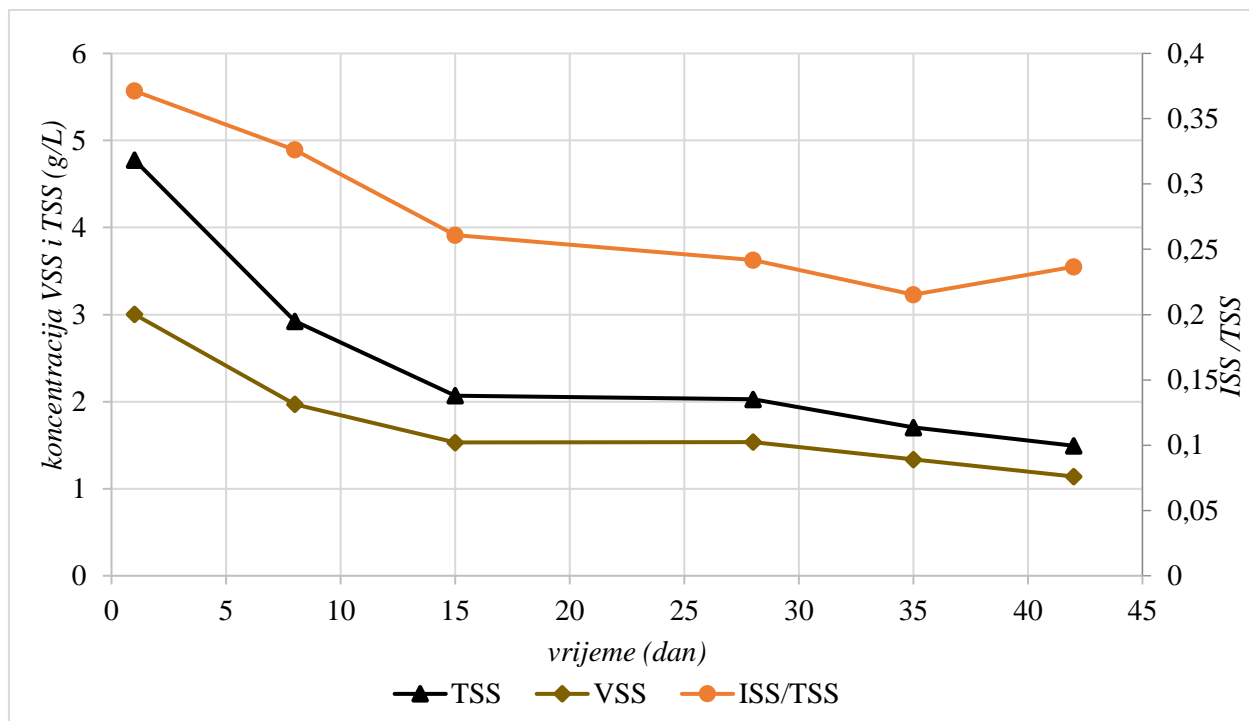
Tijekom prvog tjedna provedbe pokusa, koncentracije fosfora su bile jednake nakon anaerobne, anoksične i aerobne faze, što je vidljivo iz slike 23. Nakon toga je koncentracija otopljenog fosfora u filtriranom uzorku mulja nakon anaerobne faze počela rasti i ustalila se nakon 30 dana provedbe ovog laboratorijskog pokusa. Paralelno s porastom fosfora nakon anaerobne faze, došlo je do smanjenja fosfora nakon aerobne faze. Vrijednosti fosfora u supernatantu nakon aerobne i anoksične faze su podjednake tijekom cijelog pokusa.

Koncentracija fosfora u infuentu je iznosila 30 mgP/L. Na kraju ovog pokusa, vrijednosti fosfora nakon anoksične faze su iznosile od 20,3 do 22,5 mgP/L.



Slika 24. Koncentracije ukupnog organskog ugljika (TOC) nakon anaerobne, aerobne i anoksične faze tijekom provedbe trećeg laboratorijskog pokusa.

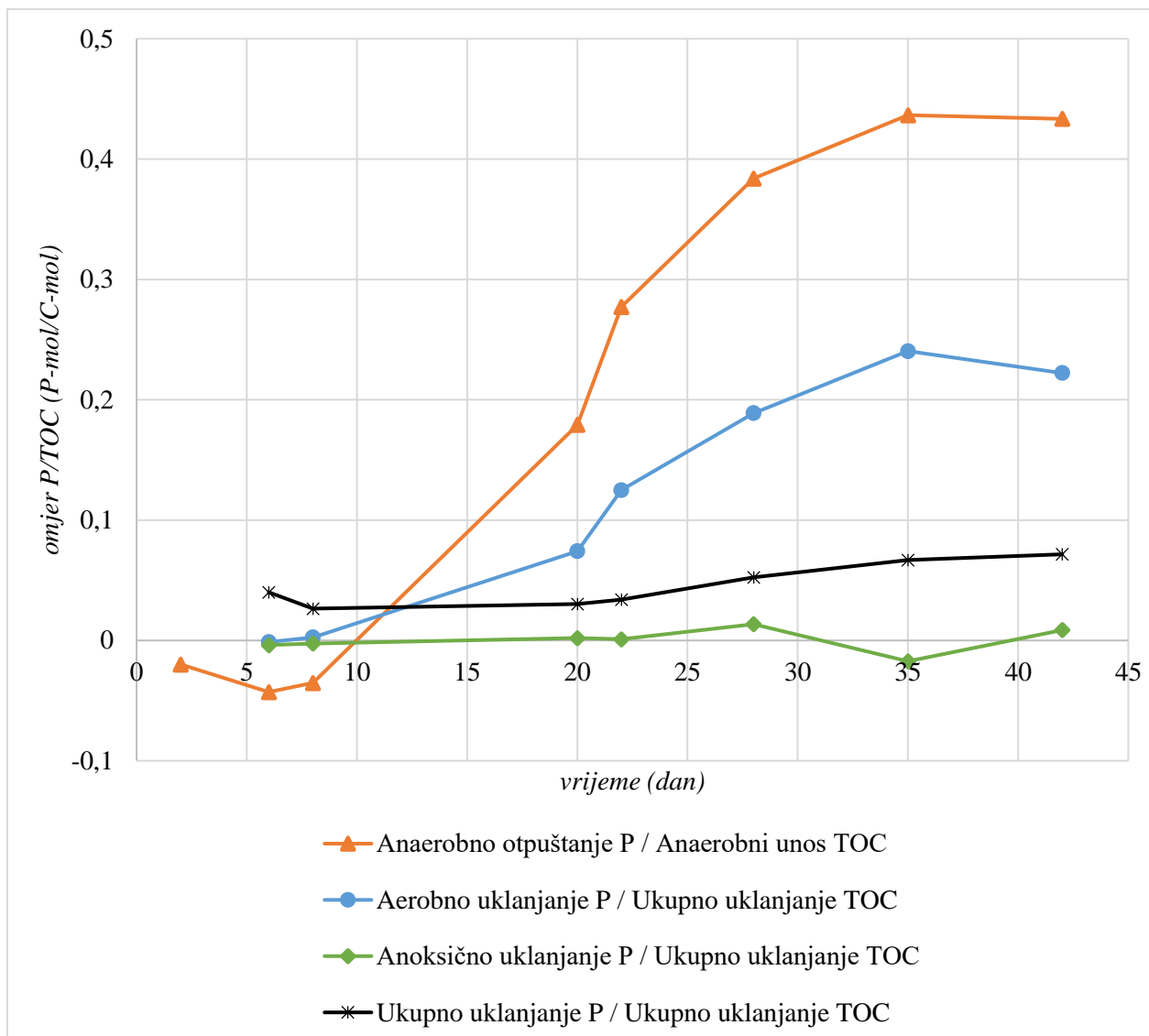
Unos organskih tvari tijekom anaerobne faze izražen kao TOC se s vremenom povećavao, te je bio gotovo potpun nakon 20 dana provedbe pokusa (Slika 24).



Slika 25. Koncentracije VSS i TSS, te udio ISS u TSS u uzorcima aktivnog mulja iz laboratorijskog SBR-a tijekom provedbe trećeg laboratorijskog pokusa

Iz slike 25 je vidljivo postepeno smanjivanje koncentracija ukupnih i organskih suspendiranih tvari u mulju tijekom provedbe pokusa.

Omjer anorganskih suspendiranih tvari (ISS) u ukupnim suspendiranim tvarima (TSS) u aktivnom mulju je u početku 0,37 mg/mg, a zatim se smanjuje na 0,2 do 0,25 mg/mg.



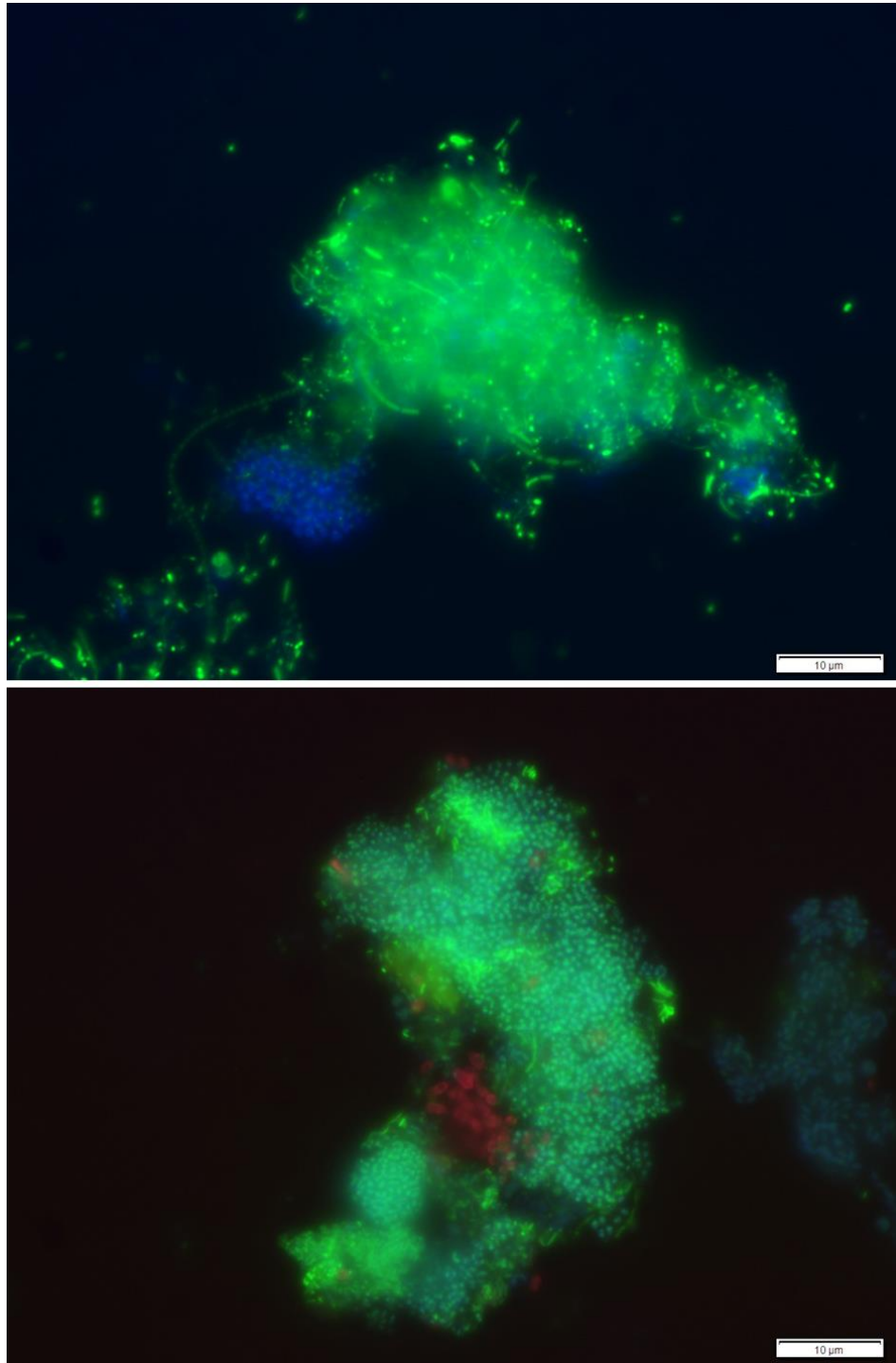
Slika 26. Omjeri fosfora i izvora ugljika izraženih kao TOC tijekom procesa anaerobnog otpuštanja fosfata, aerobnog i anoksičnog unosa fosfata, te ukupnog unosa fosfata tijekom provedbe trećeg laboratorijskog pokusa.

4.2.4. Karkterizacija aktivnog mulja pomoću FISH tehnike (fluorescence in situ hybridization - FISH)

Na početku trećeg laboratorijskog pokusa mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora, te na njegovom kraju, uzeti su uzorci aktivnog mulja, te je provedena FISH analiza. Rezultati su prikazani na slici 27.

Na slici 27a je vidljivo da na početku provedbe pokusa, u uzorku aktivnog mulja nema prisutnih PAO niti GAO u količinama potrebnim za detekciju. Zelenom bojom su obojani svi živi organizmi u uzorku aktivnog mulja (DAPI), dok su plavom bojom obojane bakterije (EUB Mix).

U uzorku aktivnog mulja nakon 43 dana provedbe pokusa u uvjetima pogodnim za rast PAO, vidljiva je crvena boja kojom su obojani PAO roda "*Candidatus Accumulibacter phosphatis* (PAO651)". Ovim testom je dokazano da je tijekom provedbe pokusa došlo do razvoja biomase PAO roda *Candidatus Accumulibacter phosphatis*. Prisutnost GAO nije dokazana.



Slika 27. FISH mikroskopska analiza aktivnog mulja prvog dana (gornja slika) i 43. dana trećeg laboratorijskog pokusa (donja slika). Zelenom bojom su obojani svi živi organizmi u uzorku aktivnog mulja (DAPI), plavom bojom su obojane bakterije (EUB Mix), a crvenom bojom PAO roda "*Candidatus Accumolibacter phosphatis*" (PAO651).

4.3. Procjena mogućnosti implementacije laboratorijski dobivenih rezultata na UPOV Koprivnica modeliranjem pomoću programa BioWin

Na temelju rezultata karakterizacije influenta i provedenih pokusa u laboratorijskim uvjetima razvijena je strategija unapređenja rada UPOV-a Koprivnice uvođenjem poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora umjesto kemijskog taloženja. Budući je mogućnost uspostave EBPR-a već potvrđena laboratorijskim testom, BioWin je trebao potvrditi mogućnost uvođenja EBPR na UPOV u punoj veličini.

Treći laboratorijski pokus je ukazao da postojeći smanjeni omjer lako-biorazgradivih izvora ugljika i ukupnog fosfora limitira poboljšano biološko uklanjanje fosfora, stoga je odlučeno povećati biorazgradljivost mehanički obrađenog influenta (sirovi influent) procesom fermentacije. Zbog smanjenog kapaciteta dotoka otpadne vode na UPOV Koprivnica, samo su 3 SBR-a u funkciji, dok je četvrti u fazi mirovanja (Slika 5). Četvrti SBR je u simulatoru prenamijenjen u primarni anaerobni fermentor mehanički obrađene otpadne vode i nazvan "anaerobni SBR". U anaerobnom SBR-u je vršena fermentacija sirovog influenta s ciljem dobivanja hlapivih masnih kiselina neophodnih za EBPR u anaerobnoj fazi. Nakon obrade sirovog influenta u anaerobnom SBR-u nastaje fermentirani influent kojim se puni jedan od tri preostala SBR-a na početku ciklusa, kada vladaju anaerobni uvjeti. Nakon svakog ciklusa u anaerobnom SBR-u, fermentiranim influentom se puni drugi SBR, redom SBR 1, pa SBR 2, pa SBR 3. U trećem laboratorijskom pokusu je denitrifikacija uspješno provedena primjenom prihranjivanja u koracima, tj. dodatkom izvora ugljika na početku anoksične faze. Kao izvor ugljika za provedbu denitrifikacije, u osmišljenoj strategiji je predviđen sirovi influent kojim se SBR bazeni pune tijekom prve anoksične faze. Sirovim influentom se tijekom dva sata naizmjenično pune bioreaktori SBR 1, SBR 2 i SBR 3, te anaerobni SBR.

Osmišljena strategija unapređenja rada i uvjeti rada SBR-a prikazani su u tablici 22.

Bioreaktori SBR 1, SBR 2 i SBR 3 rade u ciklusima prikazanim u tablici 33, a SBR s anaerobnim uvjetima rada radi u ciklusima prikazanim u tablici 27.

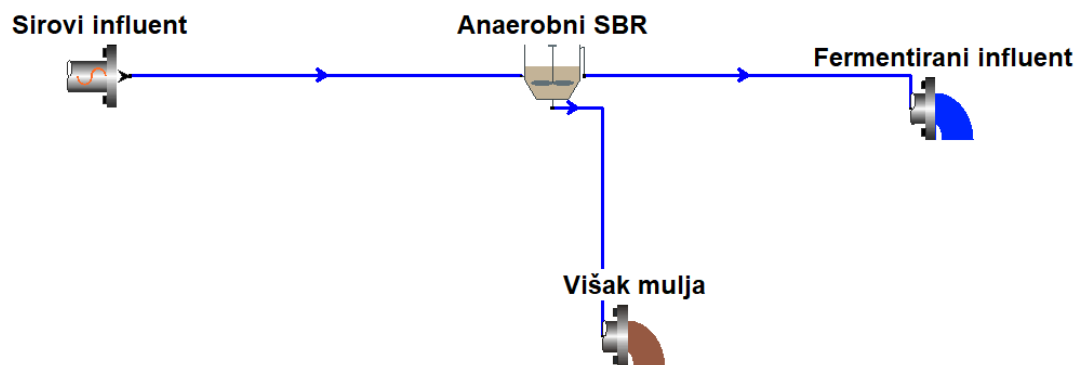
Tablica 22. Osmišljena strategija rada UPOV Koprivnica tijekom 24 sata.

sat	anaerobni SBR	SBR 1	SBR 2	SBR 3
1	taloženje 30 min/ dekantiranje 30 min	mirovanje 30 min/ punjenje fermentiranim influentom 30 min	aeracija	punjenje - sirovi influent
2	punjenje - sirovi influent	bez aeracije	bez aeracije – izdvajanje viška mulja	aeracija
3	punjenje - sirovi influent	aeracija	taloženje	bez aeracije
4	obrada - izdvajanje viška mulja	punjenje - sirovi influent	dekantiranje	bez aeracije
5	taloženje 30 min/ dekantiranje 30 min	punjenje - sirovi influent	mirovanje 30 min/ punjenje fermentiranim influentom 30 min	aeracija
6	punjenje - sirovi influent	aeracija	bez aeracije	bez aeracije – izdvajanje viška mulja
7	punjenje - sirovi influent	bez aeracije	aeracija	taloženje
8	obrada - izdvajanje viška mulja	bez aeracije	punjenje - sirovi influent	dekantiranje
9	taloženje 30 min/ dekantiranje 30 min	aeracija	punjenje - sirovi influent	mirovanje 30 min/ punjenje fermentiranim influentom 30 min
10	punjenje - sirovi influent	bez aeracije – izdvajanje viška mulja	aeracija	bez aeracije
11	punjenje - sirovi influent	taloženje	bez aeracije	aeracija
12	obrada - izdvajanje viška mulja	dekantiranje	bez aeracije	punjenje - sirovi influent
13	taloženje 30 min/ dekantiranje 30 min	mirovanje 30 min/ punjenje fermentiranim influentom 30 min	aeracija	punjenje - sirovi influent
14	punjenje - sirovi influent	bez aeracije	bez aeracije – izdvajanje viška mulja	aeracija
15	punjenje - sirovi influent	aeracija	taloženje	bez aeracije
16	obrada - izdvajanje viška mulja	punjenje - sirovi influent	dekantiranje	bez aeracije
17	taloženje 30 min/ dekantiranje 30 min	punjenje - sirovi influent	mirovanje 30 min/ punjenje	aeracija

			fermentiranim influentom 30 min	
18	punjenje - sirovi influent	aeracija	bez aeracije	bez aeracije – izdvajanje viška mulja
19	punjenje - sirovi influent	bez aeracije	aeracija	taloženje
20	obrada - izdvajanje viška mulja	bez aeracije	punjenje - sirovi influent	dekantiranje
21	taloženje 30 min/ dekantiranje 30 min	aeracija	punjenje - sirovi influent	mirovanje 30 min/ punjenje fermentiranim influentom 30 min
22	punjenje - sirovi influent	bez aeracije – izdvajanje viška mulja	aeracija	bez aeracije
23	punjenje - sirovi influent	taloženje	bez aeracije	aeracija
24	obrada - izdvajanje viška mulja	dekantiranje	bez aeracije	punjenje - sirovi influent

Ova strategija je simulirana u programu BioWin verzija 6.0, te su provedbom matematičkog modeliranja utvrđeni optimalni operativni parametri.

Zasebno je simuliran rad anaerobnog SBR-a. Shema rada je prikazana na slici 28.



Slika 28. Shema rada anaerobnog SBR-a u BioWin simulatoru

Karakteristike sirovog influenta korištene za modeliranje su prikazane u tablici 23. Dobivene su na temelju prosječnih vrijednosti parametara izmjerenih u influentu na UPOV-u Koprivnica i u laboratoriju PBF-a. U influentu nije bilo nitrata niti otopljenog kisika. Vrijednost temperature

influenta je iznosila 16 °C. KPK u filtriranom efluentu (BioWin parametar: Effluent filtered COD) je iznosio 10 mgO₂/L.

Tablica 23. Karakteristike sirovog influenta korištene za simuliranje u BioWin-u.

Naziv parametra (BioWin)	jedinica	Parametar	Sirovi influent
Flow	m ³ /d	protok	6.000
COD - Total	mgO ₂ /L	ukupni KPK (KPK _T)	600
N - Total Kjeldahl Nitrogen	mgN/L	ukupni Kjeldahlov dušik (TKN)	55
P - Total P	mgP/L	ukupni fosfor (TP)	10
S - Total S	mgS/L	ukupni sumpor (TS)	0
N - Nitrate	mgN/L	nitratni dušik (N-NO ₃)	0
pH		pH	6,40
Alkalinity	mmol/L	alkalitet	8,80
ISS Total	mgISS/L	anorganska suspendirana tvar (ISS)	60
Metal soluble - Calcium	(mg/L	otopljeni kalcij (Ca)	60
Metal soluble - Magnesium	mg/L	otopljeni magnezij (Mg)	36
Gas - Dissolved oxygen	mg/L	otopljeni kisik (O ₂)	0
Influent filtered KPK (GFC)	mgO ₂ /L	KPK u influentu filtriranom kroz filter veličine pora 1,2 μm	220
Influent FF COD	mgO ₂ /L	KPK u influentu filtriranom kroz filter veličine pora 0,45 μm	200
Influent acetate	mgO ₂ /L	acetat (HAc)	20
Influent ammonia	mgN/L	amonij	35
Influent ortho-phosphate	mgP/L	ortofosfati	4,5
Influent carbonaceous cBOD ₅ (mgO ₂ /L)	mgO ₂ /L	BPK ₅	294
Influent filtered cBOD ₅ (mgO ₂ /L)	mgO ₂ /L	BPK ₅ u filtriranom influentu	142
Influent VSS	mgVSS/L	VSS	280
Influent TSS	mgTSS/L	TSS	340

Iz karakteristika sirovog influenta (Tablica 23) dobivenih analitički, računski (formule prikazane u tablici 24) su dobivene frakcije sirovog influenta prikazane u tablici 24.

Tablica 24. Računski dobivene frakcije influenta za potrebe BioWin simulatora. Vrijednosti koje se razlikuju od zadanih u simulatoru su označene bojom i iskazana je promjena u zagradi.

Element name (BioWin) - opis parametra	zadane vrijednosti	sirovi influent (promjena)
Fbs - Readily biodegradable (including Acetate) [gCOD/g of total COD] <i>udio otopljenog biorazgradivog KPK u influentu</i> $F_{BS} = S_{BS}/KPK_T$	0,1600	0,3190 (+0,1590)
Fac - Acetate [gCOD/g of readily biodegradable COD] <i>udio acetata u otopljenom, biorazgradivom</i> $KPK F_{AC} = HAC/S_{BS}$	0,1500	0,1040 (-0,0460)
Fxsp - Non-colloidal slowly biodegradable [gCOD/g of slowly degradable COD] <i>udio sporo biorazgradivog čestičnog (ne-koloidnog) KPK</i>	0,7500	1,0000 (+0,2500)
Fus - Unbiodegradable soluble [gCOD/g of total COD] <i>udio ne-biorazgradivog otopljenog KPK u influentu</i> $F_{US} = S_{US}/KPK_T$	0,0500	0,0140 (-0,0360)
Fup - Unbiodegradable particulate [gCOD/g of total COD] <i>udio ne-biorazgradivog čestičnog KPK u ukupnom KPK</i>	0,1300	0,2500 (+0,1200)
Fcel - Cellulose fraction of unbiodegradable particulate [gCOD/gCOD] <i>udio celuloze u ne-biorazgradivom čestičnom KPK</i>	0,5000	0,5000
Fna - Ammonia [gNH ₃ -N/gTKN] <i>udio amonija u TKN</i> $NH_4-N = F_{NA} \times TKN$	0,6600	0,6360 (-0,0240)
Fnox - Particulate organic nitrogen [gN/g Organic N] <i>udio biorazgradivog organskog dušika koji je u čestičnom stanju</i>	0,5000	0,5000

Fnus - Soluble unbiodegradable TKN [gN/gTKN] <i>udio otopljenog ne-biorazgradivog izvora dušika u TKN</i>	0,0200	0,0200
FupN - N:COD ratio for unbiodegradable part. COD [gN/gCOD] <i>omjer N:KPK za čestični ne-biorazgradivi dio KPK</i>	0,0350	0,0350
Fpo4 - Phosphate [gPO4-P/gTP] <i>udio fosfata u ukupnom fosforu $PO_4-P = F_{PO_4} \times TP$</i>	0,5000	0,4500 (-0,0500)
FupP - P:COD ratio for unbiodegradable part. COD [gP/gCOD] <i>omjer P:KPK za čestični ne-biorazgradivi dio KPK</i>	0,0110	0,0110
Fsr - Reduced sulfur [H2S] [gS/gS] <i>udio reduciranog sulfata u ukupnom sulfatu</i>	0,1500	0 (-0,1500)
FZbh - Ordinary heterotrophic COD fraction [gCOD/g of total COD] <i>udio običnih heterotrofnih organizama</i>	0,0200	0,0001 (-0,0199)

Udio metilotrofnih organizama (FZbm), amonij oksidirajućih organizama (FZao), nitrit oksidirajućih organizama (FZno), anaerobnih amonij oksidirajućih organizama (FZaao), fosfor akumulirajućih organizama (FZppa), organizama koji provode acetogenezu (FZpa), acetoklastičnih metanogenih organizama (FZam), hidrogenotrofnih metanogenih organizama (FZhm), sulfat oksidirajućih organizama (FZso), sulfat reducirajućih acetogenih organizama (FZsrpa), sulfat reducirajućih acetotrofnih organizama (FZsra), sulfat reducirajućih hidrogenotrofnih organizama (FZsrh), te udio produkata endogene razgradnje organizama (FZe) izraženih kao KPK u ukupnom KPK iznosi $1,000E-4$ za svaku pojedinu skupinu organizama. Udio svake pojedine skupine mikroorganizama u influentu nije mijenjan, već su korištene zadane vrijednosti programa BioWin.

Na temelju analiza sirovog influenta, izmjenjena su i dva stehiometrijska parametra: Particulate substrate COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS] sa 1,6327 na 1,36, te Particulate inert COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS] sa 1,6 na 1,36. „Particulate substrate COD:VSS ratio“ predstavlja faktor konverzije između suspendirane tvari mjerene kao KPK i njene koncentracije izmjerene kao VSS (BioWin Help Manual). „Particulate inert COD:VSS Ratio“ predstavlja faktor konverzije između suspendirane nerazgradive tvari mjerene kao KPK i njene koncentracije izmjerene kao VSS (BioWin Help Manual).

U anaerobnom SBR-u se odvija fermentacija koja se može podijeliti u četiri faze: hidroliza, acidogeneza, acetogeneza i metanogeneza. Kako bi došlo do nakupljanja hlapivih masnih kiselina, posebice acetata i propionata, potrebno je osigurati uvjete za odvijanje prve tri faze, bez metanogeneze u kojoj se acetati prevode u metan. Starost mulja je bitan faktor koji utječe na proces metanogeneze. U programu BioWin provedene su simulacije rada anaerobnog SBR-a tijekom 365 dana pri različitim vrijednostima starosti mulja uz praćenje koncentracija nastalog acetata, propionata, te otopljenog metana. Rezultati su prikazani u tablici 25.

Tablica 25. Promjene u koncentracijama acetata, propionata i metana, te prirast acetata i propionata s povećanjem starosti mulja dobivene simulacijom anaerobnog SBR-a u programu BioWin

SRT (d)	4	6	7	8	10	15	20
protok viška mulja po ciklusu (m ³ /d)	8.385	5.590	4.792	4.193	3.354	2.236	1.677
acetat (mgKPK/L)	20,72	33,40	82,66	92,65	99,61	106,07	108,37
prirast acetata		12,68	49,26	9,99	6,96	6,46	2,3
propionat (mgKPK/L)	0,08	5,09	23,27	24,29	22,16	16,00	12,84
prirast propionata		5,01	18,18	1,02	-2,13	-6,16	-3,16
otopljeni metan (mg/L)	0,02	0,45	2,59	3,08	3,48	3,93	4,11

S povećanjem starosti mulja dolazi do povećanja acetata, propionata, ali i otopljenog metana. Odabrana je starost mulja od 7 dana kada je došlo do najvećeg prirasta acetata i propionata.

Tablica 26. Odabrani uvjeti rada anaerobnog SBR-a

operativni parametar	vrijednost	jedinica
broj bioreaktora	1	
vrijeme punjenja po ciklusu	2	h
površina SBR bazena	1119	m ²
dubina (nakon punjenja)	3,75	m
trajanje ciklusa	4	h
broj ciklusa na dan	6	
protok influenta	250	m ³ /h
protok influenta	6.000	m ³ /d
% pražnjenja	0,60	
volumen SBR-a nakon dekantiranja	3.693	m ³
volumen SBR-a nakon punjenja	4.193	m ³
SRT (starost mulja)	7	dan
volumen viška mulja (WAS)	599	m ³ /d
volumen viška mulja / ciklusu	100	m ³
vrijeme izvlačenja viška mulja	0,5	h
protok viška mulja po ciklusu	200	m ³ /h
protok viška mulja po ciklusu	4.792	m ³ /d

Tablica 27. Ciklus anaerobnog SBR-a

sat (h)	Q (m ³ /d)	miješanje	faza
0-1	6.000	da	punjenje
1-2	6.000	da	punjenje
2-2,5		da	obrada
2,5-3		da	obrada/izdvajanje viška mulja
3-3,5		ne	taloženje
3,5-4	19.203	ne	dekantiranje

Anaerobni SBR je radio u ciklusima od 4 sata pri čemu nije bilo aeracije, već je bioreaktor samo miješan tijekom faze punjenja i obrade. Na taj način su osigurani anaerobni uvjeti potrebni za fermentaciju sirovog influenta. U fazi taloženja i dekantiranja tijekom zadnjeg sata ciklusa je miješanje isključeno.

Parametri fermentiranog influenta dobiveni simulacijom rada anaerobnog SBR-a uz starost mulja od 7 dana koji su korišteni za simulaciju rada preostala tri SBR-a su prikazani u tablici 28.

Tablica 28. Karakteristike fermentiranog influenta dobivene simulacijom rada anaerobnog SBR-a u BioWin simulatoru.

Naziv parametra (BioWin)	jedinica	Parametar	Fermentirani influent
Flow	m ³ /d	protok	19.203
COD - Total	mgO ₂ /L	ukupni KPK (KPK _T)	177
N - Total Kjeldahl Nitrogen	mgN/L	ukupni Kjeldahlov dušik (TKN)	43,1
P - Total P	mgP/L	ukupni fosfor (TP)	4,4
S - Total S	mgS/L	ukupni sumpor (TS)	0
N - Nitrate	mgN/L	nitratni dušik (N-NO ₃)	0
pH		pH	6,9
Alkalinity	mmol/L	alkalitet	8,9
ISS Total	mgISS/L	anorganska suspendirana tvar (ISS)	2
Metal soluble - Calcium	mg/L	otopljeni kalcij (Ca)	60
Metal soluble - Magnesium	mg/L	otopljeni magnezij (Mg)	36
Gas - Dissolved oxygen	mg/L	otopljeni kisik (O ₂)	0
Influent filtered KPK (GFC)	mgO ₂ /L	KPK u influentu filtriranom kroz filter veličine pora 1,2 mikrona	164
Influent FF COD	mgO ₂ /L	KPK u influentu filtriranom kroz filter veličine pora 0,45 mikrona	150
Influent acetate	mgO ₂ /L	acetat (HAc)	83
Influent ammonia	mgN/L	amonij	40,1
Influent ortho-phosphate	mgP/L	ortofosfati	4,2

Influent carbonaceous cBOD ₅ (mgO ₂ /L)	mgO ₂ /L	BPK ₅	110
Influent filtered cBOD ₅ (mgO ₂ /L)	mgO ₂ /L	BPK ₅ u filtriranom influentu	105
Influent VSS	mgVSS/L	VSS	10
Influent TSS	mgTSS/L	TSS	12

Tablica 29. Usporedba omjera vrijednosti značajnih parametara u sirovom i fermentiranom influentu i njihova promjena

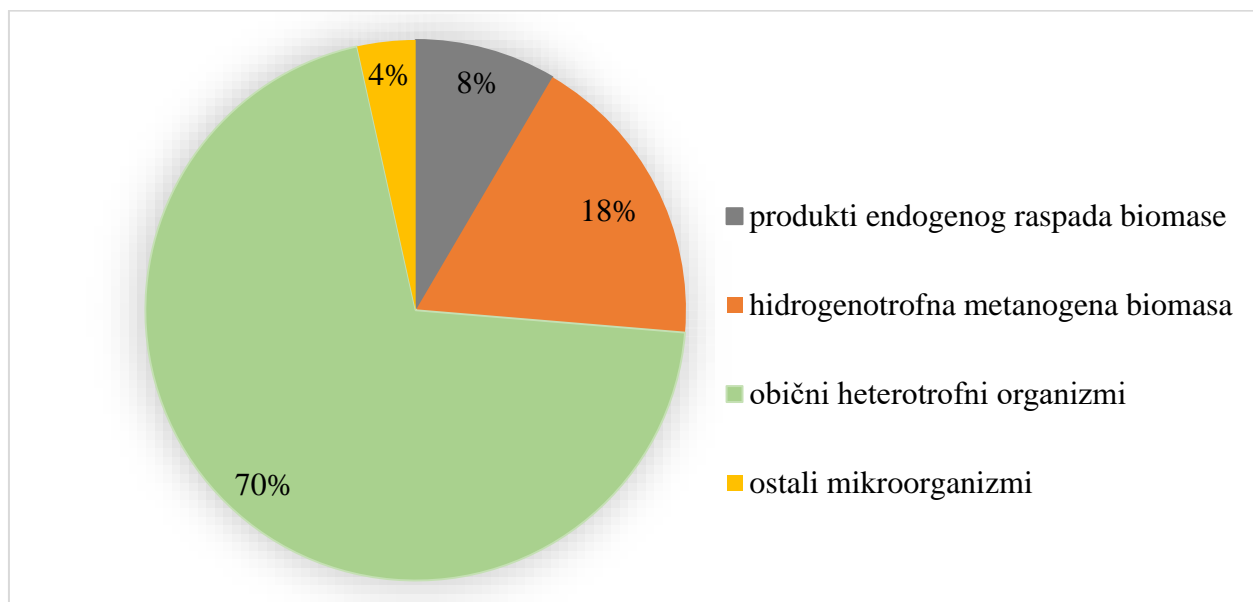
omjer parametara	sirovi influent	fermentirani influent	promjena omjera u fermentiranom influentu
BPK ₅ /KPK	0,49	0,62	0,13
KPKfiltrirani/KPK	0,37	0,92	0,55
BPK ₅ filtrirani/BPK ₅	0,48	0,95	0,47
amonij/TKN	0,64	0,93	0,29
acetat/KPK	0,03	0,47	0,44
ortofosfati/TP	0,45	0,95	0,5
BPK ₅ filt/TP	14,2	23,84	9,64
Acetat/TP	2	18,79	16,79

Fermentacijom su svi omjeri vrijednosti značajnih parametara povećani (Tablica 29). Povećan je omjer BPK₅ i KPK za 0,13. Udio KPK i BPK₅ u filtriranim uzorcima u nefiltriranim je također povećan za 0,55 odnosno 0,47. Omjer acetata i ukupnog fosfora je povećan s 2 na 18,79.

U potpunosti ustaljeno stanje je postignuto nakon simulacije otprilike mjesec dana rada UPOV-a. Predviđene karakteristike mulja u anaerobnom SBR-u su prikazane u tablici 30. Udio organske suspendirane tvari u ukupnoj suspendiranoj tvari aktivnog mulja (VSS/TSS) iznosi 83,2%.

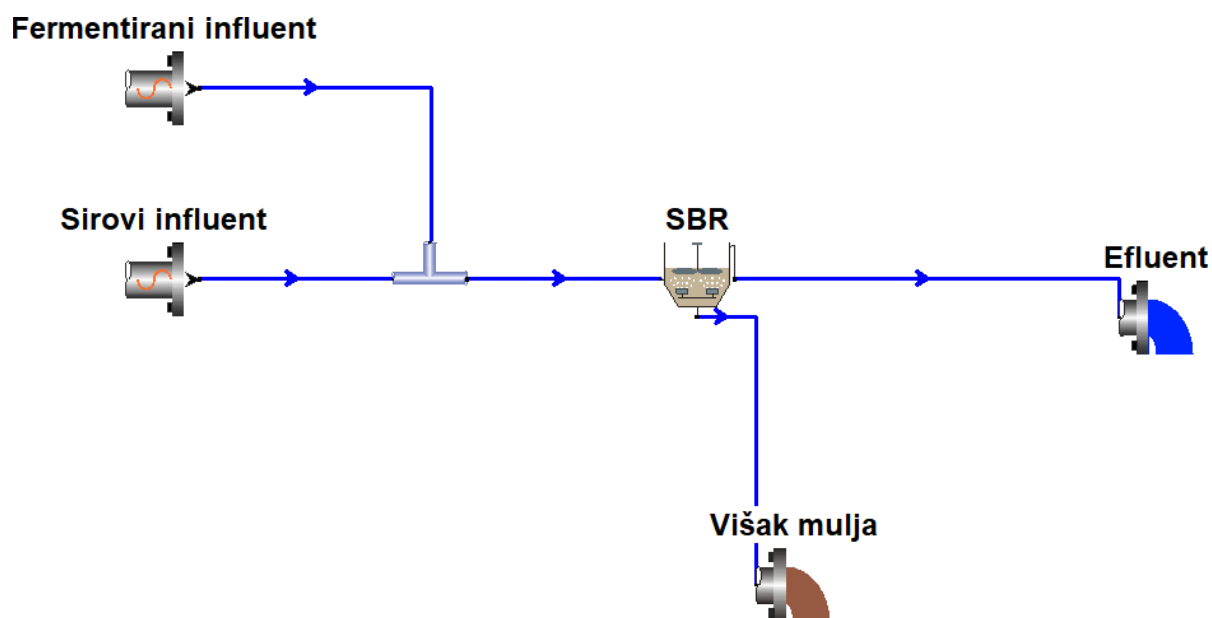
Tablica 30. Karakteristike aktivnog mulja na kraju faze obrade u anaerobnom SBR-u, nakon uspostave ustaljenog stanja, dobivene simulacijom u programu BioWin

parametar (jedinica)	mulj u anaerobnom SBR-u
MLSS (mg/L)	1.941
MLVSS (mg/L)	1.615
MLVSS/MLSS	0,832



Slika 29. Sastav biomase u anaerobnom SBR-u dobiven simulacijom u programu BioWin

Budući da u ovoj strategiji svaki od preostala tri SBR-a ima iste cikluse, simuliran je rad samo jednog bioreaktora uz pretpostavku da je dotok u sva tri preostala SBR-a jednak. Shema rada svakog od tri preostala SBR-a je prikazana na slici 30.



Slika 30. Shema rada svakog od preostala tri SBR-a u BioWin simulatoru.

Tablica 31. Ukupan dotok sirovog i fermentiranog influenta u svaki od tri SBR-a.

	vrijeme (min)	vrijeme (dan)	protok (m ³ /dan)	m ³
dotok iz anaerobnog SBR-a tijekom jednog ciklusa	30	0,021	19.203	400
dnevni dotok (2 ciklusa)				800
dotok sirovog influenta	120	0,083	6.000	500
dnevni dotok (2 ciklusa)				1.000
			UKUPNO ciklus	900
			UKUPNO dnevno:	1.800

U svaki od tri preostala SBR-a dnevno dotječe 1.800 m³ otpadne vode (sirove i fermentirane) što ukupno čini 5.400 m³.

Tablica 32. Uvjeti rada svakog od preostala 3 SBR-a.

broj bioreaktora	3	
površina	1.119	m ²
dubina maks	5,5	m
dubina min	3,3	m
dubina (nakon punjenja)	4,105	m
volumen minimalni	3.693	m ³
volumen maksimalni	6.154,5	m ³
trajanje ciklusa	12	h
broj ciklusa na dan	2	
volumen influenta/bioreaktoru	2.000	m ³
volumen influenta/bioreaktoru/ciklusu	900,6	m ³
% pražnjenja	0,60	
volumen nakon dekantiranja	3.693	m ³
volumen nakon punjenja	4.593	m ³
SRT (starost mulja)	18	d
volumen viška mulja (WAS)	255	m ³ /d
volumen viška mulja / ciklusu	128	m ³
vrijeme izvlačenja viška mulja	1	h
protok viška mulja po ciklusu	128	m ³ /h
protok viška mulja po ciklusu	3.062	m ³ /d

Ciklus u preostala tri SBR-a započinje s 30 minuta mirovanja, nakon čega slijedi 30 minuta punjenja s fermentiranim influentom iz anaerobnog SBR-a (Tablica 33). U drugom satu ciklusa nema više punjenja, ali su uvjeti i dalje anaerobni. U trećem satu se biomasa aktivnog mulja aerira. Slijedi anoksična faza u trajanju od dva sata pri čemu se SBR puni sirovim influentom. U šestom satu vladaju aerobni uvjeti, nakon čega slijedi druga anoksična faza u trajanju od dva sata. U devetom satu se aktivni mulj aerira, a u desetom prekida aeracija, te uz miješanje izdvaja višak aktivnog mulja (engl. WAS – waste activated sludge). Slijedi jedan sat taloženja mulja i jedan sat kada se vrši dekantiranje.

Tablica 33. Ciklusi u svakom od preostala 3 SBR-a.

sat (h)	Q (m ³ /d)	aeracija	miješanje	faza
0-0,5		ne	da	mirovanje
0,5-1	19.203	ne	da	punjenje - influent iz anaerobnog SBR-a
1-2		ne	da	obrada
2-3		da	da	obrada
3-4	6.000	ne	da	punjenje - sirovi influent
4-5	6.000	ne	da	punjenje - sirovi influent
5-6		da	da	obrada
6-7		ne	da	obrada
7-8		ne	da	obrada
8-9		da	da	obrada
9-10	3.062	ne	da	obrada - izdvajanje viška mulja
10-11		ne	ne	taloženje
11-12		ne	ne	dekantiranje

Fermentirani influent iz anaerobnog SBR-a je u modelu korišten kao prvi influent za tri preostala SBR-a. Karakteristike fermentiranog influenta unesene u simulator BioWin su prikazane u tablici 28. Iz podataka o fermentiranom influentu dobivenih simulacijom u BioWin-u, računski su dobivene frakcije fermentiranog influenta prikazane u tablici 34. Punjenje sirovim influentom se odvijalo tijekom prve anoksične faze. Karakteristike sirovog influenta unesene u simulator BioWin su prikazane u tablici 23. Iz analitički dobivenih podataka o influentu, računski su dobivene frakcije sirovog influenta prikazane u tablici 24.

Tablica 34. Frakcije fermentiranog influenta unesene u simulator BioWin. Vrijednosti koje se razlikuju od zadanih u simulatoru su označene bojom i iskazana je promjena u zagradi.

Element name (BioWin) - opis parametra	zadane vrijednosti	fermentirani influent (promjena)
Fbs - Readily biodegradable (including Acetate) [gCOD/g of total COD] <i>udio otopljenog biorazgradivog KPK u influentu</i> $F_{BS} = S_{BS}/KPK_T$	0,1600	0,8110 (+0,6510)
Fac - Acetate [gCOD/g of readily biodegradable COD] <i>udio acetata u otopljenom, biorazgradivom</i> $KPK F_{AC} = HAC/S_{BS}$	0,1500	0,5780 (+0,4280)
Fxsp - Non-colloidal slowly biodegradable [gCOD/g of slowly degradable COD] <i>udio sporo biorazgradivog čestičnog (ne-koloidnog) KPK</i>	0,7500	0,7500
Fus - Unbiodegradable soluble [gCOD/g of total COD] <i>udio ne-biorazgradivog otopljenog KPK u influentu</i> $F_{US} = S_{US}/KPK_T$	0,0500	0,0370 (-0,0130)
Fup - Unbiodegradable particulate [gCOD/g of total COD] <i>udio ne-biorazgradivog čestičnog KPK u ukupnom KPK</i>	0,1300	0,0600 (-0,0700)
Fcel - Cellulose fraction of unbiodegradable particulate [gCOD/gCOD] <i>udio celuloze u ne-biorazgradivom čestičnom KPK</i>	0,5000	0 (-0,5000)
Fna - Ammonia [gNH ₃ -N/gTKN] <i>udio amonija u TKN</i> $NH_4-N = F_{NA} \times TKN$	0,6600	0,9300 (+0,2700)
Fnox - Particulate organic nitrogen [gN/g Organic N] <i>udio biorazgradivog organskog dušika koji je u čestičnom stanju</i>	0,5000	0,5000
Fnus - Soluble unbiodegradable TKN [gN/gTKN] <i>udio otopljenog ne-biorazgradivog izvora dušika u TKN</i>	0,0200	0,0200

FupN - N:COD ratio for unbiodegradable part. COD [gN/gCOD] <i>omjer N:KPK za čestični ne-biorazgradivi dio KPK</i>	0,0350	0,0350
Fpo4 - Phosphate [gPO4-P/gTP] <i>udio fosfata u ukupnom fosforu $PO_4-P = F_{PO_4} \times TP$</i>	0,5000	0,9540 (+0,4540)
FupP - P:COD ratio for unbiodegradable part. COD [gP/gCOD] <i>omjer P:KPK za čestični ne-biorazgradivi dio KPK</i>	0,0110	0,0110
Fsr - Reduced sulfur [H2S] [gS/gS] <i>udio reduciranog sulfata u ukupnom sulfatu</i>	0,1500	0 (-0,1500)
FZbh - Ordinary heterotrophic COD fraction [gCOD/g of total COD] <i>udio običnih heterotrofnih organizama</i>	0,0200	0,0001 (-0,0199)

Udio metilotrofnih organizama (FZbm), amonij oksidirajućih organizama (FZao), nitrit oksidirajućih organizama (FZno), anaerobnih amonij oksidirajućih organizama (FZaao), fosfor akumulirajućih organizama (FZppa), organizama koji provode acetogenezu (FZpa), acetoklastičnih metanogenih organizama (FZam), hidrogenotrofnih metanogenih organizama (FZhm), sulfat oksidirajućih organizama (FZso), sulfat reducirajućih acetogenih organizama (FZsrpa), sulfat reducirajućih acetotrofnih organizama (FZsra), sulfat reducirajućih hidrogenotrofnih organizama (FZsrh), te udio produkata endogene razgradnje organizama (FZe) izraženih kao KPK u ukupnom KPK iznosi $1,000E-4$ za svaku pojedinu skupinu organizama. Udio svake pojedine skupine mikoorganizama u influentu nije mijenjano, već su korištene zadane vrijednosti programa BioWin.

Stoichiometric parameter editor

Anaerobic ammonia oxidizing	Ordinary heterotrophic	Ordinary heterotrophic on industrial COD	Methylotrophic
Phosphorus accumulating	Propionic acetogenic	Methanogenic	Sulfur oxidizing
Common	Ammonia oxidizing	Sulfur reducing	Nitrite oxidizing

Parameters

Name	Default	Value
Biomass/Endog Ca content (gCa/gCOD)	3,912E-3	3,912E-3
Biomass/Endog Mg content (gMg/gCOD)	3,912E-3	3,912E-3
Biomass/Endog other cations content (mol/gCOD)	5,115E-4	5,115E-4
Biomass/Endog other Anions content (mol/gCOD)	1,410E-4	1,410E-4
N in endogenous residue [mgN/mgCOD]	0,0700	0,0700
P in endogenous residue [mgP/mgCOD]	0,0220	0,0220
Ca content of slowly biodegradable (gCa/gCOD)	3,912E-3	3,912E-3
Mg content of slowly biodegradable (gMg/gCOD)	3,700E-4	3,700E-4
Endogenous residue COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200	1,4200
Particulate substrate COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,6327	1,3300
Particulate inert COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,6000	1,3300
Cellulose COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4000	1,4000
External organic COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,6000	1,6000
Molecular weight of other anions [mg/mmol]	35,5000	35,5000

Print all Set current tab to default values OK Cancel

Slika 31. Zadani i odabrani opći stehiometrijski parametri u simulatoru BioWin.

Na slici 31 su prikazani zadani i odabrani stehiometrijski parametri. Izmijenjeni su stehiometrijski parametri: Omjer čestičnog supstrata izraženog kao KPK i VSS (Particulate substrate COD:VSS ratio) i Omjer čestičnog inertnog KPK i VSS (Particulate inert COD:VSS ratio). Ostali stehiometrijski parametri su ostali nepromijenjeni (Prilog 2).

Smanjena su dva kinetička parametra BioWina koji su vezani uz brzinu denitrifikacije koju provode obični heterotrofni mikroorganizmi. Prvi parametar je faktor anoksičnog rasta (BioWin: Anoxic growth factor). Zadana vrijednost u simulatoru iznosi 0,5 i ona je smanjena na 0,4.

Parametar denitrificirajući mikroorganizmi (BioWin: Denite N₂ producers) je smanjen na 0,3.

Kinetic parameter editor

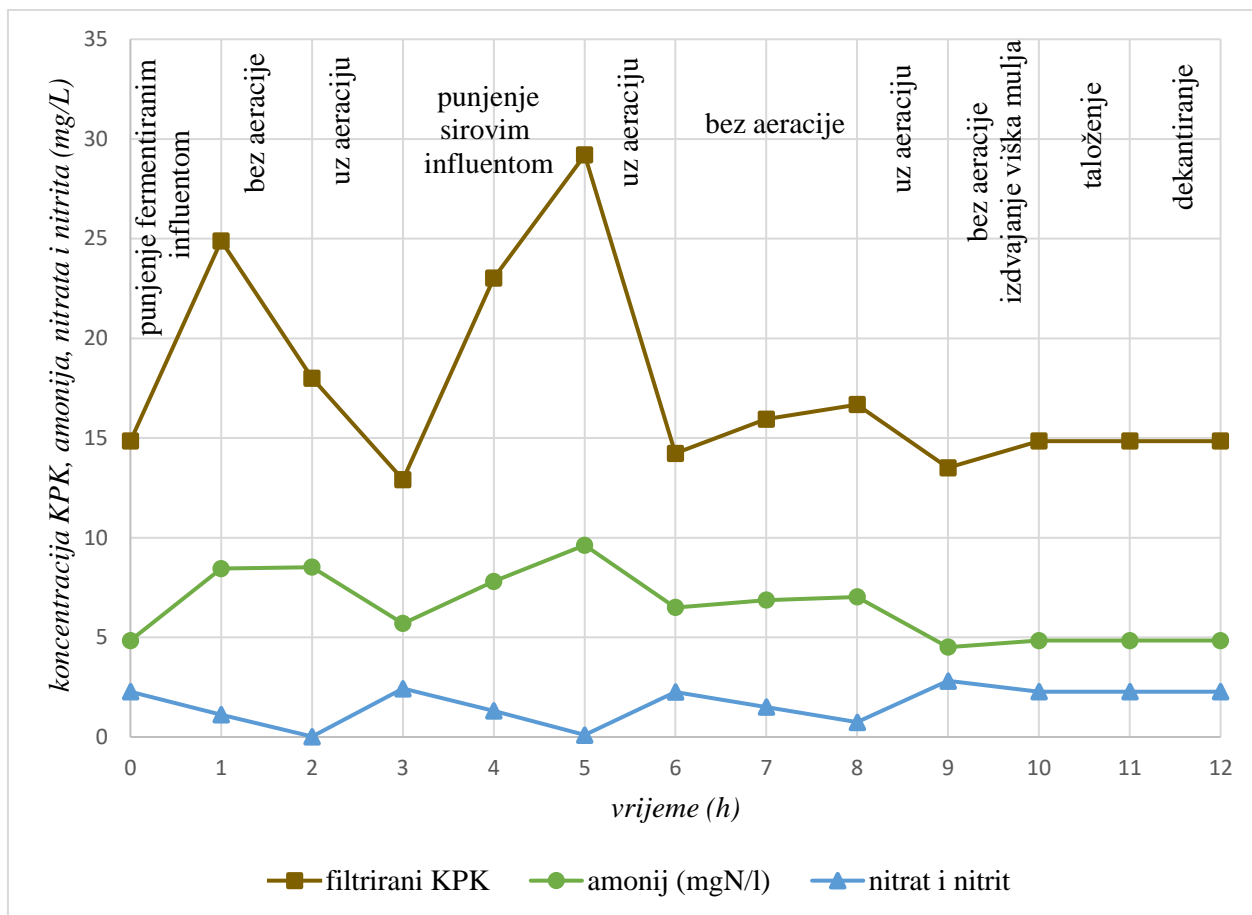
Methylophobic | Phosphorus accumulating | Propionic acetogenic | Methanogenic | Sulfur oxidizing | Sulfur reducing | pH | Switches
 Common | Ammonia oxidizing | Nitrite oxidizing | Anaerobic ammonia oxidizing | Ordinary heterotrophic | Heterotrophic on industrial COD

Parameters

Name	Default	Value	Arrhenius
Max. spec. growth rate [1/d]	3,2000	3,2000	1,0290
Substrate half sat. [mgCOD/L]	5,0000	5,0000	1,0000
Anoxic growth factor [-]	0,5000	0,4000	1,0000
Denite N2 producers (NO3 or NO2) [-]	0,5000	0,3000	1,0000
Aerobic decay rate [1/d]	0,6200	0,6200	1,0290
Anoxic decay rate [1/d]	0,2330	0,2330	1,0290
Anaerobic decay rate [1/d]	0,1310	0,1310	1,0290
Fermentation rate [1/d]	1,6000	1,6000	1,0290
Fermentation half sat. [mgCOD/L]	5,0000	5,0000	1,0000
Fermentation growth factor (AS) [-]	0,2500	0,2500	1,0000
Free nitrous acid inhibition [mol/L]	1,000E-7	1,000E-7	1,0000

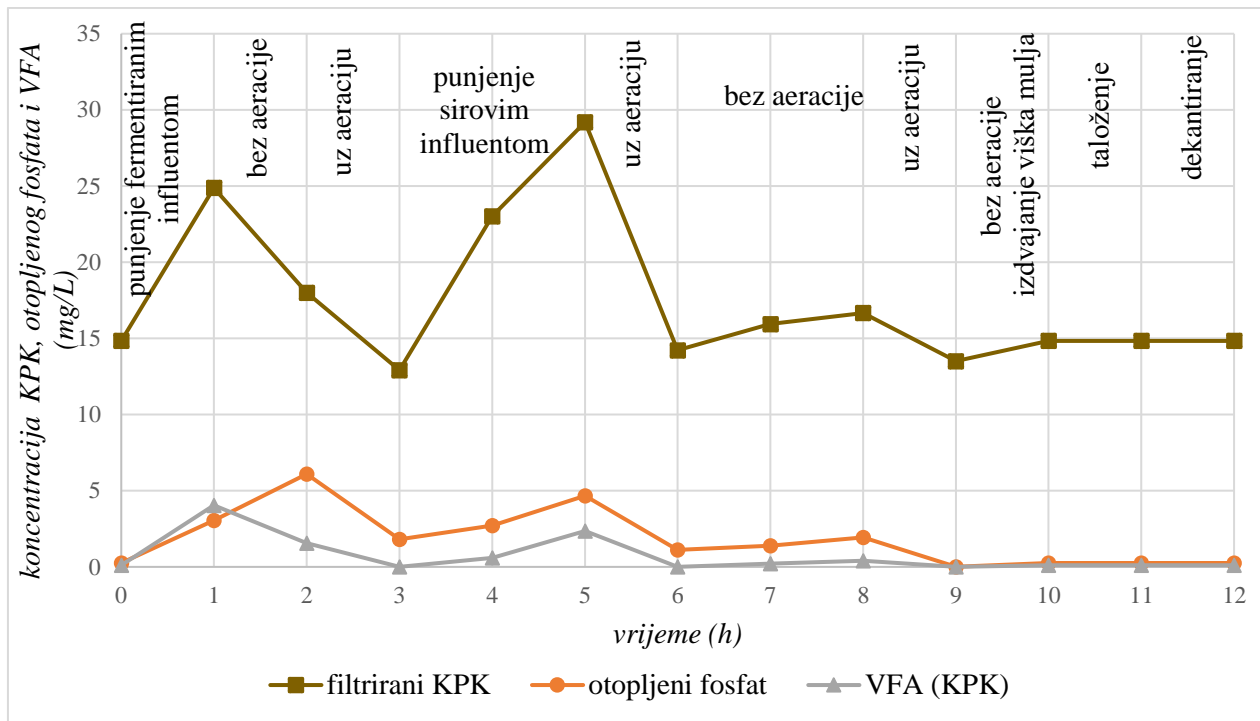
Slika 32. Prikaz izmjenjenih kinetičkih parametara u BioWin simulatoru.

Preostala tri SBR-a su u modelu radila u ciklusima od 12 sati uz prvotno punjenje fermentiranim influentom iz anaerobnog SBR-a, te naknadno, u anoksičnoj fazi uz punjenje sirovim influentom sukladno osmišljenoj strategiji (Tablica 22). Simulacija je provedena za period od jedne godine.

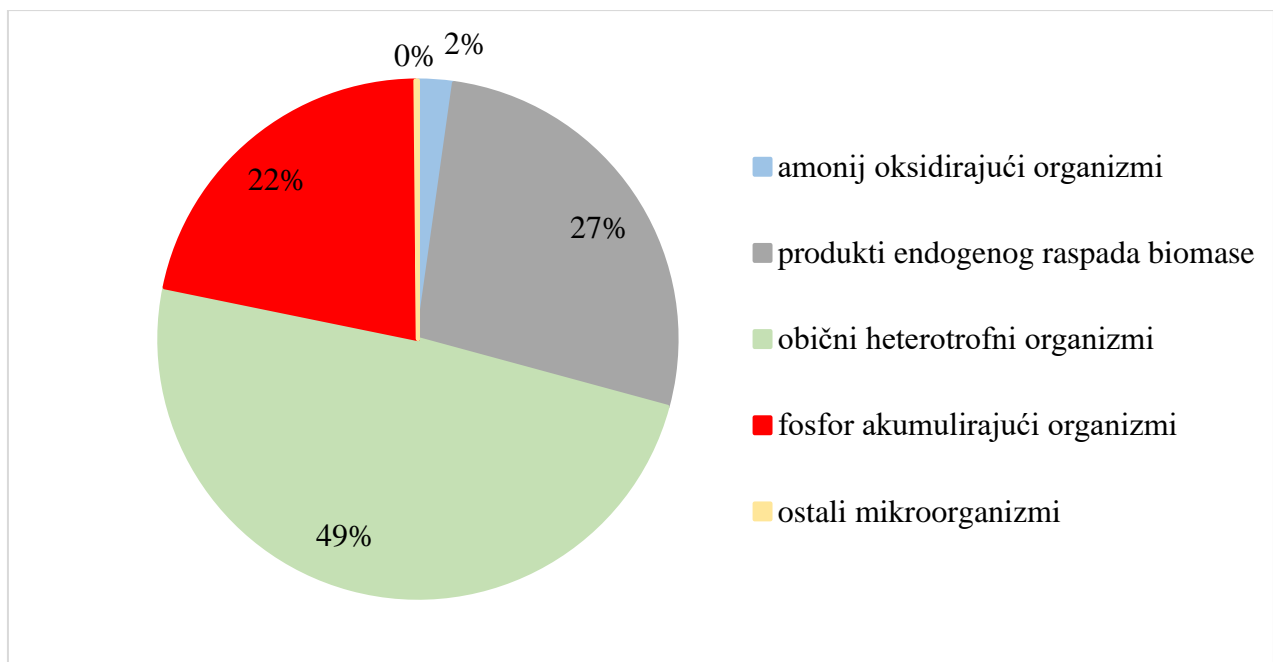


Slika 33 Prikaz koncentracija KPK, amonija, te nitrata i nitrita u tekućoj fazi ostala tri SBR-a tijekom jednog ciklusa nakon uspostave ustaljenog stanja.

Tijekom prvog sata se odvija punjenje fermentiranim influentom iz anaerobnog SBR-a. U drugom satu se odvija obrada bez aeracije, a u trećem uz aeraciju. U četvrtom i petom satu se odvija punjenje sirovim influentom bez aeracije. U šestom satu se odvija obrada uz aeraciju, a u sedmom i osmom bez aeracije. U devetom satu se odvija obrada uz aeraciju, a u desetom se bez aeracije izdvaja višak mulja. U jedanaestom satu se odvija taloženje, a u dvanaestom dekantiranje efluenta.



Slika 34. Prikaz koncentracija KPK, hlapivih masih kiselina izraženih kao KPK, te fosfata u filtriranim uzorcima iz preostala tri SBR-a tijekom jednog ciklusa nakon uspostave ustaljenog stanja



Slika 35. Sastav organskog dijela biomase aktivnog mulja u preostala tri SBR-a.

Većinu biomase čine obični heterotrofni mikroorganizmi (49%) (Slika 35). Udio fosfor akumulirajućih organizama iznosi 22%, a amonij oksidirajućih 2%, dok 27% čine produkti endogenog raspada biomase aktivnog mulja. Ostali mikroorganizmi (nitrit oksidirajući organizmi 0,06%, anaerobni amonij oksidirajući organizmi, metilotrofi, acidogena-acetogena biomasa, acetoklastična metanogena biomasa, hidrogenotrofna metanogena biomasa) zajedno čine manje od 0,15%. Ako zanemarimo produkte endogenog raspada biomase, udio amonij oksidirajućih organizama iznosi (AOO) 3%, fosfor akumulirajućih organizama (PAO) 30%, a običnih heterotrofnih organizama (OHO) 67%.

Predviđene karakteristike mulja na kraju faze obrade u svakom od preostala 3 SBR-a su prikazane u tablici 35.

Tablica 35. Karakteristike aktivnog mulja u preostala 3 SBR-a dobivene simulacijom u programu BioWin.

parametar (jedinica)	mulj u preostala tri SBR-a
MLSS (mg/L)	1.570
MLVSS (mg/L)	1.133
MLVSS/MLSS	0,722

Simuliranjem navedenog scenarija u BioWinu dobiven je efluent karakteristika prikazanih u tablici 36.

Tablica 36. Karakteristike efuenta dobivene simulacijom rada aerobnog SBR-a u BioWin simulatoru, i usporedba s vrijednostima sirovog influenta, te maksimalno dozvoljenom koncentracijom i najmanjim postotkom smanjenja onečišćenja zahtjevanih Pravilnikom o граниčnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20).

parametar (jedinica)	efluent	MDK	sirovi influent	% pročišćavanja	najmanji postotak smanjenja onečišćenja
fosfati (mgP/L)	0,26		4,5	94,2	
ukupni fosfor (mgP/L)	0,49	2	10	95,1	80
ukupni dušik (mgN/L)	8,92	15	55	83,8	70
TKN (mgN/L)	6,64		55	87,9	
amonij (mgN/L)	4,83		35	86,2	
nitрати (mgN/L)	0,00		0		
nitriti (mgN/L)	2,27		0		
KPK (mgO ₂ /L)	20,79	125	600	96,9	75
filtrirani KPK (mgO ₂ /L)	14,84		200	92,6	
BPK ₅ (mgO ₂ /L)	3,19	25	294	98,9	70
filtrirani BPK ₅ (mgO ₂ /L)	1,88		142	98,7	
TSS (mg/L)	6	35	340	98,2	90
VSS (mg/L)	4,33		280	98,5	
ISS (mg/L)	1,67		60	97,2	
pH	7,0		6,4		
alkalitet (mmol/L)	6,54		8,8		

5. RASPRAVA

5.1. Karakterizacija uređaja za pročišćavanje otpadnih voda grada Koprivnice

5.1.1. Uvjeti rada UPOV-a Koprivnica

Na mikrobiološki sastav i aktivnost aktivnog mulja na UPOV-u, veliki utjecaj ima konfiguracija UPOV-a, njegovi uvjeti rada, sastav otpadne vode i okolišni uvjeti. Tijekom provedbe ovog istraživanja, na UPOV-u Koprivnica često je mijenjana duljina trajanja ciklusa i pojedinih faza u SBR-u zbog varijacija u kvaliteti influenta. Ciklusi su trajali između 12 i 15 sati. Punjenje bioreaktora otpadnom vodom trajalo je između 4 i 5 sati. Od 2010. godine, na početku svakog ciklusa se punjenje provodilo samo uz miješanje, bez aeracije, što je preduvjet (anaerobni uvjeti) za razvoj PAO. Ciklus započinje punjenjem uz anaerobne uvjete u trajanju 1 do 2 sata, što je dovoljno vremena za unos dostupnih hlapivih masnih kiselina u stanice PAO (Lopez-Vazquez i sur., 2008b; Brown i sur., 2011; Xu i sur., 2014; Zhang i sur., 2016).

Nakon početnog razdoblja bez aeracije, tijekom punjenja se bioreaktor aerirao u trajanju od 1 do 3 sata. Tijekom faze obrade, vrijeme uz aeraciju trajalo je dodatnih 2 ili 3 sata što je dovoljno za provedbu procesa nitrifikacije. Trajanje anoksične faze na UPOV Koprivnica je dostatno da se proces u potpunosti dovrši kako ne bi ostalo nitrata u fazi taloženja, dekantiranja i na početku ponovnog punjenja, što je preduvjet za anaerobne uvjete na početku ciklusa i održanje PAO u sustavu (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Naizmjenična aeracija pogoduje simultanom uklanjanju spojeva s dušikom i fosforom (Izadi i sur., 2021). Na UPOV Koprivnica se učinkovito provodi nitrifikacija i denitrifikacija izmjenom faza uz aeraciju (aerobna faza) i bez nje (anoksična faza), te su mjerene koncentracije ukupnog dušika u efluentu uvijek ispod maksimalno dozvoljene koncentracije (Tablica 18). Ovi uvjeti rada su povoljni za razvoj PAO na UPOV Koprivnica.

Starost mulja značajno utječe na sastav biomase aktivnog mulja. Niži SRT pridonosi učinkovitijem EBPR procesu (Lopez-Vazquez i sur., 2020), no potrebno je osigurati minimalan SRT od oko 3 dana pri temperaturi između 15 i 20°C (Smolders i sur., 1995; Brdjanovic i sur., 1998b; Chan i sur., 2017). Minimalni aerobni SRT ovisi o temperaturi, te sadržaju PHB u stanicama PAO nakupljenog tijekom anaerobne faze (Brdjanovic i sur., 1998b). Količina nakupljenog PHB u stanicama PAO

ovisi o omjeru raspoloživog acetata i koncentracije biomase PAO tijekom anaerobnih uvjeta. Uklanjanje fosfora iz otpadne vode je proporcionalno količini PAO koji se izdvajaju s viškom mulja, jer se uklanjanje fosfata vrši preko uklanjanja viška mulja koji sadrže PAO, a PAO sadrže fosfat u sebi. Što je SRT niži, izdvaja se veća količina viška aktivnog mulja u svakom ciklusu, a s time i veća količina PAO. Također, s povećanjem SRT, PAO se nalaze u produženoj endogenoj fazi, pri čemu troše više unutarstaničnih izvora energija poput glikogena, te je i unos acetata i njihovo skladištenje u obliku PHA manje učinkovito (Tchobanoglous i sur., 2003; Lopez-Vazquez 2009a). Onnis-Hayden i suradnici (2020) su na UPOV-u u punoj veličini uočili da se pri starosti mulja jednakoj ili manjoj od 10 dana postižu niže i stabilnije vrijednosti fosfora u efluentu u odnosu na SRT veće od 20 dana. Li i suradnici (2008) su objavili rezultate koji pokazuju da je u EBPR sustavima pri SRT 8,3 dana, učinkovitost uklanjanja fosfora veća od 90%, te da se mulj bolje taloži ($SVI < 100 \text{ mL/g}$) u usporedbi s EBPR sustavom starosti mulja 16,6 dana gdje je učinkovitost uklanjanja fosfora 85%, a mulj se slabije taloži ($SVI > 160 \text{ mL/g}$) zbog povećanog udjela filamentoznih bakterija. Na temelju podataka o količinama viška mulja koji je izdvajan i koncentracijama mulja u bioreaktorima na UPOV-u Koprivnica, procijenjeno je da se SRT kreće od 15 do 30 dana. Precizniju procjenu je teško napraviti zato što višak aktivnog mulja izdvajaju tijekom faze taloženja, te se koncentracija mulja na početku i na kraju izdvajanja razlikuje. Također, izdvajanje viška mulja se ne odvija u svakom ciklusu, već prema procjeni voditelja UPOV-a. Općenito se može zaključiti da je starost mulja zimi veća nego ljeti. Kod UPOV-a s istovremenim biološkim uklanjanjem i dušika i fosfora, SRT bi trebao biti dovoljno dug da omogući provedbu nitrifikacije, jer nitrifikanti imaju nižu brzinu rasta od PAO (Tchobanoglous i sur., 2003; Ekama i sur., 2020). Minimalni aerobni SRT za provedbu nitrifikacije iznosi 8 do 10 dana (Ekama i sur., 2020). S produljenjem SRT dolazi do smanjenja udjela PAO u biomasi aktivnog mulja. Onnis-Hayden i sur. (2020) su izvjestili da je na UPOV-u Las Vegas pri SRT 6-7 dana udio PAO u biomasi aktivnog mulja iznosio 11,7%, a pri SRT 40 dana samo 2,5%, uz temperaturu 19-21°C i pH 6,9-7,4. Starost mulja na UPOV Koprivnica bi trebala biti minimalna, a da se pritom osigura učinkovit proces nitrifikacije.

Bez obzira na česte izmjene u trajanju pojedinih faza obrade, uvođenjem faze bez aeracije tijekom punjenja u 2010. godini, ostvarili su se preduvjeti za EBPR. Prema riječima voditeljice UPOV-a Koprivnice, nakon uvođenja anaerobne faze tijekom punjenja, koncentracije ukupnog fosfora u efluentu su ostale ispod maksimalno dozvoljenih koncentracija propisanih vodopravnom dozvolom

i uz smanjenu količinu dodanog polialuminijevog klorida (PAC), što upućuje da bi uzrok mogao biti u razvoju poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora (EBPR procesa). Zbog obveze iz vodopravne dozvole da koncentracija ukupnog fosfora u efluentu bude manja od 2 mgP/L, voditeljica UPOV-a nije izbacila primjenu kemijskog uklanjanja fosfora, te i danas UPOV radi uz kemijsko uklanjanje fosfora.

Budući da je UPOV Koprivnica SBR tip uređaja u kojem je jednostavno promijeniti trajanje pojedinih faza i SRT, jednostavno bi bilo uvesti novi režim rada sukladno rezultatima dobivenim ovim istraživanjem.

5.1.2. Karakterizacija influenta i efluenta UPOV-a Koprivnica

Učinkovitost uklanjanja spojeva s dušikom i fosforom iz otpadne vode uvelike ovisi o karakteristikama otpadne vode (influenta). Kako bi se procjenila mogućnost i opseg biološkog uklanjanja spojeva s dušikom i fosforom, provedena je karakterizacija otpadne vode.

Analizirane su vrijednosti otpadne vode izmjerene tijekom 2011. i 2017. godine kada su rađeni testovi aktivnosti biomase aktivnog mulja, te pokusi kojima je određivan potencijal za uspostavu poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora u laboratorijskim uvjetima.

Koncentracije izvora ugljika u otpadnoj vodi su iskazane parametrima KPK i BPK₅. Njihov prosječni omjer iznosi 1,9 odnosno 2,1 (Tablice 12 i 13), što je uobičajeno za komunalnu otpadnu vodu (Volcke i sur., 2020). Biorazgradivi izvor ugljika je potreban heterotrofnim mikroorganizmima koji provode proces denitrifikacije, te fosfor-akumulirajućim organizmima za otpuštanje fosfata u anaerobnim uvjetima. Randall i suradnici (1992a) su dali konzervativne procjene za potrebe projektiranja komunalnih UPOV-a koje kažu da je za denitrifikaciju 1 mg/L nitrata do plinovitog dušika potrebno 8,6 mg/L biorazgradivog izvora ugljika izraženog kao KPK, dok je za poboljšano biološko uklanjanje fosfora (EBPR) potrebno oko 50 mg/L KPK po 1 mg/L fosfora. Smolders i suradnici (1996) su procijenili da je za uklanjanje dušika potrebno oko 3,5 mgKPK/mgN, a za uklanjanje fosfora 20 mgHAc-KPK/mgP. Puig i suradnici (2007) su izvjestili o uspješnom biološkom uklanjanju nutrijenata u laboratorijskom SBR uređaju sa sintetičkom otpadnom vodom omjera C/N/P 100:12:1,8 uz SRT 20 dana i uz prihranjivanje influentom u 3 koraka.

Uočena je pozitivna korelacija između stabilnosti procesa poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora i omjera lako-biorazgradivog KPK i fosfora u otpadnoj vodi (Gu i sur., 2008) iako je visok omjer lako-biorazgradivog KPK i fosfora u influentu (veći od 50) obično povezan s povećanim udjelom GAO u biomasi aktivnog mulja. U priručniku „Nutrient Control Design Manual“ izdanom od EPA-e 2010. godine navode da bi omjer KPK i ukupnog fosfora (TP) u influentu kod komunalne otpadne vode trebao biti najmanje 40-45, omjer BPK₅ i TP najmanje 20, omjer lako-biorazgradivog KPK i TP 10-16, a omjer hlapivih masnih kiselina i TP 4-16. Gledajući prosječne vrijednosti omjera KPK i ukupnog fosfora (TP) u tablicama 12 i 13 se može zaključiti da su omjeri i 2011. i 2017. godine dovoljni za provedbu EBPR-a s obzirom da su 2011. g viši od 50, a 2017. čak viši od 120. Nepovoljne su varijacije u vrijednostima koje se kreću od minimalnih 9,3 do maksimalnih 303 u 2011. godini, te između 24,4 i 930 u 2017. godini.

S obzirom da parametar BPK₅ daje bolji uvid u biorazgradivost izvora ugljika od KPK, u literaturi su dani i poželjni omjeri BPK₅ i TP u influentu. Omjer BPK₅ i ukupnog fosfora (TP) koji se smatra kritičnim za uspješno odvijanje poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora iznosi između 10 (Tchobanoglous i sur., 2003) i 20 (Henze i sur., 2002; Randall i sur., 1992a i 1998; EPA 2010). Gledajući prosječne vrijednosti omjera BPK₅ i ukupnog fosfora (TP) u tablicama 12 i 13 može se zaključiti da su omjeri iz 2011. i 2017. godine dovoljni za provedbu EBPR-a s obzirom da su 2011. godini viši od 30, a 2017. viši od 60. Nepovoljne su varijacije u vrijednostima koje se kreću od minimalnih 4,2 do maksimalnih 202,4 u 2011. godini, te između 11,3 i 503 u 2017. godini.

Za procjenu biorazgradivosti influenta korišten je i otopljeni biorazgradivi KPK (KPK_s) koji je dobiven računski pomoću jednadžbi 10 i 11 prikazanih u poglavlju Materijali i metode i njegov omjer s ukupnim fosforom. Na slici 11 i 12 su vidljive velike varijacije u omjeru otopljenog biorazgradivog KPK (KPK_s) i ukupnog fosfora (TP), no prosječne mjesečne vrijednosti su u 2017. godini uvijek iznad 20, a u 2011. godini iznad 13, a prosječna godišnja vrijednost omjera u 2011. godini iznosi 21, a u 2017. godini 44,9, što je povoljno za EBPR proces prema svim procjenama u dostupnoj literaturi.

Na UPOV Koprivnica se ne vrše mjerenja acetata niti hlapivih masnih kiselina u influentu.

pH-vrijednost se smatra bitnim faktorom za ispuštanje fosfata i unos hlapivih masnih kiselina tijekom anaerobne faze (Zhang i sur., 2011). S povećanjem pH-vrijednosti, povećava se i brzina otpuštanja fosfata iz PAO stanica, no pH iznad 8.0 može imati negativan utjecaj na učinkovitost EBPR procesa (Monclus i sur., 2010; Oehmen i sur., 2007). Kritična pH-vrijednost u anaerobnoj

fazi za GAO dominaciju nad PAO iznosi 7,25 (Lopez-Vazquez i sur., 2008b). Prema Filipe i suradnicima (2001a), ispod pH 7,25 GAO mogu brže unositi hlapive masne kiseline u stanice od PAO, dok iznad pH 7,25 prednost imaju PAO. Novija istraživanja pokazuju da čak i pri nižim pH-vrijednostima (6,4-7,0), PAO mogu dominirati nad GAO ukoliko su koncentracije acetata u bioreaktoru niske (He i sur., 2008). Niža pH-vrijednost (6,4) u influentu UPOV-a Koprivnica posljedica je i niže pH-vrijednosti vode za piće, te nije povoljna za PAO u smislu PAO-GAO kompeticije.

Temperatura influenta na UPOV-u Koprivnica ljeti rijetko prelazi 20°C što je pogodno za razvoj PAO, te povoljno utječe i na PAO-GAO kompeticiju (Lopez-Vazquez i sur., 2009a i b). Lopez-Vazquez i suradnici (2009b) su zaključili da su pri niskim temperaturama (10°C) kod GAO ograničeni metabolički procesi bitni za anaerobni unos acetata u stanice, zbog čega je ograničen njihov rast. Pri temperaturama ispod 20°C, GAO imaju nižu brzinu unosa acetata i nižu brzinu rasta biomase u odnosu na PAO, pa ne mogu konkurirati PAO. Lopez-Vazquez i suradnici (2009b) su zaključili da su pri niskim temperaturama (10°C) kod GAO ograničeni metabolički procesi bitni za anaerobni unos acetata u stanice, zbog čega je ograničen njihov rast. Pri temperaturama ispod 20°C, GAO imaju nižu brzinu unosa acetata i nižu brzinu rasta biomase u odnosu na PAO, pa ne mogu konkurirati PAO. Wang i suradnici (2001) su istraživali utjecaj starosti mulja i temperature na PAO-GAO kompeticiju i zaključili da pri SRT 10 dana i 20°C PAO dominiraju nad GAO i čine 18% biomase aktivnog mulja (MLSS). Razlog je veća brzina unosa acetata u anaerobnim uvjetima u odnosu na GAO, te vjerojatno veći prinos biomase u aerobnim uvjetima. Brzina unosa acetata u anaerobnim uvjetima kod PAO raste s porastom temperature od 10°C do 20°C, no daljnji porast temperature nema utjecaja. Povećanjem temperature s 20°C na 30°C pri SRT 10 dana došlo je do dominacije GAO nad PAO.

Niske temperature zimi utječu na metabolizam mikroorganizama, te je usporena provedba fermentacije, denitrifikacije, a posebice nitrifikacije. Posljedica je smanjena koncentracija hlapivih masnih kiselina, te povećana mogućnost prisustva otopljenog kisika i nitrata u anaerobnoj zoni, što nepovoljno utječe na EBPR, stoga je zimi potrebno obratiti posebnu pozornost na EBPR proces (Brdjanovic i sur., 1997 i 1998c), te prilagoditi operativne uvjete produljenjem SRT i HRT u anaerobnoj fazi.

Šaržno ispuštanje industrijskih otpadnih voda i utjecaj oborinskih voda zbog mješovitog sustava odvodnje, najvjerojatnije su uzrok značajnim varijacijama u sastavu influenta pogotovo u 2017. godini što je vidljivo i iz standardne devijacije (Tablica 13).

Prosječne mjesečne vrijednosti omjera KPK i TP, te BPK₅ i TP (Tablice 12 i 13) u influentu UPOV-a Koprivnica su povoljne za poboljšano biološko uklanjanje fosfora (EBPR) no nepovoljan je povremeno nizak i neujednačen omjer koncentracija lako-biorazgradivog izvora ugljika i ukupnog fosfora (Slike 11 i 12).

Osim mjerenja osnovnih parametara (KPK, BPK₅, TN, TP, SS) koji prvenstveno služe za praćenje svakodnevnog rada UPOV-a, za procjenu mogućnosti uvođenja poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora, te za potrebe modeliranja UPOV Koprivnica, potrebne su dodatne informacije o sastavu influenta kao što su KPK i BPK₅ iz filtriranog uzorka, amonij, TKN, ortofosfati, acetati, kalcij, magnezij, alkalitet, VSS i ISS, omjerima određenih pokazatelja i njihovim varijacijama u vremenu. U tablicama 14 do 17 su prikazane analize mjerenih parametara i njihovi omjeri u trosatnim kompozitnim uzorcima.

Koncentracije ortofosfata su u oba mjerenja ujednačena i prosječno iznose 4,75 mgP/L. Vrijednosti ukupnog fosfora su u prvom mjerenju prosječno 6,63 (Tablica 14), a u drugom 10,23 (Tablica 16). Prosjek trosatnih vrijednosti se uklapa u vrijednosti izmjerene u prosječnim dnevnim uzorcima tijekom 2011. godine, no značajna je najviša vrijednost od 18,04 izmjerena u uzorku uzetom od 9 do 12 sati što upućuje na industrijsko ispuštanje otpadnih voda obogaćenih fosforom. Takve je skokove nemoguće predvidjeti, stoga je potrebna stroža kontrola samih onečišćivača.

Koncentracije amonija su u oba dana uzorkovanja (Tablice 14 i 16) najveće u razdoblju od 6 do 12 sati ujutro. Također postoji blago povećanje vrijednosti izmjerenih u uzorku uzetom od 18 do 21 sat, što je u skladu s navikama stanovništva (Volcke i sur., 2020). Vrijednosti amonija nemaju većih dnevnih varijacija. Isti trend dnevnih varijacija prati i TKN.

Vrijednosti anorganskih suspendiranih tvari (ISS) u uzorcima od 2. svibnja 2011. godine variraju od 20 do 128 mg/L (Tablica 14), uz prosječan udio u TSS od 27% koji ne varira značajno (Tablica 15 - omjer VSS/TSS je 0,73). Omjer VSS/TSS u sirovoj komunalnoj otpadnoj vodi uobičajeno iznosi 84%, a u otpadnoj vodi nakon primarnog taloženja 87% (Ekama, 2009). U uzorcima od 16. studenog 2011. godine vrijednosti variraju od 4 do 46 mg/L (Tablica 16), no prosječan udio je puno manji, tek 7% koji također ne varira značajno (Tablica 17 – omjer VSS/TSS je 0,93). Varijacije

ISS u influentu mogu biti posljedica ispuštanja industrijskih otpadnih voda i/ili ispiranja sustava odvodnje tijekom kišnih perioda. Budući su uzorci uzimani u suhom periodu, utjecaj ispiranja bi trebao biti zanemariv. Povećane koncentracije ISS u influentu mogu utjecati na MLVSS/MLSS omjer. Ukoliko navedeni omjer padne ispod 0,3, dolazi do problema u radu UPOV-a zbog malog udjela žive biomase u aktivnom mulju (He i sur., 2019), što na UPOV Koprivnica nije slučaj.

Prosječan omjer BPK₅ i KPK od 0,56 (Tablica 15) i 0,55 (Tablica 17) je uobičajen za komunalnu otpadnu vodu (Volcke i sur., 2020). Varijacije KPK i BPK₅ vrijednosti u uzorcima dana 2. svibnja 2011. godine su zanemarive (Tablica 14), dok su vrijednosti KPK u uzorcima uzetima 16. studenog 2011. godine varirale od 317 do 615 mgO₂/L.

Također, vrijednosti filtriranog KPK u odnosu na ukupni KPK čine prosječno 25% (Tablica 17), što je uobičajeno za komunalnu otpadnu vodu (Roeleveld i van Loosdrecht, 2002).

Omjer KPK i ukupnog fosfora je u svim uzorcima bio veći od 25, dok je prosječna vrijednost bila iznad 40 što je omjer povoljan (ali ne i dovoljan uvjet) za EBPR (EPA, 2010).

Osim dostatnog izvora lako-biorazgradivog izvora ugljika, važna je i vrsta koja je dostupna u anaerobnim uvjetima (Barnard i sur., 1985). Uspoređujući kratkolančane VFA (acetat, propionat, butirrat, valerat), najveći učinak uklanjanja fosfora po jedinici KPK je uočen kada je izvor ugljika acetat (Hood i Randall, 2001). Kada se u influentu izvori ugljika nalaze većinom u obliku acetata i propionata, tada je dovoljno da omjer KPK/TP bude veći od 8 (Barnard, 2006). U influentu UPOV-a Koprivnica su izmjerene vrijednosti 32,5 i 13,2 mgAc/L. Jonsson i suradnici (1996) su izvjestili da je na UPOV Helsingborg za uklanjanje 1 mgP potrebno 14 mg hlapivih masnih kiselina. Abu-Ghararah i Randall (1991) i Smolders i suradnici (1996) su predložili da se za inženjerske potrebe koristi da je za uklanjanje svakog mg fosfora potrebno barem 20 mg KPK ekvivalenata acetata. Acetat je izmjeren u dva kompozitna trosatna uzorka sirovog influenta na UPOV Koprivnica istoga dana i vrijednosti su iznosile 32,5 i 13,2 mgAc/l. Iz ovih podataka može se vidjeti da se unutar jednog dana vrijednosti koncentracije acetata razlikuju skoro 2,5 puta, što nije uobičajeno za komunalnu otpadnu vodu, već upućuje na industrijsku otpadnu vodu. U priručniku „Nutrient Control Design Manual“ izdanom od EPA-e 2010. godine navode da bi omjer hlapivih masnih kiselina i ukupnog fosfora trebao biti minimalno 4-16. Prosječna vrijednost ukupnog fosfora u 2011. godini iznosi 12,9 mgP/L, a u 2017. godini 6 mgP/L, stoga je vrlo vjerojatno koncentracija acetata nedovoljna za poboljšano biološko uklanjanje fosfora do vrijednosti koje zahtjeva vodopravna dozvola.

Izmjerene koncentracije magnezija, kalcija, te alkalitet u influentu su dovoljni i nisu prepreka učinkovitim odvijanju EBPR-a. Schönborn i suradnici (2001) su izvjestili da je povećanje koncentracije magnezija u influentu sa 15 mg/L na 31 mg/L rezultiralo povećanjem učinkovitosti uklanjanja fosfora s 85% na 97%. Ioni magnezija i kalija igraju važnu ulogu prilikom transporta fosfata kroz staničnu membranu PAO (Barat i sur., 2005).

Varijacije u sastavu influenta tijekom dana moguće je ujednačiti izgradnjom egalizacijskog bazena prije biološke obrade. Varijacije uzrokovane ispuštanjem industrijskih otpadnih voda, ublažile bi se strožim nadzorom nad njihovim ispuštanjem, a utjecaj infiltracije vode u sustav odvodnje, smanjio bi se sanacijom sustava. Sve navedene aktivnosti bi imale za posljedicu ujednačavanje sastava otpadne vode, što bi povoljno utjecalo na proces pročišćavanja, a posebno na EPBR.

Bez obzira na velike varijacije u kvaliteti influenta, kvaliteta efluenta po traženim pokazateljima uvijek zadovoljava zahtijevane vrijednosti iz vodopravne dozvole i Pravilnika o граниčnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20) što je vidljivo iz vrijednosti prikazanih u tablici 18. Naizmjeničnom aeracijom se uspješno provode nitrifikacija i denitrifikacija. Niske vrijednosti ukupnog fosfora u efluentu su posljedica dodavanja polialuminijevog klorida (PAC).

Prosječne vrijednosti omjera parametara KPK i TP, BPK₅ i TP, KPKs i TP u influentu su povoljne za EBPR proces, no nepovoljne su njihove velike varijacije čiji se utjecaj može ublažiti sanacijom sustava odvodnje i strožom kontrolom nad ispuštanjem industrijskih otpadnih voda. Izmjerene vrijednosti acetata vrlo vjerojatno nisu dostatne za poboljšano biološko uklanjanje fosfora iz influenta do vrijednosti koje su zahtijevane vodopravnom dozvolom (2 mgP/L). U kontekstu PAO-GAO kompeticije, potrebno je obratiti pozornost na faktore koji su ključni za brzinu unosa hlapivih masnih kiselina u anaerobnim uvjetima jedne i druge skupine mikroorganizama, a to su pH-vrijednost, temperatura, SRT i vrsta izvora ugljika (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Na UPOV-u Koprivnica, na pH i temperaturu nije moguće značajnije utjecati, no moguće je promijeniti SRT, te utjecati na sastav izvora ugljika.

5.1.3. Karakterizacija biomase aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica

S obzirom na treći stupanj pročišćavanja, od interesa u ovom radu bile su mikrobne populacije uključene u procese uklanjanja spojeva s ugljikom, dušikom i fosforom, tj. obični heterotrofni mikroorganizmi (OHO) koji provode oksidaciju organskih spojeva i denitrifikaciju (dOHO),

nitrifikanti koji provode oksidaciju amonija preko nitrita do nitrata, tj. amonij oksidirajuće bakterije (AOB) i nitrit oksidirajuće bakterije (NOB), te fosfor akumulirajući mikroorganizmi koji koriste kisik kao krajnji elektron akceptor (PAO) i oni koji koriste nitrat kao krajnji elektron akceptor i pritom provode denitrifikaciju (dPAO – denitrificirajući PAO). Skupina mikroorganizama koji nepovoljno utječu na poboljšano biološko uklanjanje fosfora su glikogen akumulirajući organizmi (GAO) jer se u anaerobnim uvjetima natječu s PAO za supstrat, a sami ne doprinose uklanjanju fosfora iz otpadne vode, te tako dovode do kolapsa EBPR procesa.

Na slici 13 su prikazani rezultati testa otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima. Vidljivo je da je brzina otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima najveća tijekom testa 1. Test 1 je proveden tijekom travnja, nakon zimskog perioda s nižim temperaturama influenta i nižim temperaturama (16°C) pri kojima su se odvijali procesi u SBR bazenima na UPOV Koprivnica. Nekoliko autora je izvjestilo da niža temperatura pogoduje razvoju PAO (Brdjanovic i sur., 1997; Lopez-Vazquez i sur., 2009a; Oehmen i sur., 2007), dok pri temperaturama višim od 20°C, GAO imaju metaboličku prednost kroz brži unos supstrata u stanice od PAO (Whang i Park, 2006; Monti i sur., 2007; Lopez-Vazquez i sur., 2007b i 2009a). Lopez-Vazquez i suradnici (2007b, 2008c i 2009b) to objašnjavaju kao veću brzinu rasta PAO i manjim potrebama za energijom za održavanje tijekom anaerobne faze koju imaju pri temperaturama nižim od 20°C. Nekoliko autora je izvjestilo o uspješnom EBPR procesu i pri višim temperaturama: Shen i suradnici (2017) u laboratorijskim uvjetima s acetatom kao izvorom ugljika, pri 30 do 32°C, Qiu i suradnici (2019) na tri UPOV-a pri temperaturi višoj od 28°C, te Poh i suradnici (2021) u laboratorijskim uvjetima pri 30°C. U sva tri slučaja je kao najzastupljeniji PAO u biomasi aktivnog mulja detektirana *Accumulibacter* vrsta. Pri višim temperaturama (30°C), *Accumulibacter* PAO učinkovitije uklanjaju fosfate ukoliko je u anaerobnim uvjetima prisutno više različitih hlapivih masnih kiselina (Qiu i sur., 2019; Wang i sur., 2020). U testu 1 je masa otpuštenog fosfora kao i masa unesenih ukupnih organskih tvari (TOC kao ekvivalent za acetat) izražena po masi organskih suspendiranih tvari u aktivnom mulju (MLVSS) bila najveća u usporedbi s ostalim testovima (Slike 13 i 14), što upućuje na prisutnost PAO skupine mikroorganizama. Usprkos tomu, u testu 1 nije uočen efekt poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora, jer su vrijednosti aerobno unesenog fosfata bile niže od onog otpuštenog u anaerobnoj fazi (Tablica 21).

Testovi 2, 3, 4 i 5 su provedeni tijekom ljeta 2011. godine (4.7.-19.8.2011.) kada su se temperature u SBR bazenima na UPOV-u Koprivnica kretale od 19 do 21°C. U testu 2 i testu 4 je uočen efekt poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora, jer su vrijednosti aerobno (test 2) i anoksično (test 4) unesenog fosfata bile više od onog otpuštenog u anaerobnoj fazi (Tablica 21). Iz podataka prikazanih na slici 14, vidi se da je specifični unos acetata mjenjen kao TOC bio najbrži tijekom testova 1, 4 i 5. Na omjer otpuštenog fosfata i unesenih hlapivih masnih kiselina utječe pH vrijednost (Smolders i sur., 1994a), koncentracija kalcija u influentu (Barat i sur. 2008), prisustvo GAO mikroorganizama (Saunders i sur., 2003; Schuler i Jenkins, 2003), te sadržaj polifosfatnih lanaca u stanicama PAO (Welles i sur., 2015). Omjer otpuštenih ortofosfata i unesenog acetata prikazan u tablici 19 je vrlo nizak u testovima 4 i 5, dok je u istim testovima najviši ukupni unos acetata po jedinici biomase aktivnog mulja. Razlog može biti u djelovanju PAC koji je zaostao u inokulumu s UPOV Koprivnica, koji na sebe veže otpuštene fosfate ili provedba GAO metabolizma, tj. razgradnja glikogena umjesto polifosfatnih lanaca kao izvora energije za unos hlapivih masnih kiselina u stanice. U uvjetima niskog omjer fosfora i hlapivih masnih kiselina (P/VFA), kakvi vladaju na UPOV-u Koprivnica zbog kemijskog taloženja fosfora u SBR bazenima, prednost ima PAO II skupina koja energiju može dobiti i razgradnjom glikogena i polifosfatnih lanaca (Welles i sur., 2015).

Sama prisutnost GAO skupine mikroorganizama ne mora nužno imati negativan učinak na EBPR proces. Ukoliko je u influentu prisutno dovoljno hlapivih masnih kiselina kako bi prisutni PAO mikroorganizmi u stanicama akumulirali dovoljno PHA za kasniji, aerobni i/ili anoksični unos fosfata, te ostane još hlapivih masnih kiselina za GAO mikroorganizme, tada neće doći do smanjene učinkovitosti EBPR procesa (Gu i sur., 2008). Međutim takav je scenarij vrlo malo vjerojatan jer u komunalnim otpadnim vodama u većini slučajeva ima malo acetata. To također vrijedi i za UPOV Koprivnica.

Zadnji, 8. test je proveden u ožujku 2012. godine također nakon perioda nižih temperatura na UPOV-u Koprivnica, no zabilježene su najniže vrijednosti ukupnog unosa acetata (Tablica 19), te najniža vrijednost maksimalne brzine anaerobnog otpuštanja fosfata (Tablica 20) od svih provedenih testova. Usprkos tomu, u zadnjem pokusu je uočen efekt poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora, jer su vrijednosti aerobno i anoksično unesenog fosfata (mgP/gVSS) bile više od onog otpuštenog u anaerobnoj fazi (Tablica 21).

Na metabolizam PAO i GAO u anaerobnim uvjetima utječe i pH-vrijednost. Uočena je dominacija PAO pri pH većim od 7,25 (Filipe i sur., 2001a i c; Oehmen i sur 2005b; Schuler i Jenkins, 2002; Zhang i sur., 2011), te inhibicija rasta PAO pri pH-vrijednostima nižim od 6,5 (Erdal i sur., 2008; Zhang i sur., 2005). Schuler i Jenkins (2002) su zabilježili najveću prosječnu brzinu unosa acetata pri pH 8, a Liu i suradnici (1996) pri pH 7,4. U prvom laboratorijskom testu je pH-vrijednost iznosila 7,9 i uočena je najveća brzina otpuštanja fosfata, dok je u ostalim testovima pH-vrijednost održavana na 7,2. Povišena pH-vrijednost u prvom testu u odnosu na ostale, vjerojatno je utjecala na veću brzinu unosa acetata tijekom anaerobne faze. Pri višoj pH-vrijednosti je potrebno više energije za unos acetata preko stanične membrane u stanicu PAO. Energija za taj proces se dobiva cijepanjem energijom bogatih polifosfatnih lanaca pri čemu se oslobađaju fosfati koji izlaze iz stanice (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Analizom parametara i njihovog utjecaja na mikrobnu populaciju na 10 UPOV-a pune veličine, Zhang i suradnici (2011) su zaključili da GAO skupina mikroorganizama *Competibacter* dominira nad PAO kada je influent bogat KPK (KPK/P omjer 28,6-196,2), a pH-vrijednost influenta niska. Omjer KPK/TP u influentu UPOV-a Koprivnica u 2011. g. prosječno iznosi 58,6, a u 2017. g. 126, a pH vrijednost iznosi 6,4 što ide u prilog razvoju GAO populacije mikroorganizama.

Maksimalna brzina otpuštanja fosfora u anaerobnim uvjetima uz prisustvo acetata se kretala od 0,19-2,41 mgP/gVSS.h (Tablica 20). Uspoređujući brzine otpuštanja fosfora s drugim autorima (Tablica 20), može se zaključiti da su brzine otpuštanja fosfata iz biomase sa UPOV-a Koprivnice vrlo niske (niže od 2,41 mgP/gVSS.h), što ukazuje na vrlo slabu aktivnost PAO mikrobne populacije. Maksimalna brzina unosa fosfora u aerobnim i anoksičnim uvjetima je u svim testovima bila niža od 0,8 mgP/gVSS.h (Tablica 20), što je također vrlo nisko u usporedbi s drugim autorima.

Na UPOV-u Koprivnica se fosfor uklanja dodatkom polialuminijevog klorida. Soli aluminija (PAC) koje se dodaju u influent radi kemijskog uklanjanja fosfora imaju značajan inhibitorski utjecaj na anaerobno otpuštanje fosfora (de Haas i sur., 2000a i b; Liu i sur., 2011; Zheng i sur., 2014; Xia i sur., 2022). Dugotrajnim dodavanjem soli aluminija dolazi do akumulacije aluminija u aktivnom mulju, te je inhibitorski učinak još izraženiji (Liu i sur., 2011; Xia i sur., 2022). Niske vrijednosti izmjerenih maksimalnih brzina otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima, kao i unosa fosfata u aerobnim i anoksičnim uvjetima (Tablica 20) su vjerojatno posljedica uvjeta rada UPOV-a Koprivnica koji su prvenstveno podešeni za uklanjanje spojeva s dušikom, te zbog inhibicije

solima aluminijska, budući su uzorci aktivnog mulja uzeti s UPOV-a Koprivnica u sebi sadržavali i PAC. Od deset UPOV-a čije su aktivne muljeve istraživali Zhang i suradnici (2011) dvije najniže vrijednosti anaerobnog otpuštanja fosfora (0,22 i 0,56 mgP/gVSS.h) su imali UPOV-i koji dodaju kemikalije za taloženje fosfora.

U tablici 21 su prikazani rezultati testa anaerobnog otpuštanja fosfata, te unosa fosfata u aerobnim i anoksičnim uvjetima. Ukoliko dolazi do rasta biomase PAO, unos fosfora u aerobnoj/anoksičnoj fazi bi trebao biti veći od količine ispuštenog fosfora tijekom anaerobne faze, kako bi došlo do efekta poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora iz otpadne vode. Ukupni aerobno uneseni fosfat je veći od ukupno anaerobno otpuštenog fosfata u testovima 2, 4 i 8, dok je ukupno anoksično uneseni fosfat veći od anaerobno ispuštenog u testovima 2 i 8. U provedenim testovima, učinak poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora se vidi u testu 2, 4 i 8 (Tablica 21), no u testovima 1, 3 i 5, taj efekt nije vidljiv. U testu 1 i 3 je ukupni aerobni unos fosfata manji od anaerobno otpuštenog, a anoksični unos tada nije mjeren. U testu 5 je ukupni anoksični unos fosfata manji od anaerobno otpuštenog, a aerobni unos tada nije mjeren. Značajne razlike u rezultatima između 6 provedenih testova, najvjerojatnije su posljedica velikih varijacija kakvoće influenta i čestih promjena uvjeta rada UPOV-a Koprivnica, te posljedično i aktivnosti biomase aktivnog mulja, te udjela PAO u biomasi aktivnog mulja. Rad UPOV-a, trajanje ciklusa i faza obrade s i bez aeracije, podešeni su kako bi se osiguralo uklanjanje spojeva s dušikom kroz procese nitrifikacije i denitrifikacije, jer se fosfor uklanja kemijskim taloženjem.

Niska koncentracija fosfata u influentu može dovesti do prelaska s PAO metabolizma na GAO metabolizam (Acevedo i sur., 2012). Podskupina PAO mikroorganizama PAO I energiju za unos VFA dobiva većinom cijepanjem polifosfatnih lanaca, dok PAO II podskupina može koristiti i glikogen kao izvor energije kao što to čine GAO (Welles i sur., 2015). Niski omjer P/C u influentu pogoduje razvoju PAO II podskupine, a visoki omjeri P/C pogoduju razvoju PAO I podskupine (Welles i sur., 2015; 2016). U uvjetima kada omjer fosfata i acetata u influentu raste, raste i omjer polifosfatnih lanaca i glikogena u stanicama PAO IIC podskupine. S porastom udjela polifosfatnih lanaca u stanicama PAO IIC, povećava se i njihovo korištenje (u odnosu na glikogen) za unos acetata u stanice, te je omjer otpuštenog fosfata u odnosu na uneseni acetat viša od 0,5 P-mol/C-mol, a udio P/VSS doseže 0,32 (Welles i sur., 2017). S obzirom da se na UPOV-u Koprivnica fosfor uklanja kemijskim taloženjem dodatkom PAC-a u cjevovod koji vodi influent u SBR bazene,

koncentracija fosfata koja je raspoloživa PAO je manja zbog vezanja na PAC. Gledajući rezultate testova otpuštanja fosfata u anaerobnim uvjetima, može se zaključiti da PAO postoje u biomasi na UPOV-u Koprivnica, no u promjenjivim i nedovoljnim koncentracijama za uspješan EBPR zbog nepovoljnih operativnih uvjeta i varijacija u influentu.

Istraživanja vezana uz kompeticiju PAO i GAO su najčešće provođena u laboratorijskim uvjetima. Na UPOV-ima su istraživanja pokazala da je moguće imati učinkovit EBPR proces bez obzira na prisutnost GAO (Stokholm-Bjerregaard i sur., 2017; Saunders i sur., 2003; Lanham i sur., 2013) čak i u toplijim klimama (Qiu i sur., 2019; Ong i sur., 2014). Nielsen i suradnici (2019) smatraju da je prisutnost GAO na UPOV-ima dobar znak, jer će se pojaviti samo kada ima fermentabilog supstrata i hlapivih masnih kiselina u suvišku.

Specifične brzine nitrifikacije su prikazane su na slici 15. Koncentracija otopljenog kisika u aerobnoj zoni je uvijek bila iznad $2 \text{ mgO}_2/\text{L}$ što je preduvjet za učinkovitu nitrifikaciju. Prosječna vrijednost amonija u influentu iznosi 36 mgN/L , a alkalitet influenta od $440 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$ je dovoljan kako bi se održao optimalan pH za nitrifikaciju (Ekama i sur., 2020). Najveća brzina nitrifikacije ($5,8 \text{ mgNH}_4\text{-N/gVSS.h}$) je izmjerena u prvom pokusu pri pH-vrijednosti 7,7, dok su se ostali testovi provodili pri pH 7,2 i tada su izmjerene vrijednosti u rasponu od 1,1 do $1,97 \text{ mgNH}_4\text{-N/gVSS.h}$. Antoniou i suradnici (1990) su izvjestili da je optimalna pH-vrijednost za postizanje maksimalne specifične brzine rasta nitrifikanata 7,8. Park i suradnici (2007) su analizirali eksperimentalne podatke i predložili optimalan raspon pH-vrijednosti koji za AOB iznosi $8,2 \pm 0,3$ a za NOB $7,9 \pm 0,4$. Odredili su i raspon pH-vrijednosti unutar kojega je maksimalna specifična brzina unosa supstrata veća od polovice najveće izmjerene maksimalne specifične brzine unosa supstrata i on iznosi $3,1 \pm 0,4$ za AOB, te $2,2 \pm 0,4$ za NOB. Prvi test je proveden u travnju nakon hladnijeg perioda godine. Budući je koncentracija ukupnog dušika u efluentu na UPOV-u Koprivnica tada bila ispod 10 mgN/L , može se pretpostaviti da je u aktivnom mulju bio dovoljan udio AOB i NOB za provedbu potpune nitrifikacije. Veća specifična brzina nitrifikacije u prvom testu je najvjerojatnije posljedica pH-vrijednosti koja je bliže optimalnoj u odnosu na ostale testove. Uzrok varijacijama u specifičnoj brzini nitrifikacije je vjerojatno i sastav influenta koji značajno varira (Tablice 12 i 13), pa tako utječe i na rast i aktivnost osjetljivih nitrifikanata. Operativni uvjeti na UPOV-u Koprivnica su također bitni za održavanje biomase nitrifikanata. Višak mulja nije izdvajan nakon svakog ciklusa, već prema koncentraciji biomase aktivnog mulja u bioreaktorima.

Na taj je način mijenjan SRT, što također utječe na nitrifikante i njihov udio u biomasi aktivnog mulja.

U testovima provedenim u ovom radu (Slika 15), specifične brzine denitrifikacije su se kretale od 2,9 do 3,5 mg NO₃-N/gVSS.h. Literaturni podaci za specifičnu brzinu denitrifikacije heterotrofnih bakterija sa lako-biorazgradivim izvorima ugljika pri 20°C iznose 0,720 mgNO₃-N/mgOHO-VSS.d (30 mg NO₃-N/gOHO-VSS.h), a sa sporo biorazgradivim izvorima ugljika iznose 0,101 mg NO₃-N/mgOHO-VSS.d (4,2 mgNO₃-N/gOHO-VSS.h) (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Sastav i maksimalna specifična brzina rasta heterotrofnih bakterija odgovornih za denitrifikaciju ovisi o količini i vrsti dostupnog izvora ugljika (Lu i sur., 2014; Mokhayeri i sur., 2006). Mokhayeri i suradnici (2008) su uspoređivali brzine denitrifikacije uz 3 najčešća vanjska izvora ugljika – metanol, etanol i acetat. Uz dodatak acetata su izmjerene najveće brzine denitrifikacije (31,7 mg NO₃-N/gVSS.h), te je na acetat najmanji period prilagodbe biomase nakon rasta na nekom drugom izvoru ugljika. Zato je acetat i odabran kao izvor ugljika za proces denitrifikacije u pokusima provedenim u laboratorijskom SBR-u. Phanwilai i suradnici (2020) su proučavali brzine denitrifikacije na stvarnim UPOV-ima s prihranjivanjem u koracima ovisno o omjeru KPK i N u influentu, SRT i otopljenom kisiku u anoksičnoj fazi. Brzine denitrifikacije izmjerene na UPOV-u s omjerom KPK:N 4:1 u influentu, SRT 60 dana i otopljenim kisikom u anoksičnoj fazi 0,2 mgO₂/L su iznosile 0,047 gNO₃-N/g VSS.d pri temperaturi od 27°C, a na UPOV-u s omjerom KPK:N 10:1, SRT 7 dana i otopljenim kisikom 0,6 mgO₂/L su iznosile 0,12 gNO₃-N/g VSS.d pri temperaturi od 25°C. U testovima provedenim u Laboratoriju za tehnologiju vode, brzina denitrifikacije je također varirala, te je bila manja od očekivane (Slika 15) budući izvor ugljika u testovima nije bio limitirajući. Jedan od uzroka promjene u brzinama denitrifikacije može biti promijenjivi udio denitrificirajućih bakterija u heterotrofnoj biomasi aktivnog mulja (Henze i sur., 1987) s obzirom na promijenjivi SRT na UPOV-u Koprivnica, te promjene u mikrobiološkoj strukturi denitrifikanata uslijed dotoka industrijskih otpadnih voda različitog sastava (Gentile i sur., 2007a i b).

5.2. Laboratorijski pokusi mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

5.2.1. Prvi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

Prvi pokus je osmišljen kako bi se provjerilo da li je u uvjetima koji su slični uvjetima rada UPOV-a Koprivnica moguće uspostaviti poboljšano biološko uklanjanje fosfora uz istovremeno učinkovito uklanjanje dušika, te tako postići učinkovito pročišćavanje otpadnih voda bez upotrebe polialuminijevog klorida za uklanjanje fosfora.

Uvjeti rada laboratorijskog SBR-a su bili slični uvjetima rada UPOV-a Koprivnica. Punjenje bioreaktora uz miješanje i bez aeracije je trajalo 4 sata. Coats i suradnici (2011) su proučavali utjecaj hidrauličkog vremena zadržavanja u anaerobnim uvjetima i zaključili da HRT do 3 sata ne uzrokuje smanjenje učinkovitosti EBPR. Jabari i suradnici (2016) su zaključili da niti HRT od 4 sata nema negativan učinak na EBPR. Faza obrade je podijeljena u tri ciklusa po dva sata u kojima je najprije laboratorijski bioreaktor aeriran, a zatim samo miješan. Primjenom naizmjenične aeracije, omogućeni su procesi nitrifikacije i denitrifikacije. Laboratorijski SBR je radio u ciklusima od 12 sati kako je najčešće radio i UPOV Koprivnica, a SRT je održavan na 19 dana, što je također u skladu s procijenjenom starosti mulja na UPOV Koprivnica. Pripremljena sintetička otpadna voda je po udjelu suspendiranog KPK u ukupnom KPK, te po prosječnim vrijednostima KPK, amonija, fosfora, ukupnog dušika i alkaliteta bila slična prosječnim vrijednostima influenta s UPOV-a Koprivnica. U sintetičkoj otpadnoj vodi je dušik uglavnom bio prisutan u svom reduciranom obliku kao amonij (NH_4) u koncentraciji od 35 mgN/L.

Pokus je započet s ukupnim trajanjem faze uz aeraciju u trajanju od 90 minuta. Više koncentracije amonija prisutne u efluentu u početnoj fazi prvog pokusa (Slika 16) su najvjerojanije posljedica utjecaja zaostalog PAC-a na nitrifikante i vremena potrebnog za adaptaciju na laboratorijske uvjete rada. Oporavak nitrifikanata od inhibitornog utjecaja PAC, nakon 15 dana kada je PAC uglavnom ispran iz aktivnog mulja, je u skladu sa zapažanjima Liu i suradnika (2011). Nakon 15. dana se stanje ustalilo i nitrifikacija je uspješno provedena što je vidljivo iz slike 16. Iz rezultata se može zaključiti da je 90 minuta vremena uz aeraciju (prvih 21. dan) dostatno za provedbu skoro cjelokupne nitrifikacije. Nakon 21. dana provedbe pokusa, u svakom od tri ciklusa unutar faze

obrade, produžena je faza aeracije za 10 minuta, a faza bez aeracije je smanjena za 10 minuta kako bi ukupno trajanje faze obrade ostalo isto. Ukupno trajanje faze uz aeraciju je produljeno s 90 na 120 minuta. Vrijednosti amonija u efluentu su tijekom druge faze ostale vrlo niske, prosječno 1,23 mgN/L, no koncentracije nitrata u efluentu su malo porasle u odnosu na period od 15. do 21. dana trajanja pokusa. Nakon 29. dana provedbe pokusa ponovno su promijenjena trajanja faza uz aeraciju i bez nje. Ukupno trajanje faze uz aeraciju je skraćeno i iznosilo je 105 minuta (35 minuta u svakom od 3 ciklusa unutar faze obrade). Koncentracije nitrata u efluentu su tijekom cijelog pokusa varirale između 2,4 i 11 mgN/L (Slika 16). Gledajući vrijednosti prosječne koncentracije nitrata u efluentu nakon uspostave učinkovite nitrifikacije (nakon 15. dana) vidi se da su koncentracije nitrata u drugoj fazi (vrijeme bez aeracije 240 min, 8,53 mgNO₃-N/L) veće od koncentracija nitrata u trećoj fazi (vrijeme bez aeracije 255 min, 5,68 mgNO₃-N/L), pa se može zaključiti da je skraćivanje faze uz aeraciju, uz produljenje faze bez aeracije pogodovalo učinkovitosti procesa denitrifikacije.

KPK je tijekom pročišćavanja uspješno smanjen sa oko 550 mgO₂/L na 20-40 mgO₂/L i u svakom je trenutku bio ispod maksimalne dopuštene koncentracije koja iznosi 125 mgO₂/L. BPK₅ u efluentu nije mjereno.

Vrijednosti ukupnog fosfora u efluentu niti u jednom mjerenju nisu bile ispod granične vrijednosti propisanih vodopravnim dozvolom koja iznosi 2 mgP/L (Slika 17). Porast koncentracije fosfora u efluentu tijekom prvih 10 dana (Slika 17) vjerojatno je uzrokovan smanjenjem koncentracije PAC-a u aktivnom mulju koji se s izdvajanjem viška mulja smanjivao u laboratorijskom bioreaktoru. Od 22. dana provedbe prvog pokusa, smanjeno je ukupno trajanje faze bez aeracije, te su se povećale i koncentracije nitrata u efluentu kao posljedica nedovršene denitrifikacije. Mnogi autori su izvjestili o smanjenju učinka poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora kada su u zoni koja bi trebala biti anaerobna prisutni nitrati ili kisik (Barnard 1976a i b; Hascoet i Florentz, 1985). Prisutnost nitrata u anaerobnoj zoni inhibira otpuštanje fosfata (Kuba i sur., 1994). Nitrati preostali u bioreaktoru nakon izdvajanja efluenta su činili uvjete na početku punjenja anoksičnima. U početnoj fazi punjenja se stoga odvijala denitrifikacija s lako-biorazgradivim izvorom ugljika iz sintetičkog influenta. Za svaki 1 mgN-NO₃ u anaerobnoj zoni, obični heterotrofni organizmi iskoriste 8,6 mg lako-biorazgradivog KPK iz influenta (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Nakon redukcije nitrata, preostalo je nedovoljno vremena s anaerobnim uvjetima i nedovoljno lako-

biorazgradivog izvora ugljika za EBPR proces, te je i koncentracija ortofosfata u efluentu porasla (22. do 25. dan). Produljenje ukupnog trajanja faze bez aeracije 29. dana provedbe pokusa, povoljno je djelovalo na denitrifikaciju. Smanjena koncentracija nitrata na početku faze punjenja, skratila je trajanje anoksičnih uvjeta tijekom punjenja, te je bilo potrebno manje lako-biorazgradivog izvora ugljika za dovršetak denitrifikacije. Produljenje trajanja anaerobnih uvjeta tijekom punjenja, te preostali lako-biorazgradivi izvori ugljika su povoljno utjecali na aktivnost PAO koji su bili prisutni u aktivnom mulju, ali u vrlo niskim koncentracijama. Nakon 25. dana provedbe pokusa, koncentracija fosfata u efluentu kratko vrijeme stagnira, a zatim pada (Slika 17), što upućuje na početak EBPR aktivnosti. Tome u prilog ide i povećanje udjela fosfora u VSS mulja (Slika 18) nakon 23. dana provedbe pokusa. Udio fosfora u masi organske suspendirane tvari aktivnog mulja na početku pokusa pada zajedno s koncentracijom anorganske suspendirane tvari što je posljedica ispiranja PAC iz aktivnog mulja. Udio fosfora u masi organske suspendirane tvari aktivnog mulja raste od 23. dana do kraja pokusa i najveću vrijednost postiže na kraju pokusa koja iznosi 0,165 gP/gVSS (Slika 18). Udio fosfora u biomasi običnih heterotrofnih organizama iznosi 0,02 gP/gVSS, dok se kod PAO biomase udio kreće od 0,35 do 0,38 gP/gVSS (Lopez-Vazquez i sur., 2020). Kada uz obične heterotrofne mikroorganizme aktivni mulj sadrži i PAO, udio fosfata u stanicama aktivnog mulja iznosi 0,06-0,15 mgP/mgVSS (0,05-0,10 mgP/mgTSS) ovisno o udjelu PAO u aktivnom mulju (Lopez-Vazquez i sur., 2020), što upućuje da u pokusu postepeno dolazi do nakupljanja PAO biomase u aktivnom mulju.

Sintetički influent ne sadrži anorgansku suspendiranu tvar, te je njeno prisustvo na početku provedbe laboratorijskog pokusa posljedica sadržaja inokuluma sa UPOV-a Koprivnica na kojem se fosfor uklanja dodatkom PAC u bioreaktore. PAC s fosforom iz influenta tvori taložive soli koje se izdvajaju s viškom mulja. Njegova se koncentracija smanjuje tijekom provedbe pokusa zbog izdvajanja viška mulja nakon svakog ciklusa, što uzrokuje i smanjenje omjera P/VSS na početku pokusa (Slika 18). Nakon 20 dana provedbe pokusa, udio organske suspendirane tvari u aktivnom mulju se ustalio na vrijednostima iznad 90%.

Prisustvo nitrata u fazi punjenja ima negativan učinak na EBPR proces, te ga je potrebno smanjiti na minimum. Promjenama u trajanju faza uz aeraciju i bez nje 21. i 29. dana pokusa, pokušano je dobiti uvid u utjecaj trajanja pojedine faze na učinkovitost procesa nitrifikacije i denitrifikacije. Produljenje perioda bez aeracije tijekom faze obrade povoljno utječe na proces denitrifikacije, a

time i na EBPR proces. Tijekom produljene faze bez aeracije dolazi do hidrolize kompleksnijih izvora ugljika koji tako postaju dostupni denitrifikantima za provedbu denitrifikacije. Smanjenjem koncentracije nitrata u fazi punjenja, smanjena je njihova potreba za lako-biorazgradivim izvorom ugljika iz influenta, te se denitrifikacija brže dovršava. Na taj način je veća koncentracija lako-biorazgradivog ugljika raspoloživa za PAO i produljuje se vrijeme kada se punjenje odvija u anaerobnim uvjetima. Najdulji period bez aeracije tijekom faze obrade je u prvih 21 dan pokusa i on iznosi 270 minuta. Nakon faze prilagodbe nitrifikanata na uvjete rada laboratorijskog bioreaktora koja je trajala otprilike 15 dana, koncentracije amonija u efluentu se kreću od 1,1 do 1,3 mgN/L, a koncentracije nitrata se smanjuju od 9,5 do 3,6 mgN/L. Iz rezultata dobivenih ovim pokusom može se zaključiti da je nakon faze prilagodbe nitrifikacija uspješno provedena, te da produljenje trajanja perioda bez aeracije povoljno utječe na denitrifikaciju zbog duljeg vremena osiguranog za proces hidrolize kojom se dobiva lakše biorazgradivi izvor ugljika.

5.2.2. Drugi laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

U prvom laboratorijskom pokusu je najučinkovitije uklanjanje amonija i nitrata bilo na kraju prve faze kada je period uz aeraciju trajao ukupno 90 minuta, a period bez nje 270 minuta. Budući je prva faza, nakon perioda prilagodbe biomase na laboratorijske uvjete rada (15 dana) trajala kratko, svega 6 dana, ovim pokusom se željelo potvrditi da li su takvi operativni uvjeti povoljni za biološko uklanjanje nutrijenata iz influenta. Primjenjeni su isti operativni uvjeti - trajanje faza i ciklusa, SRT. Pripremljen je sintetički influent istih karakteristika kao i u prvom pokusu.

Koncentracije amonija i nitrata u efluentu tijekom provedbe drugog laboratorijskog pokusa prikazane su na slici 19. Prvih 15 dana pokusa su koncentracije amonija vrlo niske (0,85-1,4 mgN/L), no zatim polako rastu i kreću se od 1,2 do 5,7 mgN/L. Povećanjem starosti mulja s 19 na 24 dana od 22. dana trajanja pokusa nije uočen povoljan utjecaj na proces nitrifikacije. Porast koncentracije amonija u efluentu upućuje na nedovoljno dugo hidrauličko vrijeme zadržavanja uz aeraciju (ukupno 90 minuta).

Koncentracije nitrata na početku pokusa postižu vrijednosti do 34 mgN/L, što upućuje na učinkovitu nitrifikaciju, no neučinkovitu denitrifikaciju usprkos vremenu bez aeracije u trajanju 270 minuta. Budući je brzina denitrifikacije ovisna o dostupnosti lako-biorazgradivog izvora

ugljika (Kujawa i Klapwijk, 1999), 39. dana pokusa je izmjenjen sastav influenta na način da je povećan udio lako-biorazgradivog izvora ugljika (acetat), a smanjen udio sporije biorazgradivog izvora ugljika (škrob-gustin) uz zadržavanje iste vrijednosti ukupnog KPK od 550 mgO₂/L. Promjena sastava influenta nije bila dovoljna za potpunu provedbu procesa denitrifikacije. Specifična brzina denitrifikacije se povećala s 0,1 (35. dan) na 0,19 mgNO₃-N/mgVSS.dan (54. dan), no u efluentu je i dalje ostala koncentracija nitrata između 6,7 i 8,7 mgN/L (Slika 19). Izmjerene vrijednosti specifične brzine denitrifikacije su i dalje ispod vrijednosti navedenih u literaturi: 0,72 mg NO₃-N/mg OHO-VSS.dan uz lako-biorazgradivi supstrat pri 20 °C (Ekama i sur., 2020), 0,04 do 0,42 g NO₃-N/g MLVSS.dan kod preddenitrifikacije, 0,01 do 0,04 g NO₃-N/g MLVSS.dan kod postdenitrifikacije (Tchobanoglous i sur., 2003), te 0,03 do 0,20 g NO₃-N/g MLVSS.dan kod preddenitrifikacije, 0,01 do 0,03 g NO₃-N/g MLVSS.dan kod postdenitrifikacije kada je izvor ugljika uglavnom nastaje endogenom respiracijom (EPA 2010). S obzirom da se radi o SBR tipu uređaja, nitrat je bio prisutan i prilikom punjenja bioreaktora, stoga na početku ciklusa, tijekom punjenja influentom, nisu vladali anaerobni, već anoksični uvjeti. Comeau i sur., (1986) su uočili da neće doći do anaerobnog otpuštanja fosfata ukoliko je koncentracija nitrata u povratnom mulju veća od 5 mgN/L.

Na slici 20 je prikazan profil kisika tijekom jedne faze obrade u kojoj se izmjenjuju tri ciklusa s aeracijom i bez nje. Nakon prvih 30 minuta aeracije (Slika 20), gašenjem aeracije vrijednost otopljenog kisika naglo pada. U toj fazi još uvijek ima dovoljno izvora ugljika i amonija koje mikroorganizmi aktivnog mulja brzo oksidiraju, te se brzo uspostavljaju anoksični uvjeti. U roku od 8 minuta je koncentracija kisika pala ispod 0,2 mgO₂/L. Nakon drugog i trećeg razdoblja aeracije, vrijednosti otopljenog kisika padaju sve sporije (38 min i 52 min), što upućuje na nedostatan izvor ugljika u tim fazama obrade. Budući da koncentracije otopljenog kisika iznad 0,2 mgO₂/L uzrokuju inhibiciju procesa denitrifikacije (Lu i sur., 2014), anoksična razdoblja se sve više skraćuju, te je denitifikacija nepotpuna.

Prvih 12 dana provedbe drugog laboratorijskog pokusa, koncentracije ukupnog fosfora u efluentu su iznosile od 3,3 do 4,5 mgP/L. Budući je aktivni mulj u tom razdoblju sadržavao viši udio anorganske suspendirane tvari, vjerojatno su niže vrijednosti TP u efluentu na početku drugog pokusa posljedica prisutnosti PAC u mulju sa UPOV-a Koprivnica (Slika 21). Od 12 do 38 dana se koncentracija fosfora se u efluentu ustalila između 7,9 i 10 mgP/L, a zatim je još malo porasla,

te se do kraja pokusa kretala od 9,3 do 11 mgP/L, što je znatno iznad 2 mgP/L koliko iznosi maksimalna dopuštena koncentracija propisana vodopravnom dozvolom. S obzirom da nominalna starost mulja iznosi 19 dana (prvih 21 dan provedbe pokusa), utjecaj sadržaja inokuluma s UPOV Koprivnica se tijekom tog perioda smanjuje i nakon 19 dana je zanemariv. Razlika u koncentraciji fosfora između influenta (12 mgP/L) i efluenta je vrlo vjerojatno fosfor asimiliran u stanice mikroorganizama biomase aktivnog mulja, bez učinka poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora.

Zbog nepotpune denitrifikacije, početak ciklusa uz punjenje influentom se provodi uz anoksične umjesto anaerobne uvjete, stoga nisu stvoreni uvjeti koji bi omogućavali nakupljanje PAO i uspostavu poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora.

Anorganske suspendirane tvari su u uzorku aktivnog mulja bile prisutne zbog sastava influenta i uvjeta rada UPOV Koprivnica odakle je uzet uzorak. U laboratorijskim uvjetima je redovito izdvajan višak mulja, te je zajedno s njim uklanjana i anorganska suspendirana tvar. S obzirom da sintetički influent ne sadrži anorganske suspendirane tvari, u aktivnom mulju se povećavao udio organske tvari i ustalio se na iznad 90% nakon 20 dana provedbe pokusa (približno SRT-u).

Udio fosfora u ukupnoj organskoj suspendiranoj tvari mulja je bio ujednačen tijekom čitavog pokusa i kretao se od 0,025 do 0,045 mgP/gVSS što ukazuje da u aktivnom mulju nije bilo značajnijeg udjela PAO populacije mikroorganizama (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

5.2.3. Treći laboratorijski pokus mogućnosti uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora

U prvom i drugom pokusu je proces denitrifikacije ostao nedovršen, što je uzrokovalo prisutnost nitrata tijekom faze punjenja. Tako su tijekom punjenja umjesto anaerobnih vladali anoksični uvjeti koji su omogućili kompeticiju heterotrofa koji su provodili denitrifikaciju i PAO za lako-biorazgradivi supstrat, acetat. Tijekom aerobne faze koja prethodi anoksičnoj fazi, dolazi do asimilacije lako-biorazgradivog izvora ugljika iz influenta od strane heterotrofnih mikroorganizama. Preostala koncentracija lako-biorazgradivog izvora ugljika nije bila dostatna za potpunu denitrifikaciju.

Anaerobni uvjeti na početku ciklusa važni su kako bi PAO asimilirali hlapive masne kiseline iz influenta bez kompeticije s denitrificirajućim heterotrofima (Tu i Schuler 2013; Shen i Zhou, 2016),

stoga su promijenjeni uvjeti rada. U ovom laboratorijskom pokusu je odlučeno uvesti prihranjivanje u koracima (engl. step feed) pri čemu se izvor ugljika dodaje na početku anoksične faze kako bi se osigurali dostatni izvori ugljika za potpunu provedbu denitrifikacije. Kao izvor lako-biorazgradivog ugljika tijekom punjenja je odabran acetat, a tijekom anoksične faze odabran je laktat koji je također povoljan za proces denitrifikacije (Tang i sur., 2018). Brzina denitrifikacije je veća uz prisustvo mješavine kratkolančanih hlapivih masnih kiselina nego uz sam acetat (Liu i sur., 2016).

Osim prihranjivanja u koracima, uveden je i drugačiji režim aeracije. U prethodnom pokusu je zaključeno da je faza uz aeraciju u trajanju 90 minuta nedovoljna za potpunu provedbu nitrifikacije, pa je u trećem pokusu ona produžena. Gledajući profil kisika (Slika 20) uočeno je da se nakon prve aerobne faze, koncentracija otopljenog kisika brzo smanjuje, te se brzo uspostavljaju anoksični uvjeti, što nije slučaj nakon druge i treće aerobne faze. To upućuje da je nakon prve faze prisutno dovoljno lako-biorazgradivog izvora ugljika koji se brzo oksidira i/ili amonija kojeg nitrifikanti oksidiraju do nitrata. Umjesto naizmjeničnih faza s aeracijom i bez nje, u ovom pokusu je nakon anaerobne faze slijedila jedna aerobna faza u trajanju 195 minuta, te jedna anoksična faza u trajanju 105 minuta uz prihranu laktatom nakon čega je slijedilo taloženje i dekantiranje.

Nitrifikacija i denitrifikacija su uspješno uspostavljene nakon nekoliko dana pokusa i ostale stabilne do kraja. Koncentracije amonija u efluentu su tijekom cijelog pokusa bile ispod 0,5 mgN/L, što upućuje da je 195 minuta aerobnih uvjeta dostatno za učinkovitu nitrifikaciju. Prihranjivanje laktatom u anoksičnoj fazi provedbe pokusa pokazalo se kao dobra strategija za postizanje uspješne denitrifikacije. Na slici 22. se vide koncentracije nitrata nakon anaerobne, aerobne i anoksične faze tijekom cijelog trajanja pokusa. Nakon anoksične faze (zadnje faze prije taloženja), koncentracije nitrata su se kretale od 0,6 do 1,5 mgN/L, uz jednu povećanu vrijednost (2,2 mgN/L) 35. dana provedbe pokusa. Na taj način su tijekom ponovnog punjenja bioreaktora bili osigurani anaerobni uvjeti koji su preduvjet za razvoj PAO populacije i uspostavu poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora.

Iz slike 23 može se zaključiti da u biomasi aktivnog mulja na početku provedbe laboratorijskog testa nije bilo značajnije koncentracije PAO, niti efekta provedbe poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora jer su koncentracije fosfora bile jednake nakon anaerobne, aerobne i anoksične faze. Smanjenje koncentracije otopljenog fosfora nakon anoksične faze, pa tako i u efluentu (Slika 23)

najvjerojatnije je posljedica zaostalog polialuminijevog klorida prisutnog u uzorku aktivnog mulja s UPOV-a Koprivnica, te fosfor asimiliran od strane mikroorganizama aktivnog mulja potreban za njihov rast i diobu. U svim pokusima provedenim u laboratoriju s uzorcima aktivnog mulja sa UPOV-a Koprivnica primjećen je ovakav utjecaj na početku pokusa. S obzirom da je SRT u trećem laboratorijskom pokusu održavan na 15 dana, djelovanje polialuminijevog klorida je nakon proteka tog vremena zanemarivo. Nakon otprilike 30 dana provedbe trećeg laboratorijskog pokusa, uspostavljeno je ustaljeno stanje. Koncentracija fosfora u infuentu je iznosila 30 mgP/L što je puno više od koncentracija izmjerenih u sirovom influentu na UPOV-u Koprivnica (Tablice 12 i 13). Koncentracije fosfora u sintetičkom influentu su povećane kako fosfor ne bi bio limitirajući faktor, te kako bi u efluentu ostao rezidualni fosfor. Iz razlike u koncentraciji fosfora u influentu i efluentu, može se vidjeti maksimalni potencijal biomase aktivnog mulja za uklanjanje fosfora. U trećem laboratorijskom pokusu nije u potpunosti uklonjen fosfor iz influenta zbog niskog omjera lako-biorazgradivog izvora ugljika i ukupnog fosfora koji je iznosio 5,8 mg lbKPK/TP. Uz ovakav omjer je uklonjeno prosječno 8 mgP/L od 30 mgP/L prisutnih u influentu. S obzirom da su u sirovom influentu prisutne prosječne koncentracije fosfora od 6-12 mgP/L (Tablice 12 i 13), ovakav omjer lako-biorazgradivog izvora ugljika i ukupnog fosfora bi bio dovoljan za uklanjanje 8 mgP/L, ali ne i 10 mgP/L, kako bi se zadovoljio zahtjev iz vodopravne dozvole koji iznosi 2 mgP/L. Nagla povećanja koncentracije fosfora, iznad 10 mgP/L, u otpadnoj vodi UPOV-a Koprivnica trebalo bi i dalje reducirati dodatkom PAC.

Vrijednosti fosfora u filtriranom uzorku mulja nakon aerobne i anoksične faze su podjednake tijekom cijelog pokusa što ukazuje da nema anoksičnog unosa fosfata, odnosno da nema DPAO populacije mikroorganizama u aktivnom mulju.

Na slici 24 je vidljivo da se unos organskih tvari tijekom anaerobne i anoksične faze stabilizirao nakon otprilike tjedan dana uz gotovo potpuno uklanjanje organskih tvari izraženih kao TOC nakon 20. dana. Nakon uspostave EBPR procesa, izvor ugljika, acetat, koji je dodan s influentom 1 je gotovo sav asimiliran tijekom anaerobne faze. U aerobnoj fazi nije bilo daljnje asimilacije izvora ugljika već se provodila nitrifikacija za koju nije potreban organski izvor ugljika. U anoksičnoj fazi se biomasa prihranjivala s influentom 2 (laktat) što je osiguralo potpunu provedbu denitrifikacije. Bez prihranjivanja ne bi bilo dovoljno ugljika za provedbu denitrifikacije, te bi nitrifikacijom

nastali nitrat dijelom izašao s efluentom, a dijelom ostao u bioreaktoru i onemogućio uspostavu anaerobnih uvjeta tijekom punjenja influentom 1.

Omjer ISS/TSS u mulju je u početku provedbe trećeg laboratorijskog pokusa visok (0,37 mg/mg) najvjerojatnije zbog prisustva PAC koji se koristi na UPOV-u Koprivnica i prisutan je u inokulumu. Iz slike 25 je vidljivo postepeno smanjivanje koncentracija ukupnih i organskih suspendiranih tvari u mulju tijekom provedbe pokusa. Utjecaj anorganskih tvari iz inokuluma (PAC) se smanjuje zbog izdvajanja viška mulja i postaje zanemariv nakon 15 dana koliko iznosi SRT. Budući da je sintetički influent bez teško-biorazgradivog suspendiranog KPK kao i bez anorganske suspendirane tvari koja doprinosi povećanju ISS aktivnog mulja, omjer ISS/TSS se kasnije kreće od 0,22 do 0,24 mg/mg što je uobičajeno u sustavima s EBPR (Lopez-Vazquez i sur., 2020).

Na slici 26 u početku može se vidjeti negativan omjer otpuštenog fosfora u odnosu na uneseni izvor ugljika izražen kao TOC tijekom prvih 10 dana provedbe pokusa. Razlog je najvjerojatnije u prisutnosti PAC u inokulumu koji veže fosfor iz influenta tijekom anaerobnih uvjeta što je suprotno od onoga što se događa u sustavima s EBPR gdje se uz unos organskih tvari u anaerobnim uvjetima otpuštaju fosfati. S vremenom se ispiru PAC iz aktivnog mulja u laboratorijskom bioreaktoru zbog svakodnevnog izdvajanja viška mulja. Dolazi do razvoja PAO čija se aktivnost stabilizira nakon 30 dana provedbe pokusa. Od 35. dana pa do kraja pokusa se omjer otpuštenog P u odnosu na uneseni TOC ustalio na 0,45 P-mol/C-mol (slično Smolders i sur., 1994). Na početku pokusa je aerobni unos fosfata bio zanemariv, no nakon uspostave anaerobnog otpuštanja fosfata, povećao se i aerobni unos fosfata. Anoksični unos fosfata je tijekom cijelog pokusa ostao zanemariv (Slika 26).

Na početku testa je vjerojatno u biomasi aktivnog mulja bilo prisutno PAO u vrlo niskim koncentracijama, nedovoljnim za detekciju FISH testom, no opet dovoljnim da se u povoljnim uvjetima iz njih razvije zajednica PAO koja pokazuje efekte EBPR i postaje vidljiva na FISH testu nakon 43 dana provedbe pokusa (Slika 27).

5.3. Procjena mogućnosti implementacije laboratorijski dobivenih rezultata na UPOV-u Koprivnica modeliranjem pomoću programa BioWin

Na temelju rezultata karakterizacije influenta i provedenih testova i pokusa u laboratorijskim uvjetima razvijena je strategija modernizacije UPOV-a Koprivnice uvođenjem poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora umjesto kemijskog taloženja (Tablica 22).

Za simulacije rada UPOV-a Koprivnica, korišten je softver za simulaciju UPOV-a BioWin. BioWin je moderan software koji se koristi diljem svijeta za planiranje, projektiranje, optimizaciju rada i smanjenje operativnih troškova, obuku osoblja na UPOV-u, kao i u istraživačke i edukacijske svrhe. Temelji se na međunarodno priznatim standardima (IAWQ) i obuhvaća ASM1, ASM2d, ASM3, ADM, te još neke specijalizirane modele. Odabran je zbog svoje suvremenosti, stalnog razvoja i usavršavanja sukladno najnovijim znanstvenim rezultatima, jednostavnog je vizualnog prikaza, postoje mogućnosti podešavanja raznih parametara i mogućnosti prebacivanja podataka u MS Word ili MS Excel.

Odabrano je modeliranje stacionarnog stanja u kojem se koriste prosječne dnevne vrijednosti parametara. Dnevne varijacije u komunalnoj otpadnoj vodi su zanemarive, dok su značajnije promjene u pojedinim parametrima posljedica ispuštanja industrijskih otpadnih voda. Karakteristike sirovog influenta na UPOV-u Koprivnica su određene ne temelju provedenih analiza (Tablica 23), te računski (Tablica 24) sukladno proračunima danim u Meijer i Brdjanovic (2012).

Budući je mogućnost uspostave EBPRa već potvrđena laboratorijskim testom, BioWin bi trebao potvrditi mogućnost uvođenja EBPR na UPOV u punoj veličini.

U trećem laboratorijskom pokusu je denitrifikacija uspješno provedena primjenom prihranjivanja u koracima, tj. dodatkom izvora ugljika na početku anoksične faze. U BioWin simulatoru je stoga predviđeno punjenje preostala 3 SBR-a sirovim influentom (mehanički obrađena otpadna voda) tijekom prve anoksične faze (Tablica 33). Prihranjivanjem u koracima se povećava učinkovitost uklanjanja spojeva s dušikom pogotovo kod influenta s manjim C/N omjerom (Guo i sur., 2008).

Treći laboratorijski pokus je ukazao da postojeći smanjeni omjer lako-biorazgradivih izvora ugljika i ukupnog fosfora limitira poboljšano biološko uklanjanje fosfora. Koncentracija hlapivih masnih kiselina, MLSS, MLVSS i omjer VFA/P u influentu su najznačajniji faktori koji utječu na EBPR (Zhang i sur., 2011; Lopez-Vazquez i sur., 2020). Stoga povećanje koncentracije VFA bilo

anaerobnom razgradnjom primarnog ili sekundarnog mulja, ili produljenjem anaerobnog HRT povoljno djeluje na EBPR. U strategiji modernizacije UPOV-a Koprivnica (Tablica 22) je stoga odlučeno obogatiti otpadnu vodu hlapivim masnim kiselinama provođenjem fermentacije dijela mehanički obrađene otpadne vode. Zbog smanjenog kapaciteta dotoka otpadne vode na UPOV Koprivnica, samo su 3 SBR-a u funkciji, dok je četvrti u fazi mirovanja (Slika 5). Četvrti SBR je u simulatoru prenamijenjen u primarni anaerobni fermentor sirovog influenta i nazvan “anaerobni SBR”. Fermentacijom dijela sirovog influenta želi se povećati koncentracija hlapivih masnih kiselina neophodnih za EBPR proces u anaerobnoj fazi. Fermentirana otpadna voda se nakon fermentacije u anaerobnom SBR-u crpi u preostala 3 SBR-a tijekom anaerobne faze na početku ciklusa (Tablica 22).

U BioWinu je zasebno simuliran rad anaerobnog SBR-a (Slika 28) i preostala tri SBR-a (Slika 30).

Anaerobna obrada (fermentacija) je kompleksan proces koji je osjetljiv na temperaturu, pH-vrijednost, te inhibitorne spojeve. Anaerobna obrada započinje hidrolizom, nakon čega slijede acidogeneza, acetogeneza i metanogeneza (Gujer i Zehnder 1983; Zeeman i Lettinga, 1999; Chernicharo i sur., 2015; van Lier i sur., 2020). Yuan i suradnici (2011) su izmjerili konstante brzine hidrolize tijekom fermentacije viška mulja pri različitim temperaturama i zaključili su da je za završetak procesa hidrolize potrebno 5 dana pri 24.6 °C, 7 dana pri 14 °C i 9 dana pri 4 °C. Najosjetljivija je zadnja faza fermentacije, tj. proces metanogeneze. Za sprječavanje ispiranja metanogene biomase, ovisno o temperaturi, potrebno je osigurati i dovoljan SRT. Pri temperaturi od 20°C potrebno je osigurati minimalno 7,8 dana, pri 25°C minimalno 5,9 dana, a pri 35°C, 3,2 dana (Tchobanoglous i sur., 2003). Za odvijanje metanogeneze je potrebno održavati pH-vrijednost iznad 6,8. Blago lužnati pH pogoduje hidrolizi kompleksnih organskih spojeva, dok je za acidogenezu najpovoljnija neutralna pH-vrijednost (6-7) (Jankowska i sur., 2017). Kao inhibitor metanogeneze se spominje 2-bromo-etan sulfonate (BES) (Lukitawesa i sur., 2020).

U slučaju UPOV-a Koprivnica, poželjno je inhibirati proces metanogeneze, kako bi došlo do nakupljanja hlapivih masnih kiselina, prvenstveno acetata i propionata. Prosječna temperatura u zimskom periodu godine na UPOV-u Koprivnica iznosi 16°C, a pH otpadne vode iznosi 6,4. Uz navedene uvjete, provedene su simulacije s različitim starostima mulja uz praćenje koncentracija nastalog acetata, propionata i otopljenog metana, kao bi se dobio uvid u procese fermentacije koji se odvijaju (Tablica 25). Odabrana je starost mulja od 7 dana, jer je u odnosu na SRT 6 dana,

zabilježen najveći prirast u koncentraciji acetata u fermentiranom efluentu (s 33,4 na 82,66 mgKPK/L), te propionata (s 5,09 na 23,27 mgKPK/L). Koncentracija propionate se počinje smanjivati pri starosti mulja od 10 dana. Prilikom anaerobne obrade viška aktivnog mulja sa ciljem dobivanja hlapivih masnih kiselina, Chen i suradnici (2021) preporučuju da je SRT ispod 10 dana. Budući je sirova otpadna voda manje kompleksan supstrat za hirolizu od viška aktivnog mulja, u provedenoj simulaciji je bila dostatna starost mulja od 7 dana.

Fermentacijom otpadne vode se dobiva povoljan omjer acetata i propionata koji pogoduje PAO, te daje prednost PAO u kompeticiji s GAO (Randall i sur., 1997). Oehmen i suradnici (2006) su zaključili da propionat kao izvor ugljika daje prednost PAO nad GAO, te da u sustavima s propionatom kao jedinim izvorom ugljika dolazi do ispiranja *Competibacter* mikroorganizama (GAO).

Shema rada anaerobnog SBR-a u BioWin simulatoru je prikazana na slici 28. Radi u ciklusima od 4 sata pri čemu se puni sirovim influentom tijekom prva dva sata ciklusa (Tablice 26 i 27), zatim se miješa bez aeracije, izdvaja višak mulja, te taloži i odvaja fermentirani influent koji se transportira u jedan od preostala tri SBR-a koji tada započinje s ciklusom uz anaerobne uvjete.

Karakteristike fermentiranog influenta dobivene simulacijom rada anaerobnog SBR-a u BioWinu su prikazane u tablici 28, a karakteristike sirovog influenta u tablici 23. Uspoređujući vrijednosti sirovog i fermentiranog influenta može se zaključiti da je čestični dio ukupnog KPK smanjen iz sirovog influenta razgradnjom i/ili taloženjem. Ukupni Kjeldahlov dušik je smanjen s 55 na 43,1 mgN/L, dok je amonij povećan s 35 na 40,1 mgN/L. Ukupni fosfor je smanjen s 10 na 4,4 mgP/L, a ortofosfati s 4,5 na 4,2 mgP/L. Osim amonija, porasla je i koncentracija acetata, s 20 na 83 mgN/L, što je bio i cilj fermentacije. Nitrata i otopljenog kisika u fermentiranom influentu nema (Tablica 28).

Fermentacijom se povećao udio BPK₅ u KPK s 0,49 na 0,62, (Tablica 29) tj. fermentirani influent je lakše biorazgradljiv zbog dijelom provedene hidrolize, te zbog uklanjanja dijela teže razgradivog KPK taloženjem prije dekantiranja. Obradom u anaerobnom SBR-u je udio otopljenih tvari u influentu povećan što je vidljivo iz povećanja udjela BPK₅ u KPK sa 49% na 62% (Tablica 29). Određivanjem parametara u filtriranom uzorku, dobivamo vrijednosti parametara u otopljenom stanju. Hidroliza, te acidogeneza i acetogeneza doprinose razgradnji i boljoj topljivosti spojeva u otpadnoj vodi, te lakšoj biorazgradivosti (Tchobanoglous i sur., 2003; van Lier i sur., 2020).

Također, taloženjem prije dekantiranja u jedan od preostala tri SBR-a, uklanjanju se i taložive tvari s biomasom. Udio filtriranog KPK u ukupnom KPK porastao s 37% na 92%, a filtriranog BPK₅ u BPK₅ s 48% na 95% (Tablica 29). Razgradnjom u anaerobnim uvjetima se povećao udio amonija u TKN sa 64% na 93%, a ortofosfata u ukupnom fosforu sa 45% na 95%. Acetogenezom je dobiven acetat koji čini 47% u ukupnom KPK fermentiranog efluenta (Tablica 29).

BioWin simulacija predviđa da će MLSS u anaerobnom SBR-u uz SRT 7 dana iznositi 1.941 mg/L, te da će udio MLVSS/MLSS biti 83,2% (Tablica 30) što upućuje na biomasu aktivnog mulja s velikim udjelom živih stanica. U aktivnom mulju anaerobnog bioreaktora najveći udio otpada na obične heterotrofne organizme, 70% (Slika 29). Slijede hidrogenotrofni metanogeni organizmi sa udjelom od 18%. Ostali mikroorganizmi su zastupljeni u vrlo malim udjelima.

Shema rada preostala tri SBR-a u BioWin simulatoru je prikazana na slici 30. SRT je u svakom od preostala tri SBR-a iznosio 18 dana (Tablica 32) kako bi se osiguralo dovoljno vremena za provedbu nitrifikacije jer je vrijeme uz aeraciju u svakome ciklusu iznosilo samo 3h (Tablica 33). Vrijeme bez aeracije od 9 sati je potrebno za provedbu denitrifikacije i asimilacije hlapivih masnih kiselina u stanice PAO, te taloženje i dekantiranje.

Svaki od preostala tri SBR-a u modelu radi u ciklusima od 12 sati (Tablica 32). Svaki ciklus započinje s pola sata mirovanja uz miješanje, a zatim se odvija punjenje fermentiranim influentom iz anaerobnog SBR-a kako bi se osigurala dostatna količina acetata i propionata za anaerobno otpuštanje fosfata i akumulaciju polihidroksialkanoata u stanicama PAO (Tablica 33). Karakteristike fermentiranog influenta dobivene simulacijom rada anaerobnog SBR-a u BioWin simulatoru su prikazane u tablici 28. Računski dobivene frakcije fermentiranog influenta unesene u simulator BioWin su prikazane u tablici 34. Po završetku punjenja, bioreaktor idućih sat vremena radi u anaerobnim uvjetima nakon čega slijedi sat vremena uz aeraciju pri čemu se odvija nitrifikacija koju provode nitrifikanti i oksidacija organskih tvari koju provode OHO. Od trećeg do petog sata, kada su uspostavljeni anoksični uvjeti, vrši se prihranjivanje sirovim influentom kako bi se osigurao izvor ugljika potreban heterotrofima za provedbu procesa denitrifikacije (Tablice 22 i 33). Ukupan dotok sirovog i fermentiranog influenta u svaki od preostala tri SBR-a je prikazan u tablici 31.

UPOV-i SBR tipa poput UPOV-a Koprivnica imaju fleksibilne operativne uvjete. Naizmjenična aeracija ima brojne prednosti poput poboljšanog uklanjanja spojeva s dušikom (Pan i sur., 2013),

smanjene potrebe za aeracijom i izvorom ugljika, te smanjene produkcije aktivnog mulja što sve utječe na smanjenje operativnih troškova (Astariadis i sur., 2021; Miao i sur., 2022). Liu i suradnici (2021) su uočili da, uz veću učinkovitost uklanjanja spojeva s dušikom i fosforom, naizmjenična aeracija povoljno utječe na smanjenje emisije plina N_2O koji se smatra dominantnim u razgradnji ozonskog sloja.

Zbog navedenih prednosti naizmjenične aeracije tijekom faze obrade, te zbog pozitivnog iskustva operatera na UPOV-u Koprivnica s istom, osmišljena je simulacija rada SBR-a s naizmjeničnom aeracijom (Tablica 33). Nakon punjenja influentom iz anaerobnog SBR-a, biomasa aktivnog mulja je još jedan sat bila bez aeracije, samo uz miješanje, kako bi se omogućio unos acetata i propionata, te anaerobno otpuštanje fosfora (Tablica 33). Uslijedila su tri ciklusa: 1 sat uz aeraciju i 2 sata bez aeracije čime se omogućila naizmjenična nitrifikacija i denitrifikacija. Dodatkom sirovog influenta s izvorom ugljika u prvoj fazi bez aeracije (3-5h) omogućilo se učinkovito provođenje denitrifikacije, što potvrđuje niska koncentracija nitrata u efluentu (Tablica 36.).

U postavkama BioWin simulatora izmijenjena su dva stehiometrijska parametra: omjer čestičnog supstrata izraženog kao KPK i VSS, te omjer čestičnog inertnog KPK i VSS (Slika 31). Navedeni stehiometrijski parametri su izmjenjeni na temelju karakteristika sirovog i fermentiranog influenta. Za sirovi influent oba iznose 1,36, a za fermentirani 1,30. S obzirom da BioWin ne dozvoljava unos ovih parametara za svaki od influenta, uzeta je srednja vrijednost koja iznosi 1,33, budući je volumen sirovog influenta koji tijekom jednog ciklusa dolazi u jedan SBR 500 m^3 , a volumen fermentiranog influenta $400,06 \text{ m}^3$ (Tablica 31).

Budući je tijekom šaržnih testova, te u prva dva laboratorijska pokusa denitrifikacija bila sporija od očekivane, te nepotpuna, u postavkama BioWin simulatora su smanjena dva kinetička parametra obične heterotrofne biomase (Slika 32). Prvi parametar je faktor anoksičnog rasta (BioWin: Anoxic growth factor). On predstavlja udio mikroorganizama koji su sposobni rasti u anoksičnim uvjetima i/ili smanjenje u brzini rasta mikroorganizama u anoksičnim uvjetima u odnosu na aerobne. Na anoksični faktor rasta utječe i izvor supstrata (ugljika) i nutrijenata za rast mikroorganizama, te ukoliko je on ograničen, doći će do daljnjeg smanjenja brzine rasta. Drugi parametar, denitrificirajući mikroorganizmi (BioWin: Denite N_2 producers) predstavlja frakciju mikroorganizama koji imaju sposobnost reducirati nitrata i/ili nitrite do plinovitog dušika.

Smanjenja ovih kinetičkih parametara su imala za posljedicu smanjeni udio heterotrofnih mikroorganizama u biomasi aktivnog mulja.

Simulacija sa smanjenim kinetičkim parametarima je provedena kako bi se provjerilo da li se i uz smanjenu brzinu denitrifikacije (zbog smanjenog udjela heterotrofne biomase), kakva je zabilježena u prvom i drugom pokusu s aktivnim muljem, primjenom osmišljene strategije rada, može postići potpuna denitrifikacija koja je preduvjet uspostave poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora. Simulacija provedena uz zadane kinetičke parametre, pokazala je da se EBPR može uspješno implementirati na UPOV Koprivnica.

Na slici 33 je prikazano kretanje koncentracija KPK, amonija, te nitrata i nitrita u filtriranim uzorcima iz SBR-a tijekom jednog ciklusa nakon uspostave ustaljenog stanja. Tijekom druge polovice prvog sata ciklusa, odvija se punjenje fermentiranim efluentom iz anaerobnog SBR-a, te dolazi do povećanja KPK vrijednosti i amonija. Koncentracije nitrata i nitrita padaju tijekom prva dva sata kada nema aeracije, zbog dovoljne koncentracije lako-biorazgradivog izvora ugljika koji dolazi s fermentiranim efluentom. Nakon završenog punjenja slijedi jedan sat bez aeracije (1-2h) tijekom kojeg je vidljiv pad koncentracije KPK zbog denitrifikacije i anaerobne asimilacije acetata koju provode PAO. U trećem satu (2-3h) započinje aeracija koja omogućuje provedbu nitrifikacije što je vidljivo iz smanjenja koncentracije amonija i povećanja koncentracije nitrata i nitrita. Visoke koncentracije KPK na početku aerobne faze nepovoljno utječu na unos fosfata u stanice PAO (Zheng i sur., 2014). Obični heterotrofni mikroorganizmi i PAO u aerobnim uvjetima asimiliraju i oksidiraju izvore ugljika što se vidi iz smanjenja KPK vrijednosti. U četvrtom satu započinje punjenje sirovim influentom i traje dva sata (3-5h) tijekom kojeg ponovno dolazi do povećanja KPK vrijednosti i amonija koji dolaze s influentom. Budući se punjenje odvija bez aeracije, odvija se denitrifikacija što je vidljivo iz smanjenja koncentracije nitrata i nitrita. U petom satu započinje aeracija (5-6h), te se ponovno odvija nitrifikacija i oksidacija KPK. Od šestog do osmog sata nema aeracije, niti prihrane influentom. Odvija se denitrifikacija, no sporije i ne potpuno. Denitrifikacija je potpuna u anoksičnim fazama kada dolazi do punjenja bioreaktora bilo fermentiranim (0,5-1h) bilo sirovim influentom (3-5h). Blago povećanje KPK i amonija u anoksičnoj fazi je vjerojatno posljedica endogenog raspada biomase. U zadnjoj fazi uz aeraciju (8-9h) dolazi do potpune nitrifikacije. U idućoj fazi se uz miješanje izdvaja višak mulja, te se provodi denitrifikacija koja je sporija zbog ograničenog izvora ugljika. U jedanaestom satu se provodi taloženje nakon čega slijedi

dekantiranje. Koncentracije nitrata i nitrita u efluentu su vrlo niske, niže od 3 mgN/L i zato nisu prepreka uspostavi poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora.

Na slici 34 je prikazano kretanje koncentracija KPK, acetata i fosfata u otopljenom dijelu mulja iz SBR-a tijekom jednog ciklusa. U prvom satu dolazi do povećanja KPK i acetata zbog punjenja fermentiranim influentom što povoljno utječe na asimilaciju acetata i propionata uz otpuštanje fosfata iz PAO koje se odvija tijekom prva dva sata. Na početku prve aerobne faze, koncentracija filtriranog KPK je ispod 20 mgO₂/L, a acetat je skoro sav asimiliran, što povoljno utječe na nitrifikaciju zbog više koncentracije otopljenog kisika jer se kisik ne troši na oksidaciju organskih tvari. Tijekom prve aerobne faze dolazi do smanjenja fosfata zbog aerobnog unosa u stanice PAO. Tijekom punjenja sirovim influentom ponovno dolazi do otpuštanja fosfata, no značajno manje budući je u sirovom influentu puno manje acetata i drugih lako-biorazgradivih izvora ugljika nego u fermentiranom influentu. Tri aerobne faze po jedan sat su dovoljne za aerobni unos fosfata u stanice PAO, te se u efluentu predviđaju vrlo niske koncentracije fosfata, čak niže od 0,5 mgP/L.

Većinu biomase aktivnog mulja u preostala 3 SBR-a čine obični heterotrofni mikroorganizmi (49%) (Slika 35). Udio fosfor akumulirajućih organizama iznosi 22%, a amonij oksidirajućih 2%. Zbog starosti mulja od 18 dana 27% čine produkti endogenog raspada biomase aktivnog mulja. Razlika u udjelu produkata endogenog raspada biomase u anaerobnom (Slika 29) i preostala tri SBR-a (Slika 35) je posljedica razlike u starosti mulja. U anaerobnom bioreaktoru ona iznosi 7 dana, a u preostala tri 18 dana. Mulj iz anaerobnog SBR-a se tijekom procesa obrade otpadne vode ne miješa s muljevima iz preostala tri SBR-a.

U tablici 18 su prikazane karakteristike aktivnog mulja u preostala 3 SBR-a dobivene simulacijom u programu BioWin. Udio sagorivih (organskih) suspendiranih tvari (MLVSS) u ukupnoj suspendiranoj tvari mješavine biomase aktivnog mulja i vode (MLSS) iznosi 72,2%. Udio MLVSS/MLSS se direktno povezuje s količinom aktivnih mikroorganizama u biomasi aktivnog mulja i koristi se za procjenu aktivnosti mulja. Udio MLVSS u MLSS biomase aktivnog mulja na komunalnim UPOV-ima bez EBPR-a obično iznosi 75 do 85% (Lopez-Vazquez i sur., 2020; Tchobanoglous i sur., 2003). Zbog visokog udjela uskladištenih polifosfatnih lanaca i kationa potrebnih za njihovu stabilizaciju, unutar stanica, PAO imaju veći udio ISS u biomasi od udjela ISS kod OHO i nitrifikanata (0,15 mgISS/mgOHO-VSS). Obični heterotrofni mikroorganizmi (OHO) u svojim stanicama uobičajeno imaju 0,03 gP/gVSS OHO fosfora, dok PAO mogu u

stanicama nakupiti fosfora od 0,35 do 0,38 gP/gVSS PAO (Ekama i Wentzel, 2004; Lopez-Vazquez i sur., 2020). Udio ISS u biomasi PAO ovisi o količini fosfata uskladištenog u stanicama i maksimalno iznosi 1,30 mgISS/mgVSS (Ekama i Wentzel, 2004).

U mulju u preostala tri SBR-a je udio manji (72,2% - Tablica 18) od udjela ISS u aktivnom mulju UPOV-a bez EBPR-a zbog prisutnosti PAO (22%) u biomasi aktivnog mulja (Slika 35).

Provođenjem simulacije sukladno osmišljenoj strategiji (Tablica 22), dobivena kvaliteta efluenta nakon obrade u potpunosti zadovoljava maksimalno dopuštene vrijednosti po svim parametrima (Tablica 36). Vrijednosti ukupnog fosfora u efluentu su čak ispod 1 mgP/L. Nitrata je zanemarivo malo (0,01 mgN/l), dok je koncentracija nitrita 2,47 mgN/L. Cao i suradnici (2012) su izvjestili da do nakupljanja nitrita tijekom denitrifikacije dolazi zato što je brzina redukcije nitrata veća od brzine redukcije nitrita. Niže pH-vrijednosti uzrokuju veću razliku u tim brzinama što za posljedicu ima veće nakupljanje nitrita. Najveće koncentracije nitrita su izmjerili pri pH-vrijednosti 6,5. Budući je pH-vrijednost sirovog influenta na UPOV-u Koprivnica 6,4, blago povećana koncentracija nitrita u efluentu je najvjerojatnije posljedica niže pH-vrijednosti.

Zeng i suradnici (2011) su izvjestili da koncentracije nitrita ispod 10 mgN/L nemaju inhibitorni utjecaj na anaerobno ispuštanje niti aerobni unos fosfora. Ukoliko je u anaerobnim uvjetima prisutno dovoljno izvora ugljika, čak niti koncentracija od 30 mgN/L nema utjecaja na skladištenje PHA unutar stanica PAO u anaerobnim uvjetima. Saito i suradnici (2004) su ispitivali utjecaj nitrita na aktivni mulj obogaćen PAO i zaključili da nitriti inhibiraju aerobni unos fosfata pri specifičnoj koncentraciji od 0,4 gN/gVSS, a anoksični unos fosfata pri 2 mgN/gVSS. U odabranoj strategiji (Tablica 22) je nakon anaerobne faze prvo slijedi aerobna (2-3h), u kojoj se usporedno odvijaju procesi aerobnog unosa fosfata, nitrifikacija i oksidacija izvora ugljika koju provode OHO. Tada dolazi do porasta nitrita sa 0,02 na 2,35 mgN/L (Slika 33). Drugi porast nitrita se odvija u zadnjoj aerobnoj fazi (8-9h) kada se koncentracija poveća s 0,75 na 2,75 mgN/L. U oba slučaja predviđene koncentracije nitrita nisu inhibirajuće.

Prema rezultatima simulacije, osmišljena strategija modernizacije i optimalizacije rada UPOV-a Koprivnica uvođenjem fermentacije dijela influenta, naizmjeničnom aeracijom, te prihranjivanjem sirovim influentom tijekom prve anoksične faze dala bi željene rezultate, tj. pročišćavanje trećeg stupnja bez potrebe za kemijskim taloženjem fosfora.

Prijedlog optimizacije rada UPOV-a Koprivnice ne zahtjeva izgradnju novih objekata, već se koristi postojeći, četvrti SBR koji trenutno nije u funkciji. Potrebno bi bilo izvesti cjevovode od postojećeg dekantera u četvrtom SBR-u, koji bi se koristio kao fermentor, do preostala 3 bioreaktora koja bi prihranjivao tijekom anaerobne faze. S obzirom da tijekom fermentacije može doći do stvaranja plinova neugodnog mirisa, predlaže se natkrivanje četvrtog, anaerobnog SBR-a i obradu otpadnog zraka na biofilteru.

Treba uzeti u obzir da se radi o simulaciji gdje je uzet influent ujednačene kakvoće bez varijacija koje su nažalost prisutne na UPOV-u Koprivnica, stoga i dalje treba kontinuirano pratiti koncentracije fosfora u influentu. Povremene povećane vrijednosti u koncentraciji fosfora u influentu ($TP > 10 \text{ mgP/L}$) koje prelaze apsorpcijski kapacitet biomase PAO u SBR-u, trebalo bi smanjivati dodatkom PAC prije dolaska u SBR bioreaktore. Za to bi se mogao koristiti postojeći sustav doziranja PAC. Navedene intervencije nisu rizične jer ne zahtijevaju značajna ulaganja, stoga nije potrebno provoditi pilot istraživanje kako bi se potvrdili rezultati modela u stvarnim uvjetima.

Uvođenje EBPR-a je moguće i značajno bi smanjilo potrebu doziranja PAC u sustav, što bi rezultiralo smanjenim operativnih troškova UPOV-a.

Dodatna tehnološko-ekonomska analiza bi utvrdila stvarne troškove rada UPOV-a i koristi od primjene osmišljene strategije rada koja bi vjerojatno rezultirala uštedama u radu UPOV-a.

6. ZAKLJUČCI

- Gledajući prosječne vrijednosti parametara u influentu može se zaključiti da je otpadna voda grada Koprivnice prema prosječnim vrijednostima srednje onečišćena komunalna otpadna. Promatrajući prosječne godišnje vrijednosti omjera izvora ugljika iskazanih kao KPK i BPK₅ i ukupnog fosfora (TP) može se zaključiti da su dovoljni za provedbu EBPR-a. Nepovoljan je povremeno nizak i općenito neujednačen omjer lako-biorazgradivog izvora ugljika i ukupnog fosfora koji je bitan čimbenik za EBPR. Velike varijacije u vrijednostima mjerenih parametara su posljedica šaržnog ispuštanja industrijske otpadne vode u gradski sustav odvodnje koja doprinosi s oko 50% hidrauličkog opterećenja na UPOV Koprivnica. Većina sustava odvodnje je mješovitog tipa, stoga je osim utjecaja industrijskih otpadnih voda, izražen i utjecaj oborinske vode koja razrijeđuje influent tijekom kišnih razdoblja.
- Testovi karakterizacije biomase aktivnog mulja sa UPOV-a Koprivnica upućuju da se sastav biomase aktivnog mulja u SBRu često mijenja zbog promjena operativnih uvjeta i kakvoće influenta. Sudeći prema izmjerenim koncentracijama ortofosfata otpuštenog u anaerobnim uvjetima, acetata unesenog u anaerobnim uvjetima, te koncentracijama ortofosfata unesenog u aktivni mulj tijekom aerobne i anoksične faze, može se zaključiti da aktivni mulj sa UPOV-a Koprivnica sadrži PAO, no u niskim koncentracijama nedovoljnim za EBPR.
- U prvom laboratorijskom pokusu, koncentracije nitrata zaostale nakon dekantiranja u SBR-u su onemogućile brzu uspostavu anaerobnih uvjeta tijekom punjenja istog. U tim uvjetima su heterotrofni mikroorganizmi koji provode denitrifikaciju konkurirali fosforakumulirajućim organizmima za acetat (supstrat) prisutan u influentu. S obzirom da tijekom punjenja nisu bili osigurani anaerobni uvjeti u SBR-u uz prisustvo potrebne koncentracije acetata dovoljno dugo, nije bilo efekta poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora što je i vidljivo iz visokih koncentracija fosfora u efluentu. Nakon početne faze adaptacije nitrifikanata na laboratorijske uvjete rada, koncentracije amonija i nitrata u efluentu su bile uglavnom ispod 10 mgN/L, no to nije bilo dovoljno za osiguranje dovoljno duge anaerobne faze tijekom punjenja bitne za uspješan EBPR. Produljenje trajanja perioda bez aeracije (anoksični uvjeti) se pokazalo da povoljno utječe na denitrifikaciju.

- U drugom laboratorijskom pokusu, porast amonija u efluentu upućuje na nedovoljno dugo hidrauličko vrijeme zadržavanja uz aeraciju (ukupno 90 minuta) u SBR-u, što za posljedicu ima postepeno ispiranje nitrifikanata iz sustava i smanjenje učinkovitosti nitrifikacije. Promjena sastava sintetičkog influenta u korist lako-biorazgradivog izvora ugljika imala je povoljan učinak na brzinu denitrifikacije, no nije bila dovoljna za potpunu provedbu procesa denitrifikacije. Koncentracija nitrata u efluentu, a posljedično i u bioreaktoru tijekom punjenja (zbog samo djelomičnog pražnjenja SBR-a nakon taloženja) je bila opet previsoka i nisu uspostavljeni anaerobni uvjeti nužni za uspostavu poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora.
- U trećem laboratorijskom pokusu, odabirom strategije prihranjivanja u koracima, osiguran je dovoljan izvor ugljika za potpunu denitrifikaciju. To je bio preduvjet za uspostavu anaerobnih uvjeta tijekom punjenja bioreaktora. Nakon uspostave stabilnog EBPR procesa, uklonjeno je oko 8 mgP/L od 30 mgP/L prisutnih u influentu. Razlog nepotpunog poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora je u nedovoljnom omjeru lako-biorazgradivog izvora ugljika i ukupnog fosfora koji je iznosio 5,8 mg lbKPK/TP. Budući da su koncentracije fosfora u sirovom influentu na UPOV-u Koprivnica u 2011. godini prosječno 12,9 mgP/L, a u 2017. godini 6 mgP/L, može se zaključiti da bi većinu vremena UPOV postizao zahtjevanu koncentraciju ukupnog fosfora u efluentu (2 mgP/L) propisanu vodopravnom dozvolom.
- Simulacijom u programu BioWin potvrđena je mogućnost efikasnog uvođenja EBPR-a na UPOV Koprivnica. Treći laboratorijski pokus je ukazao da postojeći smanjeni omjer lako-biorazgradivih izvora ugljika i ukupnog fosfora limitira poboljšano biološko uklanjanje fosfora. Simulacijom fermentacije dijela sirovog influenta obogatila se otpadna voda hlapivim masnim kiselinama nužnim za EBPR. Punjenjem SBR-a sirovim influentom u anoksičnoj fazi povećao se omjer BPK₅/TN što pridonosi brzini odvijanja denitrifikacije. Čak i uz smanjene kinetičke parametre denitrifikanata, uklanjanje nitrata je potpuno, što omogućava uspostavu anaerobnih uvjeta tijekom punjenja fermentiranim influentom bogatim acetatom i propionatom. Simulacije predviđaju vrlo dobru kvalitetu efluenta koja bi po svim propisanim pokazateljima zadovoljavala zahtjeve iz vodopravne dozvole.
- U ovoj disertaciji su primjenjene znanstvene metode s ciljem procjene mogućnosti uvođenja poboljšanog biološkog uklanjanja fosfora na UPOV Koprivnica. Prilikom

uvođenja EBPR-a na UPOV-e s kemijskim uklanjanjem fosfora ili nadogradnjom UPOV-a na treći stupanj pročišćavanja, potrebno je voditi računa o nekoliko ključnih parametara. Potrebno je uskladiti potrebu za lako-biorazradivim izvorom ugljika u influentu koji je potreban za EBPR kao i za denitrifikaciju, zatim odrediti optimalnu starost mulja koja će osigurati učinkovitu nitrifikaciju, ali i EBPR, te obratiti pozornost na slijed i trajanje faza obrade. Da bi dobili odgovore na ova pitanja, potrebno je napraviti detaljnu karakterizaciju influenta, te provesti testove s biomasom aktivnog mulja koji će dati bolji uvid u procese koji se odvijaju na UPOV-u. Moćan alat za dobivanje odgovora na ova pitanja predstavljaju i simulacijski programi poput BioWin-a. Rezultati ove disertacije imaju i praktičnu primjenu. Budući je UPOV Koprivnica SBR tipa, promjene u trajanju faza i starosti mulja je jednostavno uvesti.

- EBPR ima brojne prednosti među kojima su najvažniji smanjenje operativnih troškova UPOV-a u odnosu na kemijsko taloženje, te mogućnost obnavljanja fosfora iz otpadne vode, što je u nekim zemljama EU već i zakonska obveza. Daljnja istraživanja bi trebala dati odgovore na koji način učinkovito i isplativo izdvojiti fosfor iz viška mulja obogaćenog fosforom.

7. LITERATURA

- A.P.H.A., AWWA, WEF (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22th ed. American Water Works Assn.
- Abu-Ghararah, Z., Randall, C. (1991) The effect of organic compounds on biological phosphorus removal. *Wat. Sci. Tech.* **23** (4-6), 585-594. <https://doi.org/10.2166/wst.1991.0508> Pristupljeno 18.4.2020.
- Acevedo, B., Oehmen, A., Carvalho, G., Seco, A., Borrás, L., Barat, R. (2012) Metabolic shift of polyphosphate-accumulating organisms with different levels of poly-phosphate storage. *Water Res.* **46**, 1889-1900. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.003> Pristupljeno 16.2.2020.
- Ahn, J. H., Kim, S., Park, H., Katehis, D., Pagilla, K., Chandran, K. (2009) Spatial and Temporal Variability in N₂O Generation and Emission from Wastewater Treatment Facilities. Prezentirano na Nutrient Removal Washington, DC. WEF.
- Akin, B. S., Ugurlu, A. (2004) The effect of an anoxic zone on biological phosphorus removal by a sequential batch reactor. *Bioresour. Technol.*, **94** (1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.11.022> Pristupljeno 12.9.2020.
- Amann, R. I., Binder, B. J., Olson, R. J., Chisholm, S. W., Devereux, R., and Stahl, D. A. (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl Environ Microbiol* **56**, 1919-1925., <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1919-1925.1990> Pristupljeno 18.6.2020.
- Antoniou, P., Hamilton, J., Koopman, B., Jain, R., Holloway, B., Lyberatos, G., Svoronos, S. A. (1990) Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Water Res.* **24** (1), 97-101. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90070-M](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90070-M) Pristupljeno 18.4.2020.
- Arun, V., Mino, T., Matsuo, T. (1987) Biological mechanisms of acetate uptake mediated by carbohydrate consumption in excess phosphate removal systems. *Water Res.* **22**, 565-570. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(88\)90056-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(88)90056-5) Pristupljeno 8.5.2020.

- Asteriadis, I., Azis, K., Ntougias, S., Melidis, P. (2021) A control strategy for an intermittently aerated and fed bioreactor to reduce aeration costs: A simulation study. *Biochem. Eng. J.* **173**, 108081. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108081> Pristupljeno 23.11.2021.
- Barajas, M. G., Escalas, A., Mujeriego, R. (2002) Fermentation of a low VFA wastewater in an activated primary tank. *Water S.A* **28** (1), 89-98. <http://dx.doi.org/10.4314/wsa.v28i1.4872> Pristupljeno 23.1.2021.
- Barat, R., Montoya, T., Seco, A., Ferrer, J. (2005). The Role of Potassium, Magnesium and Calcium in the Enhanced Biological Phosphorus Removal Treatment Plants. *Environmental technology* **26**, 983-992. <https://doi.org/10.1080/09593332608618485> Pristupljeno 3.2.2021.
- Barat, R., van Loosdrecht, M. C. M. (2006) Potential phosphorus recovery in a WWTP with the BCFS process: interactions with the biological process. *Water Res.* **40**, 3507–3516. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.006> Pristupljeno 2.1.2021.
- Barnard, J. L. (1976a) A review of biological phosphorus removal in the activated sludge process. *Water SA* **2**, 136-144.
- Barnard, J. L. (1976b) Nutrient removal in biological systems. *Water Pollution Control* **74**, 143-154.
- Barnard, J. L. (2006) Biological nutrient removal: Where we have been, where we are going? *Proc Water Environ Fed. WEFTEC*, 1–25. <https://doi.org/10.2175/193864706783710578> Pristupljeno 14.11.2021.
- Barnard, J. L., Dunlap, P., Steichen, M. (2017) Rethinking the mechanisms of biological phosphorus removal. *Water Environ. Res.* **89**, 2043–2054. <https://doi.org/10.2175/106143017X15051465919010> Pristupljeno 24.6.2021.
- Barnard, J. L., Fothergill, S. (1998) Secondary Phosphorus Release in Biological Phosphorus Removal Systems. *Proceedings of the 71st annual Water Environment Federation Technical Exposition and Conference*. Orlando, Florida.

- Barnard, J. L., Stevens, G. M., Leslie, P. J. (1985). Design strategies for nutrient removal plant. *Water Sci. Technol.* **17** (11–12), 233–242.
- BioWin Help Manual, <http://www.envirosim.com/downloads/BW5Manual.pdf> Pristupljeno 18.2.2020.
- Blackburne, R., Vadivelu, V. M., Yuan, Z., Keller, J. (2007) Kinetic characterisation of an enriched *Nitrospira* culture with comparison to *Nitrobacter*. *Water Res.* **41**, 3033–3042. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.043> Pristupljeno 2.9.2020.
- Bond, P. L., Erhart, R., Wagner, M., Keller, J., Blackall, L. L. (1999) Identification of some of the major groups of bacteria in efficient and nonefficient biological phosphorus removal activated sludge systems. *Appl. Environ. Microbiol.* **65** (9), 4077–4084. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.4077-4084.1999> Pristupljeno 14.9.2020.
- Bond, P., Hugenholtz, P., Keller, J., Blackall, L. L. (1995) Bacterial community structures of phosphate removing and non-phosphate removing activated sludge from sequencing batch reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 1910-1916. <https://doi.org/10.1128/aem.61.5.1910-1916.1995> Pristupljeno 12.11.2020.
- Bott, C. B., Murthy, S. N., Spano, T. T., Randall, C. W. (2007) WERF Workshop on Nutrient Removal: How Low Can We Go and What Is Stopping Us from Going Lower? Alexandria, VA: WERF.
- Brdjanovic, D., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht, M. C. M., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J. (1996) The dynamic effects of potassium limitation on biological phosphorus removal. *Water Res.* **30**, 2323-2328. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(96\)00121-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(96)00121-2) Pristupljeno 2.3.2021.
- Brdjanovic, D., Logemann, S., van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J. (1998c) Influence of temperature on biological phosphorus removal: process and ecological studies. *Water Res.* **32** (4), 1035-1048. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00322-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00322-9) Pristupljeno 24.6.2020.
- Brdjanovic, D., Slamet, A., van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J. (1998a) Impact of excessive aeration on biological phosphorus removal from

- wastewater. *Water res.* **32**, 200-208. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00183-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00183-8)
 Pristupljeno 24.6.2021.
- Brdjanovic, D., Van Loosdrecht M. C. M., Hooijmans C. M., Alaerts G. J., Heijnen J. J. (1998b) Minimal aerobic sludge retention time in biological phosphorus removal systems. *Biotech. Bioeng.* **60**, 326 - 332. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19981105\)60:3<326::AID-BIT8>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19981105)60:3<326::AID-BIT8>3.0.CO;2-J) Pristupljeno 21.6.2021.
 - Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J. (1997) Temperature Effects on Physiology of Biological Phosphorus Removal. *J. Environ. Eng.* **123** (2), 144–153. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1997\)123:2\(144\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1997)123:2(144))
 Pristupljeno 4.3.2020.
 - Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Mino, T., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J. (1998d) Effect of polyphosphate limitation on the anaerobic metabolism of phosphorus-accumulating microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **50** (2), 273–276. <https://doi.org/10.1007/s002530051289> Pristupljeno 18.6.2021.
 - Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M., Versteeg, P., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J. (2000) Modeling COD, N and P removal in a full-scale WWTP Haarlem Waarderpolder. *Water res.* **34**, 846-858. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00219-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00219-5)
 Pristupljeno 19.6.2021.
 - Brown, P., Kee, S., Lee, Y. (2011) Influence of anoxic and anaerobic hydraulic retention time on biological nitrogen and phosphorus removal in a membrane bioreactor. *Desalination* **270**, 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.12.001> Pristupljeno 17.5.2021.
 - Caniani, D., Esposito, G., Gori, R., Mannina, G. (2015) Towards A New Decision Support System for Design, Management and Operation of Wastewater Treatment Plants for the Reduction of Greenhouse Gases Emission. *Water* **7**, 5599–5616. <https://doi.org/10.3390/w7105599> Pristupljeno 18.5.2021.
 - Cao, G., Wang, S., Peng, Y., Miao, Z. (2013) Biological nutrient removal by applying modified four step-feed technology to treat weak wastewater. *Bioresour. Technol.* **128**, 604-611. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.078> Pristupljeno 21.1.2021.

- Cao, X. S., Dong, Q., Meng, X. (2012) Effects of pH on nitrite accumulation during wastewater denitrification. *Environmental technology*. **34**, 45-51. <https://doi.org/10.1080/09593330.2012.679700> Pristupljeno 28.6.2021.
- Carvalheira, M., Oehmen, A., Carvalho, G., Eusebio, M., Reis, M. A. M. (2014a) The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Res.* **66**, 296–307. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.033> Pristupljeno 4.5.2021.
- Carvalheira, M., Oehmen, A., Carvalho, G., Reis, M. A. M. (2014b) The effect of substrate competition on the metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Water Res.* **64**, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.004> Pristupljeno 28.8.2021.
- Carvalho, G., Lemos, P. C., Oehmen, A., Reis, M. A. M. (2007) Denitrifying phosphorus removal: linking the process performance with the microbial community structure. *Water Res.* **41** (19), 4383-4396. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.065> Pristupljeno 18.6.2021.
- CEU (1991) Council Directive 91/271/EEC of 21 May 1991 concerning urban waste-water treatment. OJ L 135. CEU - Council of the European Union, Bruxelles, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:31991L0271> Pristupljeno 10.9.2021.
- Chan, C., Guisasola A., Baeza, J. A. (2017) Enhanced Biological Phosphorus Removal at low Sludge Retention Time in view of its integration in A-stage systems. *Water Res.* **118**, 217-226. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.010> Pristupljeno 5.5.2020.
- Chen, S., Dai, X., Yang, D., Dong, B. (2021) Effects of sludge age on anaerobic acidification of waste activated sludge: Volatile fatty acids production and phosphorus release. *Journal of Environmental Sciences* **105**, 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.12.030> Pristupljeno 17.12.2021.
- Chen, Y., Randall, A. A., McCue, T. (2004) The Efficiency of Enhanced Biological Phosphorus Removal from Real Wastewater Affected by Different Ratios of Acetic to Propionic Acid. *Water Res.* **38** (1), 27-36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.08.025> Pristupljeno 18.4.2021.

- Chernicharo, C. A. L., van Lier, J. B., Noyola, A., Bressani Ribeiro, T. (2015) Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **14** (4), 649–679. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9377-3> Pristupljeno 2.9.2021.
- Chrispim, M. C., Scholz, M., Nolasco, M. A. (2019) Phosphorus recovery from municipal wastewater treatment: Critical review of challenges and opportunities for developing countries. *J. Environ. Manage.* **248**, 109268 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109268> Pristupljeno 2.9.2020.
- Coats, E. R., Watkins, D. L., Brinkman, C. K., Loge, F. J. (2011) Effect of anaerobic HRT on biological phosphorus removal and the enrichment of phosphorus accumulating organisms. *Water Environ. Res.* **83** (5), 461-469. <https://doi.org/10.2175/106143010X12851009156402> Pristupljeno 17.5.2021.
- Comeau, Y., Hall, K. J., Hancock R. E. W., Oldham, W. K. (1986) Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. *Water Res.* **20**, 1511-1521. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(86\)90115-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90115-6) Pristupljeno 19.5.2020.
- Conley, D. J., Paerl, H. W., Howarth, R. W., Boesch, D. F., Seitzinger, S. P., Havens, K. E., Lancelot, C., Likens, G. E. (2009) Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. *Source Sci. New. Ser.* **323**, 1014–1015. <https://doi.org/10.1126/science.1167755> Pristupljeno 14.2.2020.
- Correll, D. L. (1998) The Role of Phosphorus in the Eutrophication of Receiving Waters: A Review. *J. Environ. Qual.* **27**, 261-266. <https://doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700020004x> Pristupljeno 14.6.2020.
- Crocetti, G. R., Banfield, J. F., Keller, J., Bond, P. L., Blackall, L. L. (2002) Glycogen accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes. *Microbiol* **148**, 3353-3364. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-11-3353> Pristupljeno 18.6.2020.
- Crocetti, G. R., Hugenholtz, P., Bond, P. L., Schuler, A., Keller, J., Jenkins, D., Blackall, L. L. (2000) Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S

- rRNA-directed probes for their detection and quantitation. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 1175-1182. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.3.1175-1182.2000>. Pristupljeno 18.6.2020.
- Daims, H., Bruhl, A., Amann, R., Amann, R., Schleifer, K. H., Wagner, M. (1999) The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Syst Appl Microbiol* **22**, 345-352. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(99\)80053-8](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(99)80053-8) Pristupljeno 18.6.2020.
 - De Haas, D. W., Wentzel, M. C., Ekama, G. A. (2000a) The use of simultaneous chemical precipitation in modified activated sludge systems exhibiting biological enhanced phosphate removal. Part 1: Literature review. *Water SA* **26** (4), 439-452.
 - de Haas, D. W., Wentzel, M. C., Ekama, G. A. (2000b) The use of simultaneous chemical precipitation in modified activated sludge systems exhibiting biological enhanced phosphate removal. Part 3: experimental periods using alum. *Water SA* **26**, 467–484.
 - de Haas, D. W., Wentzel, M. C., Ekama, G. A. (2001) The use of simultaneous chemical precipitation in modified activated sludge systems exhibiting biological excess phosphate removal part 6: modeling of simultaneous chemical biological P removal-review of existing models. *Water SA* **27**, 135–150. <https://doi.org/10.4314/wsa.v27i2.4988> Pristupljeno 2.6.2020.
 - Di Capua, F., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., Esposito, G. (2019) Electron donors for autotrophic denitrification. *Chem. Eng. J.* **362**, 922–937. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.069> Pristupljeno 2.9.2020.
 - Dold, P., Conidi, D. (2019) Achieving Enhanced Biological P Removal: Have we forgotten how to design a bioP plant? *WEFTEC 2019 Proceedings*, ISBN: 978-1-5108-9524-9, str. 1444-1459. [https://envirosim.com/references/2019/Dold_Peter%20\(Achieving_Enhanced_Biological_P_Removal_Have_We_Forgotten_How_To_Design_a_BioP_Plant\).pdf](https://envirosim.com/references/2019/Dold_Peter%20(Achieving_Enhanced_Biological_P_Removal_Have_We_Forgotten_How_To_Design_a_BioP_Plant).pdf) Pristupljeno 12.3.2021.
 - Dorofeev, A. G., Nikolaev, Y. A., Mardanov, A. V., Pimenov, N. V. (2020) Role of phosphate-accumulating bacteria in biological phosphorus removal from wastewater. *Appl.*

Biochem. Microbiol. **56**, 1–14. <https://doi.org/10.1134/s0003683820010056> Pristupljeno 18.4.2021.

- Dubber, D., Gray, N. F. (2010) Replacement of chemical oxygen demand (COD) with total organic carbon (TOC) for monitoring wastewater treatment performance to minimize disposal of toxic analytical waste. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **45**:12, 1595-1600. <https://doi.org/10.1080/10934529.2010.506116> Pristupljeno 18.6.2020.
- DWA (2016) DWA-A 131. DWA Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V., Hennef, Njemačka
- Ekama, G. A. (2009) Using bio-process stoichiometry to build a steady state plant wide wastewater treatment plant model. *Water Res.* **43** (8), 2101-2120. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.036> Pristupljeno 24.6.2020.
- Ekama, G. A., Wentzel, M. C. (2004) A predictive model for the reactor inorganic suspended solids concentration in activated sludge systems. *Water Res.* **38** (19), 4093–4106. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.08.005> Pristupljeno 4.3.2020.
- Ekama, G. A., Wentzel, M. C. (2020) Organic matter removal. U: *Biological Wastewater Treatment*, 2. izd. (Chen, G., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G., Brdjanovic, D., ured.), IWA Publishing, London, str. 111-161.
- Ekama, G., Wentzel, M. C., van Loosdrecht, M. C. M. (2020) Nitrogen removal. U: *Biological Wastewater Treatment*, 2. izd. (Chen, G., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G., Brdjanovic, D., ured.), IWA Publishing, London, str. 161-239.
- EPA (2010) Nutrient Control Design Manual, EPA/600/R-10/100, The U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-02/documents/nutrient-control-design-manual.pdf> Pristupljeno 17.5.2021.
- Erdal, U. G., Erdal, Z. K., Daigger, G. T., Randall, C. W. (2008) Is it PAO–GAO competition or metabolic shift in EBPR system? Evidence from an experimental study. *Water Sci. Technol.* **58**, 1329–1334. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.734> Pristupljeno 4.5.2021.

- Erdal, U. G., Erdal, Z. K., Randall, C. W. (2003a) A thermal adaptation of bacteria to cold temperatures in enhanced biological phosphorus removal system. *Wat. Sci. Tech.* **47**(11), 131–136. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0595> Pristupljeno 4.5.2020.
- Erdal, U. G., Erdal, Z. K., Randall, C. W. (2003b) The competition between PAOs (phosphorus accumulating organisms) and GAOs (glycogen accumulating organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance. *Water Sci. Technol.* **47** (11), 1–8. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0579> Pristupljeno 2.9.2020.
- Ersu, C. B., Ong, S. K., Arslankaya, E., Lee, Y. (2010) Impact of solids residence time on biological nutrient removal performance of membrane bioreactor. *Water Res.* **44**, 3192-3202. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.02.036> Pristupljeno 2.3.2021.
- Fang, W., Zhang, X., Zhang, P., Wan, J., Guo, H., Ghasimi, D. S. M., Morera, X. C., Zhang, T. (2020) Overview of key operation factors and strategies for improving fermentative volatile fatty acid production and product regulation from sewage sludge. *J. Environ. Sci.* **87**, 94-110. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.05.027> Pristupljeno 26.5.2020.
- Fernando, E. Y., Mcilroy, S. J., Nierychlo, M., Herbst, F.-A., Petriglieri, F., Schmid, M. C., Wagner, M., Lund Nielsen, J., Nielsen, P. H. (2019) Resolving the individual contribution of key microbial populations to enhanced biological phosphorus removal with Raman-FISH. *ISME J* **13**, 1933-1946. <http://dx.doi.org/10.1038/s41396-019-0399-7> Pristupljeno 14.5.2020.
- Filipe, C. D .M., Daigger, G. T., Grady, C. P. L. (2001b) Stoichiometry and kinetics of acetate uptake under anaerobic conditions by an enriched culture of phosphorus accumulating organisms at different pHs. *Biotechnol. Bioeng.* **76**(1), 32-43. <https://doi.org/10.1002/bit.1023> Pristupljeno 4.11.2020.
- Filipe, C. D. M., Daigger G. T., Grady C. P. L. (2001d) Effects of pH on the aerobic metabolism of phosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Environ Res* **73**(2), 213-222. <https://doi.org/10.2175/106143001X139191> Pristupljeno 4.10.2020.

- Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., Grady, C. P. L. (2001a) pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms. *Water Environ. Res.* **73**, 223–232. <https://doi.org/10.2175/106143001X139209> Pristupljeno 17.10.2020.
- Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., Grady, Jr C. P. L. (2001c) A metabolic model for acetate uptake under anaerobic conditions by glycogen-accumulating organisms: Stoichiometry, kinetics and effect of pH. *Biotechnol. Bioeng.* **76** (1), 17-31. <https://doi.org/10.1002/bit.1022> Pristupljeno 6.11.2020.
- Flowers, J. J., He, S., Yilmaz, S., Noguera, D. R., McMahon, K. D. (2009) Denitrification capabilities of two biological phosphorus removal sludges dominated by different "*Candidatus Accumulibacter*" clades. *Environ Microbiol Rep.* **1**(6), 583-588. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00090.x> Pristupljeno 24.11.2020.
- Fuhs, G. W., Chen, M. (1975) Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. *Microbiol. Ecol.* **2**, 119-138. <https://doi.org/10.1007/BF02010434> Pristupljeno 18.5.2020.
- Gayle, B. P., Boardman, G. D., Sherrard, J. H., Benoit, R. E. (1989) Biological Denitrification of Water. *J. Environ. Eng.* **115**, 930-943. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1989\)115:5\(930\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1989)115:5(930)) Pristupljeno 4.5.2020.
- Ge, Y., Lan, J., Zhan, C., Zhou, Y., Ma, C., Zhao, L. (2019) Biological removal of phosphorus and diversity analysis of microbial community in the enhanced biological phosphorus removal (EBPR) system. *Water Environ J* **34** (1). <https://doi.org/10.1111/wej.12485> Pristupljeno 4.6.2020.
- Gentile, M. E., Jessup, C. M., Nyman, J. L., Criddle, C. S. (2007a) Correlation of functional instability and community dynamics in denitrifying dispersed-growth reactors. *Appl. Environ. Microbiol.* **73** (3), 680–690. <https://doi.org/10.1128/AEM.01519-06> Pristupljeno 4.6.2021.
- Gentile, M. E., Lynn Nyman, J., Criddle, C. S. (2007b) Correlation of patterns of denitrification instability in replicated bioreactor communities with shifts in the relative

abundance and the denitrification patterns of specific populations. *ISME J* **1** (8), 714–728. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.87> Pristupljeno 4.6.2021.

- Gerardi, M. H. (2002) *Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process*, 1. izd. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Gernaey, K. V., van Loosdrecht, M. C. M., Henze, M., Lind, M., Jorgensen, S. B. (2004) Activated sludge wastewater treatment plant modelling and simulation: state of the art, *Environ. Model. Softw.* **19**, 763-783. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2003.03.005> Pristupljeno 26.10.2020.
- Ginige, M. P., Kayaalp, A. S., Cheng, K. Y., Wylie, J., Kaksonen, A. H. (2013) Biological phosphorus and nitrogen removal in sequencing batch reactors: effects of cycle length, dissolved oxygen concentration and influent particulate matter. *Water Sci. Technol.* **68** (5), 982-990. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.324> Pristupljeno 4.9.2020.
- Goel, R., Motlagh, A. M. (2013) Biological Phosphorus Removal. U: *Comprehensive Water Quality and Purification* (Ahuja, S., ured.), Elsevier Inc., str. 150-162.
- Gu, A. Z., Saunders, A., Neethling J. B., Stensel, H. D., Blackall, L. L. (2008) Functionally relevant microorganisms to enhanced biological phosphorus removal performance at full-scale wastewater treatment plants in the United States. *Water Environ. Res.* **80**, 688–698. <https://doi.org/10.2175/106143008X276741> Pristupljeno 21.1.2020.
- Gujer, W., Henze, M., Mino, T., van Loosdrecht, M. C. M. (1999) Activated Sludge Model No. 3. *Water Sci. Tech.* **3**, 183–193.
- Gujer, W., Zehnder, A. J. B. (1983) Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* **15** (8/9), 127-167.
- Guo, J., Peng, Y., Yang, Q., Wang, S., Chen, Y., Zhao, C. (2008) Theoretical analysis and enhanced nitrogen removal performance of step-feed SBR. *Water Sci Technol.* **58** (4), 795-802. doi: 10.2166/wst.2008.409. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.409> Pristupljeno 21.2.2021.
- Guo, J., Zhang, L., Chen, W., Ma, F., Liu, H., Tian, Y. (2013) The regulation and control strategies of a sequencing batch reactor for simultaneous nitrification and denitrification at

different temperatures. *Bioresour. Technol.* **133**, 59-67.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.026> Pristupljeno 21.1.2020.

- Hascoet, M. C., Florentz, M. (1985) Influence of nitrates on biological phosphorus removal from wastewater. *Water SA* **11**, 1-8.
- He, L., Tan, T., Gao, Z., Fan, L. (2019) The Shock Effect of Inorganic Suspended Solids in Surface Runoff on Wastewater Treatment Plant Performance. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **16**, 453. <https://doi.org/10.3390/ijerph16030453> Pristupljeno 1.9.2020.
- He, S., Gall, D. L, McMahon, K. D. (2007) "*Candidatus Accumulibacter*" population structure in enhanced biological phosphorus removal sludges as revealed by polyphosphate kinase genes. *Appl Environ Microbiol.* **73** (18), 5865-74. <https://doi.org/10.1128/AEM.01207-07> Pristupljeno 22.3.2020.
- He, S., Gu, A. Z., McMahon, K. D. (2008) Progress toward understanding the distribution of *Accumulibacter* among full-scale enhanced biological phosphorus removal systems. *Microb. Ecol.* **55**, 229-236. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9270-x> Pristupljeno 14.6.2020.
- He, S., McMahon K. D. (2011) Microbiology of *Candidatus Accumulibacter* in activated sludge. *Microb. Biotechnol.* **4** (5), 603-619. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00248.x> Pristupljeno 2.3.2021.
- Henze, M. Grady, C. P. L. Jr, Gujer, W., Marais, G. v. R., Matsuo, T. (1987) Activated Sludge Model No 1. (IAWPRC Scientific and Technical Report No. 1). London: IAWPRC
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Matsuo, L. T., Wentzel, M. C., Marais, G. R., van Loosdrecht, M. C. M. (1999) Activated sludge model No.2D, ASM2D. *Water Sci. Technol.* **39**, 165–182. <https://doi.org/10.2166/wst.1999.0036> Pristupljeno 2.9.2020.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., van Loosdrecht, M. C. M. (2000) Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. IWA Scientific and Technical Report No. 9, London, Ujedinjena Kraljevina. <https://doi.org/10.2166/9781780402369> Pristupljeno 2.9.2020.

- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Wentzel, M. C., Marais, G. v. R. (1995) Activated Sludge Model No 2. IAWQ Scientific and Technical Report No. 3, London: IAWQ
- Henze, M., Harremoës, P., la Cour Jansen, J., Arvin, E. (2002) *Wastewater treatment: Biological and Chemical Processes*, 3. izd., Springer, Berlin. https://www.researchgate.net/publication/48447747_Wastewater_Treatment_Biological_and_Chemical_Processes Pristupljeno 14.10.2020.
- Henze, M., Kristensen, G. H., Strube, R. (1994) Rate-capacity characterization of wastewater for nutrient removal processes. *Water Sci. Technol.* **29**, 101-102. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0318> Pristupljeno 21.5.2020.
- Hesselmann, R. P. X., Werlen, C., Hahn, D., van der Meer, J. R., Zehnder, A. J. B. (1999) Enrichment, phylogenetic analysis and detection of a bacterium that performs enhanced biological phosphate removal in activated sludge. *Syst. Appl. Microbiol.* **22**(3), 454–465. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(99\)80055-1](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(99)80055-1) Pristupljeno 24.6.2021.
- Holman, J. B., Wareham, D. G. (2005) COD, ammonia and dissolved oxygen time profiles in the simultaneous nitrification/denitrification process. *Biochem. Eng. J.* **22**, 125-133. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2004.09.001> Pristupljeno 4.3.2021.
- Hood, C. R., Randall, A. A.(2001). A biochemical hypothesis explaining the response of enhanced biological phosphorus removal biomass to organic substrates. *Water Res.* **35** (11), 2758–2766. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00573-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00573-X) Pristupljeno 24.6.2021.
- Houweling, D., Dold, P., Barnard, J. (2010) Theoretical Limits to Biological Phosphorus Removal: Rethinking the Influent COD:N:P Ratio. *Proceedings of the 83rd Annual Water Environment Federation Technical Exhibition and Conference*. New Orleans, Louisiana, str. 7044–7059. DOI:10.2175/193864710798207107
- Hu, Z., Houweling, D., Dold, P. (2012) Biological Nutrient Removal in Municipal Wastewater Treatment: New Directions in Sustainability. *J Environ Eng* **138** (3). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000462](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000462) Pristupljeno 12.6.2021.

- Hulsbeek, J. J. W., Kruit, J., Roeleveld, P. J., van Loosdrecht M. C. M. (2002) A practical protocol for dynamic modelling of activated sludge systems. *Wat.Sci.Tech.* **45**(6), 127-136. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0100> Pristupljeno 2.9.2020.
- Ilies, P., Mavinic, D. S. (2001) The effect of decreased ambient temperature on the biological nitrification and denitrification of a high ammonia landfill leachate. *Water Res.* **35**, 2065-2072. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00477-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00477-2)
- Izadi, P., Izadi, P., Eldyasti, A. (2021). Enhancement of simultaneous nitrogen and phosphorus removal using intermittent aeration mechanism. *J. Environ. Sci.* **109**, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.02.026> Pristupljeno 21.10.2021.
- Jabari, P., Yuan, Q., Oleszkiewicz, J. A. (2016) Potential of hydrolysis of particulate COD in extended anaerobic conditions to enhance biological phosphorous removal. *Biotechnol. Bioeng.* **113** (11), 2377–2385. <https://doi.org/10.1002/bit.25999> Pristupljeno 14.4.2021.
- Jankowska, E., Chwialkowska, J., Stodolny, M., Oleskiewicz-Popiel, P. (2017) Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation – the impact of substrate complexity and pH. *Chem Eng J.* **326**, 901–910. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.06.021> Pristupljeno 4.3.2021.
- Janssen, P. M. J., Meinema, K., v. d. Roest, H. F. (2002) Biological phosphorus removal: Manual for design and operation. IWA, str. 26-27.
- Jonsson, K., Johansson, P., Christensson, M., Lee, N., Lie, E., Welander T. (1996) Operational factors affecting enhanced biological phosphorus removal at the wastewater treatment plant in Helsingborg, Sweden. *Water Sci Technol.* **34** (1-2), 67-74. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00496-9](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00496-9) Pristupljeno 4.3.2020.
- Juliastuti, S. R., Baeyens, J., Creemers, C. (2003) Inhibition of Nitrification by Heavy Metals and Organic Compounds: The ISO 9509 Test. *Environ. Eng. Sci.* **20**:2, 79-90. <https://doi.org/10.1089/109287503763336511> Pristupljeno 17.4.2020.
- Kampschreur, M. J., Temmink, H., Kleerebezem, R., Jetten, M. S. M., van Loosdrecht, M. C. M. (2009) Nitrous oxide emission during wastewater treatment. *Water Res.* **43**, 4093-4103. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.001> Pristupljeno 12.4.2020.

- Kapagiannidis, A. G., Zafiriadis, I., Aivasidis, A. (2012) Effect of basic operating parameters on biological phosphorus removal in a continuous-flow anaerobic-anoxic activated sludge system. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **35** (3), 371-382. <https://doi.org/10.1007/s00449-011-0575-2> Pristupljeno 4.6.2020.
- Kawakoshi, A., Nakazawa, H., Fukada, J., Sasagawa, M., Katano, Y., Nakamura, S., Hosoyama, A., Sasaki, H., Ichikawa, N., Hanada, S. (2012) Deciphering the genome of polyphosphate accumulating actinobacterium *Microlunatus phosphovorus*. *DNA Res*, **19**, 383-394. <https://doi.org/10.1093/dnares/dss020> Pristupljeno 14.12.2021.
- Keene, N. A., Reusser, S. R., Scarborough, M. J., Grooms, A. L., Seib, M., Domingo, J. S., Noguera, D. R. (2017) Pilot plant demonstration of stable and efficient high rate biological nutrient removal with low dissolved oxygen conditions. *Water Res.* **121**, 72–85. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.05.029> Pristupljeno 18.5.2020.
- Kernn-Jespersen, J. P., Henze, M. (1993) Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions. *Water Res.* **27**(4), 617–624. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90171-D](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90171-D) Pristupljeno 2.9.2020.
- Kong, Y., Xia, Y., Nielsen, J. L., Nielsen, P. H. (2007) Structure and function of the microbial community in a full-scale enhanced biological phosphorus removal plant. *Microbiology* **153**, 4061–4073. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/007245-0> Pristupljeno 22.9.2020.
- Kornaros, M., Dokianakis, S. N., Lyberatos, G. (2010) Partial Nitrification/denitrification can be attributed to the slow response of nitrite oxidizing bacteria to periodic anoxic disturbances. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 7245-7253. <https://doi.org/10.1021/es100564j> Pristupljeno 2.2.2021.
- Kortstee, G. J. J., Appeldorn, K. J., Bonting, C. F. C., van Niel, E. W. J., van Veen, H. W. (1994) Biology of phosphate-accumulating bacteria involved in enhanced biological phosphorus removal. *FEMS Microbiol. Rev.* **15**, 137–153. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00131.x> Pristupljeno 17.9.2020.

- Kristiansen, R., Nguyen, H. T. T., Saunders, A. M., Nielsen, J. L., Wimmer, R., Le V. Q., McIlroy, S. J., Petrovski, S., Seviour, R. J., Calteau, A., Nielsen, K. L., Nielsen, P. H. (2013) A metabolic model for members of the genus *Tetrasphaera* involved in enhanced biological phosphorus removal. *ISME J* **7** (3), 543–554. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.136> Pristupljeno 2.9.2020.
- Kuba T., Murnleitner E., van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J. J. (2000) A metabolic model for biological phosphorus removal by denitrifying organisms. *Biotechnol Bioeng* **52**, 685–695. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19961220\)52:6%3c685:AID-BIT6%3e3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19961220)52:6%3c685:AID-BIT6%3e3.0.CO;2-K) Pristupljeno 12.9.2020.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1996) Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system. *Water Res.* **30** (7), 1702-1710. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(96\)00050-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(96)00050-4) Pristupljeno 2.11.2020.
- Kuba, T., Wachtmeister, A., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J., (1994.) Effect of nitrate on phosphorus release in biological phosphorus removal systems. *Water Sci. Technol.* **30** (6), 263–269. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0277> Pristupljeno 22.9.2020.
- Kujawa, K., Klapwijk, B. (1999) A method to estimate denitrification potential for predenitrification systems using NUR batch test. *Water Res.* **33**, 2291-2300. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00459-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00459-X) Pristupljeno 4.5.2020.
- Langergraber G., Rieger L., Winkler S., Alex J., Wiese J., Owerdieck C., Ahnert M., Simon J., Maurer M. (2003) A guideline for simulation studies of wastewater treatment plants. *Wat. Sci. Tech.* **50** (7), 131-138. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0436> Pristupljeno 2.9.2020.
- Lanham, A. B., Oehmen, A., Saunders, A. M., Carvalho, G., Nielsen, P. H., Reis, M. A. M. (2013) Metabolic versatility in full-scale wastewater treatment plants performing enhanced biological phosphorus removal. *Water Res.* **47**, 7032-7041. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.08.042> Pristupljeno 4.5.2021.

- Lee, D. S., Jeon, C. O., Park, J. M. (2001) Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Res* **35**, 3968–3976. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00132-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00132-4) Pristupljeno 4.5.2020.
- Lee, H., Han, J., Yun, Z. (2009) Biological nitrogen and phosphorus removal in UCT-type MBR process. *Water Sci. Technol.* **59**(11), 2093-2099. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.242> Pristupljeno 4.5.2020.
- Lee, H., Yun Z. (2014) Comparison of biochemical characteristics between PAO and DPAO sludges. *Journal of environ sci* **26**, 1340-1347. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60609-9](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60609-9) Pristupljeno 4.5.2020.
- Lee, Y. W., Kim, Y. J., Chang, N. I., Lee, J. G., Lee, B. H. (2007) Development of sequencing batch reactor with step feed and recycle. *Water Sci. Technol.* **55**, 477-484. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.059> Pristupljeno 4.2.2021.
- Levin, G. V., Shapiro, J. (1965) Metabolic uptake of phosphorus by wastewater organisms. *J Water Pollut Control Fed* **37**, 800-821.
- Levin, G.V. (1966) Sewage treatment process US patent 3236766
- Li, H., Chen, Y. (2011) Research on polyhydroxyalkanoates and glycogen transformations: Key aspects to biologic nitrogen and phosphorus removal in low dissolved oxygen systems. *Front. Environ. Sci. Eng. China* **5**, 283–290. <https://doi.org/10.1007/s11783-010-0243-9> Pristupljeno 2.9.2020.
- Li, H., Zhong, Y., Huang, H., Tan, Z., Sun, Y., Liu, H. (2020) Simultaneous nitrogen and phosphorus removal by interactions between phosphate accumulating organisms (PAOs) and denitrifying phosphate accumulating organisms (DPAOs) in a sequencing batch reactor. *Sci. Total Environ.* **744**, 140852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140852> Pristupljeno 4.9.2020.
- Li, N., Wang, X., Ren, N., Zhang, K., Kang, H., You, S. (2008) Effects of solid retention time (SRT) on sludge characteristics in enhanced biological phosphorus removal (EBPR) reactor. *Chem. Biochem. Eng. Q* **22**, 453–458.

- Liu, F., Tian, Y., Ding, Y., Li, Z. (2016) The use of fermentation liquid of wastewater primary sedimentation sludge as supplemental carbon source for denitrification based on enhanced anaerobic fermentation. *Bioresour. Technol.* **219**, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.030> Pristupljeno 14.11.2020.
- Liu, T., Liu, S., He, S., Tian, Z., Zheng, M. (2021) Minimization of N₂O Emission through Intermittent Aeration in a Sequencing Batch Reactor (SBR): Main Behavior and Mechanism. *Water* **13**, 210. <https://doi.org/10.3390/w13020210> Pristupljeno 14.10.2021.
- Liu, W. T., Mino, T., Matsuo, T., Nakamura, K. (1996) Biological phosphorus removal processes - effect of pH on anaerobic substrate metabolism. *Wat. Sci. Technol.* **4** (1-2), 25-32. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00491-X](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00491-X) Pristupljeno 4.5.2020.
- Liu, W. T., Mino, T., Nakamura, K., Matsuo, T. (1994) Role of glycogen in acetate uptake and polyhydroxyalkanoate synthesis in anaerobic-aerobic activated sludge with a minimized polyphosphate content. *J Ferment Bioeng* **77** (5), 535-540. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(94\)90124-4](https://doi.org/10.1016/0922-338X(94)90124-4) Pristupljeno 2.9.2020.
- Liu, Y., Chen, Y., Zhou, Q. (2007) Effect of initial pH control on enhanced biological phosphorus removal from wastewater containing acetic and propionic acids. *Chemosphere* **66**, 123-129. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.05.004> Pristupljeno 4.5.2020.
- Liu, Y., Shi, H., Li, W., Hou, Y., He, M. (2011) Inhibition of chemical dose in biological phosphorus and nitrogen removal in simultaneous chemical precipitation for phosphorus removal. *Bioresour. Technol.* **102**, 4008–4012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.107> Pristupljeno 4.11.2020.
- Liu, Z., Pruden, A., Ogejo, J. A., Knowlton, K. F. (2014) Polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in one EBPR system for liquid dairy manure. *Water Environ Res* **86**, 663–671. <https://doi.org/10.2175/106143014x13975035525302> Pristupljeno 7.2.2020.
- Lopez, C., Pons M. N., Morgenroth, E. (2006) Endogenous Processes during Long-Term Starvation in Activated Sludge Performing Enhanced Biological Phosphorus Removal. *Water Res.* **40** (6-7), 1519-1530. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.01.040> Pristupljeno 25.4.2021.

- Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. I., van Loosdrecht, M. C. M. (2007a) Occurrence of glycogen accumulating organisms (GAO) at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants. *Proc Water Environ Fed* **2**, 968–989. <https://doi.org/10.2175/193864707787977424> Pristupljeno 18.6.2021.
- Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., van Loosdrecht, M. C. M. (2009b) Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *Water Res.* **43**, 2852-2864. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.038> Pristupljeno 4.9.2020.
- Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J. van Loosdrecht, M. C. M. (2008a) Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants in The Netherlands. *Water Res.* **42**, 2349-2360. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.001> Pristupljeno 18.6.2021.
- Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, T., Brdjanovic, D., Gijzen, H., van Loosdrecht, M. C. M. (2008b) Factors affecting the occurrence of Phosphorous Accumulating Organisms (PAO) and Glycogen Accumulating Organisms (GAO) at full-scale Enhanced Biological Phosphorus Removal (EBPR) wastewater treatment plants. *Water Res.* **42**, 2349-2360. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.001> Pristupljeno 12.3.2020.
- Lopez-Vazquez, C. M., Oehmen, A., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., Yuan, Z., van Loosdrecht, M. C. M. (2009a) Modeling the PAO-GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature. *Wat. Res.* **43** (2), 450-462. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.032> Pristupljeno 4.9.2020.
- Lopez-Vazquez, C. M., Song, Y.-I., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Moussa, M. S., Gijzen, H. J., i van Loosdrecht, M. C. M. (2007b) Short-term temperature effects on the anaerobic metabolism of glycogen accumulating organisms. *Biotechnol. Bioeng.* **97** (3), 483–495. <https://doi.org/10.1002/bit.21302> Pristupljeno 18.4.2020.
- Lopez-Vazquez, C. M., Song, Y.-I., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Moussa, M. S., Gijzen, H. J., van Loosdrecht, M. C. M. (2008c). Temperature effects on the aerobic

metabolism of glycogen-accumulating organisms. *Biotechnol. Bioeng.* **101** (2), 295–306. <https://doi.org/10.1002/bit.21892> Pristupljeno 18.6.2021.

- Lopez-Vazquez, C. M., Wentzel, M. C., Comeau, Y., Ekama, G. A., van Loosdrecht, M. C. M., Brdjanovic, D., Oehmen, A. (2020) Enhanced biological phosphorus removal. U: *Biological Wastewater Treatment*, 2. izd., (Chen, G., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G., Brdjanovic, D., ured.), IWA Publishing, London, str. 239-327.
- Lu, H., Chandran, K., Stensel, D. (2014) Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. *Water Res.* **64**, 237-254. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.042> Pristupljeno 4.10.2021.
- Lu, H., Keller, J., Yuan, Z. (2007) Endogenous metabolism of *Candidatus Accumulibacter phosphatis* under various starvation conditions. *Water Res.* **41**, 4646-4656. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.046> Pristupljeno 21.6.2021.
- Lukitawesa, Patinvoh, R. J., Millati, R., Sárvári-Horváth, I., Taherzadeh M. J. (2020) Factors influencing volatile fatty acids production from food wastes via anaerobic digestion. *Bioengineered* **11**:1, 39-52. <https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1703544> Pristupljeno 2.9.2021.
- Ma, H., Chen, X., Liu, H., Liu, H., Fu, B. (2016) Improved volatile fatty acids anaerobic production from waste activated sludge by pH regulation: alkaline or neutral pH? *Waste Manag.* **48**, 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.11.029> Pristupljeno 17.9.2020.
- Marais G. v. R., Loewenthal R. E., Siebritz I. P. (1983) A review: Observations supporting phosphate removal by biological excess uptake. *Wat. Sci. Technol.* **15**, 15-41.
- Martín, H. G., Ivanova, N., Kunin, V., Warnecke, F., Barry, K. W., McHardy, A. C., Yeates, C., He, S., Salamov, A. A., Szeto, E., Dalin, E., Putnam, N. H., Shapiro, H. J., Pangilinan, J. L., Rigoutsos, I., Kyrpides, N. C., Blackall, L. L., McMahon, K. D., Hugenholtz, P. (2006) Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. *Nat. Biotechnol.* **24**, 1263–1269. <https://doi.org/10.1038/nbt1247> Pristupljeno 12.3.2021.

- Martins, A. M. P., Heijnen, J. J., van Loosdrecht, M. C. M. (2003) Effect of dissolved oxygen concentration on sludge settleability. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **62**, 586-593. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1384-6> Pristupljeno 4.6.2020.
- Meijer, S. C. F., Brdjanovic, D. (2012) *A practical guide to activated sludge modelling. Lecture Notes*. UNESCO-IHE Institute of Water Education, Delft, The Netherlands.
- Melcer H., Dold P. L., Jones R. M., Bye C. M., Takacs I., Stensel H. D., Wilson A. W., Sun, P., Bury, S. (2003) *Methods for wastewater characterisation in activated sludge modelling*. Water Environment Research Foundation (WERF), Alexandria, VA
- Melia P. M., Cundy A. B., Sohi S. P., Hooda P. S., Busquet R. (2017). Trends in the recovery of phosphorus in bioavailable forms from wastewater. *Chemosphere* **186**, 381-395. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.089> Pristupljeno 2.9.2020.
- Miao, Y., Zhang, L., Yu, D., Zhang, J., Zhang, W., Ma, G., Zhao, X., Peng, Y. (2022) Application of intermittent aeration in nitrogen removal process: development, advantages and mechanisms. *Chem. Eng. J.* **430**, 133184. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.133184> Pristupljeno 12.1.2022.
- Milbury, W. F, McCauley, D., Hawthorne, C. H. (1971) Operation of conventional activated sludge for maximum phosphorus removal. *J Water Pollut Control Fed* **43**, 1890-1901.
- Mino, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1998) Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Res* **32**, 3193–3207. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00129-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00129-8) Pristupljeno 2.9.2020.
- Miron, Y., Zeeman, G., van Lier, J. B., Lettinga, G. (2000) The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems. *Wat. Res.* **34** (5), 1705-1713. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00280-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00280-8) Pristupljeno 4.5.2020.
- Mokhayeri, Y., Nichols, A., Murthy, S., Riffat, R., Dold, P., Takacs, I. (2006) Examining the influence of substrates and temperature on maximum specific growth rate of denitrifiers.

- Wat. Sci. Technol* **54** (8), 155-162. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.854> Pristupljeno 6.10.2021.
- Mokhayeri, Y., Riffat, R., Takacs, I., Dold, P., Bott, C., Hinojosa, Bailey W., Murthy, S. (2008) Characterizing denitrification kinetics at cold temperature using various carbon sources in lab-scale sequencing batch reactors. *Wat. Sci. Technol* **58** (1), 233-238. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.670> Pristupljeno 6.10.2021.
 - Monclus, H., Sipma, J., Ferrero, G., Rodriguez- Roda, I., Comas, J. (2010) Biological nutrient removal in an MBR treating municipal wastewater with special focus on biological phosphorus removal. *Bioresour. Technol* **101** (11), 3984-3991. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.038> Pristupljeno 4.3.2020.
 - Monti, A., Hall, E., and van Loosdrecht, M. C. M. (2007) Kinetics of Phosphorus Release and Uptake in a Membrane-Assisted Biological Nutrient Removal Process. *J. Environ. Eng.* **133** (9), 899-908. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2007\)133:9\(899\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2007)133:9(899)) Pristupljeno 1.10.2020.
 - Morse, G. K., Brett, S. W., Guy, J. A., Lester, J. N. (1998) Review: phosphorus removal and recovery technologies. *Sci Total Environ* **212**, 69-81. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)00332-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(97)00332-X) Pristupljeno 14.4.2020.
 - Nguyen, H. T. T. Le, V. Q., Hansen, A. A., Nielsen, J. L., Nielsen, P. H. (2011) High Diversity and Abundance of Putative Polyphosphate-Accumulating Tetrasphaera-Related Bacteria in Activated Sludge Systems. *FEMS Microbiol.Ecol.* **76** (2), 256–267. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01049.x> Pristupljeno 14.6.2020.
 - Nicholls, H. A, Osborn, D. W. (1979) Bacterial stress: prerequisite for biological removal of phosphorus. *J Water Pollut Control Fed* **51**, 557-570.
 - Nielsen, J. L. (2009) Protocol for Fluorescence in situ Hybridisation (FISH) with rRNA-targeted oligonucleotides. U: *FISH Handbook for biological wastewater treatment, Identification and quantification of microorganisms in activated sludge and biofilms by FISH* (Nielsen, P. H., Daims, H., Lemmer, H., Arslan-Alaton I., Olmez-Hanci, T., ured.) IWA Publishing, London, ISBN13: 9781843392316.

- Nielsen, P. H., McIlroy, S., Albertsen, M., Nierychlo, M. (2019) Re-evaluating the microbiology of the enhanced biological phosphorus removal process. *Curr. Opin. Biotechnol.* **57**, 111-118. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.03.008> Pristupljeno 17.3.2021.
- Odluka o izmjenama i dopunama odluke o određivanju osjetljivih područja (2015) *Narodne novine* **141**, Zagreb https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_12_141_2636.html Pristupljeno 2.9.2020.
- Odluka o određivanju osjetljivih područja (2010) *Narodne novine* **81**, Zagreb https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_06_81_2310.html Pristupljeno 2.9.2020.
- Oehmen, A., Zeng, R. J., Yuan, Z., Keller, J. (2005c) Anaerobic metabolism of propionate by polyphosphate-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems. *Biotechnol Bioeng* **91** (1), 43-53. <https://doi.org/10.1002/bit.20480> Pristupljeno 12.4.2020.
- Oehmen, A., Lemos, P. C., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Blackall, L. L., Reis, M. A. M. (2007) Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Res* **41**, 2271-2300. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.030> Pristupljeno 4.4.2020.
- Oehmen, A., Saunders, A. M., Vives, M. T., Yuan, Z., Keller, J. (2006) Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. *J Biotechnol* **123**, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.10.009> Pristupljeno 14.5.2020.
- Oehmen, A., Vives, M. T., Lu, H., Yuan, Z., Keller, J. (2005b) The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Res* **39**, 3727–3737. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.06.031> Pristupljeno 4.5.2020.
- Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L. L., Keller, J. (2004) Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating

organisms. *Water Sci Technol* **50**, 139–144. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0629>
Pristupljeno 4.3.2020.

- Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L. L., Keller, J. (2005a) Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnol Bioeng* **91**, 162–168. <https://doi.org/10.1002/bit.20500> Pristupljeno 4.5.2020.
- Ong, Y. H., Chua, A. S. M., Fukushima, T., Ngoh, G. C., Shoji, T., Michinaka, A. (2014) High-temperature EBPR process: the performance, analysis of PAOs and GAOs and the fine-scale population study of Candidatus “Accumulibacter phosphatis”. *Water Res.* **64**, 102-112. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.038> Pristupljeno 4.5.2021.
- Onnis-Hayden, A., Majed, N., Li, N., Li, Y., Rahman, S. M., Drury, D., Risso, L., Gu, A. (2020) Impact of Solid Residence Time (SRT) on Functionally Relevant Microbial Populations and Performance in Full-scale Enhanced Biological Phosphorus Removal (EBPR) Systems. *Water Environ Res.* **92**(3), 389-402. <https://doi.org/10.1002/wer.1185> Pristupljeno 18.6.2021.
- Osborn, D. W., Nicholls, H. A. (1978) Optimization of the activated sludge process for the biological removal of phosphorus. *Progress in Water Technol.* **10**, 261–277.
- Pan, M., Chen, T., Hu, Z., Zhan, X. (2013) Assessment of nitrogen and phosphorus removal in an intermittently aerated sequencing batch reactor (IASBR) and a sequencing batch reactor (SBR). *Water Sci. Technol.* **68**, 400–405. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.190> Pristupljeno 21.1.2021.
- Pang, Y., Wang, J. (2021). Various electron donors for biological nitrate removal: A review. *Science of The Total Environment* **794**, 148699, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148699> Pristupljeno 4.10.2021.
- Panswad, T., Doungchai, A., Anotai, J., (2003) Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Res.* **37** (2), 409–415. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00286-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00286-5) Pristupljeno 4.5.2020.

- Park, S., Bae, W., Chung, J., Baek, S.-C. (2007) Empirical model of the pH dependence of the maximum specific nitrification rate. *Process Biochemistry* **42** (12), 1671-1676. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.09.010> Pristupljeno 4.1.2021.
- Parsons, S. A., Smith, J. A. (2008) Phosphorus removal recovery from municipal wastewaters. *Elements* **4**, 109-112. <https://doi.org/10.2113/GSELEMENTS.4.2.109> Pristupljeno 4.5.2020.
- Payne, W. J. (1981) *Denitrification*, Wiley-Interscience, New York.
- Phanwilai, S., Noophan, P., Li, C. W., Choo, K. H. (2020) Effect of COD:N ratio on biological nitrogen removal using full-scale step-feed in municipal wastewater treatment plants. *Sustain Environ Res.* **30**, 24. <https://doi.org/10.1186/s42834-020-00064-6> Pristupljeno 4.10.2021.
- Pijuan, M., Saunders, A. M., Guisasola, A., Baeza, J. A., Casa, C., Blackall, L. L. (2004) Enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor using propionate as the sole carbon source. *Biotechnol Bioeng* **85**, 56–67. <https://doi.org/10.1002/bit.10813> Pristupljeno 14.10.2020.
- Pijuan, M., Ye, L., Yuan, Z. (2010) Free nitrous acid inhibition on the anaerobic metabolism of polyphosphate accumulating organisms. *Water res.* **44**, 6063-6072. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.075> Pristupljeno 20.4.2021.
- Poh, P. K., Ong, Y. H., Arumugam, K., Nittami, T., Yeoh, H. K., Bessarab, I., William, R., Chua, A. S. M. (2021). Tropical-based EBPR process: The long-term stability, microbial community and its response towards temperature stress. *Water Environ. Res.* **1–11**. <https://doi.org/10.1002/wer.1611> Pristupljeno 2.3.2021.
- Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (2020) *Narodne novine* **26**, Zagreb, https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_03_26_622.html Pristupljeno 20.4.2021.
- Puig, S., Corominas, L. I., Balaguer, M. D., Colprim, J. (2007) Biological nutrient removal by applying SBR technology in small wastewater treatment plants: carbon source and

C/N/P ratio effects. *Wat Sci Technol* **55** (7), 135-141. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.137>
Pristupljeno 14.3.2020.

- Qiu, G., Zuniga-Montanez, R., Law, Y., Thi, S. S., Nguyen, T. Q. N., Eganathan, K., Liu, X., Nielsen, P. H., Williams, R. B. H., Wuertz, S. (2019) Polyphosphate-accumulating organisms in full-scale tropical wastewater treatment plants use diverse carbon sources. *Water Res* **149**, 496-510. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.011> Pristupljeno 4.5.2020.
- Randall, A. A., Chen, Y. (2008) The Kinetics of Anaerobic and Aerobic Carbon and Phosphorus Transformation for a Septic Wastewater with Varying Propionate: Acetate Ratios. *Proceedings of the Water Environment Federation*, **17**, 104 – 118, DOI: 10.2175/193864708790893116
- Randall, C. W., Barnard, J. L., Stensel, H. D. (1992b) Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. Water quality management library vol 5. Technomic Publishing Company Co. Inc., Lancaster
- Randall, C. W., Barnard, J. L., Stensel, H. D. (1998) Design of activated sludge biological nutrient removal plants. Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal, str.17–18.CRC Press.Water Quality Management Library.
- Randall, C. W., Chapin, R. W. (1997) Acetic Acid Inhibition of Biological Phosphorus Removal. *Water Environment Research* **69** (5), 955-960.
- Randall, C. W., Pattarkine, V. M., McClintock, S. A. (1992a) Nitrification kinetics in single-sludge biological nutrient removal activated sludge systems. *Water Sci. Technol.***25** (6), 195–214. <https://doi.org/10.2166/wst.1992.0123> Pristupljeno 14.1.2020.
- Rensink, J. H. (1981) Biologische defosfatering en procesbepalende factoren. U: *NVA Symposium Proceedings*. Nieuwe ontwikkelingen en praktijkervaringen in Nederland en Zweden (na nizozemskom)
- Rodriguez-Caballero, A., Hallin, S., Pahlson, C., Odlare, M., Dahlquist, E. (2012) Ammonia oxidizing bacterial community composition and process performance in

- wastewater treatment plants under low temperature conditions. *Water Sci. Technol.* **65**, 197-204. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.643> Pristupljeno 4.3.2021.
- Roeleveld, P. J., van Loosdrecht, M. C. M. (2002) Experience with guidelines for wastewater characterisation in the Netherlands. *Water Sci. Technol.* **45** (6), 77-87. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0095> Pristupljeno 24.6.2020.
 - Rosso, D., Stenstrom, M. K., Larson, L. E. (2008) Aeration of large scale municipal wastewater treatment plants: state of the art. *Water Sci. Technol.* **57** (7), 973-978. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.218> Pristupljeno 18.6.2021.
 - Roy, S., Guanglei, Q., Zuniga-Montanez, R., Williams, R. B., Wuertz, S. (2021). Recent advances in understanding the ecophysiology of enhanced biological phosphorus removal. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **67**, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.01.011> Pristupljeno 7.11.2021.
 - Rubio-Rincon, F. J., Weissbrodt, D. G., Lopez-Vazquez, C. M., Welles, L., Abbas, B., Albertsen, M., Nielsen, P. H., van Loosdrecht, M. C. M., Brdjanovic, D. (2019) „*Candidatus Accumulibacter delftensis*“: A clade IC novel polyphosphate-accumulating organism without denitrifying activity on nitrate. *Water Res.* **161**, 136-151. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.03.053> Pristupljeno 2.9.2020.
 - Saito, T., Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M. (2004) Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Res.* **38** (17), 3760–3768. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.05.023> Pristupljeno 22.11.2020.
 - Satoh, H., Mino, T., Matsuo, T. (1994) Deterioration of enhanced biological phosphorus removal by the domination of microorganisms without polyphosphate accumulation. *Water Sci. Technol.* **30** (6), 203-211. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0270> Pristupljeno 2.2.2021.
 - Satoh, H., Mino, T., Matsuo, T., (1992) Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes. *Water Sci. Technol.* **26** (5–6), 933–942. <https://doi.org/10.2166/wst.1992.0535> Pristupljeno 24.6.2020.

- Satoh, H., Ramey, W. D., Koch, F. A., Oldham, W. K., Mino, T., Matsuo, T. (1996) Anaerobic substrate uptake by the enhanced biological phosphorus removal activated sludge treating real sewage. *Water Sci. Technol.* **34** (1–2), 9–16. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00489-1](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00489-1) Pristupljeno 14.12.2020.
- Saunders, A. M., Mabbett, A. N., McEwan, A. G., Blackall, L. L. (2007) Proton motive force generation from stored polymers for the uptake of acetate under anaerobic conditions. *FEMS Microbiol. Lett.* 274(2), 245-251 <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00839.x> Pristupljeno 12.3.2021.
- Saunders, A. M., Oehmen A., Blackall L. L., Yuan Z., Keller J. (2003) The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants. *Water Sci Technol.* **47**, 37-43. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0584> Pristupljeno 13.6.2020.
- Schönborn, C., Bauer, H-D., Röske, I. (2001) Stability of enhanced biological phosphorus removal and composition of polyphosphate granules. *Water Res.* **35** (13), 3190-3196. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00025-2) Pristupljeno 4.5.2020.
- Schuler, A. J., Jenkins, D. (2002) Effects of pH on enhanced biological phosphorus removal metabolisms. *Water Sci Technol* **46**, 171–178. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0579> Pristupljeno 4.2.2021.
- Schuler, A. J., Jenkins, D. (2003) Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewater by Biomass with Different Phosphorus Contents, Part 1: Experimental Results and Comparison with Metabolic Models. *Water Environ. Res.* **75**(6), 485-498. <https://doi.org/10.2175/106143003X141286> Pristupljeno 4.6.2020.
- Seviour, R. J., Mino, T., Onuki, M. (2003) The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Reviews* **27**, 99-127. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00021-4](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00021-4) Pristupljeno 2.2.2020.
- Shebab, O., Deiniger, R., Porta, F., Wojewski, T. (1996) Optimising phosphorus removal at the Ann Arbor wastewater treatment plant. *Water Sci. Technol.* **34** (1-2), 493-499.

- Shen, N., Chen, Y., Zhou, Y. (2017) Multi-cycle operation of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) with different carbon sources under high temperature. *Water Res*, **114**, 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.051> Pristupljeno 4.5.2021.
- Shen, N., Zhou, Y. (2016) Enhanced biological phosphorus removal with different carbon sources. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 4735–4745. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7518-4> Pristupljeno 21.5.2020.
- Siciliano, A., Limonti, C., Curcio, G. M., Molinari, R. (2020) Advances in struvite precipitation technologies for nutrients removal and recovery from aqueous waste and wastewater. *Sustainability* **12**, 7538. <https://doi.org/10.3390/su12187538>
- Sin, G., Van Hulle S. W. H., De Pauw D. J. W., van Griensven A., Vanrolleghem P. A. (2005) A critical comparison of systematic calibration protocols for activated sludge models: A SWOT analysis. *Water Res* **39**, 2459-2474. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.006> Pristupljeno 2.9.2020.
- Smolders, G. J. F., Klop, J. M., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1995) A metabolic model of the biological phosphorus removal process: I. Effect of the sludge retention time. *Biotechnol. Bioeng* **48** (3), 222–233. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00182-M](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00182-M) Pristupljeno 5.5.2021.
- Smolders, G. J. F., van der Meij, J., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1994a) Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence. *Biotechnol. Bioeng.* **43**, 461–470. <https://doi.org/10.1002/bit.260430605> Pristupljeno 15.5.2020.
- Smolders, G. J. F., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1994b). pH: Key factor in the Biological Phosphorus Removal Process. *Water Sci. Technol.* **29** (7), 71–74. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0310> Pristupljeno 5.5.2020.
- Smolders, G. J. F., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1994c) A metabolic model for the biological phosphorus removal process. *Water Sci Technol* **31**, 79-93. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00182-M](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00182-M) Pristupljeno 4.5.2020.
- Smolders, G. J. F., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1996) Steady-state analysis to evaluate the phosphate removal capacity and acetate requirement of biological phosphorus

- removing mainstream and sidestream process configurations. *Water Res.* **30**(11), 2748–2760. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00127-3) Pristupljeno 5.5.2020.
- Soares, A., Kampas, P., Maillard, S., Wood, E., Brigg, J., Tillotson, M., Parsons, S. A., Cartmell, E. (2010) Comparison between disintegrated and fermented sewage sludge for production of a carbon source suitable for biological nutrient removal. *J. Hazard. Mater.* **75** (1–3), 733-739. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.070> Pristupljeno 14.5.2020.
 - Sobeck, D. C., Higgins, M. J. (2002) Examination of three theories for mechanisms of cation induced bioflocculation. *Water Res.* **36** (3), 527-538. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00254-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00254-8) Pristupljeno 17.5.2020.
 - Srinath, E. G., Sastry, C. A., Pillai, S. C. (1959) Rapid removal of phosphorus from sewage by activated sludge. *Experienta* **15**, 339-340. <https://doi.org/10.1007/BF02159818> Pristupljeno 4.6.2020.
 - Stockholm-Bjerregaard, M., McIlroy, S. J., Nierychlo, M., Karst, S. M., Albertsen, M., Nielsen, P. H. (2017) A critical assessment of the microorganisms proposed to be important to enhanced biological phosphorus removal in full-scale wastewater treatment systems. *Front Microbiol* **8**, 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00718> Pristupljeno 4.3.2020.
 - Strickland, J. (1999) Perspectives for phosphorus recovery offered by enhanced biological P removal. *Environ Technol* (UK) **20**, 721-725. <https://doi.org/10.1080/09593332008616866> Pristupljeno 14.3.2020.
 - Surampalli, R., Tyagi, R., Scheible, O. K., Heidman, J. A. (1997) Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. *Bioresour Technol* **61**, 151–157. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00034-5) Pristupljeno 14.6.2021.
 - Szabó, A., Takács, I., Murthy, S., Daigger, G. T., Licskó, I., Smith, S. (2008) Significance of Design and Operational Variables in Chemical Phosphorus Removal. *Water Environ. Res.* **80**(5), 407- 416. <https://doi.org/10.2175/106143008X268498> Pristupljeno 4.4.2020.
 - Tam, N. F. Y., Wong, Y. S., Leung, G. (1992) Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process. *Wat. Res.* **26**, 1229-1236. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(92\)90183-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(92)90183-5) Pristupljeno 21.3.2020.

- Tang, J., Wang, X. C., Hu, Y., Pu, Y., Huang, J., Ngo, H. H., Zeng, Y., Li, Y. (2018) Nitrogen removal enhancement using lactic acid fermentation products from food waste as external carbon sources: Performance and microbial communities. *Bioresource Technology* **256**, 259-268. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.033> Pristupljeno 2.9.2021.
- Tayá, C., Garlapati, V. K., Guisasola, A., Baeza, J. A. (2013) The selective role of nitrite in the PAO/GAO competition. *Chemosphere* **93**, 612–618. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.006> Pristupljeno 14.5.2020.
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L., Stensel, H. D. (2003) *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4. izd., New York McGraw-Hill Higher Education
- Temmink, H., Petersen, B., Isaacs, S., Henze, M. (1996) Recovery of biological phosphorus removal after periods of low organic loading. *Water Sci. Technol.* **34** (1): 1-8. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00488-X](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00488-X) Pristupljeno 4.5.2020.
- Tokutomi, T. (2004) Operation of a nitrite-type airlift reactor at low DO concentration. *Water Sci. Technol.* **49**, 81-88. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0740> Pristupljeno 2.3.2020.
- Tong, J. A., Chen, Y. G. (2007) Enhanced biological phosphorus removal driven by short-chain fatty acids produced from waste activated sludge alkaline fermentation. *Environ Sci Technol* **41** (20), 7126–7130. <https://doi.org/10.1021/es071002n> Pristupljeno 2.9.2021.
- Tu, Y., Schuler, A. J. (2013) Metabolisms of Acetate Transport in EBPR and Biokinetics for PAOs and GAOs, *Proceedings of the Water Environment Federation* **4**, 758-770. <https://doi.org/10.2175/193864713813526058> Pristupljeno 12.9.2020.
- Tutić, A., Zeko-Pivač, A., Landeka Dragičević, T., Šiljeg., M., Habuda-Stanić, M. (2021) Uklanjanje i uporaba fosfora iz otpadnih voda, *Hrvatske vode* **115**, 33-41
- Uredba o standardu kakvoće voda (2019) *Narodne novine* **96**, Zagreb, https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_10_96_1879.html Pristupljeno 20.4.2021.

- van Lier, J. B., Mahmoud, N., Zeeman G. (2020) Anaerobic wastewater treatment. U: *Biological Wastewater Treatment, 2. izd.*, (Chen, G., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G., Brdjanovic, D., ured.), IWA Publishing, London, str. 701-748.
- van Loosdrecht, M. C. M., Nielsen, P., H., Lopez-Vazquez, C. M., Brdjanovic, D. (2016) Eksperimentalne metode u obradi otpadnih voda, (prevela Jauk, T.), Synopsis d.o.o. Zagreb, ISBN 978-953-7968-47-2
- van Loosdrecht, M., Hooijmans, C., Brdjanovic, D., Heijnen, J. J. (1997) Biological phosphate removal processes. *Appl Microbiol Biotechnol* **48**, 289–296. <https://doi.org/10.1007/s002530051052> Pristupljeno 6.5.2020.
- Vanrolleghem, P. A., Insel, G., Petersen, B., Sin, G., De Pauw, D., Nopens, I., Weijers, S., Gernaey, K. (2003) A comprehensive model calibration procedure for activated sludge models. In Proceedings: WEFTEC 2003: 76th Annual Technical Exhibition i Conference, Los Angeles, California <https://modeleau.fsg.ulaval.ca/fileadmin/modeleau/documents/Publications/pvr461.pdf> Pristupljeno 2.9.2020.
- Vargas, M., Yuan, Z., Pijuan, M. (2013) Effect of long-term starvation conditions on polyphosphate- and glycogen accumulating organisms. *Bioresour. Technol.* **127**, 126-131. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.117> Pristupljeno 4.10.2020.
- Volcke, E. I. P., Solon, K., Comeau, Y., Henze, M. (2020) Wastewater characteristics. U: *Biological Wastewater Treatment, 2. izd.*, (Chen, G., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G., Brdjanovic, D., ured.), IWA Publishing, London, str. 77-103.
- Vučić, V., Süring, C., Harms, H., Müller, S., Günther, S. (2021) A framework for P-cycle assessment in wastewater treatment plants, *Sci. Total Environ.*, **760**, 143392, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143392> Pristupljeno 14.11.2021.
- Wagner, M., Erhart, R., Manz, W., Amann, R., Lemmer, H., Wedi, D., Schleifer, K. H. (1994) Development of an ribosomal-RNA-targeted oligonucleotide probe specific for the genus *Acinetobacter* and its application for in-situ monitoring in activated-sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* **60** (3), 792–800.

- Wang, J. C., Park, J. K. (1997) Effect of anaerobic–aerobic contact time on the change of internal storage energy in two different phosphorus-accumulating organisms. *Water Environ Res* **73**, 436–443. <https://doi.org/10.2175/106143001X139489> Pristupljeno 28.4.2021.
- Wang, J. C., Park, J. K., Whang, L. M. (2001) Comparison of fatty acid composition and kinetics of phosphorus-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Environ Res* **73**, 704–710. <https://doi.org/10.2175/106143001x143448> Pristupljeno 28.9.2020.
- Wang, L., Liu, J., Oehmen, A., Le, C., Geng, Y., Zhou, Y. (2021) Butyrate Can Support PAOs but Not GAOs in Tropical Climates. *Water Res.* **193**, 116884. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116884> Pristupljeno 12.12.2021.
- Wang, L., Shen, N., Oehmen, A., Zhou, Y. (2020) The Impact of Temperature on the Metabolism of Volatile Fatty Acids by Polyphosphate Accumulating Organisms (PAOs). *Environ. Res.* **188**, 109729. <https://10.1016/j.envres.2020.109729> Pristupljeno 4.11.2021.
- Wang, X., Wen, X., Criddle, C., Wells, G., Zhang, J., Zhao, Y. (2010a) Community analysis of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of eight wastewater treatment systems. *J Environ Sci* **22**, 627–634. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60155-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60155-8) Pristupljeno 7.3.2020.
- Wang, Y. Y., Jiang, F., Zhang, Z. X., Xing, M. Y., Lu, Z. B., Wu, M., Yang, J., Peng, Y. Z. (2010b) The long-term effect of carbon source on the competition between polyphosphorus accumulating organisms and glycogen accumulating organism in a continuous plug-flow anaerobic/aerobic (A/O) process. *Bioresource Technol* **101** (1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.085> Pristupljeno 4.4.2020.
- WEF (2006) Biological nutrient removal (BNR) operation in wastewater treatment plants, Manual of Practice no 29. WEF-Water Environment Federation. Alexandria, VA, ISBN 0071464158 9780071464154
- Welles, L., Abbas, B., Sorokin, D. Y., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht, M. C. M., Brdjanovic, D. (2017) Metabolic Response of “*Candidatus*

Accumulibacter Phosphatis” Clade II C to Changes in Influent P/C Ratio *Front. Microbiol.* **7**, 2121. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02121> Pristupljeno 14.9.2020.

- Welles, L., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht, M. C. M., Brdjanovic, D. (2016) Prevalence of ‘Candidatus *Accumulibacter phosphatis*’ type II under phosphate limiting conditions. *AMB Express* **6**, 44. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0214-z> Pristupljeno 4.11.2021.
- Welles, L., Tian, W. D., Saad, S., Abbas, B., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht M.C.M., Brdjanovic, D. (2015). *Accumulibacter* clades Type I and II performing kinetically different glycogen-accumulating organisms metabolisms for anaerobic substrate uptake. *Water Res.* **83**, 354-366. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.045> Pristupljeno 17.11.2021.
- Wentzel, M. C., Dold, P. L., Loewenthal, R. E., Ekama, G. A., Marais, G. V. R. (1987). Experiments towards establishing the kinetics of biological excess phosphorus removal. In *Biological Phosphate Removal from Wastewaters: Proceedings of an Iawprc Specialized Conference Rome, Italy*, str. 28-30.
- Wentzel, M. C., Ekama, G. A. (1997) Microbial community analysis. IWA – International Water Association, Scientific and Technical Report br. 5.
- Wentzel, M. C., Loewenthal, R. E., Ekama, G. A., Marais, G. V. R. (1988) Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems- Part 1: Enhanced culture development. *Water S.A.*, **14**(2), 81-92. https://hdl.handle.net/10520/AJA03784738_2443 Pristupljeno 4.3.2020.
- Whang, L.-M., Park, J. K. (2006) Competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in enhanced-biological-phosphorus-removal systems: effect of temperature and sludge age. *Water Environ. Res.* **78** (1), 4-11. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.10.009> Pristupljeno 19.5.2020.
- Wong, M. T., Mino, T., Seviour, R. J., Onuki, M., Liu, W. T. (2005) In situ identification and characterization of the microbial community structure of full-scale enhanced biological phosphorous removal plants in Japan. *Water Res* **39** (13): 2901–2914. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.015> Pristupljeno 23.11.2020.

- Xia, W. J., Wang, H., Yu, L. Q., Li, G. F., Xiong, J. R., Zhu, X. Y., Wang, X. C., Zhang, J. R., Huang, B. C., Jin, R. C. (2022) Coagulants put phosphate-accumulating organisms at competitive disadvantage with glycogen-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal system. *Biores Technol* **346**, 126658, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126658> Pristupljeno 4.1.2022.
- Xu, S., Wu, D., Hu, Z. (2014) Impact of hydraulic retention time on organic and nutrient removal in a membrane coupled sequencing batch reactor. *Water Research* **55**, 12-20., <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.046> Pristupljeno 14.3.2021.
- Xu, Y., Hu, H., Liu, J., Luo, J., Qian, G., Wang, A. (2015) pH dependent phosphorus release from waste activated sludge: contributions of phosphorus speciation. *Chem Eng J*, **267**, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.037> Pristupljeno 4.5.2020.
- Yang, C., Qiu, C., He, C., Hu, Z., Wang, W. (2019) Influence of aluminium accumulation on biological nitrification and phosphorus removal in an anoxic–oxic membrane bioreactor. *Environ Sci Pollut Res Int* **26** (27): 28127-28134. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06004-1> Pristupljeno 4.10.2021.
- Yeoman, S., Stephenson, T., Lester, J. N., Perry R. (1988) The removal of phosphorus during wastewater treatment: a review. *Environ. Pollut.* **49**, 183-233. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0269-7491(88)90209-6) Pristupljeno 4.2.2020.
- Yuan, Q., Oleszkiewicz, J. A. (2011) Low temperature biological phosphorus removal and partial nitrification in a pilot sequencing batch reactor system. *Water Sci. Technol.* **63** (12), 2802-2807. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.609> Pristupljeno 11.4.2020.
- Yuan, Q., Sparling, R., Oleszkiewicz, J. A. (2011). VFA generation from waste activated sludge: Effect of temperature and mixing. *Chemosphere* **82** (4), 603–607. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.084> Pristupljeno 4.9.2020.
- Yuan, Y., Hu, X., Chen, H., Zhou, Y., Zhou, Y., Wang, D. (2019) Advances in enhanced volatile fatty acid production from anaerobic fermentation of waste activated sludge. *Sci. Total Environ.* 694 133741, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133741> Pristupljeno 18.5.2020.

- Yuan, Z., Pratt, S., Batstone, D. J. (2012) Phosphorus recovery from wastewater through microbial processes. *Curr. Opin. Biotechnol.* **23**, 878-883. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.001> Pristupljeno 4.6.2020.
- Zakon o izmjenama Zakona o vodama (2021) *Narodne novine* **84**, Zagreb https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2021_07_84_1560.html Pristupljeno 18.1.2022.
- Zakon o vodama (2019) *Narodne novine* **66**, Zagreb https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_07_66_1285.html Pristupljeno 21.1.2020.
- Zeeman, G., Lettinga, G. (1999) The role of anaerobic digestion in closing the water and nutrient cycle at community level. *Water Sci Technol* **39** (5), 187-194. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00101-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00101-8) Pristupljeno 2.9.2021.
- Zeng, R. J., van Loosdrecht, M. C. M., Yuan, Z. G., Keller, J. (2003) Metabolic model for glycogenaccumulating organisms in anaerobic/aerobic activated sludge systems. *Biotechnol. Bioeng.* **81** (1), 92–105. <https://doi.org/10.1002/bit.10455> Pristupljeno 2.3.2020.
- Zeng, R. J., Yuan, Z., Keller J. (2006) Effects of solids concentration, pH and carbon addition on the production rate and composition of volatile fatty acids in prefermenters using primary sewage sludge. *Water Sci Technol* **53** (8), 263-9. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.257> Pristupljeno 12.11.2020.
- Zeng, W., Yang, Y., Li, L., Wang, X., Peng, Y. (2011). Effect of nitrite from nitrification on biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Bioresource Technol*, **102** (12), 6657–6664. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.091> Pristupljeno 2.12.2021.
- Zengin, G. E., Artan, N., Orhon, D., Chua, A. S. M., Satoh, H., Mino, T. (2010) Population dynamics in a sequencing batch reactor fed with glucose and operated for enhanced biological phosphorus removal. *Bioresource Technol* **101** (11), 4000–4005. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.044> Pristupljeno 24.9.2020.
- Zhang, M., Peng, Y., Wang, C., Wang, C., Zhao, W., Zeng, W. (2016) Optimization denitrifying phosphorus removal at different hydraulic retention times in a novel anaerobic

anoxic oxic-biological contact oxidation process. *Biochem Eng J* **106**, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.10.027> Pristupljeno 25.4.2021.

- Zhang, P., Chen, Y., Zhou, Q. (2009) Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under mesophilic and thermophilic conditions: Effect of pH. *Water Res.* **43** (15), 3735-3742. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.05.036> Pristupljeno 4.5.2020.
- Zhang, T., Liu, Y., Fang, H. H. P.(2005) Effect of pH change on the performance and microbial community of enhanced biological phosphate removal process. *Biotechnology and Bioengineering* **92** (2), 173–182. . <https://doi.org/10.1002/bit.20589> Pristupljeno 4.9.2020.
- Zhang, Z., Li, H., Zhu, J., Weiping, L., Xin, X. (2011) Improvement strategy on enhanced biological phosphorus removal for municipal wastewater treatment plants: Full-scale operating parameters, sludge activities, and microbial features. *Bioresour. Technol.* **102** (7), 4646-4653. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.017> Pristupljeno 12.9.2021.
- Zheng X., Sun, P., Han, J., Song, Y., Hu, Z., Fan, H., Lv, S. (2014) Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) – A mini-review. *Process Biochemistry* **49** (12), 2207-2213. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.10.008> Pristupljeno 4.5.2020.
- Zheng, W., Yu, Z., Xia, Y., Wen, X. (2017) Influence of polyaluminum chloride on microbial characteristics in anaerobic membrane bioreactors for sludge digestion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **102**, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8613-x> Pristupljeno 4.10.2020.
- Zhou Y., Pijuan M., Zeng R. J., Lu H., Yuan Z. (2008) Could polyphosphate-accumulating organisms (PAO) be glycogen-accumulating organisms (GAO)? *Water Research* **42**, 2361-2368. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.003> Pristupljeno 2.9.2020.
- Zhou, Y., Ganda, L., Lim, M., Yuan, Z. G., Ng, W. J. (2012) Response of polyphosphate accumulating organisms to free nitrous acid inhibition under anoxic and aerobic conditions.

Bioresource. Technol. **116**, 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.111>
Pristupljeno 20.4.2021.

- Zhou, Y., Pijuan, M., Yuan, Z. (2007) Free nitrous acid inhibition on anoxic phosphorus uptake and denitrification by polyphosphate accumulating organisms. *Biotechnol. Bioneng.* **98** (4), 903-912. <https://doi.org/10.1002/bit.21458> Pristupljeno 20.4.2021.
- Zilles, J. L., Peccia, J., Kim, M. W., Hung, C. H., Noguera, D. R. (2002) Involvement of Rhodocyclus-related organisms in phosphorus removal in full-scale wastewater treatment plants. *Appl Environ Microbiol* **68** (6), 2763–2769. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.6.2763-2769.2002> Pristupljeno 2.9.2020.
- Zurzolo, F., Yuan, Q., Oleszkiewicz, J. A. (2016) Increase of Soluble Phosphorus and Volatile Fatty Acids During Co-fermentation of Wastewater Sludge. *Waste Biomass Valor* **7**, 317–324. <https://doi.org/10.1007/s12649-015-9443-7> Pristupljeno 2.11.2020.

Prilog 1. POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

AOB - amonij oksidirajuće bakterije

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

ATP - adenozin trifosfat

ATU - alil-tiourea

bKPK - biorazgradivi KPK

BPK₅ - biološka potrošnja kisika tijekom 5 dana inkubacije [mgO₂/L]

C - ugljik

DO - (engl. dissolved oxygen) otopljeni kisik [mgO₂/L]

DPAO - denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi

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

ES - ekvivalent stanovnik

F/M omjer – (engl. food to microorganisms) omjer hrane i mikroorganizama

FISH - fluorescentna *in situ* hibridizacija

GAO - glikogen akumulirajući organizmi

HAc - acetat

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

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

ISS - (engl. inorganic suspended solids) ukupna anorganska suspendirana tvar ili žareni ostatak [mg/L]

KPK - kemijska potrošnja kisika [mgO₂/L]

KPK_O - otopljeni KPK [mgO₂/L]

KPK_s - suspendirani KPK [mgO₂/L]

lbKPK - lako-biorazgradivi KPK [mgO₂/L]

MLSS - (engl. mixed liquor suspended solids) koncentracija suspendirane tvari u miješanoj suspenziji aktivnog mulja [gVSS/L]

MLVSS - (engl. mixed liquor volatile suspended solids) koncentracija organskog dijela suspendirane tvari u miješanoj suspenziji aktivnog mulja [gVSS/L]

N - dušik

NADH - reducirani oblik nikotinamid adenin dinukleotida

NOB - nitrit oksidirajuće bakterije

NPOC (engl. non purgable organic carbon) nehlapljivi organski ugljik [mg/L]

OHO - obični heterotrofni organizmi

ORP - oksidacijsko redukcijski potencijal [mV]

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

PAC - polialuminijev klorid

PAO - fosfor akumulirajući organizmi

PH2MV - poli- β -hidroksi-2-metilvalerata

PHA - poli-hidroksialkanoati

PHB - poli- β -hidroksibutirati

poli-P - polifosfatni lanci

sbKPK - sporo-biorazgradivi KPK

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

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

TKN - (engl. total Kjeldahl nitrogen) ukupni Kjeldahlov dušik [mg/L]

TN - (engl. total nitrogen) ukupni dušik [mg/L]

TOC - (engl. total organic carbon) – ukupni organski ugljik [mg/L]

TP - (engl. total phosphorus) ukupni fosfor [mg/L]

TSS - (engl. total suspended solids) ukupna suspendirana tvar [mg/L]

UPOV - uređaj za pročišćavanje otpadnih voda

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

VSS - (engl. organic suspended solids) ukupna organska suspendirana tvar ili sagorivi dio ukupne suspendirane tvari [mg/L]

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

Prilog 2. POPIS ZADANIH KINETIČKIH I STEHIOMETRIJSKIH PARAMETARA IZ PROGRAMA BioWin 6.0

Kinetički parametri

Common	
Name	Default Value
Hydrolysis rate [1/d]	2,100
Hydrolysis half sat. [-]	0,060
Anoxic hydrolysis factor [-]	0,280
Anaerobic hydrolysis factor (AS) [-]	0,040
Anaerobic hydrolysis factor (AD) [-]	0,500
Adsorption rate of colloids [L/(mgCOD d)]	0,150
Ammonification rate [L/(mgCOD d)]	0,080
Assimilative nitrate/nitrite reduction rate [1/d]	0,500
Endogenous products decay rate [1/d]	0,000
Ammonia Oxidizing	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	0,900
Substrate (NH ₄) half sat. [mgN/L]	0,700
Byproduct NH ₄ logistic slope [-]	50,000
Byproduct NH ₄ inflection point [mgN/L]	1,400
Denite DO half sat. [mg/L]	0,100
Denite HNO ₂ half sat. [mgN/L]	0,000
Aerobic decay rate [1/d]	0,170
Anoxic/anaerobic decay rate [1/d]	0,080
K _i HNO ₂ [mmol/L]	0,005
Nitrite Oxidizing	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	0,700
Substrate (NO ₂) half sat. [mgN/L]	0,100
Aerobic decay rate [1/d]	0,170
Anoxic/anaerobic decay rate [1/d]	0,080
K _i NH ₃ [mmol/L]	0,075
Anaerobic Ammonia Oxidizing	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	0,200
Substrate (NH ₄) half sat. [mgN/L]	2,000
Substrate (NO ₂) half sat. [mgN/L]	1,000

Aerobic decay rate [1/d]	0,019
Anoxic/anaerobic decay rate [1/d]	0,010
Ki Nitrite [mgN/L]	1.000,000
Nitrite sensitivity constant [L / (d mgN)]	0,016
Ordinary Heterotrophic	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	3,200
Substrate half sat. [mgCOD/L]	5,000
Anoxic growth factor [-]	0,500
Denite N2 producers (NO3 or NO2) [-]	0,500
Aerobic decay rate [1/d]	0,620
Anoxic decay rate [1/d]	0,233
Anaerobic decay rate [1/d]	0,131
Fermentation rate [1/d]	1,600
Fermentation half sat. [mgCOD/L]	5,000
Fermentation growth factor (AS) [-]	0,250
Free nitrous acid inhibition [mol/L]	0,000
Ordinary Heterotrophic on Industrial COD	
Name	Default Value
Maximum specific growth rate on Ind #1 COD [1/d]	4,300
Substrate (Ind #1) half sat. [mgCOD/L]	1,000
Inhibition coefficient for Ind #1 [mgCOD/L]	60,000
Anaerobic growth factor for Ind #1 [mgCOD/L]	0,050
Maximum specific growth rate on Ind #2 COD [1/d]	1,500
Substrate (Ind #2) half sat. [mgCOD/L]	30,000
Inhibition coefficient for Ind #2 [mgCOD/L]	3.000,000
Anaerobic growth factor for Ind #2 [mgCOD/L]	0,050
Maximum specific growth rate on Ind #3 COD [1/d]	4,300
Substrate (Ind #3) half sat. [mgCOD/L]	1,000
Inhibition coefficient for Ind #3 COD [mgCOD/L]	60,000
Anaerobic growth factor for Ind #3 [mgCOD/L]	0,050
Maximum specific growth rate on adsorbed hydrocarbon COD [1/d]	2,000
Substrate (adsorbed hydrocarbon) half sat. [-]	0,150
Anaerobic growth factor for adsorbed hydrocarbons [mgCOD/L]	0,010
Adsorption rate of soluble hydrocarbons [l/(mgCOD d)]	0,200
Methylotrophic	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	1,300

Methanol half sat. [mgCOD/L]	0,500
Denite N2 producers (NO3 or NO2) [-]	0,500
Aerobic decay rate [1/d]	0,040
Anoxic/anaerobic decay rate [1/d]	0,030
Free nitrous acid inhibition [mmol/L]	0,000
Phosphorus Accumulating	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	0,950
Max. spec. growth rate, P-limited [1/d]	0,420
Substrate half sat. [mgCOD(PHB)/mgCOD(Zbp)]	0,100
Substrate half sat., P-limited [mgCOD(PHB)/mgCOD(Zbp)]	0,050
Magnesium half sat. [mgMg/L]	0,100
Cation half sat. [mmol/L]	0,100
Calcium half sat. [mgCa/L]	0,100
Aerobic/anoxic decay rate [1/d]	0,100
Aerobic/anoxic maintenance rate [1/d]	0,000
Anaerobic decay rate [1/d]	0,040
Anaerobic maintenance rate [1/d]	0,000
Sequestration rate [1/d]	4,500
Anoxic growth factor [-]	0,330
Propionic Acetogenic	
Name	Default Value
Max. spec. growth rate [1/d]	0,250
Substrate half sat. [mgCOD/L]	10,000
Acetate inhibition [mgCOD/L]	10.000,000
Anaerobic decay rate [1/d]	0,050
Aerobic/anoxic decay rate [1/d]	0,520
Methanogenic	
Name	Default Value
Acetoclastic max. spec. growth rate [1/d]	0,300
H2-utilizing max. spec. growth rate [1/d]	1,400
Acetoclastic substrate half sat. [mgCOD/L]	100,000
Acetoclastic methanol half sat. [mgCOD/L]	0,500
H2-utilizing CO2 half sat. [mmol/L]	0,100
H2-utilizing substrate half sat. [mgCOD/L]	1,000
H2-utilizing methanol half sat. [mgCOD/L]	0,500
Acetoclastic propionic inhibition [mgCOD/L]	10.000,000
Acetoclastic anaerobic decay rate [1/d]	0,130
Acetoclastic aerobic/anoxic decay rate [1/d]	0,600

H2-utilizing anaerobic decay rate [1/d]	0,130
H2-utilizing aerobic/anoxic decay rate [1/d]	2,800
Sulfur Oxidizing	
Name	Default Value
Maximum specific growth rate (sulfide) [1/d]	0,750
Maximum specific growth rate (sulfur) [1/d]	0,100
Substrate (H2S) half sat. [mgS/L]	1,000
Substrate (sulfur) half sat. [mgS/L]	1,000
Anoxic growth factor [-]	0,500
Decay rate [1/d]	0,040
Sulfur Reducing	
Name	Default Value
Propionic max. spec. growth rate [1/d]	0,583
Propionic acid half sat. [mgCOD/L]	295,000
Hydrogen sulfide inhibition coefficient [mgS/L]	185,000
Sulfate (SO4=) half sat. [mgS/L]	2,470
Decay rate [1/d]	0,019
Acetotrophic max. spec. growth rate [1/d]	0,612
Acetic acid half sat. [mgCOD/L]	24,000
Hydrogen sulfide inhibition coefficient [mgS/L]	164,000
Sulfate (SO4=) half sat. [mgS/L]	6,410
Decay rate [1/d]	0,028
Hydrogenotrophic max. spec. growth rate with SO4= [1/d]	2,800
Hydrogenotrophic max. spec. growth rate with S [1/d]	0,100
Hydrogen half sat. [mgCOD/L]	0,070
Hydrogen sulfide inhibition coefficient [mgS/L]	550,000
Sulfate (SO4=) half sat. [mgS/L]	6,410
Sulfur (S) half sat. [mgS/L]	50,000
Decay rate [1/d]	0,060
Name	Default Value
Ordinary heterotrophic low pH limit [-]	4,0
Ordinary heterotrophic high pH limit [-]	10,0
Methylotrophic low pH limit [-]	4,0
Methylotrophic high pH limit [-]	10,0
Autotrophic low pH limit [-]	5,5
Autotrophic high pH limit [-]	9,5
Phosphorus accumulating low pH limit [-]	4,0
Phosphorus accumulating high pH limit [-]	10,0

Ordinary heterotrophic low pH limit (anaerobic) [-]	5,5
Ordinary heterotrophic high pH limit (anaerobic) [-]	8,5
Propionic acetogenic low pH limit [-]	4,0
Propionic acetogenic high pH limit [-]	10,0
Acetoclastic methanogenic low pH limit [-]	5,0
Acetoclastic methanogenic high pH limit [-]	9,0
H2-utilizing methanogenic low pH limit [-]	5,0
H2-utilizing methanogenic high pH limit [-]	9,0
Switches	
Name	Default Value
Ordinary heterotrophic DO half sat. [mgO2/L]	0,150
Phosphorus accumulating DO half sat. [mgO2/L]	0,050
Anoxic/anaerobic NOx half sat. [mgN/L]	0,150
Ammonia oxidizing DO half sat. [mgO2/L]	0,250
Nitrite oxidizing DO half sat. [mgO2/L]	0,500
Anaerobic ammonia oxidizing DO half sat. [mgO2/L]	0,010
Sulfur oxidizing sulfate pathway DO half sat. [mgO2/L]	0,250
Sulfur oxidizing sulfur pathway DO half sat. [mgO2/L]	0,050
Anoxic NO3(->NO2) half sat. [mgN/L]	0,100
Anoxic NO3(->N2) half sat. [mgN/L]	0,050
Anoxic NO2(->N2) half sat. (mgN/L)	0,010
NH3 nutrient half sat. [mgN/L]	0,005
PolyP half sat. [mgP/mgCOD]	0,010
VFA sequestration half sat. [mgCOD/L]	5,000
P uptake half sat. [mgP/L]	0,150
P nutrient half sat. [mgP/L]	0,001
Autotrophic CO2 half sat. [mmol/L]	0,100
H2 low/high half sat. [mgCOD/L]	1,000
Propionic acetogenic H2 inhibition [mgCOD/L]	5,000
Synthesis anion/cation half sat. [meq/L]	0,010

Stehiometrijski parametri

Common	
Name	Default Value
Biomass/Endog Ca content (gCa/gCOD)	0,003912
Biomass/Endog Mg content (gMg/gCOD)	0,003912
Biomass/Endog other cations content (mol/gCOD)	0,000512
Biomass/Endog other Anions content (mol/gCOD)	0,000141
N in endogenous residue [mgN/mgCOD]	0,070000
P in endogenous residue [mgP/mgCOD]	0,022000
Ca content of slowly biodegradabe (gCa/gCOD)	0,003912
Mg content of slowly biodegradabe (gMg/gCOD)	0,000370
Endogenous residue COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,420000
Particulate substrate COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,632700
Particulate inert COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,600000
Cellulose COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,400000
External organic COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,600000
Molecular weight of other anions [mg/mmol]	35,500000
Molecular weight of other cations [mg/mmol]	39,098300
Ammonia Oxidizing	
Name	Default Value
Yield [mgCOD/mgN]	0,1500
Denite NO2 fraction as TEA [-]	0,5000
Byproduct NH4 fraction to N2O [-]	0,0025
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Nitrite Oxidizing	
Name	Default Value
Yield [mgCOD/mgN]	0,0900
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Anaerobic Ammonia Oxidizing	
Name	Default Value
Yield [mgCOD/mgN]	0,1140
Nitrate production [mgN/mgBiomassCOD]	2,2800
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800

COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Ordinary Heterotrophic	
Name	Default Value
Yield (aerobic) [-]	0,6660
Yield (fermentation, low H2) [-]	0,1000
Yield (fermentation, high H2) [-]	0,1000
H2 yield (fermentation low H2) [-]	0,3500
H2 yield (fermentation high H2) [-]	0,0000
Propionate yield (fermentation, low H2) [-]	0,0000
Propionate yield (fermentation, high H2) [-]	0,7000
CO2 yield (fermentation, low H2) [-]	0,7000
CO2 yield (fermentation, high H2) [-]	0,0000
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Endogenous fraction - aerobic [-]	0,0800
Endogenous fraction - anoxic [-]	0,1030
Endogenous fraction - anaerobic [-]	0,1840
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Yield (anoxic) [-]	0,5400
Yield propionic (aerobic) [-]	0,6400
Yield propionic (anoxic) [-]	0,4600
Yield acetic (aerobic) [-]	0,6000
Yield acetic (anoxic) [-]	0,4300
Yield methanol (aerobic) [-]	0,5000
Adsorp. max. [-]	1,0000
Max fraction to N2O at high FNA over nitrate [-]	0,0500
Max fraction to N2O at high FNA over nitrite [-]	0,1000
Ordinary Heterotrophic on Industrial COD	
Name	Default Value
Yield Ind #1 COD (Aerobic) [-]	0,5000
Yield Ind #1 COD (Anoxic) [-]	0,4000
Yield Ind #1 COD (Anaerobic) [-]	0,0400
COD:Mole ratio - Ind #1 COD [gCOD/Mol]	224,0000
Yield Ind #2 COD (Aerobic) [-]	0,5000
Yield Ind #2 COD (Anoxic) [-]	0,4000
Yield Ind #2 COD (Anaerobic) [-]	0,0500
COD:Mole ratio - Ind #2 COD [gCOD/Mol]	240,0000
Yield on Ind #3 COD (Aerobic) [-]	0,5000
Yield on Ind #3 COD (Anoxic) [-]	0,4000
Yield on Ind #3 COD (Anaerobic) [-]	0,0400
COD:Mole ratio - Ind #3 COD [gCOD/Mol]	288,0000

Yield enmeshed hydrocarbons (Aerobic) [-]	0,5000
Yield enmeshed hydrocarbons (Anoxic) [-]	0,4000
Yield enmeshed hydrocarbons (Anaerobic) [-]	0,0400
COD:Mole ratio - Hydrocarbon COD [gCOD/Mol]	336,0000
Hydrocarbon COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	3,2000
Max. hydrocarbon adsorp. ratio [-]	1,0000
Yield of Ind #1 on Ind #3 COD (Aerobic) [-]	0,0000
Yield of Ind #1 on Ind #3 COD (Anoxic) [-]	0,0000
Hydrocarbon Yield on Ind #3 COD (Aerobic) [-]	0,0000
Hydrocarbon Yield on Ind #3 COD (Anoxic) [-]	0,0000
Methylotrophic	
Name	Default Value
Yield (anoxic) [-]	0,4000
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Max fraction to N2O at high FNA over nitrate [-]	0,1000
Max fraction to N2O at high FNA over nitrite [-]	0,1500
Phosphorus Accumulating	
Name	Default Value
Yield (aerobic) [-]	0,6390
Yield (anoxic) [-]	0,5200
Aerobic P/PHA uptake [mgP/mgCOD]	0,9300
Anoxic P/PHA uptake [mgP/mgCOD]	0,3500
Yield of PHA on sequestration [-]	0,8890
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
N in sol. inert [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous part. [-]	0,2500
Inert fraction of endogenous sol. [-]	0,2000
P/Ac release ratio [mgP/mgCOD]	0,5100
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Yield of low PP [-]	0,9400
Mg to P mole ratio in polyphosphate [mmolMg/mmolP]	0,3000
Cation to P mole ratio in polyphosphate [meq/mmolP]	0,1500
Ca to P mole ratio in polyphosphate [mmolCa/mmolP]	0,0500
Propionic Acetogenic	
Name	Default Value
Yield [-]	0,1000
H2 yield [-]	0,4000

CO2 yield [-]	1,0000
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Methanogenic	
Name	Default Value
Acetoclastic yield [-]	0,1000
Acetoclastic yield on methanol[-]	0,1000
H2-utilizing yield [-]	0,1000
H2-utilizing yield on methanol [-]	0,1000
N in acetoclastic biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
N in H2-utilizing biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in acetoclastic biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
P in H2-utilizing biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Acetoclastic fraction to endog. residue [-]	0,0800
H2-utilizing fraction to endog. residue [-]	0,0800
Acetoclastic COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
H2-utilizing COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Sulfur Oxidizing	
Name	Default Value
Yield (aerobic) [mgCOD/mgS]	0,5000
Yield (Anoxic) [mgCOD/mgS]	0,3500
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200
Sulfur Reducing	
Name	Default Value
Yield [mgCOD/mg H2 COD]	0,0712
Yield [mgCOD/mg Ac COD]	0,0470
Yield [mgCOD/mg Pr COD]	0,0384
N in biomass [mgN/mgCOD]	0,0700
P in biomass [mgP/mgCOD]	0,0220
Fraction to endogenous residue [-]	0,0800
COD:VSS ratio [mgCOD/mgVSS]	1,4200

ŽIVOTOPIS

Tanja Šikić, (rođ. Ecimović) dipl.ing.bioteh. rođena je 12.10.1980. g. u Zagrebu. Osnovnu školu je pohađala u Zagrebu, gdje je završila i opću 11. Gimnaziju 1999. g. Iste je godine upisala Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, gdje je stekla zvanje diplomirane inženjerke biotehnologije (odgovara akademskom nazivu: magistra inženjerka molekularne biotehnologije) 2005. g.

Nakon završetka studija se zapošljava u Hrvatskim vodama, Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju gdje stječe iskustvo u eksperimentalnim metodama pri analizi vode. Prelaskom u Službu zaštite voda polaže Državni stručni ispit i stječe iskustvo s upravnim aktima na području zaštite voda. U Jedinici za provedbu Projekta unutarnjih voda, od 2009. g., stječe iskustvo u vođenju međunarodnih projekata koji uključuju projektiranje i izgradnju uređaja za pročišćavanje otpadnih voda. U Sektoru razvitka radi na implementaciji informatičkog sustava za izvješćivanje EU po svim "vodnim" Direktivama. Trenutno radi u Sektoru za podršku pripremi i provedbi EU projekata.

U listopadu 2007. g. upisuje interdisciplinarni poslijediplomski znanstveni doktorski studij Ekoinženjerstvo, te 2010. g. prelazi na poslijediplomski znanstveni doktorski studij Biotehnologija i bioproceno inženjerstvo na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. U svom istraživačkom radu se bavi tehnologijama pročišćavanja otpadnih voda, te je do sada objavila tri znanstvena rada. Koautor je poglavlja u knjizi *Applications of Activated Sludge Models*. U ožujku 2016. g je izabrana u zvanje asistenta u Zavodu za hidrotehniku na Geotehničkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, gdje sudjeluje u izvođenju vježbi i seminara u sklopu kolegija „Pročišćavanje otpadnih voda“.

Izvorni znanstveni radovi u CC časopisima:

1. Šikić, T., Welles, L., Rubio-Rincón, F. J., Matošić, M., Brdjanovic, D. (2019) Assessment of enhanced biological phosphorus removal implementation potential in a full scale wastewater treatment plant in Croatia, *Int J Environ Res* **13**, 1005–1013.
2. Šikić, T., Čurko, J., Crnek, V., Horvat, S., Matošić, M. (2016) Feasibility of wastewater treatment plant upgrade by enhanced biological phosphorus removal: Case study Koprivnica, Croatia. *Fresen Environ Bull* **25**, 1811-1819.
3. Šikić, T., Meijer, S.C.F., Širac, S., Matošić, M., Brdjanovic, D. (2017) Five methods for secondary settler design. *Filtration i separation*, **54**, 28-31.

Poglavlje u knjizi:

Meijer, S. C. F., Brdjanovic, D., Šikić, T., Matošić, M., Deduš, B., Širac, S. (2015) WWTP Varaždin, Croatia: Use of models for cost- effective planning of plant retrofit and upgrade scenarios U *Applications of Activated Sludge Models* (Brdjanovic, D., Meijer S. C. F., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht, M. C. M. ured.). London: IWA publishing, str. 267-338