

# Čimbenici EBPR procesa

---

**Kovač, Valentina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2015**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:001924>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-29**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Valentina Kovač**  
6157/BT

**ČIMBENICI EBPR PROCESA**

Završni rad

**Modul: Biološka razgradnja organskih spojeva**

**Mentor: Dr. Sc. *Tibela Landeka Dragičević, izv. prof.***

**Zagreb, 2015.**



Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Tibeli Landeka Dragičević na strpljivom vodstvu,  
razumijevanju i savjetima tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na podršci i ljubavi.

# DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Biotehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda

## ČIMBENICI EBPR PROCESA

*Valentina Kovač 6157/BT*

**Sažetak:** Poboľšani biološki proces uklanjanja fosfata, skraćeno EBPR proces jedan je od važnijih procesa u obradi otpadnih voda. Glavni mikroorganizmi koji sudjeluju u procesu su: PAO (fosfat akumulirajući organizmi), GAO (glikogen akumulirajući organizmi) i DPAO (denitrificirajući fosfat akumulirajući organizmi) zbog kojih se uz uklanjanje fosfata može vršiti i postupak denitrifikacije. Postoje različite izvedbe EBPR procesa upravo s obzirom na položaj denitrifikacije, a osnovna podjela je na dvije grupe: pred- i post-denitrificirajuće EBPR procese. Jedan od važnijih čimbenika uspješnosti procesa je odnos između mikororganizama tijekom procesa kao i smanjenje utjecaja inhibitora.

**Ključne riječi:** EBPR proces, PAO, GAO, DPAO

**Rad sadrži:** 22 stranice, 8 slika, 2 tablice, 13 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

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

**Rad predan:** rujun 2015.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Final work**

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Undergraduate study Biotechnology**  
**Department of Food Engineering**  
**Laboratory for Biological Waste Water Treatment**

### FACTORS CONCERNING EBPR PROCESS

*Valentina Kovač 6157/BT*

**Abstract:** Enhanced biological phosphate removal, short EBPR process is one of the most important processes in wastewater treatment. The main microorganisms involved in the process are: PAO (phosphate accumulating organisms), GAO (glycogen accumulating organisms) and DPAO (denitrifying phosphate accumulating organisms) due to which the process of denitrification can be done alongside with the removal of phosphate. There are different versions of EBPR process due to the position of denitrification, and can be divided in two groups: pre- and post-denitrifying EBPR processes. One of the important factors for the success of the process is the relationship between microorganisms during the process as well as reducing the impact of inhibitors.

**Keywords:** EBPR process, PAO, GAO, DPAO

**Thesis contain:** 23 pages, 8 figures, 2 tables, 13 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

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

**Thesis delivered:** September 2015.

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. Poboljšana biološka metoda uklanjanja fosfora, EBPR proces.....	2
2.1.1. Izvedbe EBPR procesa.....	2
2.1.1.1. EBPR procesi sa pred-denitrifikacijom.....	3
2.1.1.1.1. A <sub>2</sub> O proces.....	3
2.1.1.1.2. UTC proces.....	4
2.1.1.1.3. Pet stupanjski Bardenpho proces.....	5
2.1.1.2. EBPR procesi sa post-denitrifikacijom.....	6
2.1.1.3. EBPR procesi sa kemijskim taloženjem.....	7
2.1.1.4. EBPR procesi sa granuliranim muljem.....	8
2.2. Mikroorganizmi u EBPR procesu.....	10
2.2.1. Fosfor asimilirajući organizmi, PAOs.....	10
2.2.1.1. Mehanizam djelovanja PAOs.....	10
2.2.1.2. Sinteza PHA u anaerobnim uvjetima.....	12
2.2.2. Glikogen asimilirajući organizmi, GAOs.....	13
2.2.3. Denitrificirajući fosfor asimilirajući organizmi, DPAOs.....	14
2.2.4. Kompeticija između PAOs i GAOs.....	16
2.3. Inhibitori EBPR procesa.....	18
2.3.1. Dušikasta kiselina, nitrati i nitriti.....	18
2.3.2. Teški metali.....	19
2.3.3. Amonijak.....	20
2.3.4. Organski supstrati.....	20
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>21</b>
<b>4. LITERATURA</b> .....	<b>22</b>

## **1. UVOD**



Obrada otpadnih voda nužna je iz razloga sprječavanja eutrofikacije, ponovne uporabe voda, nametnuta je s ekonomskog i ekološkog aspekta i regulirana je zakonskim propisima (NN 153/2009).

Važnost vode kao neophodnog elementa za život svih organizama na Zemlji uočili su još antički Grci kada su je smjestili među glavne elemente uz vatru, zrak i zemlju. U današnje, suvremeno doba, voda ima sve veći značaj u industrijskoj proizvodnji jer sve više procesa zahtijeva vodu u svom postupku. Rastom industrije i populacije na zemlji rastao je i problem nedostatka čiste vode uslijed velikih onečišćenja, te se javila potreba za obradom otpadnih voda.

Sve više su se razvijali postupci obrade otpadnih voda, te sada obuhvaćaju procese: mehaničkog, kemijskog i biološkog pročišćavanja, kao i njihove kombinacije.

U ovom radu dan je prikaz spoznaja o biološkom uklanjanju fosfora, primjenom naprednog-poboljšanog biološkog postupka uklanjanja fosfora, EBPR procesa (EBPR, eng. *Enhanced Biological Phosphorus Removal*), koji u odgovarajućim okolnostima može provoditi i denitrifikaciju, uklanjati i nitrate i nitrite iz otpadnih voda. Istaknuti su mikroorganizmi odgovorni za te procese, fosfor akumulirajući (PAOs, eng. *Polyphosphate Accumulating Organisms*) i glikogen akumulirajući organizmi (GAOs, eng. *Glycogen Accumulating Organisms*), te denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi (DPAOs, eng. *Denitrifying Phosphate Accumulating Organisms*), kao i povoljni uvjeti vođenja procesa i aktivnosti tih mikrobnih vrsta, mehanizam djelovanja PAOs, GAOs i DPAOs, njihovo međusobno djelovanje, te inhibitori procesa. Također, istaknuto je kako postići što veću učinkovitost procesa.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## **2.1. Poboljšana biološka metoda uklanjanja fosfora, EBPR proces**

Jedan od prirodnih procesa «starenja» vode je proces eutrofikacije – postupak povećanja razine organskih spojeva u vodi, točnije fosfata i nitrata, što posljedično uzrokuje rast fotosintetskih organizama i algi. U prirodi se taj proces spontano dugo odvija, no zbog sve većeg zagađivanja voda dušikom i fosforom proces eutrofikacije je sve brži te predstavlja i postaje jedan od važnih problema u rješavanju problema obrade otpadnih voda.

U prevenciji eutrofikacije nužno je iz otpadnih voda ukloniti spojeve s N i P.

U sustavima za obradu otpadnih voda, EBPR postupak (Slika 1) se smatra kao ekonomski povoljna i pouzdana metoda (Zengi sur., 2013). Provodi se korištenjem aktivnog mulja i njegovom cirkulacijom kroz anaerobne i aerobne (i/ili anoksične) uvjete. Time se osigurava rast mikroorganizama koji imaju mogućnost skladištenja energije u obliku ugljika i polimera poput: polifosfata, glikogena, polihidroksialkanoata (PHA, eng. *Polyhydroxyalkanoates*) i to kroz unos hlapljivih masnih kiselina u anaerobnim uvjetima (Lanham i sur., 2013).

Postupci biološkog uklanjanja nutrijenata, BNR postupci (BNR, eng. *Biological Nutrient Removal*) temelje se na kombinaciji biološkog uklanjanja dušika i EBPR procesa.

U EBPR procesima razlikuju se dva tipa mikroorganizma: jedni koji akumuliraju polifosfate, fosfat akumulirajući organizmi, PAOs (PAOs, eng. *Polyphosphate Accumulating Organisms*) i oni koji akumuliraju glikogen, GAOs (GAOs, eng. *Glycogen Accumulating Organisms*). Prisutnost GAOs u EBPR procesima se smatra lošim zbog toga što ne pridonose uklanjanju fosfora, a natječu se za isti supstrat s PAOs, te može doći do lošeg provođenja procesa i čak do njegovog potpunog prekida. Osim što se natječu za supstrat, na odnos između PAOs i GAOs utječu i temperatura, pH i izvor ugljika.

Proces se može odvijati i u anoksičnim uvjetima, upravo zbog sposobnosti da određeni PAOs mogu koristiti nitrate i nitrite umjesto kisika kao elektron akceptore, i s time istovremeno provoditi denitrifikaciju i uklanjanje fosfora. To su denitrificirajući PAOs, odnosno DPAOs (DPAOs, eng. *Denitrifying PAOs*). U anoksičnim uvjetima ostvaruje se ušteda u provođenju procesa jer nema potrošnje za aeraciju, i za denitrifikaciju je potreban manji izvor ugljika. To sve pridonosi smanjenju troškova procesa i čini DPAOs vrlo korisnima (Oehmen i sur., 2007).

### **2.1.1. Izvedbe EBPR procesa**

Kombinacija EBPR procesa i uklanjanja dušika iz otpadnih voda spada u BNR procese. Ovisno o poziciji denitrifikacije u procesu, on se najčešće dijeli u dvije skupine i to:

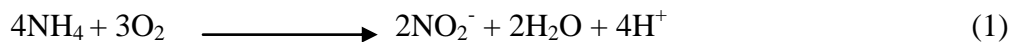
- ✓ pred-denitrifikacijske EBPR procese, i
- ✓ post-denitrifikacijske EBPR procese

Isto tako, postoji metoda koja uključuje i kemijske procese obrade otpadnih voda i nerijetko se kombinira sa EBPR procesima.

#### 2.1.1.1. EBPR procesi sa pred-denitrifikacijom

Osnova EBPR procesa sa pred-denitrifikacijom se temelji na provođenju denitrifikacije ispred aerobne nitrificirajuće faze.

U nitrifikaciji, dvostupnjevitom procesu, provodi se oksidacija  $\text{NH}_4\text{-N}$  u  $\text{NO}_2\text{-N}$  u prvom stupnju procesa, nitritaciji, te daljnja oksidacija  $\text{NO}_2\text{-N}$  u  $\text{NO}_3\text{-N}$  u drugom stupnju procesa, nitrataciji, prikazano jednadžbama 1 i 2.



Postoje različite izvedbe procesa na temelju kombinacija faza procesa (aerobne, anaerobne i anoksične), no tri su osnovne skupine koje se najčešće koriste u obradi otpadnih voda (Oehmen i sur., 2007), i to:

- $\text{A}_2\text{O}$  proces (eng. *Anaerobic Anoxic Aerobic Process*, anaerobno anoksično aerobni proces)
- UTC proces (Sveučilište Cape Town, University of Cape Town)
- Bardenpho proces

Svi imaju zajednički proces recirkulacije suspenzije voda–aktivni mulj (uz reciklaciju aktivnog mulja) i na kraju procesa izlazna voda ide na daljnja pročišćavanja.

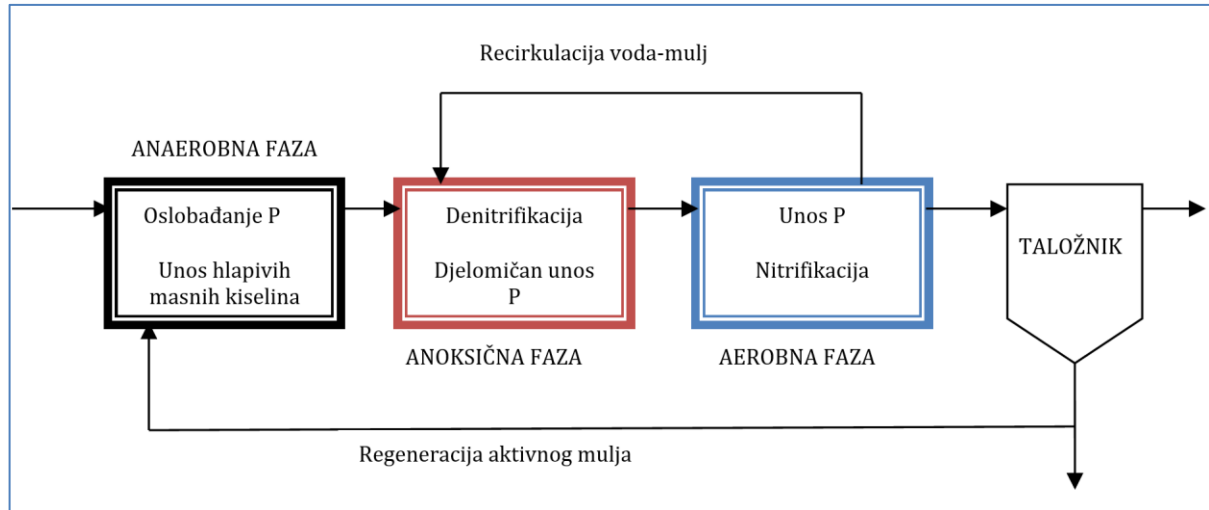
Kako se anoksična (denitrificirajuća) faza nalazi ispred aerobne, nitrificirajuće faze, upravo je recirkulacija suspenzije potrebna da se osigura visoka koncentracija PHA u PAOs stanici.

No, postoje i određeni nedostaci kojima pridonosi recirkulacija suspenzije voda–aktivni mulj poput: veći energetske troškovi, recirkulacija disociranog kisika iz aerobne u anoksičnu fazu, razrjeđenje izvora ugljika, i uklanjanje nitrata i nitrita je limitirano količinom recirkulirane suspenzije, te je nedostižno njihovo potpuno uklanjanje.

##### 2.1.1.1.1. $\text{A}_2\text{O}$ proces

$\text{A}_2\text{O}$  proces temelji se na kombinaciji: anaerobno/ anoksično/ aerobno (Slika 1). Nedostatak ovog procesa je taj što se aktivni mulj s kraja procesa vraća natrag na početak u anaerobnu fazu. Time se nitrati nastali u aerobnoj fazi vraćaju u anaerobnu gdje PAOs mogu iskoristiti hlapive masne kiseline za denitrifikaciju, a ne bivaju skladištene u obliku PHA.

Proces zahtjeva „posebnu“ populaciju PAOs na koje nitrat nema inhibirajuće djelovanje i koji mogu nadjačati ostale denitrificirajuće organizme u borbi za supstrat.

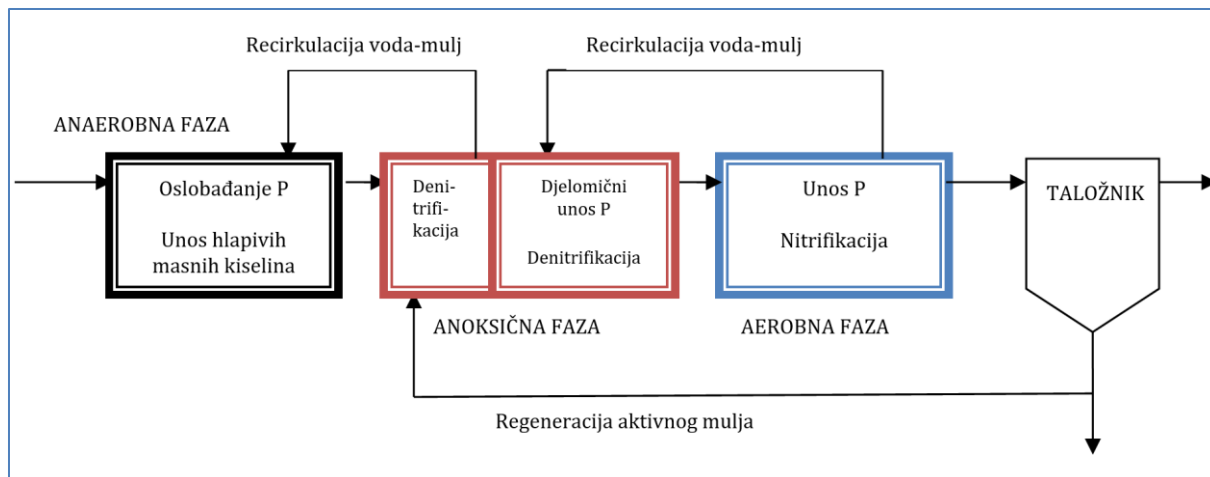


Slika 1. Shema A<sub>2</sub>O procesa (Oehmen i sur., 2007)

#### 2.1.1.1.2. UTC proces

UTC proces (Slika 2) temelji se na istom redoslijedu faza kao kod A<sub>2</sub>O procesa: anaerobna / anoksična / aerobna. Proces se odvija tako što se aktivni mulj iz taložnika vraća u anoksičnu fazu, uz dodatnu regeneraciju iz anoksične faze na početak procesa, anaerobnu fazu, kako bi se povećala potrošnja ugljika i rast biomase.

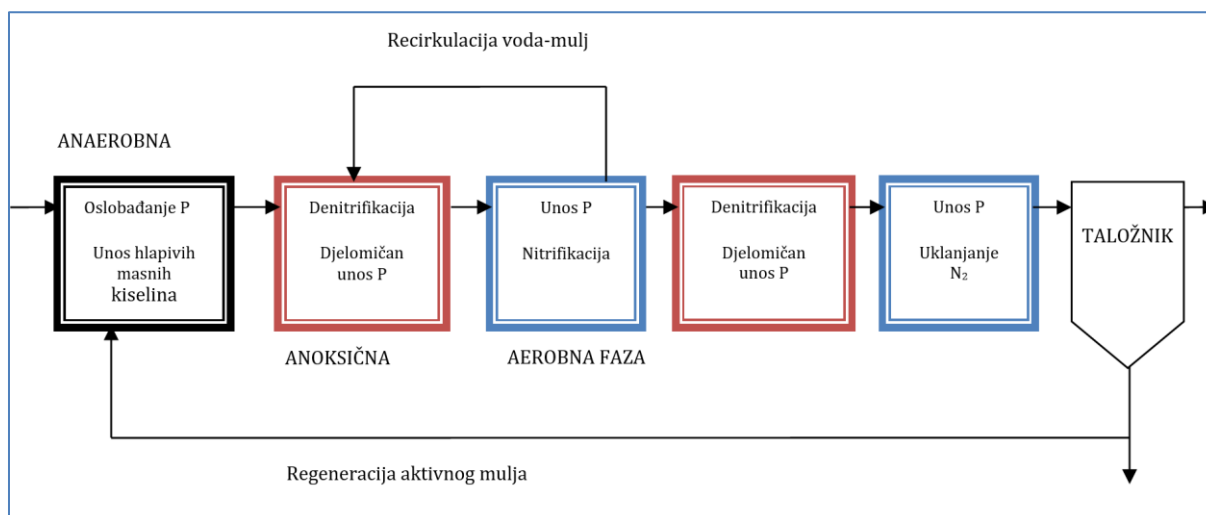
Postoji i modificirani tip UTC procesa u kojem je anoksična faza podijeljena na dva dijela. U osnovni, u drugi dio anoksične faze recirkulira se dio suspenzije voda – aktivni mulj, iz aerobne faze, gdje onda dolazi do denitrifikacije. U prvi dio (manji) stiže niska koncentracija nitrata iz anaerobne faze, koji se brzo denitrificiraju. Isto tako, s kraja tog dijela odlazi dio suspenzije voda–aktivni mulj natrag u anaerobnu fazu.



Slika 2. Prikaz rada modificiranog UTC procesa (Oehmen i sur., 2007.)

### 2.1.1.1.3. Pet stupanjski Bardenpho proces

Za razliku od prijašnja dva procesa, Bardenpho proces (Slika 3) se odvija u pet faza, u kojima se anoksična i aerobna faza ponavljaju, tj. redoslijed faza se odvija u slijedu: anaerobno / anoksično / aerobno / anoksično / aerobno. Prve tri faze identične su  $A_2O$  procesu kojim je dodana još jedna anoksična faza, kako bi se uklonili dušični spojevi u zaostatku tako što stanica koristi svoju pohranjenu energiju, i aerobna faza za dodatno uklanjanje dušikovih oksida i za poboljšanje uklanjanja fosfora.



Slika 3. Shema Bardenpho procesa (Oehmen i sur., 2007)

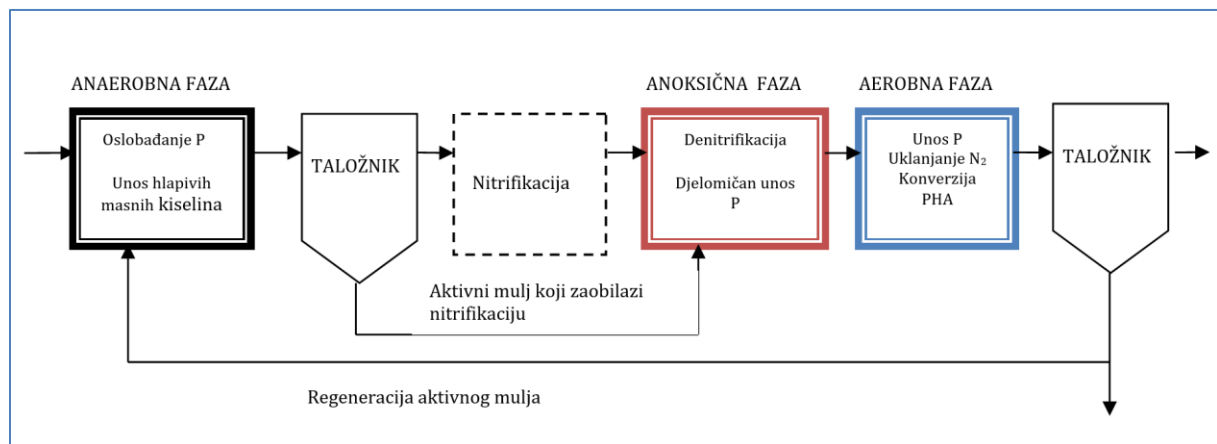
### 2.1.1.2. EBPR procesi sa post-denitrifikacijom

Kod procesa sa post-denitrifikacijom, denitrificirajuća se faza nalazi iza aerobne nitrificirajuće faze i s time se uklanja potreba za recirkulacijom suspenzije voda–aktivni mulj, ali zahtjeva veći prostor zbog dodatnih taložnika. Broj taložnika se može smanjiti sa korištenjem dva SBR-a (šaržni reaktor s pritokom supstrata, SBR, eng. *Sequencing Batch Reactors*): jedan anaeroban / anoksičan i drugi aeroban ili jedan SBR sa nitrificirajućim sustavom na biofilmu.

Vođenje ovog procesa karakterizira upotreba dva aktivna mulja: mulj sa PAOs i nitrificirajući aktivni mulj. Time se izbjegava potrošnja skupljenog PHA unutar stanice (u anaerobnoj fazi) za unos fosfata, s čime bi stanica ostala s malo energije za denitrifikaciju u anoksičnoj fazi.

Zato aktivni mulj s PAOs zaobilazi aerobnu fazu, tj. nitrifikaciju i tako je PHA sačuvan za post-anoksičnu denitrifikaciju. Post-denitrificirajući procesi uspijevaju postići uklanjanje N i P sa >99% uspjeha (Winkler i sur., 2011).

Jedan od primjera ovog procesa je DEPHANOX sustav, Slika 4 (Oehmen i sur., 2007). Sustav sadrži dva taložnika, jedan nakon anaerobne faze, a drugi na kraju procesa. Iza prvog taložnika se nalazi reaktor sa čvrstim nosačem na koji su vezane bakterije koje u aerobnim uvjetima vrše nitrifikaciju. Na kraju sustava se nalazi aerobna faza koja služi kao dodatna sigurnost u slučaju da DPAOs imaju slabiji unos fosfata. Isto tako uklanja ostatke dušikovog plina i potiče sintezu glikogena iz PHA (koji će bit potreban u anaerobnoj fazi).



Slika 4. Shematski prikaz DEPHANOX procesa (Oehmen i sur., 2007)

U tablici 1 su istaknuti još neki procesi vezani uz pred- i post-denitrificirajuće EBPR procese, poput: Orbal proces, proces istovremene nitrifikacije, denitrifikacije i uklanjanja fosfata (SNDPR, eng. *Simultaneous Nitrification Denitrification and P Removal*), te korištenje granuliranog mulja u procesima koji sve više zaokupljaju pažnju zbog svoje ekonomičnosti koja je posljedica poboljšanja stabilnost mulja i zahtjeva manje taložnice.

Tablica 1. Procesu uklanjanja P i denitrifikacije (Oehmen i sur., 2007).

Proces	Pre-denitrifikacija	Post-denitrifikacija	Jedno muljni sustav	Dvo muljni sustav	Reference
A <sub>2</sub> O	X		X		Tchobanoglous et al. (2002)
UTC	X		X		Tchobanoglous et al. (2002)
5 stupnjeviti Bardenpho	X		X		Tchobanoglous et al. (2002)
BioDenipho	X		X		Henze et al. (1997)
BCFS	X		X		van Loosdrecht et al. (1998)
DEPHANOX		X		X	Bortone et al. (1996)
A <sub>2</sub> N		X		X	Kuba et al. (1996c)
MBR	X	X	X		Lesjean et al. (2002)
Orbal	Istovremena nitrifikacija i denitrifikacija		x		Zilles et al. (2002b)
SNDPR	Istovremena nitrifikacija i denitrifikacija		x		Zeng et al. (2003a)

### 2.1.1.3. EBPR procesi sa kemijskim taloženjem

Biološko i kemijsko uklanjanje fosfora i dušika, BCFS proces (BCFS, eng. *Biological and Chemical P and N Removal*) je proces sličan modificiranom UTC procesu ali se temelji na kemijskom taloženju. Kemijsko taloženje je još jedan način kojim se pospješuju procesi denitrifikacije i uklanjanja fosfora.

U BCFS procesu integriran je sustav za uklanjanje fosfora, kako bi se odvojio dio efulenta iz anaerobne faze za kemijsko izdvajanje fosfora, kada biološko uklanjanje fosfora nije dovoljno uspješno.

Kemijsko taloženje se najčešće izvodi u EBPR procesu nakon anaerobne faze. Ono uzrokuje istovremeno smanjenje koncentracije fosfata i njegov povrat u obliku budućeg izvora energije, a provodi se dodavanjem soli više valentnih iona metala (Ca, Al, Fe), polimera ili vapna.

Soli aluminija (Al<sup>3+</sup>) i željeza (Fe<sup>2+</sup> i Fe<sup>3+</sup>), koji se koriste u kemijskim metodama uklanjanja fosfora, imaju inhibirajuće djelovanje ako se pojave u biološkim procesima. Iz tog razloga se preporuča njihovo isprekidano dodavanje u sustavima istovremenog korištenja kemijskog i biološkog procesa uklanjanja fosfora.



Prvi patentirani sustav za komercijalno uklanjanje fosfata (bez denitrifikacije) je PhoStrip. Taj sustav temelji se na kombinaciji biološkog i kemijskog uklanjanja fosfata. Radi na principu aeracije suspenzije aktivnog mulja i vode koja se pročišćuje, pri čemu mikroorganizmi troše fosfor i tako ga uklanjaju. Sastoji se od jednog bioreaktora sa aeracijom i taložnika. Nakon bioreaktora, u pročišćivaču se odvaja jedna „struja“ vode koja odlazi u anaerobni tank gdje dolazi do oslobađanja fosfata i taloženja mulja. Mulj se vraća natrag u proces, a supernatant sa fosforom odlazi u taložni tank u kojem se oslobođeni fosfor taloži i potom baca, a supernatant iz tog tanka se dodaje ulaznoj ili izlaznoj vodi (Henze, 2008).

#### **2.1.1.4. EBPR procesi sa granuliranim muljem**

Korištenje granuliranog mulja u obradi otpadnih voda sve se više pokazuje kao bolji i isplativiji izbor. Osim što smanjuju procesne troškove, granule imaju gustu i kompaktnu strukturu, veliku brzinu taloženja, dobro podnose opterećenja organskim sastojcima, imaju visoku toleranciju na toksične uvjete i dr.. Granule imaju širok spektar primjene u obradi otpadnih voda jer mogu sudjelovati u procesima u kojima se uklanjaju: spojevi fosfora, dušika, sumpora, teški metali, kemijska potreba za kisikom, bojila pa čak i nuklearni otpad (Wu i sur., 2010).

Granule se definiraju kao nakupina mikrobnih flokula koje nastaju postupcima samo-imobilizacije pod određenim uvjetima u obradi otpadnih voda, te se mogu koristiti u aerobnim i anaerobnim uvjetima.

Građa granule se može podijeliti na dva dijela: vanjski – dispergirani i unutarnji – stabilni dio. Stabilni dio sadrži biomasu čvrsto povezanu s takozvanim izvanstaničnim polimernim supstratima (EPS, eng. *Extracellular Polymeric Substances*). Unutarnji dio je dispergirani i povezan je slabije sa EPS iz razloga što se oni troše kao izvor energije organizmima koji se nalaze u tom dijelu. Unutar ta dva dijela granule, za EBPR proces, nalaze se organizmi potrebni za odvijanje procesa (PAOs, GAOs, DPAOs). Raspored mikroorganizama unutar granule utječe na uspješnost procesa i upravo zbog njihovog rasporeda granulirani mulj prednjači s obzirom na druge oblike.

U dispergiranom djelu nalaze se GAOs, a PAOs se nalaze i u tom djelu ali i u unutrašnjosti granule, odnosno u stabilnijem djelu granule. Zbog svoje blizine površini GAOs imaju brži i lakši «dohvat» - pristup energiji iz okoline granule, a u isto vrijeme su izloženi mogućim inhibitorским čimbenicima, poput dušikaste kiseline kod procesa uklanjanja dušikovih spojeva. Upravo zato što prvo utječu na njih (na GAOs), na PAOs djeluje manja koncentracija inhibitora. Odnos između unosa izvora energije i koncentracije inhibitora utječe na kontrolu

koncentracije GAOs u granulama, time dajući prednost PAOs. Iz tog razloga kod većih koncentracija nitrata, nitrita i dušikaste kiseline granulirani mulj pokazuje veću otpornost prema inhibiciji te je odnos  $P_{unos}/N_{redukcija}$  znatno veći nego kod flokuliranog mulja. U denitrificirajućim procesima kod niskih koncentracija nitrata, nitrita i dušikaste kiseline granulirani mulj ima manju uspješnost nego flokulirani mulj.

Iako su GAOs nepoželjni u EBPR procesima, u ovom slučaju, služe kao vrsta zaštite za PAOs, njihovo potpuno uklanjanje šteti uspješnosti samog procesa i imaju važnu ulogu u procesima denitrifikacije sa granuliranim muljem (Wang i sur., 2015).

Prostornom raspodjelom fosfora u granulama može se ukazati na različitu aktivnost uklanjanja fosfora u različitim područjima granula. Tamo gdje je koncentracija fosfora veća (u arebonoj fazi) tamo je veća i koncentracija PAOs.

Još jedan način kontrole kompeticije između PAOs i GAOs jest preko uklanjanja mulja, pri različitim visinama u muljnom bazenu. PAOs akumulira visoke koncentracije poli-fosfata nakon aerobne ili anoksične faze te je tom granuliranom mulju sa PAOs kao dominantnim mikroorganizmima brzina taloženja veća od granuliranog mulja sa GAOs (Wang i sur., 2015). Na biološku aktivnost granuliranog mulja ujedno utječu i veličine pora kod granula kroz koje se odvija transport supstrata. Površinski sloj granule bi trebao biti opušteniji sa većim porama, dok bi unutrašnjost trebala imati veću gustoću sa manjim porama. Veća gustoća unutar granule onemogućuje odvijanje određenih reakcija toksičnih supstanci i tako zaštićuje osjetljive mikroorganizme poput PAOs, DPAOs. Manje granule imaju bolju raspodjelu i strukturu pora od većih granula. To se zaključilo uspoređujući vrijednosti veličine pora, površine granula te adsorpcijskih sposobnosti granula. Prijenos supstrata iz tog razloga je bolji kod granula manje veličine, odnosno manje granule imaju sveukupno bolje rezultate u uklanjanju fosfata. Veličine pora se ujedno proporcionalno smanjuju sa povećanjem veličine granula, te se ujedno smanjuje i poroznost. Poroznost granule, tj. porozni sloj granule može se izračunati s obzirom na veličinu granula prema formuli (jednadžba 3) (Wu i sur., 2010):

$$\frac{Dg}{Hl} = \dots \quad (3)$$

gdje je:

$Hl$  = debljina poroznog sloja ili sloja biomase

$Dg$  = promjer pora granule

Na veličinu granula utječe i koncentracija dušika, te je potrebno u EBPR procesima održavati razinu koncentracije N u vrijednosti koja neće remetiti proces. Negativan učinak je primjerice

ako dođe do povećanja koncentracije dušika koji ulazi u granulu. Povećanjem koncentracije dušikovih spojeva povećava se omjer protein/saharoza koji igra veliku ulogu u stabilnosti granule iz razloga što može dovesti do «sloma»-raskidanja, narušavanja kakvoće granule i potpunog smanjenja u njezinoj veličini, uzrokujući slabiju denitrifikaciju i time dovodeći do povećane koncentracije dušikovih spojeva u izlaznoj vodi iz procesa. Posljedično s time, povećanjem njihove koncentracije dolazi do inhibicijskog efekta na mikroorganizme procesa. Inhibiranjem PAOs pada razina fosfata u anaerobnoj fazi što dodatno utječe na lom granule. Nasuprot tome, smanjenjem koncentracije dušikovih spojeva, smanjuje se i omjer protein/saharoza, čime dolazi do stabilnosti rada granula, a time do boljeg učinka u uklanjanju dušikovih spojeva i fosfata iz vode, općenito do boljeg rada EBPR procesa (Zou i sur. 2015).

## **2.2. Mikroorganizmi u EBPR procesu**

Mikroorganizmi u EBPR procesu su PAOs (fosfor akumulirajući organizmi), GAOs (glikogen akumulirajući organizmi) i DPAOs (denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi).

### **2.2.1. Fosfor akumulirajući organizmi, PAOs**

U procesu EBPR prvi mikroorganizam koji se smatrao kao jedini odgovoran za uklanjanje fosfora je *Acinetobacter*. Kasnije, korištenjem novih tehnologija i biotehnoloških metoda otkriveno je da postoji velika raznolikost u fosfor uklanjajućim organizmima. Danas se smatra da u biološkom procesu uklanjanja P najveću ulogu i brojnost imaju *Candidatus Accumulibacter phosphatis* (Oehmen i sur., 2007).

PAOs se mogu podijeliti u dvije skupine, s obzirom na elektron akceptore:

- I. aerobne PAOs, koji koriste kisik, i
- II. denitrificirajuće PAOs, koji koriste kisik i nitrate kao elektron akceptore

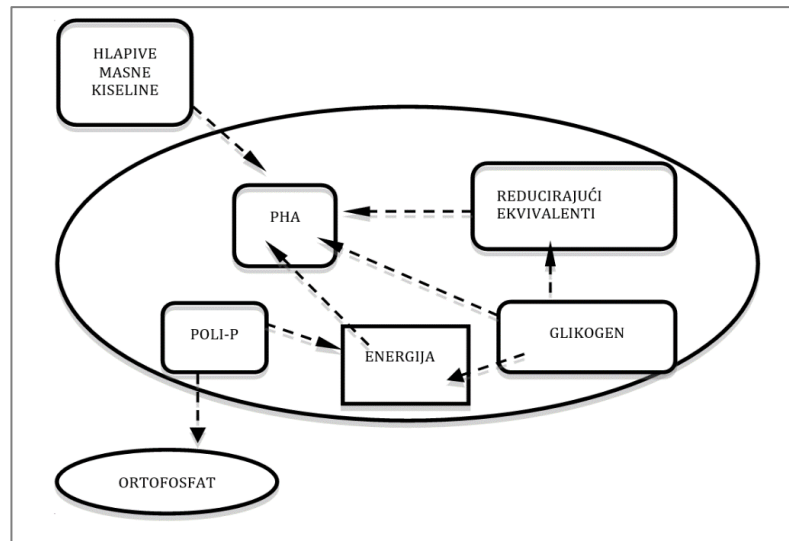
#### **2.2.1.1. Mehanizam djelovanja PAOs**

Postupak uklanjanja fosfora iz otpadnih voda, koji se pojavljuje u obliku ortofosfata ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), temelji se na adsorpciji P u organizam, i to u anaerobnoj fazi ugrađivanjem P u biomasu, i u aerobnoj fazi unutarstanično nagomilavanje ortoP u obliku polifosfata.

Mehanizam djelovanja PAOs, je slijedeći:

## I./ prva faza mehanizma djelovanja PAOs, anaerobni uvjeti

Mehanizam djelovanja PAOs u anaerobnim uvjetima prikazan je slikom 6. U anaerobnim uvjetima u stanicu se unose hlapive masne kiseline kao izvor ugljika, i skladište se u obliku poli- $\beta$ -hidroksialkanoata (PHA, eng. *Polyhydroxyalkanoates*). PHA se u stanici dobiva i razgradnjom glikogena, iz kojeg se dobivaju i reducirajući ekvivalenti. Energija za te bioprocese oslobađa se razgradnjom glikogena, hidrolizom unutarstanično pohranjenog polifosfata i oslobađanjem-otpuštanjem orto-fosfata iz stanice.



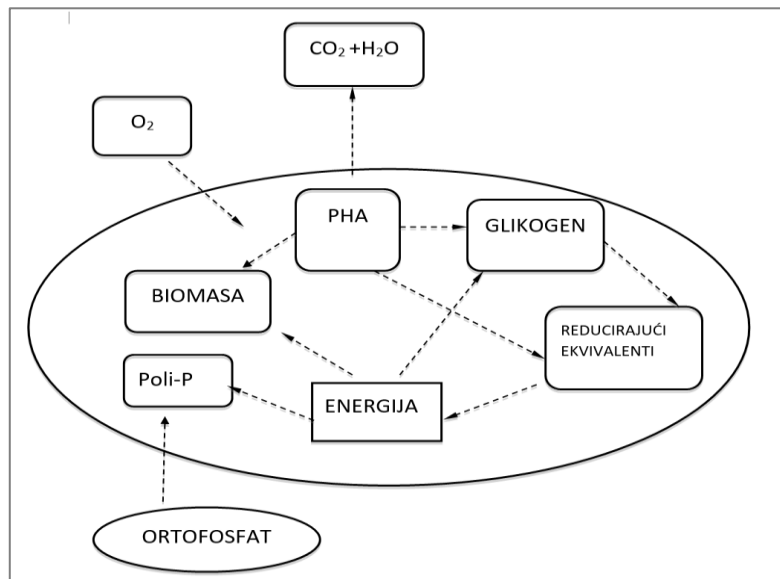
Slika 6. Mehanizam anaerobne asimilacije P

## II./ druga faza mehanizma djelovanja PAOs, aerobni/anoksični uvjeti

Mehanizam djelovanja PAOs u aerobno/anoksičnim uvjetima prikazan je slikom 7. U uvjetima aerobno/anoksično, PAOs koriste pohranjeni PHA kao izvor energije. PHA se razgrađuje na acetil-CoA i propionil-CoA koji se koriste kao izvor ugljika i energije za rast biomase, ponovnu sintezu glikogena, pohranjivanje polifosfata i asimilaciju fosfora. Dio ATP (adenozin tri-fosfat) se koristi za unos fosfata i sintezu polifosfata.

Potrošnja/unos fosfata u aerobnoj fazi je veća od oslobađanja P u anareobnoj fazi, te se temeljem te bilance uklanja fosfor iz voda.

Na kraju procesa aktivni mulj sa PAOs bogatima sa polifosfatima se uklanja iz sustava.

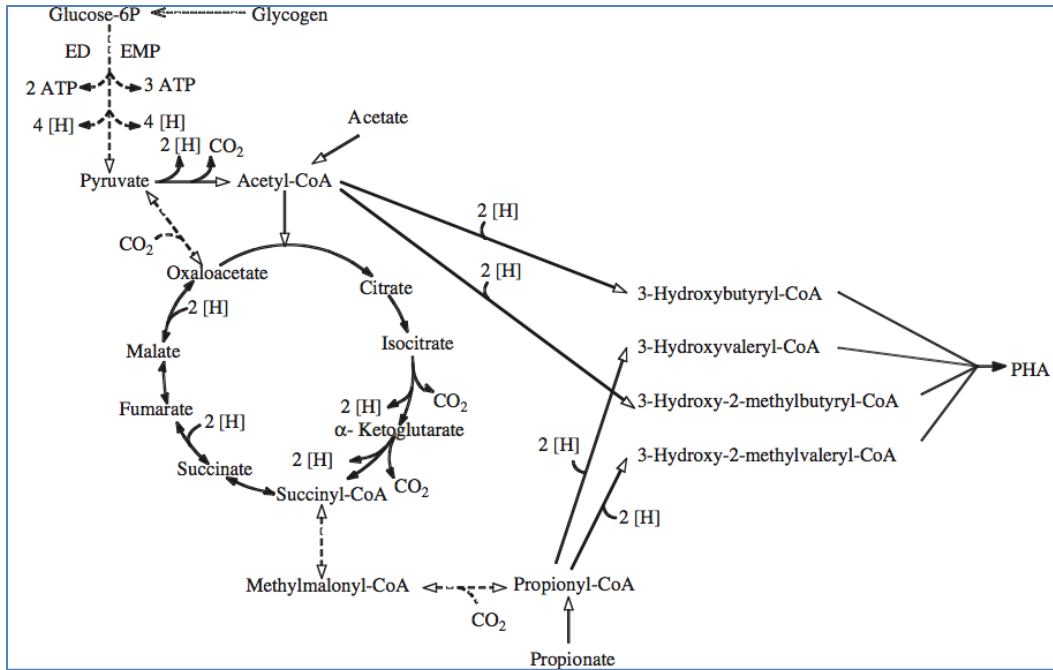


Slika 7. Mehanizam aerobne asimilacije P

### 2.2.1.2. Sinteza PHA u anaerobnim uvjetima

U EBPR procesu jedan od glavnih izvora ugljika je acetat. Za započinjanje biokemijske reakcije potreban je transport acetata u stanicu organizma koji se odvija pomoću sekundarnog transporta, odnosno pomoću proton pokretačke sile koja se nakuplja fluksom fosfata i protona kroz Pit transportere. Ulaskom acetata u stanicu započinje metabolički put u kojim se dobiva acetil-CoA, uz potrošnju ATP, koji se dobiva transferom energetski bogate fosfatne grupe od polifosfata do ADP. Dvije molekule acetil-CoA se kondenziraju u acetoacetyl-CoA uz redukciju NADH u 3-hidroksibutiril-CoA, a njegovom polimerizacijom nastaje poli- $\beta$ -hidroksibutirat (PHB) (Oehmen i sur., 2007).

Metabolički put za sintezu PHA i reducirajućih ekvivalenata kod PAOs prikazan je slikom 7.



Slika 7. Anaerobni metabolički put za sintezu PHA i reducirajućih ekvivalenata kod PAOs (Oehmen i sur., 2007).

Reducirajući ekvivalenti se dobivaju:

- ciklusom karboksilne kiseline, i
- glikolizom iz glikogena.

Ako je u stanici manja koncentracija glikogena, zbog manjeg unosa hlapivih masnih kiselina ili glikogena, stanica usmjerava metaboličke putove preko ciklusa karboksilnih kiselina.

Na taj način stanica koristi više polifosfata kao osnovni izvor energije dovodeći do porasta koncentracije omjera P/HAc, što u konačnici znači slabije uklanjanje fosfata.

Zaključak je: korištenjem ciklusa karboksilne kiseline za dobivanje reducirajućih ekvivalenata u anaerobnim uvjetima, PAOs imaju smanjeni potencijal za uklanjanje fosfora u aerobnim uvjetima, dok je glikoliza zapravo poželjnija i korisnija u procesu upravo zato jer će na kraju stanica imati veću koncentraciju PHA, a manje slobodnih fosfata u aerobnoj fazi, što će rezultirati boljim uklanjanjem fosfata (Lanham i sur., 2013).

### 2.2.2. Glikogen akumulirajući organizmi, GAOs

Glikogen asimilirajući organizmi, GAOs, su organizmi koji mogu rasti i razvijati se u EBPR procesima koristeći glikogen kao osnovni izvor energije, ali bez doprinosa u uklanjanju P.

U procesima se najčešće pojavljuju *Candidatus Compectibacter phosphatis* i *Alfaproteobacteria Defluviicoccus Vanus* (Taya i sur., 2013). Oni energiju iz razgradnje

glikogena troše za transport hlapivih masnih kiselina u stanicu i sintezu PHA (anaerobni uvjeti), te se u aerobnim uvjetima PHA oksidira, a glikogen se natrag sintetizira. Transport masnih kiselina u stanicu se odvija na sličan način kao kod PAOs. Proton pokretačka sila nastaje prolazom protona kroz ATP-azu uz potrošnju ATP i uz fumarat reduktazu iz ciklusa karboksilne kiseline.

### **I./ Mehanizam djelovanja GAOs, prva faza, anaerobni uvjeti**

Unosom izvora energije u stanicu započinje sinteza PHA i reducirajućih ekvivalenta. Glikogen je osnovni izvor energije u stanici i zato je potreban u većim koncentracijama za sintezu ATPa. i time nastaje više reducirajućih ekvivalenata (za redukciju acetil-CoA do PHB), a da se održi redoks ravnoteža u stanici NADH se oksidira redukcijom piruvata do propionil-CoA. Piruvat ulazi u ciklus karboksilne kiseline, gdje nastaje sukcinil-CoA iz kojeg se dobiva propionil-CoA i to metil-malonil metaboličkim putem.

Tako GAO sintetiziraju i acetil-CoA i propionil-CoA, te za razliku od PAO, PHV (poli-β-hidroksivalerat) nastaje u većem postotku (kod PAO nastaje u jako malim koncentracijama) (Oehmen i sur., 2007).

### **II./ Mehanizam djelovanja GAOs, druga faza, aerobni uvjeti**

U aerobnim uvjetima oksidacijom PHV i PHB se dobiva energija za rast biomase, rast stanice i glukoneogenezu. Metabolizam je sličan kao kod PAOs sa jednom velikom i bitnom razlikom, nema čuvanja polifosfata.

#### **2.2.3. Denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi, DPAOs**

Denitrifikacija je proces redukcije nitrata ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) i nitrita ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) u anaerobnim i/ili anoksičnim uvjetima doplinovitog dušika, slijedom reakcija:



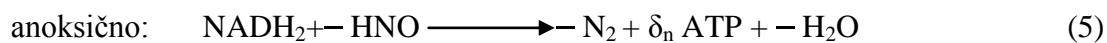
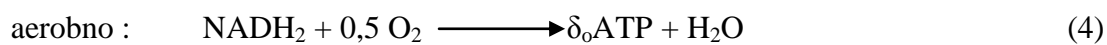
Sposobnost PAOs da provode denitrifikaciju uz uklanjanje fosfora je velika prednost za EBPR procese.

Karakterizira ih korištenja nitrata i nitrita kao elektron akceptora za uspješni unos fosfata i uklanjanje dušičnih spojeva u isto vrijeme. Za razliku od PAOs koji mogu koristiti samo kisik DPAOs mogu koristiti i N i  $\text{O}_2$  kao elektron akceptore.

Iako imaju slabiju učinkovitost u proizvodnji energije od PAOs, zbog čega u usporedbi sa PAOs imaju slabiju sposobnost uklanjanja fosfata, ekonomski su isplativi za provođenje EBPR procesa, jer zahtijevaju manje aeracije i manje ugljika kao izvora energije.

Uspoređujući biološke procese DPAOs i PAOs uočeno je da se ne razlikuju, osim u dva koraka, a to su: proizvodnja ATP i uklanjanje fosfora, a ostali biološki procesi poput razgradnje PHB, sinteze polifosfata i glikogena, rast i održavanje stanice su isti.

Razlike u dobivanju ATP pri aerobnim uvjetima uz PAOs i anoksičnim uvjetima uz DPAOs (García-Usach i sur., 2010), prikazana je jednadžbama 4 i 5.



vrijedi da je  $\delta_o > \delta_n$

$\delta_o$ - količina nastalog ATP.a po  $\text{NADH}_2$  gdje je elektron akceptor kisik

$\delta_n$ - količina nastalog ATP.a po  $\text{NADH}_2$  gdje je elektron akceptor nitrat

Iz toga proizlaze dvije teze zašto DPAOs imaju slabiju učinkovitost od PAOs:

- I. Pošto je nitrat elektron akceptor, a ne kisik kao kod PAOs, prinos energije je manji, odnosno nastaje manje ATP oksidativnom fosforilacijom i time nastaje manja količina biomase na kraju procesa
- II. Samo DPAOs mogu koristiti nitrat kao elektron akceptore i onda je koncentracija organizma koji mogu asimilirati fosfate manja i time učinkovitost slabija

Također, pokazalo se da DPAOs treba izložiti anoksičnim uvjetima kako bi se stimulirali denitrificirajući biokemijski putevi, točnije kako bi se više aktivirao enzim nitrat reduktaza. Provodeći proces bez anoksičnih uvjeta, enzim nitrat reduktaza je prisutna u limitiranim količinama, čime anoksično uklanjanje fosfata aktivnošću DPAOs pada na vrijednosti oko 15%.

Za razliku od nitrat reduktaze, enzimi za aerobno uklanjanje fosfata su uvijek prisutni (López-Vázquez i sur., 2008).

U radu s DPAOs potrebno je dobro definirati proces, odnosno faze procesa. Vođenjem procesa sa pred-denitrifikacijom, poput UTC procesa, bolje se aktivira DPAOs, odnosno uvjeti za njihov rad su izričito povoljni dobivajući tako odlične rezultate provođenjem procesa (López-Vázquez i sur., 2008).

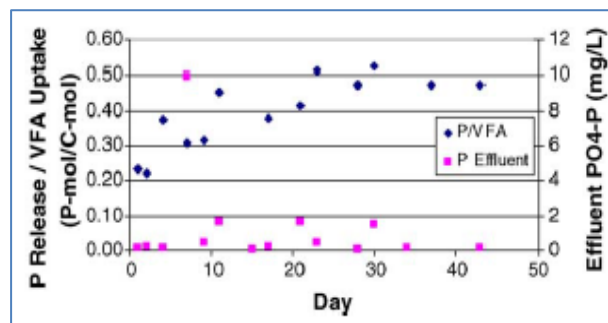


#### 2.2.4. Kompeticija između PAOs i GAOs

U vođenju EBPR procesa potrebno je smanjiti učinak GAOs, jer smanjuju učinkovitost procesa, utječu na krajnje rezultate procesa i povisuju cijenu provođenja procesa.

Pokazalo se da različiti čimbenici utječu na odnos između PAOs i GAOs, te da se na određene načine može smanjiti utjecaj GAOs. Prvenstveno se pokazalo da različiti izvori ugljika imaju različite učinke na aktivnosti PAOs i GAOs. Tako, ako je izvor ugljika acetat, GAOs se podjednako natječu sa PAOs, dovodeći do pojave nestabilnosti u EBPR procesu. Korištenjem propionata kao izvora energije, GAOs se slabije natječu za izvor ugljika sa PAOs koji jednakom brzinom koriste propionat kao i acetat.

Provođenjem eksperimenta u SBR reaktoru u kojem se nalazi podjednaka koncentracija PAOs i GAOs te propionat kao jedini izvor energije, pokazalo se da PAOs imaju veliku aktivnost. Rezultati tih istraživanja prikazani su slikom 8. Može se uočiti da porastom omjera  $P_{\text{otpušten iz stanice}}/VFA_{\text{unešen u stanicu}}$  dok je koncentracija fosfata u izlaznoj vodi mala nema smetnji GAOs (Oehman i sur., 2006).



Slika 8. Učinak omjera  $P_{\text{otpušten iz stanice}}/VFA_{\text{unešen u stanicu}}$  i izlaza P, u SBR uz PAOs i GAOs (Oehman i sur., 2006).

U realnim uvjetima, tj. u otpadnim vodama se nalaze i acetat i propionat, pa se u EBPR procesima može osigurati prednost PAOs nad GAOs tako što se još doda određena koncentracija propionata ili provodeći otpadnu vodu kroz predfermentor koji će osigurati veću koncentraciju propionata.

Na odnos između PAOs i GAOs utječe i temperatura. Pokazalo se, u istraživanju López-Vázquez i sur. (2008) da pri temperaturi  $<20^{\circ}\text{C}$  PAOs imaju prednost pred GAOs, iako se pri tim vrijednostima temperature usporava biološko djelovanje stanice. Povišenjem temperature koncentracija oslobođenog fosfora se povećavala tj. već pri temperaturi iznad  $20^{\circ}\text{C}$  situacija

se mijenja u korist GAOs i dolazi do slabijeg rada EBPR procesa (López-Vázquez i sur. (2008).

Vrijednost pH također utječe na EBPR proces, na odnos PAOs i GAOs. Povišenjem pH vrijednosti GAOs mogu slabije unositi acetat u stanicu jer nemaju dovoljan izvor energije s kojim bi premostili povećanje energetske potrebe za unos acetata. Povišenjem pH se javlja veća razlika u električnom potencijalu duž membrane stanice i zbog toga je potrebna veća energija za transport acetata u stanicu. Na PAOs povećanje pH ne utječe, jer oni imaju unutarstanično pohranjene polifosfate čijom razgradnjom si osiguravaju potrebnu energiju, dok ih GAOs nemaju. Uz to, pri višim vrijednostima pH, uz prisutnost nitrata u sustavu, manje su koncentracije slobodne dušične kiseline (FNA, eng. *Free Nitrous Acid*), koja ima inhibirajuće djelovanje na unos fosfora kod PAOs.

U istraživanju Taya i sur. (2013) pokazalo se kako provođenjem EBPR procesa kroz anaerobne/anoksične uvjete uz propionat kao izvor energije može doći do potpunog uklanjanja GAOs uz rast PAOs. Istraživanje se provodilo tako da se u sustavu nalazila veća koncentracija *Defluviococcus* u odnosu na *Competibacter*. Ta dva GAOs organizma imaju različite sposobnosti s obzirom na izvor energije i korištenje nitrata i nitrita kao elektron akceptore. *Defluviococcus* koristi propionat kao izvor energije ali ne može iskoristiti nitrat, dok *Competibacter* koristi acetat kao izvor energije i može iskoristiti nitrate.

Aktivnost PAOs i GAOs za proces denitrifikacije u ovisnosti o vrsti izvora C prikazana je u tablici 2.

Tablica 2. Usporedba PAOs i GAOs zadenitrifikaciju s obzirom na izvor energije (Taya i sur., 2013)

Vrsta	Preferirana VFA	Denitrifikacijski kapacitet	
		NO <sub>3</sub> -N	NO <sub>2</sub> -N
<i>Accumulibacter</i> PAO I	Acetat i propionat	✓	✓
<i>Accumulibacter</i> PAO II		x	✓
<i>Competibacter</i>	Acetat		
Sub-grupa 1, 4, 5		✓	x
Sub-grupa 3, 7		x	x
Sub-grupa 6		✓	✓
<i>Defluviococcus</i> DFI	Propionat	✓	x
<i>Defluviococcus</i> DFII		x	x

*Defluviicoccus* se nalazio u većoj koncentraciji s obzirom na *Competibacter*, koji može imati veću prednost prema nitratu od PAOs organizama. Pošto se koristi propionat kao izvor energije, *Competibacter* ne može vršiti svoje djelovanje i time biva uklonjen, a pošto se odvija pod uvjetima denitrifikacije *Defluviicoccus* ne može vršiti svoje djelovanje i time je maknut utjecaj GAOs organizma na EBPR proces i dobiva se aktivni mulj bogat sa PAOs organizmima (Taya i sur., 2013).

### **2.3. Inhibitori koji utječu na mikroorganizme u EBPR procesu**

Provođenjem EBPR procesa, kao i svakog biotehnološkog procesa, treba pripaziti na čimbenike koji mogu ugroziti njegovu uspješnost. Jedan od već spomenutih čimbenika karakterističan za EBPR proces je smanjenje GAOs. Nadalje, prisutnost nitrita, odnosno dušične kiseline, utječe štetno na EBPR proces, odnosno može se u potpunosti smanjiti djelovanje željenih PAOs.

Od ostalih čimbenika koji mogu štetno utjecati na EBPR proces, istaknuti su: nitrat, teški metali, amonijak, te koncentracija organskih supstrata (Zeng i sur., 2014).

#### **2.3.1. Dušična kiselina, nitrati, nitriti**

Dušična kiselina je slaba kiselina, protonirani oblik nitrita (soli dušikaste kiseline), koja se vrlo brzo raspada na spojeve dušikovih oksida. Smatra se da je njeno nakupljanje toksično za stanice PAOs i GAOs i može dovesti do postupnog smanjenja djelovanja mikroorganizama u EBPR procesu, odnosno do njihove inhibicije. U reguliranju odnosa PAOs i GAOs, dušična kiselina u EBPR procesu je neželjena. Razlog tome je što GAOs organizmi imaju veću otpornost prema djelovanju dušične kiseline i nitrita na njihov anaerobni metabolizam. Smatra se da je toksičnost **nitrita** posljedica njihovog djelovanja na membrane stanica bakterija i ometanja unutarstanične proizvodnje energije. Unosom **dušične kiseline/nitrita** u stanicu dolazi do naglog pada proizvodnje ATP u stanici, a isto tako smanjuje se unos fosfata u aerobnoj fazi, jer utječu na aktivnost poli-fosfat kinaze i razgradnju PHA. Unos fosfata u anoksičnoj fazi ne pokazuje toliku osjetljivost na prisutnost nitrita i dušikaste kiseline, jer upravo u toj fazi on služi kao elektron akceptor. Zato anoksična faza može tolerirati više koncentracije nitrita. U toj fazi koncentracija nitrita izaziva inhibiciju tek iznad 5mgN/L, za razliku od aerobne faze gdje već kod 2 mgN/L pojavljuje se djelomična inhibicija, a iznad 6 mgN/L dolazi do potpune inhibicije (Zeng i sur., 2014). Također, uz različito djelovanje nitrita, s obzirom na fazu u EBPR procesu, njihovo inhibirajuće djelovanje ovisi i o nekim drugim dijelovima samog procesa, poput vrste aktivnog mulja koji se koristi, konfiguraciji

reaktora kao i o sastavu otpadne vode koja se pročišćuje. Uz sve to pokazalo se da neki modeli obrade otpadne vode imaju prednost nad drugima, tako obrada otpadnih voda uz granulirani mulj ima veću otpornost prema ovim inhibitorima, te membranski bioreaktori imaju veću otpornost od „klasičnih“ sekvencioniranih šaržnih bioreaktora. Pojava **nitrata** u anaerobnim uvjetima također može dovesti do neuspjelog EBPR procesa. Upravo zbog njegove prisutnosti dolazi do inhibicije PAOs stanica i do poticanja kompeticije između PAOs i drugih denitrificirajućih organizama za supstrate. Za razliku od anaerobnih, u anoksičnim uvjetima nitrat je poželjan u odgovarajućim koncentracijama. Također je u tim uvjetima odgovoran za kompeticiju među organizmima. Ako je koncentracija nitrata manja od one koja je potrebna drugim (heterotrofnim) organizmima da provode denitrifikaciju, onda će oni u tom slučaju nadjačati PAOs organizme, što je loše za proces. No, ako je koncentracija nitrata dovoljno visoka, tj. veća od one koju ostali organizmi trebaju, onda će PAOs moći iskoristiti taj suvišak nitrata i spriječiti njihovo nakupljanje u bioreaktoru.

### **2.3.2. Teški metali**

Teškim metalom se smatra svaki metal određene gustoće koji ima toksično djelovanje. Oni se prirodno nalaze u zemlji, ali zbog ljudskog utjecaja njihova pojava je sve češća. Pojavljuju se u tvornicama, ljudi ih unose u svoje organizme, što prehranom, što udisanjem.

Također se nalaze i u vodama, te otežavaju procese obrade otpadnih voda zbog svojeg prisustva u organskom i/ili anorganskom obliku. Neki od metala koji spadaju u teške metale su: bakar (Cu), srebro (Ag), krom (Cr), kositar (Sn), selenij (Se), cink (Zn).

Tijekom EBPR procesa najčešće djeluju inhibirajuće i u aerobnoj fazi i u anaerobnoj fazi.

Tako npr. bakar u aerobnoj fazi djeluje inhibirajuće na sintezu PHA jer inhibira enzim acetyl-CoA sintetazu, a u anaerobnoj fazi inhibira djelovanje enzima poli-fosfat kinaze, čime posljedično utječe na smanjenje izvora energije za razgradnju PHA i time unos fosfata.

Srebro inhibira unos izvora ugljika, te inhibira transformaciju unutarstaničnih metaboličkih intermedijera zajedno sa glikogenom i PHA. Prisutnost srebra već pri 1 mg/L smanjuje efikasnost EBPR procesa za 51,2%, a pri koncentraciji veći od 2 mg/L EBPR proces više nije efikasan odnosno ne dolazi do uklanjanja fosfata, kao što se događa u prisutnosti kroma pri koncentracijama većim od 5 mg/L (Zeng i sur., 2014). Izričito je važno poznavati toksičnost teških metala i točne koncentracije pri kojima uzrokuju inhibiciju u procesima uklanjanja fosfata kako bi se ona mogla spriječiti.

### **2.3.3. Amonijak**

Pojava amonijaka dovodi do pada pH vrijednosti što rezultira inhibirajuće na rast PAOs, a u isto vrijeme slabo djeluje na GAOs. Time GAOs dobiva prednost nad PAOs, i kao što je već spomenuto, utječe loše na efikasnost EBPR procesa. Njegovo je djelovanje inhibirajuće i na EBPR sustave sa granuliranim muljem. Zabilježeno je da djeluje na njihovu stabilnost i morfologiju, te već iznad 17,76 mgN/L amonijak utječe toksično na metabolizam fosfata kod PAOs (Zeng i sur., 2014).

### **2.3.4. Organski supstrati**

Za provođenje svakog procesa sa određenim organizmom, pa tako i EBPR procesa, izvor organskih supstrata je od najveće važnosti i bez njih se proces ne bi mogao odvijati. Iako su od izričito velike važnosti, u prevelikim koncentracijama mogu imati inhibirajuće djelovanje na željene mikroorganizme. Pojavom previsoke koncentracije supstrata može doći do rasta ostalih heterotrofnih organizama koji brže rastu od PAOs što posljedično utječe na inhibiciju unosa fosfata u aerobnoj fazi, tj. ne dolazi do uklanjanja fosfata.

Uz sve navedene inhibitore, još neki od čimbenika koji također utječu na uspješnost EBPR procesa su kemijska potražnja za kisikom, utjecaj nanomaterijala, glukoze i saharoze, uz koje i mijenjanje operativnih procesnih čimbenika može dovesti do neuspjelog provođenja EBPR procesa (Zeng i sur., 2014).

### **3. ZAKLJUČAK**

Obzirom na sve spomenute činjenice o EBPR procesu, mogu se istaknuti neki od važnijih zaključaka, poput:

1. Osnovne skupine mikroorganizma koje djeluju u EBPR procesu su: PAOs (fosfor akumulirajući organizmi), GAOs (glikogen akumulirajući organizmi) i DPAOs (denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi).
2. Za učinkovitiji EBPR proces potrebno je poticati rad PAOs i DPAOs, a smanjiti učinak GAOs.
3. PAOs koristi kisik kao elektron akceptor, dok DPAOs koristi nitrate i/ili nitrite.
4. Podjela EBPR procesa, s obzirom na položaj vršenja denitrifikacije, je na: pred- i post-denitrificirajuće EBPR procese.
5. EBPR proces sa primjenom granuliranog mulja se sve više istražuje.
6. Uspješnost EBPR procesa se može poboljšati dodavanjem postupka kemijskog taloženja za uklanjanje P.
7. Inhibitori EBPR procesa su: dušična kiselina, nitrati, nitriti, teški metali, organski supstrati, amonijak, te procesni čimbenici koji se moraju dobro kontrolirati kako se ne bi narušila učinkovitost procesa.
8. EBPR proces postaje sve važniji, a uspješnost sve veća.

## **4. LITERATURA**



1. Zeng, X., Sun P., Han, J., Song, Y., Hu, Z. (2014) Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) – Amini-review, *Process Biochemistry* **49**, 2207-2213.
2. Lanham, A.B., Oehmen, A., Saunders, A.M., Carvalho, G., Nielsen Per, H., Reis, M.A.M. (2013) Metabolic versatility in full-scale wastewater treatment plants performing enhanced biological phosphorus removal, *Water Research* **47**, 7032-7041.
3. 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 Research* **41**, 2271-2300.
4. 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, *Journal of Biotechnology* **123**, 22-32.
5. Mino, T., Van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J. (1998) Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process, *Water Research* **32**, 3193-3207.
6. Taya, C., Garlapati, V.K., Guisasola, A., Baeza, J.A. (2013) The selective role of nitrite in the PAO/GAO competition, *Chemosphere* **93**, 612-618.
7. López-Vázquez, C.M., Hooijmans, C.M., Brdjanovic, D., Gijzen, H.J., Van Loosdrecht, M.C.M. (2008) Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) waste water treatment plants in the Netherlands, *Water Research* **42**, 2349-2360.
8. Winkler, M., Coats, E.R., Brinkman, C.K. (2011) Advancing post-anoxic denitrification for biological nutrient removal, *Water Research* **45**, 6119-6130.
9. Zeng, X., Sun, P., Han, J., Song, Y., Hu, S., Fan, H., Lv, S. (2014) Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR)- Amini review, *Process Biochemistry* **49**, 2207-2213.
10. Wang, Y., Jiang, X., Wang, H., Guo, G., Guo, J., Qin, J., Shuai, Z. (2015) Comparison of performance, microorganism populations, and biophysiochemical properties of granular and flocculent sludge from denitifying phosphorus removal reactors, *Chemical Engineering Journal* **267**, 49-58.
11. Wu, C.Y., Peng, Y.Z., Wang, S.Y., Ma, Y. (2010) Enhanced biological phosphorus removal by granular sludge: From macro- to micro-scale, *Water Research* **44**, 807-814.

12. Zou, J., Li, Y., Zhang, L., Wang, R., Sun, J. (2015) Understanding the impact of influent nitrogen concentration on granule size and microbial community in a granule-based enhanced biological phosphorus removal system, *Bioresource Technology* **177**, 209-216.
13. Henze M. (2008) Biological Wastewater Treatment: Modeling and Design, IWA Publishing.