



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda**  
**Pierottijeva 6**  
**Zagreb**

## **SMJERNICE ZA VREDNOVANJE POSTUPAKA OBRADE OTPADNIH VODA**

**VODITELJICA PROJEKTA:**

izv. prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević

**DEKANICA:**

izv. prof. dr. sc. Mirjana Hruškar

**Zagreb, studeni 2014.**

**Projektni zadatak: SMJERNICE ZA VREDNOVANJE POSTUPAKA OBRADNE OTPADNIH  
VODA**

**Naručitelj: Hrvatske vode**

**Izvršitelj: Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu**

**Voditelj projekta: izv. prof. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević**

**Suradnici: izv. prof. dr. sc. Jadranka Frece**

**izv. prof. dr.sc. Irena Landeka Jurčević**

**izv. prof. dr. sc. Renata Teparić**

**doc. dr. sc. Mirjana Čurlin**

**Dijana Grgas, dipl. ing.**

**Tea Ilčić Škreb, univ. bacc. ing. biotechn.**

## Sadržaj

<i>Popis slika</i> .....	iv
<i>Popis tablica</i> .....	viii
<i>Skraćenice</i> .....	ix
<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. MIKROBNI METABOLIZAM</b> .....	3
<b>3. BIOLOŠKO UKLANJANJE DUŠIKA</b> .....	5
3.1. Nitrifikacija .....	7
3.1.1. Nitrificirajuće vrste mikroorganizama .....	7
3.1.2. Čimbenici procesa nitrifikacije .....	11
3.2. Biološka denitrifikacija .....	12
3.2.1. Denitrifikacija – opis procesa i mikroorganizmi .....	13
3.2.2. Čimbenici procesa biološke denitrifikacije .....	14
<b>4. METODOLOGIJA RADA</b> .....	18
4.1. Sintetska otpadna voda .....	18
4.2. Mikrobna kultura aktivnog mulja .....	18
4.3. Pokusi nitrifikacije .....	19
4.4. Pokusi denitrifikacije .....	20
<b>5. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	22
5.1. Autotrofna nitrifikacija – učinak pH, temperature, otopljenog kisika .....	22
5.2. Heterotrofna nitrifikacija – učinak temperature, otopljenog kisika i omjera C/N .....	40
5.3. Denitrifikacija – učinak omjera C/N i NO <sub>3</sub> -N/NO <sub>x</sub> -N .....	55
5.4. Biološki postupci motreni on-line .....	68
5.5. Nitrifikacija i denitrifikacija visokih koncentracija NH <sub>4</sub> -N i NO <sub>3</sub> -N .....	78
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	84
<b>7. LITERATURA</b> .....	91

## Popis slika

Slika 1.	Shematski prikaz bakterijskog metabolizma: (a) aerobi – heterotrofi; (b) aerobi – autotrofi; (c) anaerobi – heterotrofi .....	3
Slika 2.	Transformacije dušika u ciklusu kruženja dušika .....	5
Slika 3.	Transformacije dušika tijekom biološkog procesa .....	6
Slika 4.	Bioreaktor korišten za pokuse nitrifikacije i denitrifikacije .....	19
Slika 5.	Aparatura za pokuse denitrifikacije .....	20
Slika 6.	Flotirani mulj nakon procesa denitrifikacije .....	21
Slika 7.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	23
Slika 8.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	23
Slika 9.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	24
Slika 10.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	24
Slika 11.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	25
Slika 12.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	25
Slika 13.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	26
Slika 14.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	26
Slika 15.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	27
Slika 16.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	27
Slika 17.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	28
Slika 18.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	28
Slika 19.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	30
Slika 20.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 13°C, DO>2 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	30
Slika 21.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L i korekciju pH na 7,5-7,6 .....	31
Slika 22.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	31
Slika 23.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	32
Slika 24.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	32
Slika 25.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne	

	nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	34
Slika 26.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	34
Slika 27.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	35
Slika 28.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	35
Slika 29.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	36
Slika 30.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	36
Slika 31.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	37
Slika 32.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4 .....	37
Slika 33.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	38
Slika 34.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,5-7,6 .....	38
Slika 35.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	39
Slika 36.	pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,8-8,0 .....	39
Slika 37.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 2 .....	41
Slika 38.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 2 .....	42
Slika 39.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 2 .....	42
Slika 40.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 2 .....	43
Slika 41.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 2 .....	43
Slika 42.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 2 .....	44
Slika 43.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 2 .....	44
Slika 44.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 2 .....	45
Slika 45.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 2 .....	45
Slika 46.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 2 .....	46
Slika 47.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 2 .....	46
Slika 48.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 2 .....	47

Slika 49.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 4 .....	48
Slika 50.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 4 .....	48
Slika 51.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 4 .....	49
Slika 52.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 4 .....	49
Slika 53.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 4 .....	50
Slika 54.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 4 .....	50
Slika 55.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 4 .....	51
Slika 56.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 4 .....	51
Slika 57.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 4 .....	52
Slika 58.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 4 .....	52
Slika 59.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 4 .....	53
Slika 60.	pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 4 .....	53
Slika 61.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 2 .....	56
Slika 62.	DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 2 .....	57
Slika 63.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 3 .....	57
Slika 64.	DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 3 .....	58
Slika 65.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 4 .....	58
Slika 66.	DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 4 .....	59
Slika 67.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 5 .....	59
Slika 68.	DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO <sub>3</sub> -N/L, pri C/N 5 .....	60
Slika 69.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 25 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 25 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 2 .....	60
Slika 70.	DO i pH u procesu denitrifikacije 25 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 25 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 2 .....	61
Slika 71.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 25 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 25 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 3 .....	61
Slika 72.	DO i pH u procesu denitrifikacije 25 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 25 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 3 .....	62
Slika 73.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 25 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 25 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 4 .....	62
Slika 74.	DO i pH u procesu denitrifikacije	

	25 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 25 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 4 .....	63
Slika 75.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije	
	5 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 45 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 1 .....	63
Slika 76.	DO i pH u procesu denitrifikacije	
	5 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 45 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 1 .....	64
Slika 77.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije	
	5 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 45 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 2 .....	64
Slika 78.	DO i pH u procesu denitrifikacije	
	5 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 45 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 2 .....	65
Slika 79.	NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije	
	5 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 45 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 3 .....	65
Slika 80.	DO i pH u procesu denitrifikacije	
	5 mg NO <sub>3</sub> -N/L + 45 mg NO <sub>2</sub> -N/L, pri C/N 3 .....	66
Slika 81.	NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N i NO <sub>2</sub> -N tijekom autotrofne nitrifikacije .....	72
Slika 82.	Koncentracija otopljenog kisika i pH tijekom autotrofne nitrifikacije .....	72
Slika 83.	Vrijednosti ORP tijekom autotrofne nitrifikacije .....	73
Slika 84.	KPK, NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>3</sub> -N i NO <sub>2</sub> -N tijekom heterotrofne nitrifikacije .....	74
Slika 85.	Koncentracija otopljenog kisika i pH tijekom heterotrofne nitrifikacije .....	75
Slika 86.	Vrijednosti ORP tijekom heterotrofne nitrifikacije .....	75
Slika 87.	KPK, NO <sub>3</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N i PO <sub>4</sub> -P tijekom denitrifikacije .....	77
Slika 88.	Koncentracija otopljenog kisika i pH tijekom denitrifikacije .....	77
Slika 89.	Vrijednosti ORP tijekom denitrifikacije .....	78
Slika 90.	NH <sub>4</sub> -N tijekom nitrifikacije 40-290 mg NH <sub>4</sub> -N/L .....	79
Slika 91.	NO <sub>3</sub> -N tijekom nitrifikacije 40-290 mg NH <sub>4</sub> -N/L .....	79
Slika 92.	NO <sub>2</sub> -N tijekom nitrifikacije 40-290 mg NH <sub>4</sub> -N/L .....	80
Slika 93.	NO <sub>3</sub> -N tijekom denitrifikacije 90 mg NO <sub>3</sub> -N/L i 180 mg NO <sub>3</sub> -N/L .....	81
Slika 94.	KPK tijekom denitrifikacije 90 mg NO <sub>3</sub> -N/L i 180 mg NO <sub>3</sub> -N/L .....	81
Slika 95.	NO <sub>2</sub> -N tijekom denitrifikacije 90 mg NO <sub>3</sub> -N/L i 180 mg NO <sub>3</sub> -N/L .....	82

## Popis tablica

Tablica 1. Nitrificirajuće bakterije, rodovi i neke od vrsta .....	9
Tablica 2. Osvrt na neke čimbenike koje je nužno razmotriti pri odabiru i vrednovanju procesa obrade .....	85



## Skraćenice

A <sup>2</sup> O	anaerobno/anoksično/aeroban sustav
AMO	amonijak monooksigenaza
AOB	eng. <i>Ammonium Oxidizing Bacteria</i> , amonijak oksidirajuće bakterije
AS-RBC	aktivni mulj u rotirajućem biodisku
C/N	omjer ugljika i dušika
CH <sub>4</sub>	metan
CO <sub>2</sub>	ugljikov(IV) oksid
DGGE	eng. <i>Denaturing Gradient Gel Electrophoresis</i> , denaturirajuća gradijent gel elektroforeza
DO	eng. <i>Dissolved Oxygen</i> , otopljeni kisik
FISH	eng. <i>Fluorescent in-situ hybridization</i> , fluorescentna <i>in-situ</i> hibridizacija
H <sub>2</sub> O	voda
HAO	hidroksilamin oksidoreduktaza
HNO <sub>2</sub>	nitritna kiselina
KPK	kemijska potreba na kisiku
MLSS	eng. <i>Mixed Liquor Suspended Solids</i> , koncentracija suspendirane tvari u reaktoru
N <sub>2</sub>	dušik
N <sub>2</sub> O	dušikov(I) oksid
NaAc	natrijev acetat
Nar	nitrat reduktaza
NH <sub>2</sub> OH	hidroksilamin
NH <sub>3</sub>	amonijak
NH <sub>4</sub> -N	amonijakalni dušik
Nir	nitrit reduktaza
NO	dušikov(II) oksid
NO <sub>2</sub> -N	nitritni dušik
NO <sub>3</sub> -N	nitratni dušik
NOB	eng. <i>Nitrite Oxidizing Bacteria</i> , nitrit oksidirajuće bakterije
NO <sub>x</sub> -N	dušikov oksid
ORP	eng. <i>Oxidation-Reduction Potential</i> , oksidoredukcijski potencijal
pKa	-logK <sub>a</sub> , konstanta disocijacije kiseline
SBR	eng. <i>Sequencing Batch Reactor</i> , šaržni reaktor s pritokom supstrata
SRT	eng. <i>Sludge Retention Time</i> , vrijeme zadržavanja mulja

## 1. UVOD

Okolišno zakonodavstvo vrlo je strogo glede zbrinjavanja i ispuštanja otpadnih voda u okoliš. Uklanjanje dušikovih spojeva iz otpadnih voda je nužnost u obradi. Razlog je u tome što su neki od tih spojeva, poput amonijaka, toksični za vodene organizme (Metcalf & Eddy, 2004), a neki poput nitrata i nitrita uzrokuju eutrofikaciju prirodnih vodnih sustava (Mackenzie, 2011).

Biološki pristup uklanjanja dušikovih spojeva iz otpadnih voda je najučinkovitiji (Mackenzie, 2011; Zhu i sur., 2008; Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Henze i sur., 2000; Van Loosdrecht i Jetten, 1998; EPA, 1993; Bock i Harms, 1986), a bazira se na mikrobnom ciklusu dušika i sposobnosti određenih rodova bakterija da metaboliziraju anorganske dušikove spojeve.

Temeljem tih spoznaja razvijene su mnoge specifične biološke tehnike i procesi za uklanjanje dušikovih spojeva iz otpadnih voda. Iako se ti procesi uspješno koriste duži niz godina, istraživanja i razvoj novih metoda i tehnika se nastavljaju kako bi se odgovorilo na sve strože standarde (Khin i Annachhatre, 2004) i zakonske propise o kakvoći otpadnih voda koje se ispuštaju u okoliš. Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 80/13; 43/14) propisane su dozvoljene koncentracije onečišćujućih tvari i/ili opterećenja u otpadnim vodama. Kod ispuštanja pročišćenih komunalnih otpadnih voda u površinske vode pored koncentracija onečišćujućih tvari i/ili opterećenja u otpadnim vodama, potrebno je utvrditi i postotak smanjenja opterećenja na uređaju za pročišćavanje otpadnih voda.

Da bi se ostvarila učinkovita obrada otpadne vode potrebno je osigurati mikroorganizme odgovorne za razgradnju sastojaka koji čine onečišćenje i istražiti procesne čimbenike za odabrani proces obrade.

Biološkim postupcima nitrifikacije i denitrifikacije postiže se uklanjanje sastojaka sa dušikom iz otpadnih voda. Određivanjem-definiranjem uvjeta obitavanja prirodnih mikrobnih zajednica u različitim okolišnim uvjetima pa i u sustavu za biološku obradu otpadnih voda (Forster i sur., 2002; Amann, 1995), kao i određivanjem mikrobiološke aktivnosti odnosno mikrobnog potencijala mikrobnih zajednica za uklanjanje sastojaka koji čine onečišćenje iz otpadne vode, uz definirane uvjete vođenja, moguće je postići učinkovitu obradu otpadne vode.

Svi biološki procesi uklanjanja dušika uključuju aerobnu zonu u kojoj se zbiva biološka nitrifikacija i anoksične uvjete ili određeno vrijeme trajanja procesa uz anoksične uvjete da bi se provela biološka denitrifikacija. Na taj način se uklanjaju sastojci sa dušikom i zbiva se i oksidacija amonijaka ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) do nitrata ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) i nitrita ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) kao i redukcija dušikovih oksida do plinovitog dušika ( $\text{N}_2$ ) (Mackenzie, 2011; Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Henze i sur., 2000; Van Loosdrecht i Jetten, 1998; Bock i Harms, 1986). Pri tome, za redukciju nitrata je nužno prisustvo elektron donora koji mogu biti osigurani ili iz ulazne otpadne vode kao razgradivi organski sastojci ili osigurani endogenom respiracijom ili dodani kao vanjski izvor sastojaka s ugljikom.

Hrvatske vode i Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu sklopili su Ugovor o uslugama „SMJERNICE ZA VREDNOVANJE POSTUPAKA OBRADE OTPADNIH VODA“, Evid. broj ugovora: 10-039/13, Pozicija plana: A.04.03.04, KLASA: 325-01/13-10/184, URBROJ: 374-1-03-13-6 od 20.09. 2013. i KLASA: 303-02/13-01/01, URBROJ: 251-69-01-13-72, od 25.09. 2013.

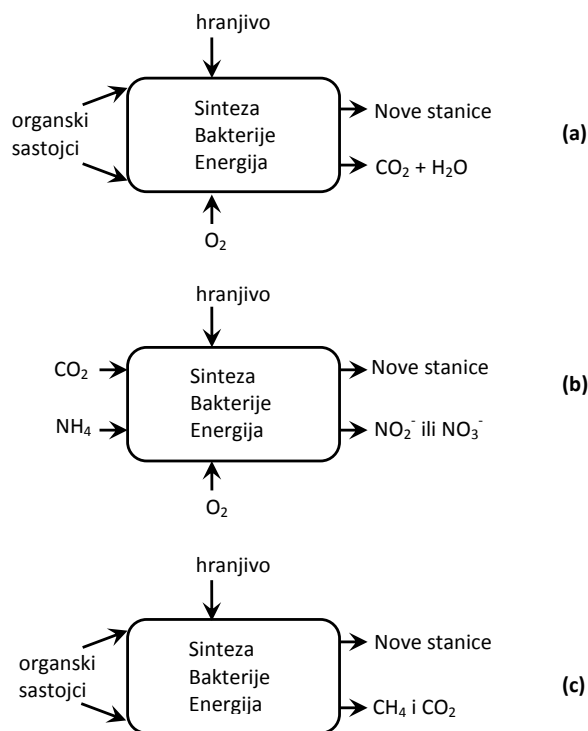
Prema Ugovoru, bilo je potrebno istražiti učinak pH, temperature, koncentracije otopljenog kisika, organskog opterećenja, anorganskog opterećenja i kolebanja kakvoće otpadne vode na učinkovitost obrade otpadne vode u laboratorijskim uvjetima, u laboratorijskim reaktorima provođenjem diskontinuiranih pokusa uz različite uvjete vođenja. Napravila se obrada sintetske otpadne vode pri različitim čimbenicima okoliša na osnovu koje su se vrednovali odabrani čimbenici odabranih postupaka temeljeni na učinkovitosti procesa. Time se došlo do cilja projektnog zadatka odnosno istaknule su se prednosti i nedostaci u radu sustava sa aspekta aktivnosti mikrobne kulture, čimbenika procesa i utroška energije, samim time i određena je učinkovitost procesa.

Vrednovanje postupaka za obradu otpadnih voda očituje se kroz učinkovitost sustava za obradu, postizanje zakonom određenih kriterija, nisku cijenu koštanja, lako vođenje sustava, lako motrenje rada sustava te mogućnost brzog «popravka» narušenog stanja vođenja sustava za obradu otpadnih voda.

## 2. MIKROBNI METABOLIZAM

U dizajniranju ili izboru biološkog procesa obrade otpadne vode osnovu čini razumijevanje biokemijske aktivnosti mikroorganizama (Metcalf & Eddy, 2004; Henze i sur., 2000; Bock i Harms, 1986). Različiti mikroorganizmi mogu uporabiti širok raspon elektron akceptora, primjerice kisik, nitrit, nitrat, željezo (III), sulfat, organske spojeve i ugljikov dioksid.

Mikrobni metabolizam autotrofnih i heterotrofnih vrsta bakterija prikazan je slikom 1.



Slika 1. Shematski prikaz bakterijskog metabolizma: (a) aerobi – heterotrofi; (b) aerobi – autotrofi; (c) anaerobi – heterotrofi (Metcalf & Eddy, 2004)

Mikroorganizmi ugljik za izgradnju stanica dobivaju iz organskih sastojaka ili iz CO<sub>2</sub>. **Heterotrofi** su organizmi koji za stvaranje nove mikrobne biomase upotrebljavaju organski ugljik.

**Autotrofi** su organizmi koji stanični ugljik dobivaju iz CO<sub>2</sub>. Pretvorba CO<sub>2</sub> u stanični ugljik zahtijeva reduktivne procese koji zahtijevaju energiju. Autotrofni organizmi iz tog razloga moraju potrošiti više svoje energije za sintezu negoli heterotrofi, rezultirajući općenito u

manjem iskorištenju u staničnu masu i maloj brzini rasta. Izvor energije nužne za stanični rast može se dobiti iz svjetlosti ili reakcijama kemijske oksidacije. Bakterije mogu oksidirati organske ili anorganske sastojke da osiguraju energiju.

**Fototrofi** su organizmi koji su sposobni koristiti svjetlo za dobivanje energije.

Fototrofni organizmi mogu biti ili heterotrofni (sumpor reducirajuće bakterije) ili autotrofni organizmi (alge i fotosintetske bakterije).

Organizmi koji energiju dobivaju kemijskim reakcijama su **kemotrofi**.

Kemotrofi, poput fototrofa, mogu biti heterotrofi (protozoe, fungi i većina bakterija) ili autotrofi (primjerice nitrificirajuće bakterije).

**Kemoautotrofi** energiju dobivaju oksidacijom reduciranih anorganskih spojeva, poput amonijaka, nitrita, željezovih iona i sulfida.

**Kemoheterotrofi** uobičajeno energiju dobivaju oksidacijom organskih spojeva. Kemotrofi za proizvodnju energije koriste oksidacijsko-redukcijske reakcije koje uključuju prijenos elektrona od elektron donora do elektron akceptora. Elektron donor je oksidiran a elektron akceptor je reduciran. Elektron donori i elektron akceptori mogu biti i organski i anorganski spojevi, ovisno o mikroorganizmima. Elektron akceptori mogu biti dostupni unutar stanice tijekom metabolizma (endogeno) ili se mogu dobiti izvan stanice, primjerice otopljeni kisik (egzogeno). Organizmi koji nakupljaju energiju transportom elektrona pomoću enzima do vanjskih elektron akceptora se kaže da imaju respiratorni metabolizam. Uporaba unutarnjeg elektron akceptora se naziva fermentativni metabolizam i manje je učinkovit u iskorištenju energije od respiratornog. Heterotrofne organizme koji su striktno fermentativni karakterizira manja brzina rasta i iskorištenje u stanice od respiratornih heterotrofa.

Kada je kao elektron akceptor uporabljen kisik reakcija se naziva **aerobna**, a kada su drugi elektron akceptori reakcija je **anaerobna**.

Termin **anoksičan** koristi se za opisivanje uporabe nitrita ili nitrata kao elektron akceptora, za razliku od drugih pri anaerobnim uvjetima. Pri anoksičnim uvjetima zbiva se nitrit ili nitrat redukcija i ova reakcija je poznata kao **biološka denitrifikacija**.

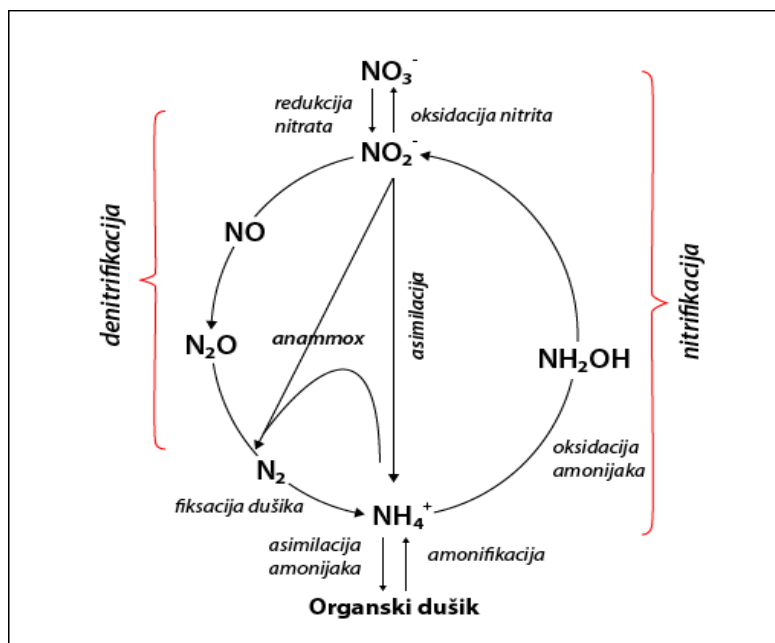
Nutrijenti, hranjive tvari (dušik i fosfor), više nego ugljik ili izvori energije, mogu s vremenom biti limitirajući čimbenik sinteze mikrobne stanice i staničnog rasta. Glavni nutrijenti neophodni za mikroorganizme su: N, S, P, K, Mg, Ca, Fe, Na i Cl. Manje važni nutrijenti uključuju: Zn, Mn, Mo, Se, Co, Cu i Ni.

Organski nutrijenti poznati kao faktori rasta su spojevi neophodni organizmima kao prekursori ili konstituenti organskog staničnog materijala i koji ne mogu biti sintetizirani iz drugih izvora ugljika. U otpadnoj vodi grada nutrijenti su uobičajeno prisutni u suvišku, dok u otpadnoj vodi industrije nutrijenti trebaju biti dodani za provedbu bioloških procesa obrade (Henze i sur., 2000; Bock i Harms, 1986).

### 3. BIOLOŠKO UKLANJANJE DUŠIKA

Dušikovi spojevi uklanjaju se biokemijskim procesima (Ward i sur., 2011; Mackenzie, 2011; Mahvi, 2008; Zhu i sur. 2008; Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Wilderer i sur., 2001; Henze i sur., 2000) u aerobnim, anoksičnim ili anaerobnim uvjetima, pri čemu mješovita mikrobna zajednica metabolizira organske sastojke i dušik.

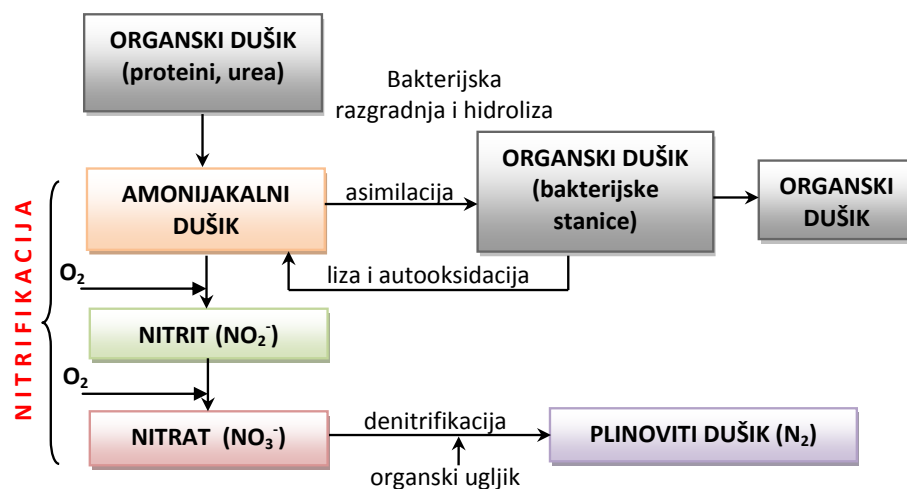
Dušik se kroz ciklus kruženja u prirodi (Slika 2) neprestano mijenja i prelazi iz jednog oblika u drugi (Ward, 2011; Galloway i sur., 2004; Metcalf & Eddy, 2004; Eppley i Peterson, 1979; Dugdale i Goering, 1967).



Slika 2. Transformacije dušika u ciklusu kruženja dušika (Ward i sur., 2011)

Biološki pristup uklanjanju dušikovih spojeva bazira se na sposobnosti određenih rodova bakterija da metaboliziraju anorganske dušikove spojeve, a postiže se kombinacijom procesa nitrifikacije, oksidacije amonijaka ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) preko nitrita ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) do nitrata ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), te denitrifikacije, anoksične redukcije nitrata preko nitrita do plinovitog dušika (Ward i sur., 2011; Mackenzie, 2011; Mahvi, 2008; Zhu i sur., 2008; Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Wilderer i sur., 2001; Henze i sur., 2000).

Transformacije dušika koje se zbivaju tijekom bioloških procesa prikazane su slikom 3.



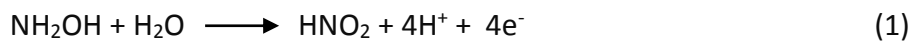
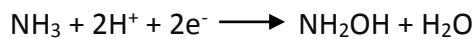
Slika 3. Transformacije dušika tijekom biološkog procesa (Metcalf & Eddy, 2004)

Proces s aktivnim muljem je najčešće primjenjivani proces biološke obrade otpadne vode u kojem aerobni organizmi združeni u mješovitu mikrobnu zajednicu, aktivni mulj, koriste organske sastojke iz otpadne vode uz kisik unesen prozračivanjem s atmosferskim zrakom. Aktivni mulj nastaje međusobnim povezivanjem bakterija, protozoa, metazoa, funga i algi sa suspendiranim česticama u nakupine koje se zovu pahuljice ili flokule (Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Henze i sur, 2000). Najzastupljenije mikrobne vrste u aktivnom mulju su bakterije. Mikroorganizmi aktivnog mulja održavaju se u vodenom okolišu u obliku pahuljica aktivnog mulja ili u obliku biofilma na raspršenim ili stacionarnim nosačima. Biološka obrada otpadnih voda aktivnim muljem već je dugo najzastupljenija metoda zbog niske cijene i učinkovitosti.

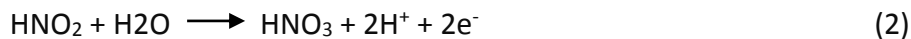
### 3.1. Nitrifikacija

Proces nitrifikacije se definira kao biološka pretvorba reduciranih oblika dušika do nitrata. Najvažnija grupa organizama uključenih u ovaj proces su litoautotrofne amonijak oksidirajuće bakterije (AOB, eng. *Ammonium Oxidizing Bacteria*), i litoautotrofne nitrit oksidirajuće bakterije (NOB, eng. *Nitrite Oxidizing Bacteria*). Za te organizme oksidacija anorganskih spojeva dušika služi kao izvor energije. Nitrificirajuće vrste posjeduju enzime koji kataliziraju različite korake cijeloga procesa, u dva stupnja, (jednadžbe 1 i 2):

(I) oksidacija amonijaka do nitrita:



(II) oksidacija nitrita do nitrata:



#### 3.1.1. Nitrificirajuće vrste mikroorganizama

Dizajniranje i zadovoljavajući rad bioprocesa uklanjanja dušika uvelike ovisi o razumijevanju metabolizma, uvjetima rasta i fiziološke aktivnosti bakterija.

Eutrofikacija ekosustava je doprinjela povećanju interesa u ekologiji transformacije dušika.

Nitrificirajuće bakterije (amonijak oksidirajuće i nitrit oksidirajuće vrste) su obligatni kemolitoautotrofi koji potrebu za ugljikom (auto-) osvaruju fiksacijom  $\text{CO}_2$  u Calvin-ovom ciklusu, a energiju potrebnu za rast dobivaju oksidacijom amonijaka ili nitrita kao jedinog izvora energije (kemolito-).

Približno 90-97% bakterija u aktivnom mulju su organotrofi, a preostalih 3-10% bakterija su nitrifikanti (Gerardi, 2002). *In situ* istraživanja molekularnim tehnikama ukazuju na postojanje mnogo više vrsta nitrificirajućih bakterija od uspješno kultiviranih 25 vrsta AOB i 8 vrsta NOB (Koops i Pommerening-Röser, 2001; Purkhold i sur., 2000). Najistraživaniji rod AOB je *Nitrosomonas* čije su vrste najbrojnije u tlu, a u vodi predvladavaju AOB roda *Nitrosospira*.



AOB su Gram-negativne obligatno kemolitoautotrofne bakterije koje koriste anorganske dušikove spojeve kao jedini izvor energije, a CO<sub>2</sub> kao jedini izvor ugljika. No, neke AOB imaju sposobnost heterotrofnog rasta na nekim jednostavnim organskim supstratima. Oksidacijom amonijaka AOB dobivaju energiju koja im je potrebna za rast i odvijanje metaboličkih procesa, uključujući i asimilaciju CO<sub>2</sub> (Arp i Bottomley, 2006; Hooper i sur., 1997). AOB imaju relativno malu veličinu genoma, u prosjeku oko 3Mb. Genom AOB sadrži gene koji kodiraju proteine potrebne staničnim procesima za biosintezu staničnih sastojaka iz anorganskih spojeva, te enzime potrebne za oksidaciju amonijaka i to amonijak monooksigenazu (AMO), hidroksilamin oksidoreduktazu (HAO) i citokrome c<sub>554</sub> i c<sub>m552</sub> (Arp i sur., 2007).

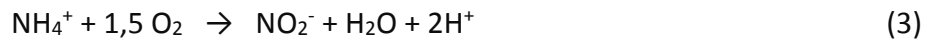
Kemolitoautotrofne amonijak oksidirajuće bakterije su jedinstveni organizmi zbog svoje sposobnosti da koriste konverziju amonijaka do nitrita kao jedini izvor energije. Zbog važnosti ovih funkcionalnih grupa bakterija i razumijevanja njihove ekologije i fiziologije, predmet su brojnih istraživanja.

NOB su Gram-negativni organizmi koji rastu na nitritu kao izvoru energije, a kao izvor ugljika koriste CO<sub>2</sub>. Neki sojevi *Nitrobacter* sp. su pokazali kemoorganotrofni rast na nekim organskim supstratima (acetat, piruvat, laktat i glicerol) dok su se *Nitrospina* sp. i *Nitrococcus* sp. pokazali kao obligatni kemolitoautotrofi (Watson i Waterbury, 1971), iako se rast morskog izolata *Nitrospira marina* pokazao boljim u miksotrofnim nego kemolitotrofnim uvjetima (Watson i sur., 1986).

Koncentracija nekih elemenata može bitno utjecati na aktivnost AOB i NOB, što se posebno odnosi na neke mikronutrijente poput bakra (Cu), mangana (Mn), molibdena (Mo) i cinka (Zn). Bakar se smatra nužnim za aktivaciju enzima potrebnog u prvom stupnju oksidacije amonijaka. Enzimsko aktivnost AMO se kod *Nitrosomonas europaea* znatno povećala dodatkom Cu iako je u slučaju previsoke koncentracije došlo do brzog pada aktivnosti (Ensign i sur., 1993). Također, molibden stimulira aktivnost *Nitrobacter* sojeva pa čak u iznimno malim koncentracijama od 1 x 10<sup>-9</sup> M dolazi do povećanja brzine sinteze stanične biomase (Finstein i Delwiche, 1965).

Ukupnom reakcijom oksidacije amonijaka do nitrita sa O<sub>2</sub> kao terminalnim akceptorom elektrona, prikazano jednadžbom (3), oslobađaju se dva vodikova iona i iz tog razloga

oksidacija amonijaka može uzrokovati promjenu alkaliteta vodenog okoliša u kojem se zbiva nitrifikacija te pomaknuti ravnotežu  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  prema  $\text{NH}_4^+$  (pKa 9,25 pri 25 °C).



Zbog presudne uloge mikroorganizama u procesu uklanjanja dušika, rađena su brojna istraživanja u svrhu identifikacije pojedinačnih bakterijskih vrsta, i razumijevanja njihove aktivnosti u različitim uvjetima.

Metodom sekvencioniranja gena identificirano je pet rodova amonijak oksidirajućih bakterija i četiri roda nitrit oksidirajućih bakterija (Tablica 1) (Zhu i sur., 2008; Koops i Pommerening-Röser, 2001).

Tablica 1. Nitrificirajuće bakterije, rodovi i neke od vrsta (Koops i Pommerening-Röser, 2001)

Porodica	Rod	Vrsta	
<i>Nitrobacteriaceae</i>	<i>Nitrosomonas</i>	<i>Nitrosomonas europaea</i>	AOB
		<i>Nitrosomonas eutropha</i>	
		<i>Nitrosomonas halophila</i>	
		<i>Nitrosomonas cryotolerans</i>	
		<i>Nitrosomonas communis</i>	
	<i>Nitrosococcus</i>	<i>Nitrosomonas nitrosa</i>	
		<i>Nitrosomonas ureae</i>	
		<i>Nitrosomonas oligotropha</i>	
		<i>Nitrosomonas aestuarii</i>	
		<i>Nitrosococcus nitrosus</i>	
<i>Nitrosococcus</i>	<i>Nitrosococcus oceani</i>		
	<i>Nitrosococcus mobilis</i>		
<i>Nitrosococcus</i>	<i>Nitrosococcus halophilus</i>		
	<i>Nitrosolobus</i>	<i>Nitrosolobus multiformis</i>	
<i>Nitrosovibrio</i>	<i>Nitrosovibrio tenuis</i>		
<i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospira briensis</i>		
<i>Nitrobacter</i>	<i>Nitrobacter winogradskyi</i>	NOB	
	<i>Nitrobacter vulgaris</i>		
	<i>Nitrobacter hamburgensis</i>		
<i>Nitrobacter</i>	<i>Nitrobacter alkalicus</i>		
	<i>Nitrococcus</i>	<i>Nitrococcus mobilis</i>	
<i>Nitrospina</i>	<i>Nitrospina gracilis</i>	NOB	
	<i>Nitrospina moscoviensis</i>		
<i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospira marina</i>		

U istraživanju primjenom klasičnih mikrobioloških metoda izolacije vrsta kao ključne vrste unutar mješovitih mikrobni zajednica koje provode nitrifikaciju i denitrifikaciju su istaknute vrste *Nitrosomonas europaea* i *Nitrobacter winogradskyi* (Painter, 1986).

Prihvaćeno je mišljenje da su rodovi *Nitrosomonas* i *Nitrobacter* nositelji nitrifikacije. To su potvrdila brojna istraživanja u laboratorijskom mjerilu (Chen i sur., 2003; Tsuneda i sur., 2003; Gyeseke i sur., 2001), i na industrijskim postrojenjima (Hallin i sur., 2005; Coskuner i Curtis, 2002; Daims i sur., 2001; Wagner i sur., 1996).

Istraživanja temeljena na metodi određivanja označenih ciljanih 16S rRNA i drugim molekularno-biološkim tehnikama pokazuju daleko veću raznovrsnost bakterijskih vrsta. Tako su kao glavni rodovi označeni *Nitrosospira* i *Nitrospira*, kako u laboratorijskim istraživanjima (You i sur., 2003; Morgenroth i sur., 2000; Rittmann i sur., 1999; Schramm i sur., 1999; Burrell i sur., 1998), tako i u analizama uspostavljenih procesa u postrojenjima za obradu otpadnih voda (Coskuner i Curtis, 2002; Juretschko, 1998).

Ta i brojna druga istraživanja potvrđuju da dominacije određenih rodova unutar mješovite bakterijske kulture uvelike ovise o uvjetima u kojima se proces provodi.

Iako se smatra da bi populacije nitrificirajućih bakterija (amonijak oksidirajućih, AOB i nitrit oksidirajućih bakterija, NOB) trebale činiti između 5% i 8% ukupne mješovite kulture za uspješnu nitrifikaciju (Randall i sur., 1992; Benefield i Randall, 1985), neka istraživanja su dala rezultate koji tu skalu značajno proširuju. Tako, određeno je da je udio AOB u biofilmu aktivnog mulja u rotirajućem biodisku (AS-RBC), aktivnom mulju AS-RBC sustava i aktivnom mulju anaerobno/anoksično/aerobnog sustava (A<sup>2</sup>O) iznosio 11,4%, 13,2% i 4,1%, a NOB 3,3%, 5,7% i 2,1% po metodi DGGE (eng. *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), dok je po metodi FISH (eng. *Fluorescent in-situ hybridization*) taj udio AOB iznosio 10,3%, 13,7% i 5,2%, odnosno NOB je određeno 2,5%, 3,6% i 2,3% (You i sur., 2003), pa sve do 22% AOB + 28% NOB u ugljik limitirajućem autotrofno nitrificirajućem biofilmu, određeno primjenom FISH metode (Kindaichi i sur., 2004).

Postoje neslaganja i u odnosu dominacije između AOB i NOB.

U istraživanju udjela AOB i NOB u biofilmu AS-RBC sustava, aktivnom mulju AS-RBC sustava i aktivnom mulju A<sup>2</sup>O sustava (You i sur., 2003), istaknuto je da su metodom DGGE u svim

uzorcima mulja prisutni *Nitrosospira* i *Nitrospira*, dok je *Nitrosomonas* prisutan samo u biofilmu AS-RBC sustava i da je omjer AOB/NOB=2-3,5. Metodom FISH u svim uzorcima je dokazan omjer AOB/NOB=2,3-4,1.

Mogući razlog tome je što AOB pokazuju znatno veće brzine rasta (Schramm i sur., 1999) i količina energije dobivena oksidacijom amonijaka puno je veća od količine energije dobivene oksidacijom nitrita (Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Henze i sur., 2000).

Oprečno tome, postoje istraživanja koja pokazuju da NOB mogu uvelike dominirati nad AOB unutar mješovite kulture. Tako su Schramm i sur. (1999) analizom bakterijske kulture iz postrojenja za obradu otpadnih voda pokazali da je odnos NOB/AOB= 30:1. U ekstremnim slučajevima broj NOB može biti i do 190 puta veći od broja AOB (Dionisi i sur., 2002). Rezultati navedenih grupa istraživača pokazuju različito ponašanje AOB i NOB pri različitim uvjetima rasta.

Iako rezultati ovih istraživanja ukazuju na velike razlike među rodovima nitrificirajućih bakterija i iako su te razlike identificirane, današnji modeli i dalje pretpostavljaju nitrificirajuće bakterije kao jednu skupinu ne uzimajući u obzir razlike u kinetičkim parametrima rodova unutar skupine. Korištenje jedinstvenih empirijskih parametara stoga ponekad dovodi do loših rezultata prilikom uklanjanja dušikovih spojeva u tako dizajniranim procesima. Uključivanje novih saznanja o različitim bakterijskim vrstama u postavljanje i optimiranje procesa nužan je korak ka boljim rezultatima uklanjanja dušikovih spojeva u bioprocima.

### **3.1.2. Čimbenici procesa nitrifikacije**

Glavni čimbenici koji mogu utjecati na kinetiku nitrifikacije (Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Henze i sur., 2000), su:

- pH vrijednost; Niski pH otpadne vode ima učinak na nitrificirajuće vrste tako što inhibira enzimsku aktivnost i utječe na dostupnost alkaliteta. Proces nitrifikacije se ubrzava kad pH poraste iznad 6,7, a optimalni pH za nitrifikaciju je pH=7,2-8,0. pH vrijednost utječe na koncentraciju slobodnog amonijaka ( $\text{NH}_3$ ) i nitritne kiseline ( $\text{HNO}_2$ ), koji su snažni inhibitori bakterijske aktivnosti. Slobodni amonijak može inhibirati aktivnost *Nitrosomonas* sp. pri koncentraciji manjoj od 10 mg/L, a aktivnost

*Nitrobacter* sp. pri koncentraciji manjoj od 0,1 mg/L. Nitritna kiselina inhibira navedene bakterije pri koncentraciji manjoj od 1 mg/L.

- otopljeni kisik; Nitrificirajuće vrste su striktni aerobi i mogu nitrificirati samo u prisustvu otopljenog kisika. Pri  $DO < 0,5$  mg/L nitrifikacija je neznatna ako se uopće i zbiva. U rasponu  $DO = 0,5-1,9$  mg/L nitrifikacija se ubrzava ali ne postiže maksimalnu učinkovitost. Pri  $DO = 2-2,9$  mg/L nitrifikacija je značajna, dok se pri  $DO = 3$  mg/L zbiva maksimalna nitrifikacija.
- temperatura; Niska temperatura utječe na aktivnost nitrificirajućih bakterija. Pri temperaturi ispod 5 °C nitrifikacija se ne zbiva, pri temperaturi 10 °C brzina nitrifikacije se značajno smanjuje i iznosi oko 20% od brzine nitrifikacije pri 30 °C. Pri 16 °C brzina nitrifikacije iznosi oko 50% od brzine pri 30 °C. Optimalni temperaturni raspon za proces nitrifikacije je 28-32 °C. Iznad 45 °C nitrifikacija prestaje.
- teški metali i organski spojevi; Pojedini teški metali ( $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ) mogu djelovati inhibitorno na proces nitrifikacije. Visoki toksični učinak, osim teških metala, na nitrifikante imaju halogenirani spojevi, cijanidi, fenoli, tiourea, slobodni amonijak i slobodna nitritna kiselina i dr.

### 3.2. BIOLOŠKA DENITRIFIKACIJA

Biološka denitrifikacija je proces u kojem heterotrofne denitrificirajuće bakterije u anoksičnim uvjetima reduciraju nitrate i/ili nitrite (produkte nitrifikacije) do plinovitog dušika, kada je dostupan donor elektrona (izvor energije) koji se najčešće dobiva iz organskih spojeva. Uobičajeno je to jedan od tri izvora: biorazgradivi organski sastojci izraženi kao KPK otpadne vode, biorazgradivi KPK proizveden tijekom endogene respiracije i vanjski izvor ugljika.

Kada otpadna voda nema dovoljno organskih sastojaka kao elektron donora za denitrifikaciju, poput otpadnih voda sa malim omjerom KPK/N ili kad su organski sastojci iz otpadne vode uklonjeni u ranijem stupnju obrade vode, za učinkovitu denitrifikaciju moraju se dodati vanjski izvori sastojaka s ugljikom.

Izvor ugljika se može kategorizirati kao organski, koji se upotrebljava za heterotrofnu denitrifikaciju, ili anorganski, koji se upotrebljava za autotrofnu denitrifikaciju.

Izvor ugljika može biti endogen, ako je već prisutan u otpadnoj vodi, ili egzogen, ako je naknadno dodan u proces.

Pri izboru ugljika potrebno je uzeti u obzir čimbenike koji različito utječu na učinkovitost procesa biološke denitrifikacije. Kriteriji za izbor izvora ugljika koje je važno razmotriti su: brzina denitrifikacije, cijena, raspoloživost, sigurnost, količina doziranog vanjskog izvora ugljika i kinetika.

Kao povoljni izvor ugljika za proces denitrifikacije koriste se acetat, glukoza, metanol, etanol, metan i dr. Osim čistih kemikalija istražuje se i primjena alternativnih izvora ugljika, poput otpada iz poljoprivredne i procesne industrije, primjerice: otpadna voda iz proizvodnje sladoleda i šećera, otpadna voda iz procesa prerade krumpira, iz proizvodnje zaslađivača, sokova i mliječnih proizvoda, te ostali alternativni izvori ugljika poput melase, glicerola, kukuruznog škroba i dr.

### 3.2.1. Denitrifikacija – opis procesa i mikroorganizmi

U aktivnom mulju oko 80% bakterija su fakultativni anaerobi i sposobni su provoditi denitrifikaciju.

U biološkoj denitrifikaciji redukcija nitrata uključuje niz reakcija, prikazano jednadžbom (4) (Naik i Setty, 2012)

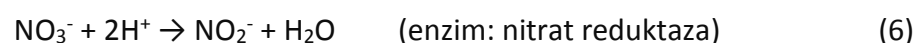


Cjelokupni proces denitrifikacije može biti prikazan kao redoks jednadžba (5).

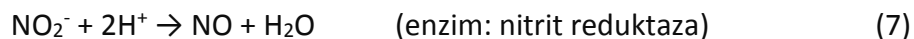


Biološka denitrifikacija, redukcija nitrata u plinoviti dušik, katalizirana je s 4 enzima (Gardner, 2008; Metcalf & Eddy, 2004; EPA, 1993):

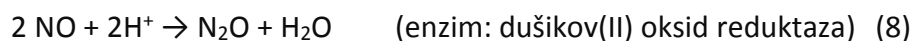
- Enzim nitrat reduktaza (Nar) – provodi redukciju  $\text{NO}_3\text{-N}$  u  $\text{NO}_2\text{-N}$ , prikazano jednadžbom (6). To je lako topiv membranski protein koji je pronađen u denitrifikantima kao i u ostalim organizmima koji reduciraju nitrata prenoseći vodik i elektrone do nitrata kao terminalnog elektron akceptora. Sinteza i aktivnost nitrat reduktaze su inhibirani kisikom.



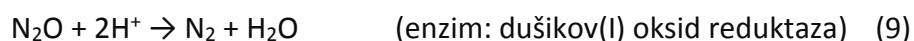
- Enzim nitrit reduktaza (Nir) – katalizira pretvorbu  $\text{NO}_2^-$  u NO, prikazano jednađbom (7). Nitrit reduktaza je nađena u periplazmi denitrifikanata.



- Dušikov(II) oksid reduktaza – membranski protein koji pretvara NO u  $\text{N}_2\text{O}$ , prikazano jednađbom (8).



- Dušikov(I) oksid reduktaza – katalizira redukciju dušikovog(I) oksida u elementarni plinoviti dušik, prikazano jednađbom (9). To je protein koji sadži bakar i najosjetljivi je od svih enzima jer se inhibira acetilenom i pri niskim koncentracijama kisika.



Najbrojniji rod denitrifikanata je *Pseudomonas*, a među ostalim su rodovi *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Paracoccus*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Thiobacillus*. Također, denitrifikaciju mogu provoditi i arhebakterije, tj. neki halofilni i hipertermofilni mikroorganizmi ove skupine, dok se u mitohondrijima određenih funga mogu naći osnovni enzimi denitrifikacijskog puta (Kumar i Lin, 2010).

Koristan učinak denitrifikacije je prevencija eutrofikacije (bujanje vodenog bilja – cvjetanje algi).

Biološka denitrifikacija je atraktivna opcija obrade otpadne vode u kojoj denitrificirajuće bakterije prevode  $\text{NO}_3\text{-N}$  u plinoviti N. Proces se može provoditi pri anaerobnim ili anoksičnim uvjetima. U tom procesu nitrat je oksidirajući sastojak u otpadnoj vodi, za čije uklanjanje (prevođenje u plinoviti dušik) je potreban elektron donor (Naik i Setty, 2012).

### 3.2.2. Čimbenici procesa biološke denitrifikacije

Jedan od najvažnijih čimbenika u provedbi procesa biološke denitrifikacije je izvor ugljika, jer je to donor elektrona za redukciju nitrata. U biološkoj denitrifikaciji različiti organski sastojci, čisti kemijski spojevi ili sastojci u otpadnoj vodi mogu biti izvori ugljika.

Izvori ugljika se mogu kategorizirati prema tome da li se već nalaze prisutni u otpadnoj vodi ili su dodani kao vanjski izvor ugljika. Egzogeni izvori ugljika, naknadno dodani, ne potječu iz

otpadne vode. Egzogeni izvori ugljika se dodaju kao vanjski. Endogeni izvori ugljika se odnose na organske supstrate koji potječu iz otpadne vode.

Dodavanje vanjskog izvora ugljika, s ciljem poboljšanja stabilnosti i učinkovitosti procesa biološke denitrifikacije, postaje presudno za mnoga postrojenja za obradu otpadnih voda, kako bi se zadovoljili strogi zakonski zahtjevi na količinu dušika.

Karakteristike dodanog izvora ugljika imaju veliki učinak na važne parametre denitrifikacijskog procesa, poput: brzina denitrifikacije, kinetika, KPK-vrijednost (Park i Yoo, 2009; Onnis-Hayden i Gu, 2008; Sage i sur., 2006; Obaja i sur., 2005).

Stehiometrijski omjer organskog izvora ugljika i nitrata (C/N) utječe na brzinu provođenja denitrifikacije. Organski ugljik je često ograničavajući supstrat za biološku denitrifikaciju i kod mnogih obrada otpadne vode dodaje se vanjski izvor ugljika (De Filippis i sur., 2013; Yang i sur., 2012; Khanitchaidecha i sur., 2010; Ueda i sur., 2006; Constantin i Fick, 1997).

Važni kriteriji pri odabiru izvora ugljika su brzina denitrifikacije, njegova cijena i raspoloživost. Kada se koriste čiste kemikalije tada proces obrade otpadnih voda značajno poskupljuje.

Važni parametri koji se moraju uzeti u obzir kod procesa denitrifikacije su količina doziranog vanjskog izvora ugljika i kinetika. Zahtjev za doziranje odnosi se na količinu KPK koja je potrebna da bi se uklonila svaka jedinica nitrata (odnosno, omjer KPK/N, koji se obično izražava kao g KPK/g  $\text{NO}_3\text{-N}$  uklonjenog).

Na potreban omjer KPK/N utječu faktori kao što su: priroda izvora ugljika, vrsta mikrobne biomase, kapacitet elektron donora, vrijeme zadržavanja mulja u sustavu za obradu (SRT, eng. *Sludge Retention Time*) i prinos mulja koji su povezani sa bakterijskim vrstama i izvorom ugljika.

Kod uzimanja u obzir kinetičkih parametara obično se usredotočuje na specifičnu brzinu denitrifikacije i na brzinu rasta biomase, koje su povezane sa izvorom ugljika.

Također, važani parametri koji se moraju uzeti u obzir pri odabiru izvora ugljika za denitrifikaciju su kontrola kvalitete izvora ugljika i sigurnost u uporabi (najznačajnije opasnosti su zapaljivost i eksplozivnost). Općenito, cijene izvora ugljika koji dolaze iz otpadnih produkata variraju s obzirom na nivo čistoće. Nerafinirani otpadni materijali imaju tendenciju imati promjenjivi sastav a to može imati značajan utjecaj na sigurnost kao i na učinkovito funkcioniranje procesa uklanjanja nutrijenata.



Na učinkovitost biološke denitrifikacije, osim izvora ugljika, utječu razni čimbenici, poput: temperatura, pH vrijednost vodenog okoliša, koncentracija nitrata i/ili nitrita, prisutnost otopljenog kisika, omjer C/N, prisutnost hranjivih tvari, alkalitet vodenog okoliša, razni mikronutrijenti kao što su kalcij, magnezij, kalij, natrij, bakar, molibden, ioni željeza i dr.

Bitan doprinos u postizanju učinkovite denitrifikacije ima mikrobna biomasa koja treba imati visoki enzimski potencijal za redukciju nitrata. Kako se denitrifikacija provodi pri anaerobnim ili anoksičnim uvjetima, prirast biomase mikroorganizama je mali te je stoga i potreba na dušiku kao izvoru hranjiva mala. Dušik koji se koristi kao hranjivi sastojak za rast i održavanje biomase potječe od amonijaka koji nije nitrificiran ili onog koji je nastao hidrolizom organski vezanog dušika. Osim dušika, kao hranjivi sastojak za rast biomase u procesu denitrifikacije koristi se i fosfor.

Vrijednost pH nije ograničavajući faktor za denitrifikaciju. Denitrifikacija se može zbivati u širokom rasponu pH vrijednosti. Optimalni pH za denitrifikaciju je u rasponu pH=7,0-9,0.

Temperatura može imati nekoliko indirektnih učinaka na proces denitrifikacije jer utječe na mikrobiološku aktivnost, topivost kisika i difuziju kisika u mikrobne nakupine. Pri temperaturi 20-40 °C proces denitrifikacije se odvija konstantnom brzinom, a pri temperaturi nižoj od 10 °C proces je usporen. Pri temperaturi 35 °C postiže se maksimalna brzina denitrifikacije i tada je brzina za 50% veća od prosječne brzine denitrifikacije. Pri temperaturi ispod 5 °C denitrifikacija je inhibirana.

Alkalitet vodenog medija se u procesu denitrifikacije povećava jer nastaje CO<sub>2</sub> uslijed razgradnje heterotrofnih sastojaka a pritom se nitrat i nitrit reduciraju do plinovitog dušika.

Koncentracija otopljenog kisika također utječe na proces denitrifikacije, a razlikuje se kod mikroorganizama koji se u bioreaktoru nalaze u obliku biofilma ili u pahuljici mulja, gdje je niža u odnosu na vodeni medij. Kod redukcije nitrita i nitrata utrošak kisika odnosi se na oksidaciju organskih sastojaka kao elektron donora.

Inhibitori procesa denitrifikacije odnosno čimbenici koji negativno utječu na denitrifikaciju mogu biti: teški metali, benzojeva kiselina, kloramfenikol, niska temperatura, pH-vrijednost, UV-svjetlost i visoka koncentracija nitrita. Također, otopljeni kisik može inhibirati proces denitrifikacije tako da represira enzime za redukciju nitrata.

Biološka denitrifikacija, kao heterotrofan proces, manje je osjetljiva na okolišne čimbenike od primjerice nitrifikacije, no na denitrifikaciju svejedno utječu varijacije nekih okolišnih parametara.

Iako su razvijeni novi procesi za projektirano biološko uklanjanje dušika, poput: aerobna denitrifikacija, autotrofna denitrifikacija i skraćena denitrifikacija, koje su nove i isplative alternative konvencionalnom biološkom uklanjanju dušika, autotrofna aerobna nitrifikacija koju slijedi heterotrofna denitrifikacija su još uvijek prevladavajuće strategije za postizanje biološkog uklanjanja dušika (Yang i sur., 2012; Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2004; Gerardi, 2002; Henze i sur., 2000).

## 4. METODOLOGIJA RADA

### 4.1. Sintetska otpadna voda

Za istraživanje učinka pH, temperature, otopljenog kisika, opterećenja s dušikom i opterećenja s organskim sastojcima na aktivnost aktivnog mulja za procese uklanjanja dušika uporabljena je priređena otpadna voda. Sintetska otpadna voda je priređena otapanjem soli u vodovodnoj vodi, i to (g/L):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 4;  $\text{FeSO}_4$ , 0,8;  $\text{MgSO}_4$ , 1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 2;  $\text{NaCl}$ , 0,8;  $\text{MgCO}_3$ , 2;  $\text{CaCO}_3$ , 2. Nakon 24 sata stajanja pri sobnoj temperaturi otopina soli je filtrirana kroz grubi filter papir (veličine pora 0,45  $\mu\text{m}$ ), te čuvana na sobnoj temperaturi.

Kemijska kakvoća tako priređene sintetske otpadne vode je:  $\text{KPK}=0\text{-}10$  mg/L;  $\text{NH}_4\text{-N}=1047,5\pm 52,5$  mg/L;  $\text{NO}_3\text{-N}=3,3\pm 0,6$  mg/L;  $\text{NO}_2\text{-N}=0,025\pm 0,015$  mg/L;  $\text{PO}_4\text{-P}=24,3\pm 16,7$  mg/L;  $\text{pH}=7,71\text{-}8,16$ . Kao izvor ugljika (KPK) korišten je natrijev acetat, koji je za postizanje određenog omjera KPK/N dodan otpadnoj vodi u odgovarajućoj izračunatoj količini prema koncentraciji N.

Za potrebe korekcije pH tijekom pokusa uporabljena je 2M NaOH.

Sintetska otpadna voda priređivana je po potrebi, najmanje 24 sata prije provođenja pokusa.

### 4.2. Mikrobna kultura aktivnog mulja

Svi pokusi su načinjeni sa aktivnim muljem sa uređaja za obradu otpadne vode grada. Aktivni mulj je po dopremanju u laboratorij mikroskopski pregledan, određena je količina MLSS, brzina taloženja, te je provjerena aktivnost mulja za nitrifikaciju i uklanjanje organskih sastojaka u aerobnim uvjetima.

Mulj je pokazao aktivnost za proces bioksidacije (oksidacija organskih sastojaka), dok je nitrifikacijska aktivnost izostala.

Mulj je podvrgnut režimu namnažanja spororastućih vrsta mikroorganizama (nitrifikanata) u aerobnim uvjetima tako da je mulju svakodnevno dodana sintetska otpadna voda s 15-20 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$  i nakon dva tjedna mulj je pokazao aktivnost za nitrifikaciju. Mulj je aklimatiziran na 50 – 300 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$ .

### 4.3. Pokusi nitrifikacije

U laboratorijskom reaktoru opremljenom sustavom za prozračivanje i mjeracima pH, temperature i otopljenog kisika provedeni su pokusi nitrifikacije (Slika 4).

Opskrba sa kisikom iz zraka je provedena upuhivanjem zraka iz kompresora preko difuzora na dnu reaktora. Aeriranje je osiguralo i miješanje sadržaja u reaktoru.

Pokusi uz korekciju pH vrijednosti su provedeni dodavanjem 2M NaOH. U pokusima pri niskoj koncentraciji otopljenog kisika, isključeno je prozračivanje i uključena je mehanička mješalica.

U određenim vremenskim razmacima uzimani su uzorci, filtrirani kroz filter papir veličine pora 0,45  $\mu\text{m}$ , te je određivan: KPK,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$ , povremeno MLSS, a stalno je tijekom procesa motrena vrijednost pH, temperature i otopljenog kisika (DO, eng. *Dissolved Oxygen*)

Pokusi su vođeni na način da je aklimatizirani mulj stavljen u reaktor i dodana mu je sintetska otpadna voda te su provedeni pokusi u kojima su istraženi učinci temperature, pH i DO na aktivnost mikrobne kulture za nitrifikaciju i denitrifikaciju.

Pokusi su provedeni kao diskontinuirani.



Slika 4. Bioreaktor korišten za pokuse nitrifikacije i denitrifikacije

#### 4.4. Pokusi denitrifikacije

Pokusi denitrifikacije u kojima je istražen učinak pH, temperature i različitog omjera C/N su provedeni u laboratorijskim čašama radnog volumena 600 mL (Slika 5). Čaše su postavljene na magnetske mješalice, te pri 100 o/min provedeni pokusi denitrifikacije. Na početku svakog pokusa dodana je određena količina natrijeva acetata da osigura željeni omjer C/N. Tijekom cijelog pokusa motrena je pH, temperatura i DO.

U određenim vremenskim intervalima uzimani su uzorci, filtrirani preko filter papira veličine pora 0,45  $\mu\text{m}$ , te su načinjena analitička određivanja KPK,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$ , te povremeno MLSS.

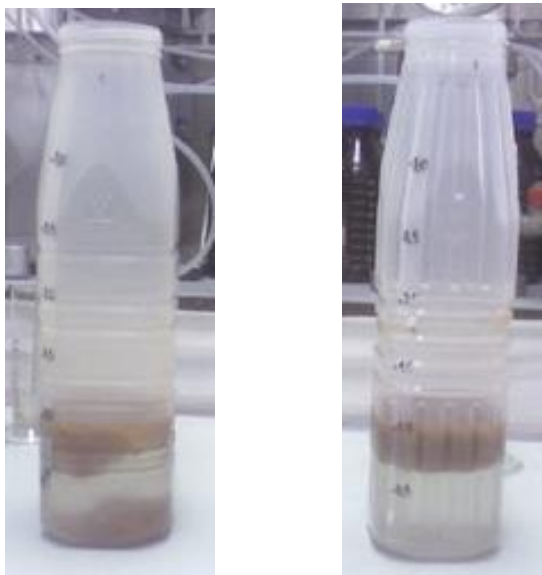
Denitrifikacija, do 200 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  provedena je u laboratorijskom bioreaktoru u koji je postavljena mehanička mješalica, prozračivanje je isključeno, a izvor ugljika je osiguran dodanom odgovarajućom količinom natrijeva acetata kako bi se zadovoljio odabrani omjer C/N, odnosno KPK/N (Slika 4).

Nakon svakog pokusa denitrifikacije prije provođenja druge serije pokusa, provedene su 3-4 nitrifikacije da se utroši eventualno preostali KPK i da se smanji vrijednost pH.



Slika 5. Aparatura za pokuse denitrifikacije

Nakon denitrifikacije, uslijed oslobađanja mjehurića plina biomasa je flotirala (Slika 6).



Slika 6. Flotirani mulj nakon procesa denitrifikacije

## 5. REZULTATI I RASPRAVA

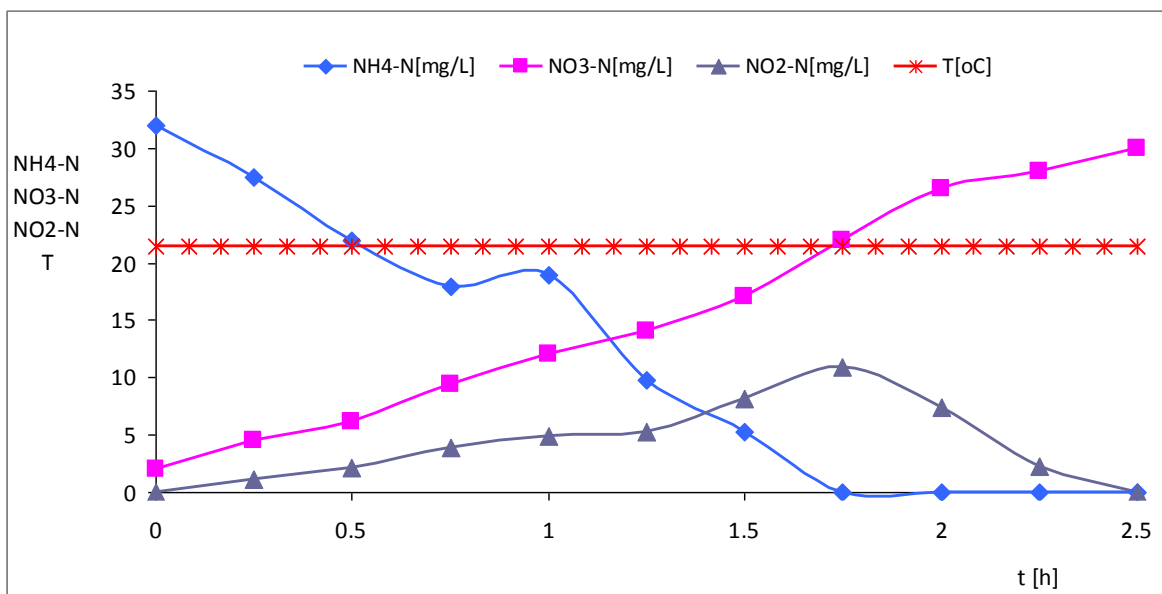
### 5.1. Autotrofna nitrifikacija – učinak pH, temperature, otopljenog kisika

Pokusi autotrofne nitrifikacije su provedeni s ciljem da se istraži učinak pH, temperature i otopljenog kisika na aktivnost aktivnog mulja, a u svrhu definiranja povoljnih vrijednosti tih čimbenika za provođenje učinkovitog procesa.

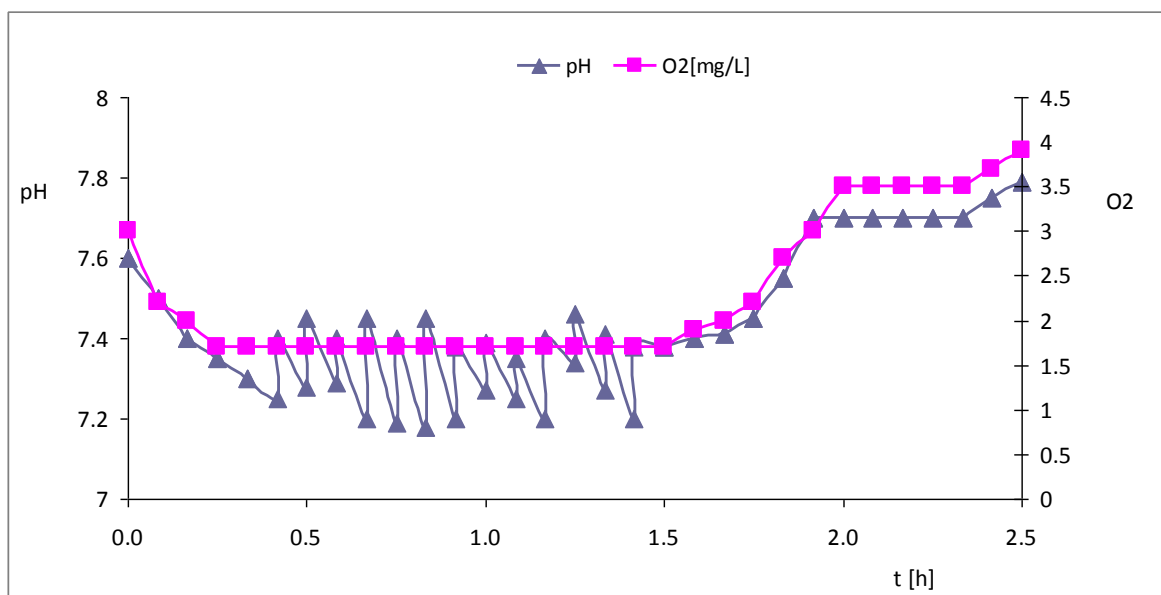
Pokusi autotrofne nitrifikacije 30 mg NH<sub>4</sub>-N/L su provedeni pri slijedećim odabranim čimbenicima:

- temperaturi 20 °C i DO>2 mg/L i uz: pH 7,2-7,4 (Slike 7 i 8), pH 7,5-7,6 (Slike 9 i 10) i pH 7,8-8,0 (Slike 11 i 12)
- temperaturi 20 °C i DO<1 mg/L i uz: pH 7,2-7,4 (Slike 13 i 14), pH 7,5-7,6 (Slike 15 i 16) i pH 7,8-8,0 (Slike 17 i 18)
- temperaturi 13 °C i DO>2 mg/L i uz: pH 7,2-7,4 (Slike 19 i 20), pH 7,5-7,6 (Slike 21 i 22) i pH 7,8-8,0 (Slike 23 i 24)
- temperaturi 30 °C i DO>2 mg/L i uz: pH 7,2-7,4 (Slike 25 i 26), pH 7,5-7,6 (Slike 27 i 28) i pH 7,8-8,0 (Slike 29 i 30)
- temperaturi 30 °C i DO<1 mg/L i uz: pH 7,2-7,4 (Slike 31 i 32), pH 7,5-7,6 (Slike 33 i 34) i pH 7,8-8,0 (Slike 35 i 36)

Karakteristične krivulje motrenih pokazatelja kakvoće biološkog procesa autotrofne nitrifikacije pri 20 °C su prikazane slikama 7-18.

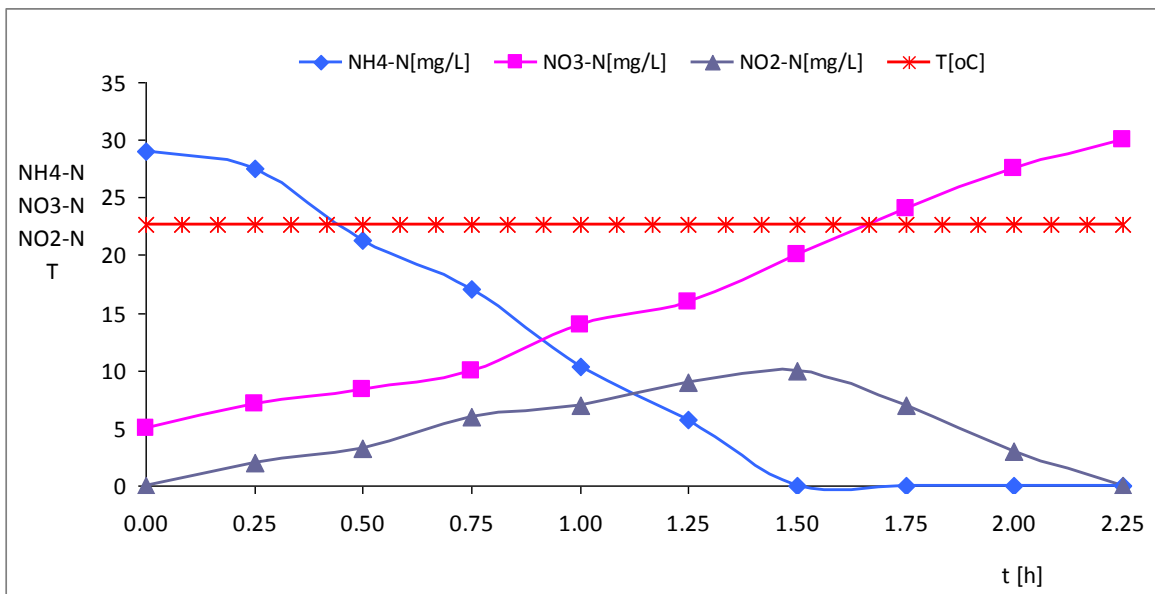


Slika 7.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} > 2$  mg/L, pri pH 7,2-7,4

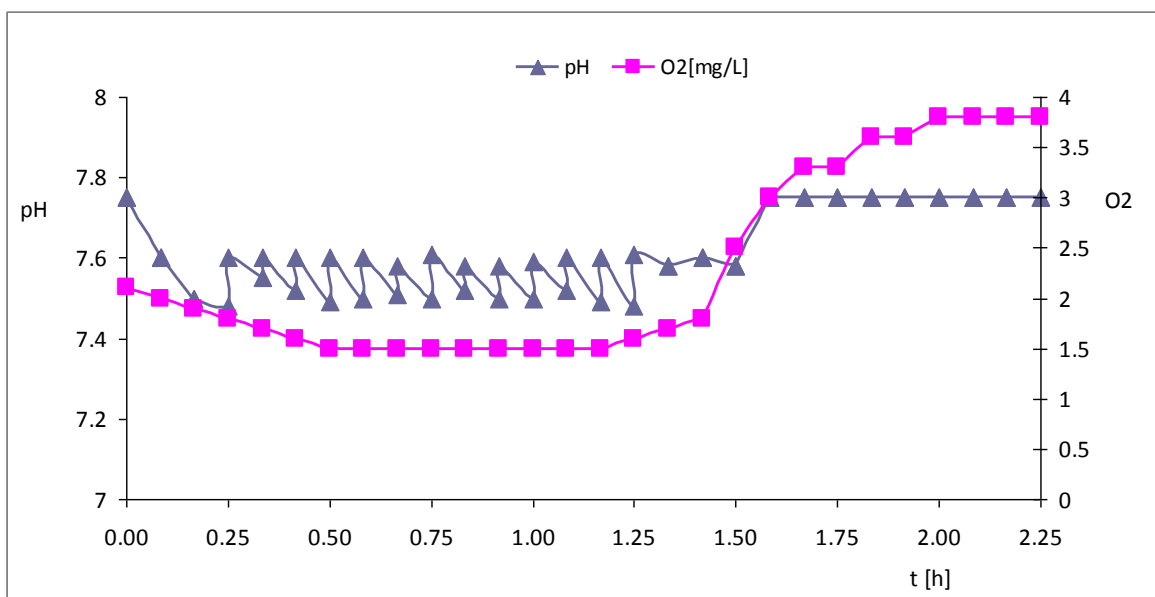


Slika 8. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} > 2$  mg/L, pri pH 7,2-7,4

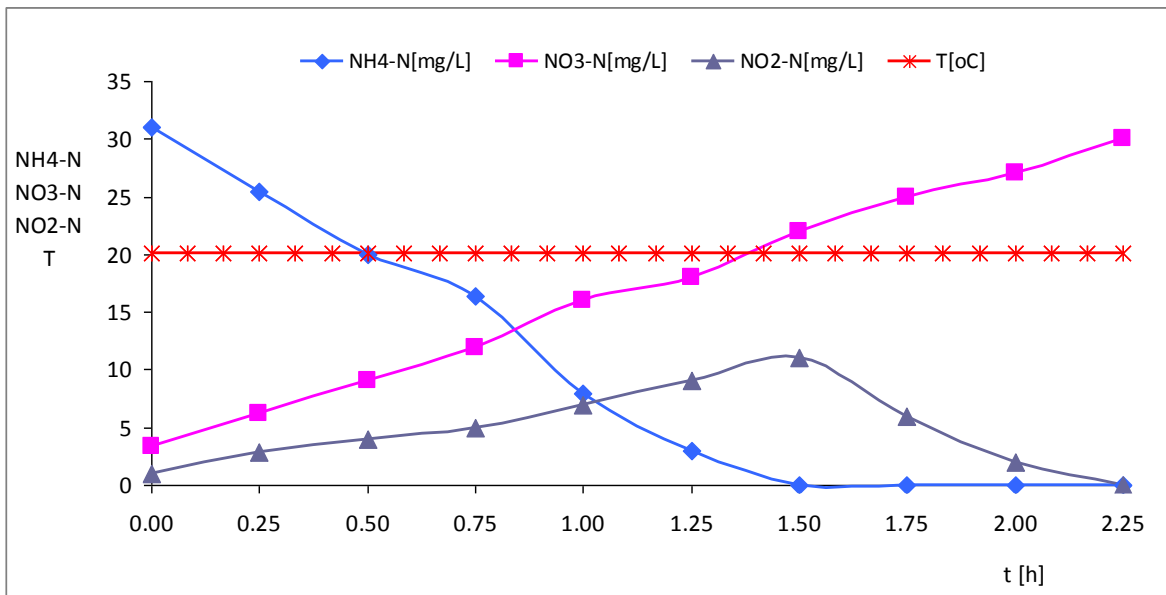




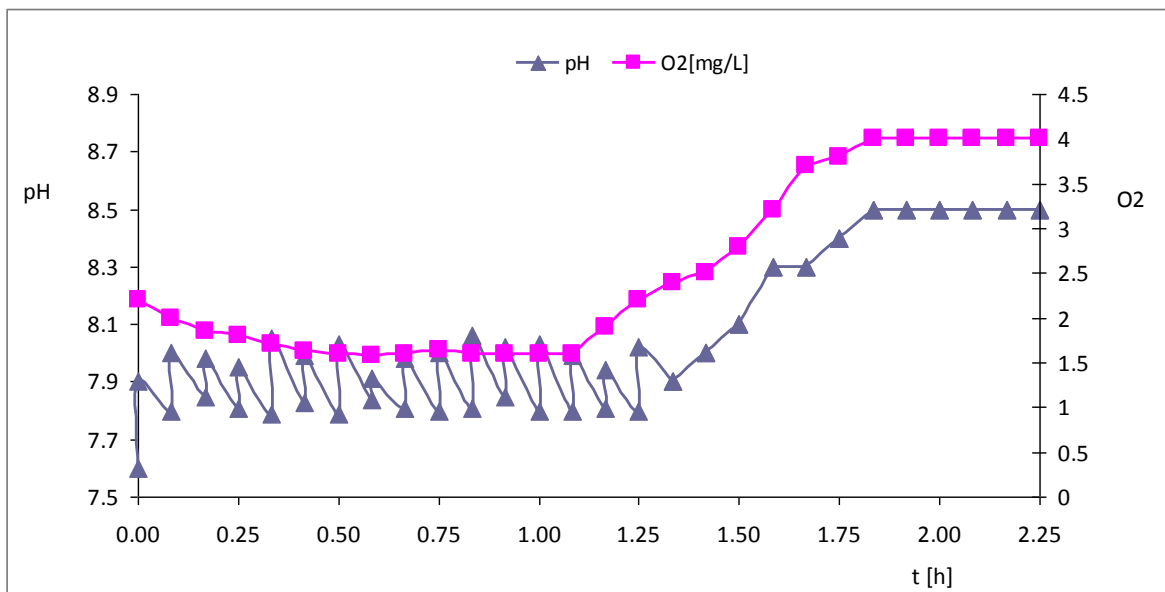
Slika 9.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6



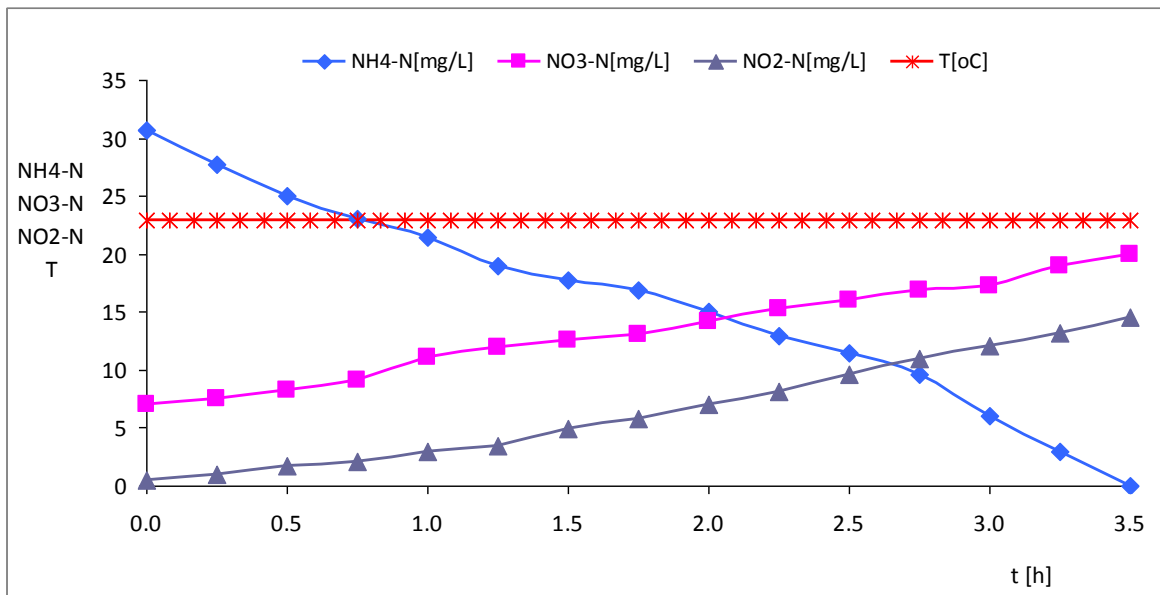
Slika 10. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6



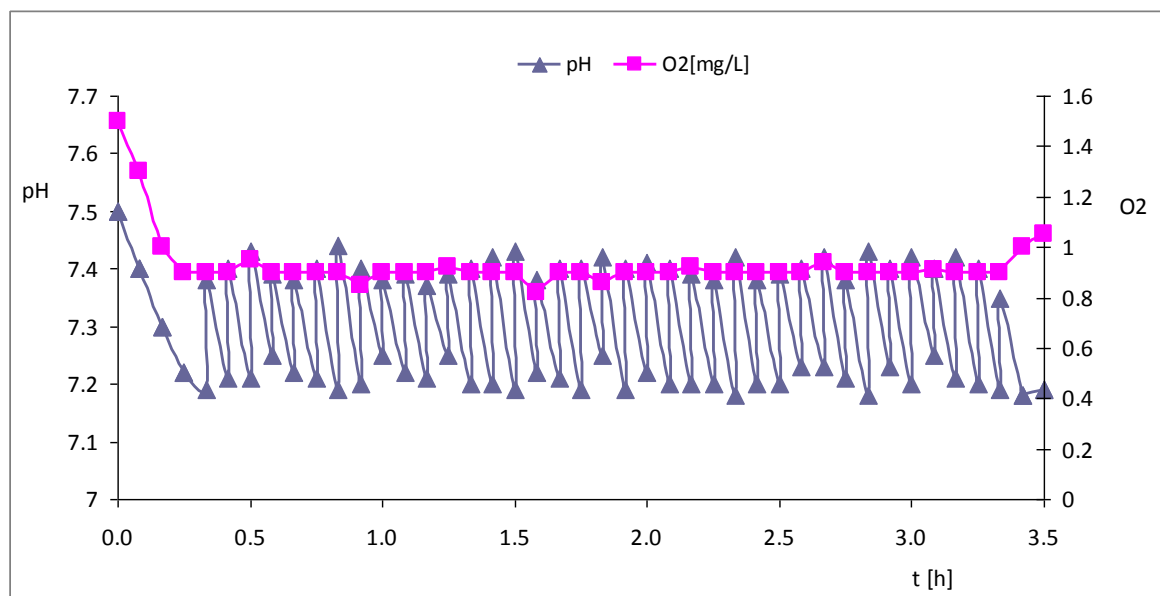
Slika 11.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,8-8,0



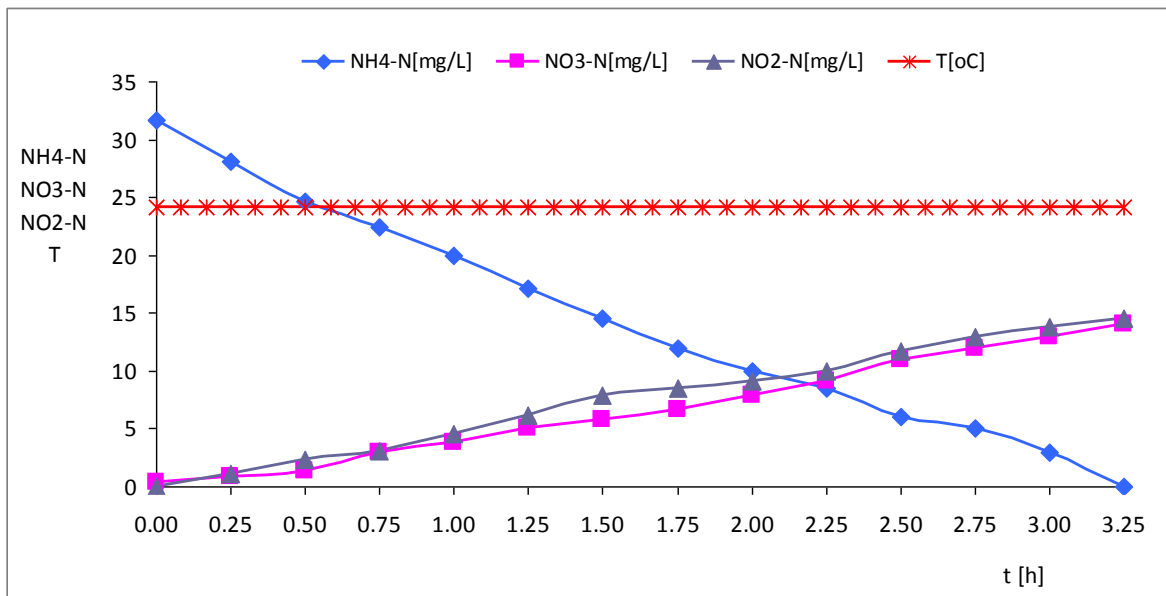
Slika 12. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,8-8,0



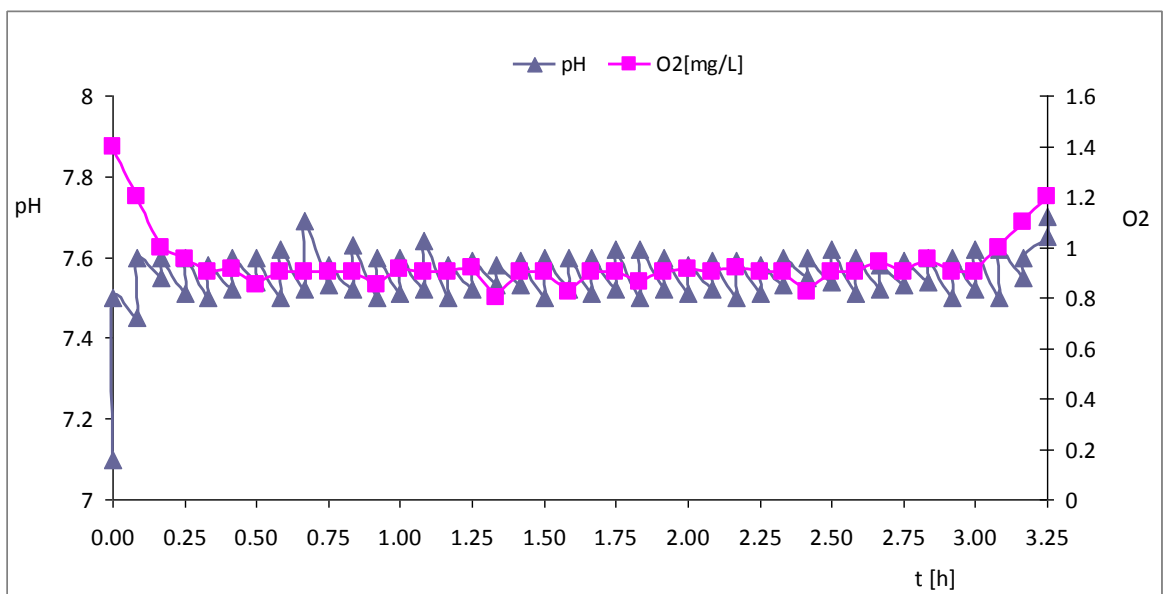
Slika 13. NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4



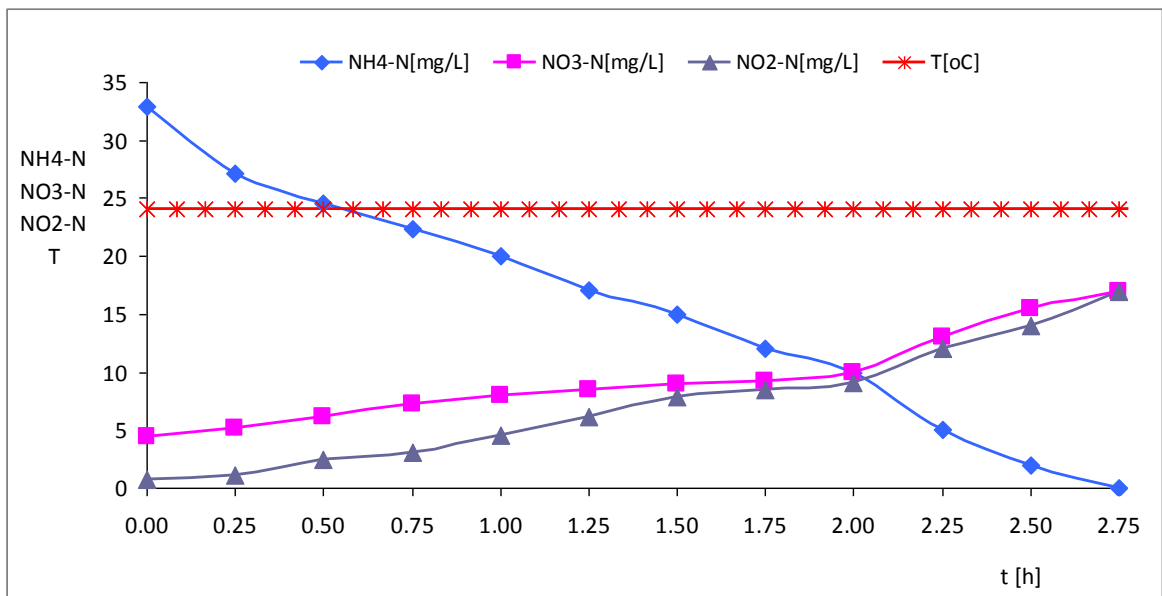
Slika 14. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4



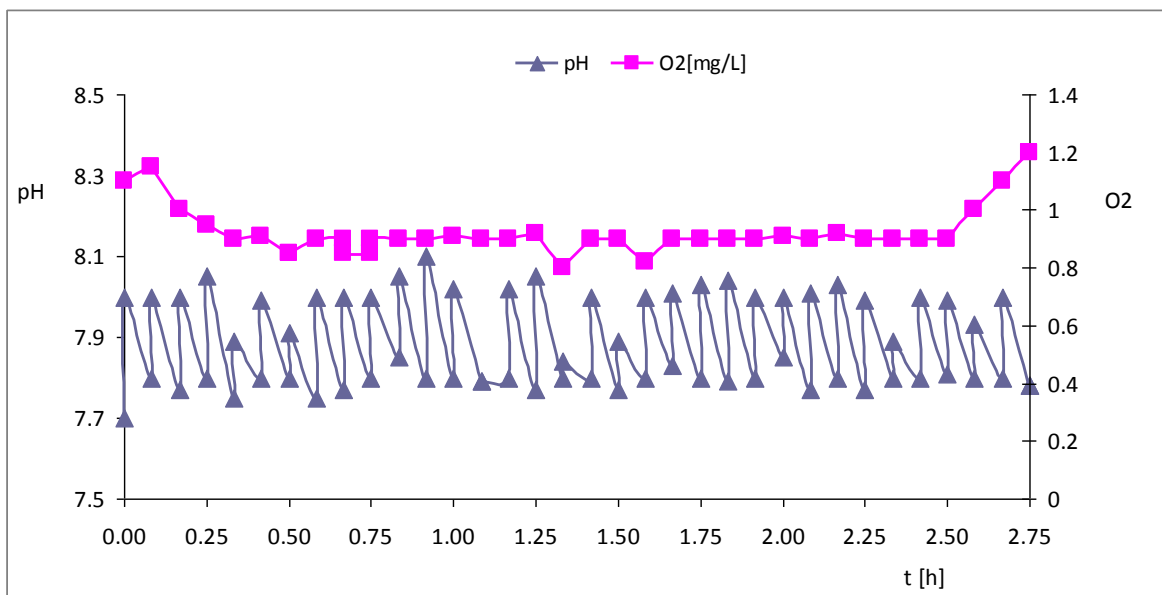
Slika 15.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6



Slika 16. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6



Slika 17.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,8-8,0



Slika 18. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 20 °C,  $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,8-8,0

Seriya pokusa autotrofne nitrifikacije pri 20 °C, pri  $DO > 2$  mg/L (Slike 7-12) pokazuje da se postiže potpuna nitrifikacija, s povećanjem pH procesa povećava se brzina nitrifikacije (Slike 7, 9, i 11).

Pri  $DO > 2$  mg/L nitrifikacijom se  $NH_4-N$  prevodi u  $NO_x-N$ , pri čemu je najveća koncentracija  $NO_2-N$  u točki potpune oksidacije  $NH_4-N$ , a daljnjom aeracijom se  $NO_2-N$  oksidira do  $NO_3-N$  (Slike 7, 9 i 11). Pri tome se vrijednost  $NO_2-N$  povećava s povećanjem odabrane pH vrijednosti, a maksimalno je iznosila 10 mg  $NO_2-N/L$  (Slika 11).

Krivulje promjena DO i pH pokazuju slične promjene tijekom vremena u svim pokusima pri  $DO > 2$  mg/L (Slike 8, 10 i 12), i to takve da se otopljeni kisik troši pri oksidaciji  $NH_4-N$  i nakon što je sav  $NH_4-N$  oksidiran dolazi do porasta koncentracije DO.

U nitrifikaciji pri  $DO < 1$  mg/L povećanje pH procesa je u pozitivnoj korelaciji s brzinom nitrifikacije (Slike 13, 15 i 17), kao i u procesu pri  $DO > 2$  mg/L (Slike 7, 9 i 11).

Pri  $DO < 1$  mg/L vrijeme potrebno za oksidaciju  $NH_4-N$  (Slike 13, 15 i 17) je duže u usporedbi sa nitrifikacijom pri  $DO > 2$  mg/L (Slike 7, 9 i 11).

U pokusima uz  $DO < 1$  mg/L  $NH_4-N$  se tijekom oksidacije prevodi u podjednake količine  $NO_3-N$  i  $NO_2-N$ . Isto tako, vrijeme oksidacije  $NH_4-N$  se skraćuje s povećanjem pH procesa (Slike 13-18).

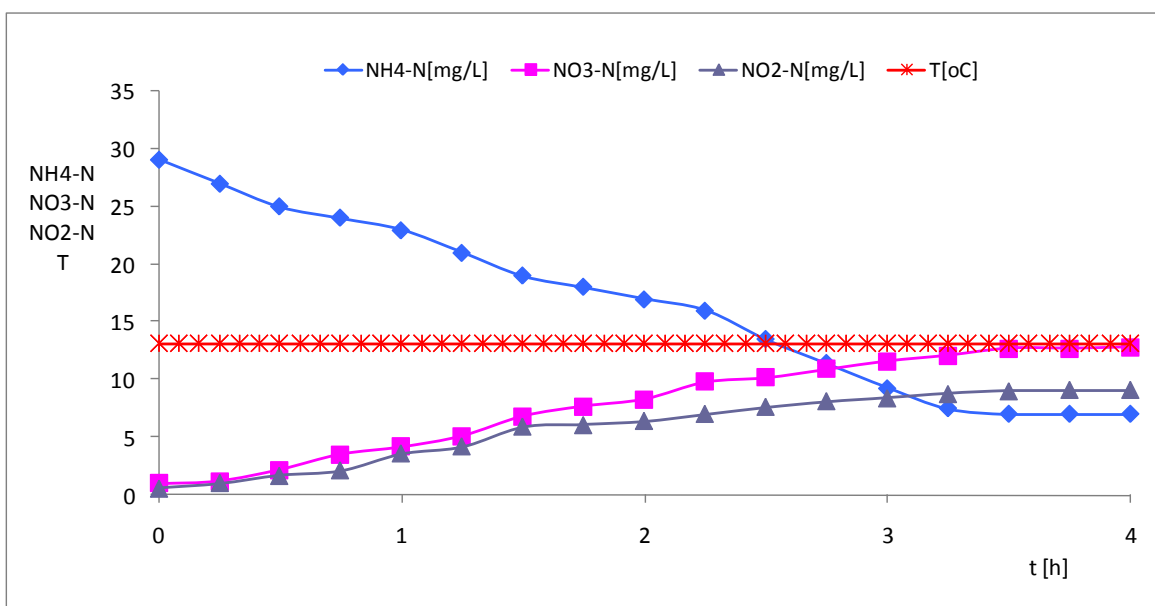
I u pokusima pri  $DO < 1$  mg/L (Slike 14, 16 i 18) tijekom oksidacije  $NH_4-N$  upotrebljuje se raspoloživi otopljeni kisik, i u tim pokusima se može zapaziti nakon oksidacije  $NH_4-N$  porast koncentracije otopljenog kisika.

Tijekom nitrifikacije provođena je pH korekcija na odabranu vrijednost (Slike 8, 10, 12, 14, 16 i 18).

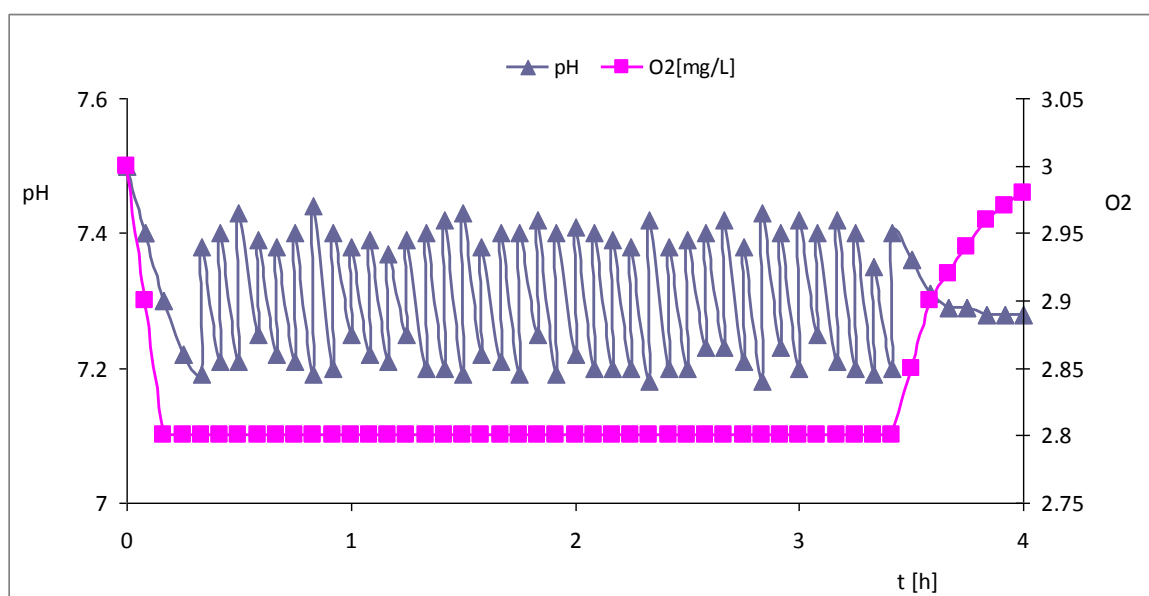
Brzine oksidacije  $NH_4-N$  pri  $DO > 2$  mg/L, temperaturi 20 °C i pri odabranim pH 7,2-7,4; pH 7,5-7,6 i pH 7,8-8,0 su: 18,3 mg  $NH_4-N/Lh$ , 19,3 mg  $NH_4-N/Lh$  odnosno 20,7 mg  $NH_4-N/Lh$  (Slike 7-12).

U pokusima pri  $DO < 1$  mg/L i 20 °C, brzine oksidacije  $NH_4-N$  pri odabranim pH 7,2-7,4; pH 7,5-7,6 i pH 7,8-8,0 su: 8,8 mg  $NH_4-N/Lh$ , 9,8 mg  $NH_4-N/Lh$  i 11,9 mg  $NH_4-N/Lh$  (Slike 13-18).

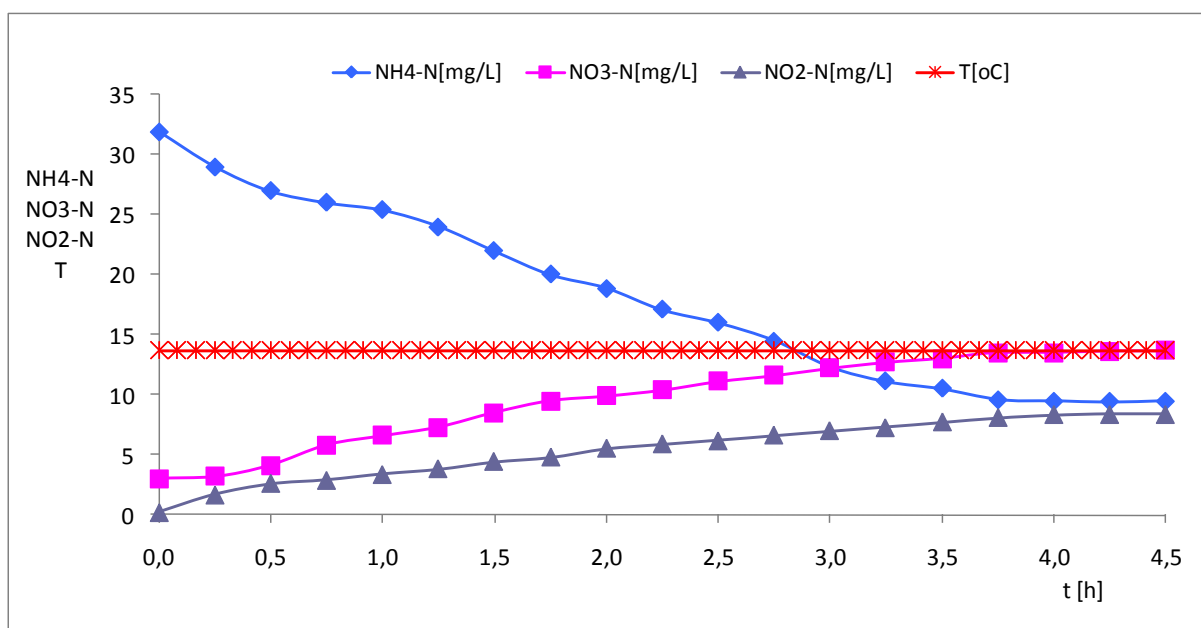
Karakteristične krivulje motrenih pokazatelja kakvoće pri provođenju autotrofne nitrifikacije pri 13 °C su prikzane slikama 19-24.



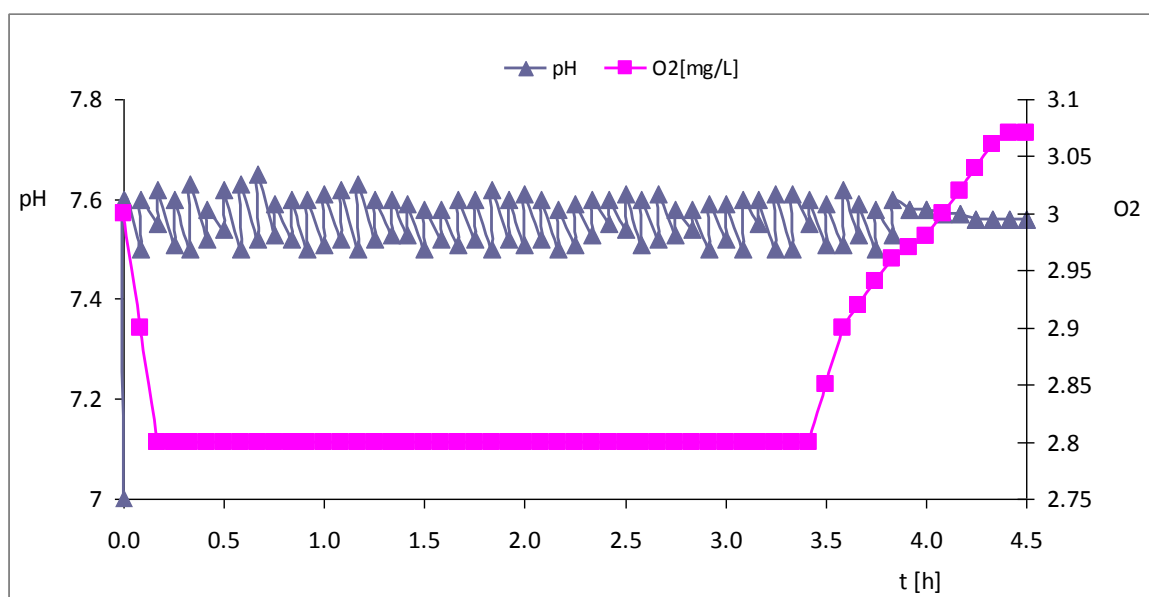
Slika 19.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 13 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,2-7,4



Slika 20. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 13 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,2-7,4

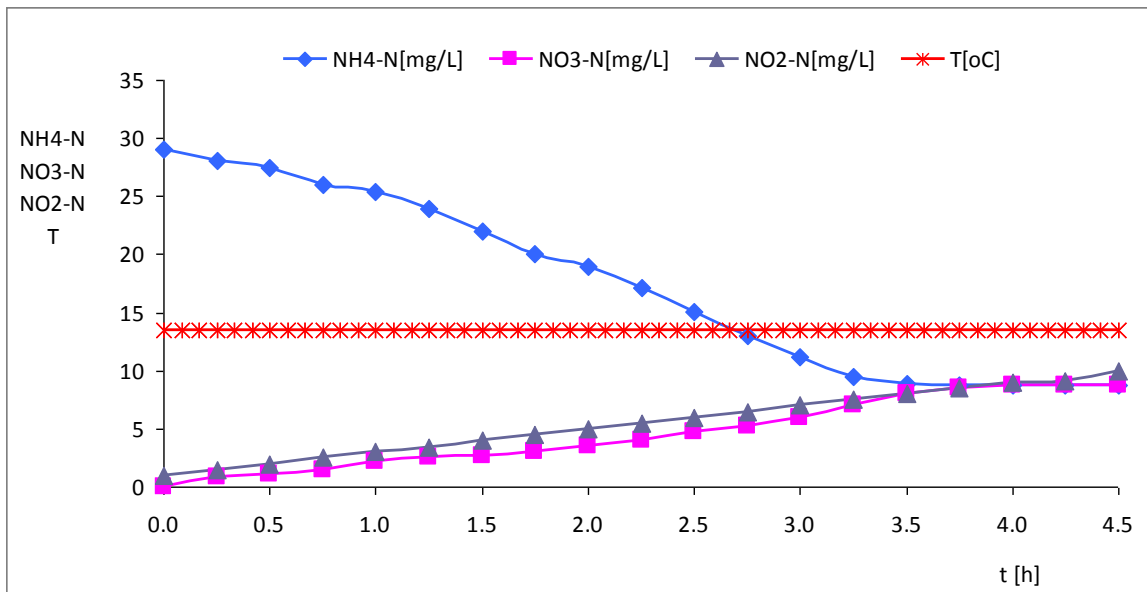


Slika 21.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 13 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6

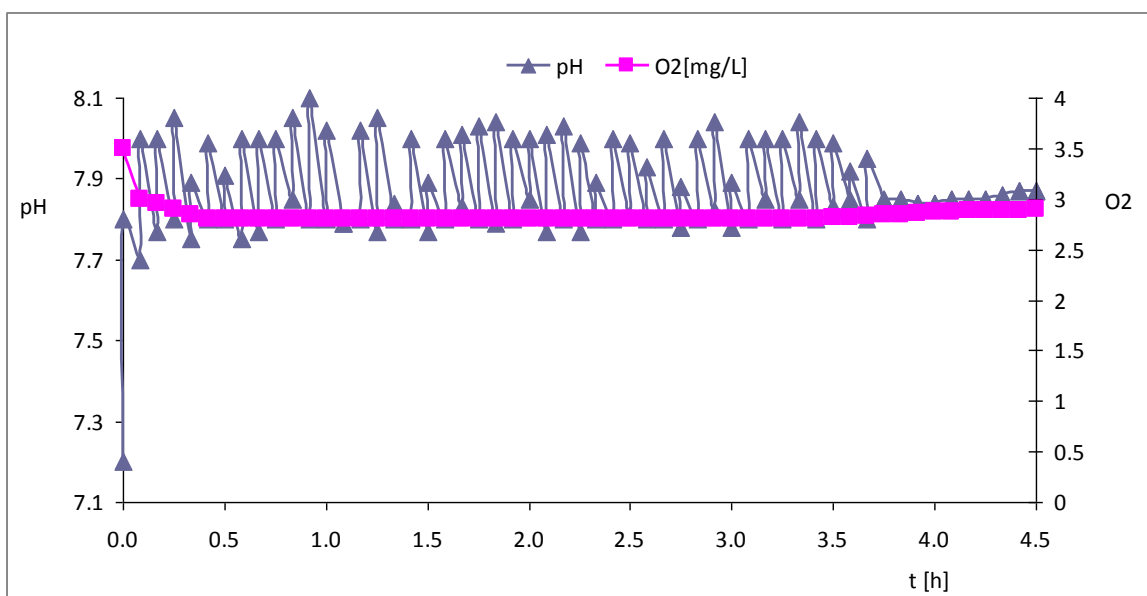


Slika 22. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 13 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6





Slika 23. NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0



Slika 24. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, pri pH 7,8-8,0

Pokusi nitrifikacije pri 13 °C daju odziv mikrobne kulture na neodgovarajuće uvjete provođenja mikrobnog procesa (Slike 19-24).

Autotrofna nitrifikacija pri 13 °C (Slike 19-24), pri  $DO > 2$  mg/L i za sve odabrane pH korekcije, rezultira nepotpunom oksidacijom  $NH_4-N$ , a oksidirani dio  $NH_4-N$  se prevodi u  $NO_3-N$  i  $NO_2-N$  (Slike 19, 21 i 23). U takvim uvjetima postiže se oko 70% uklanjanje  $NH_4-N$ .

U pokusima je pokazano da je proces nitrifikacije nepotpun, sporiji odnosno traje duže vrijeme.

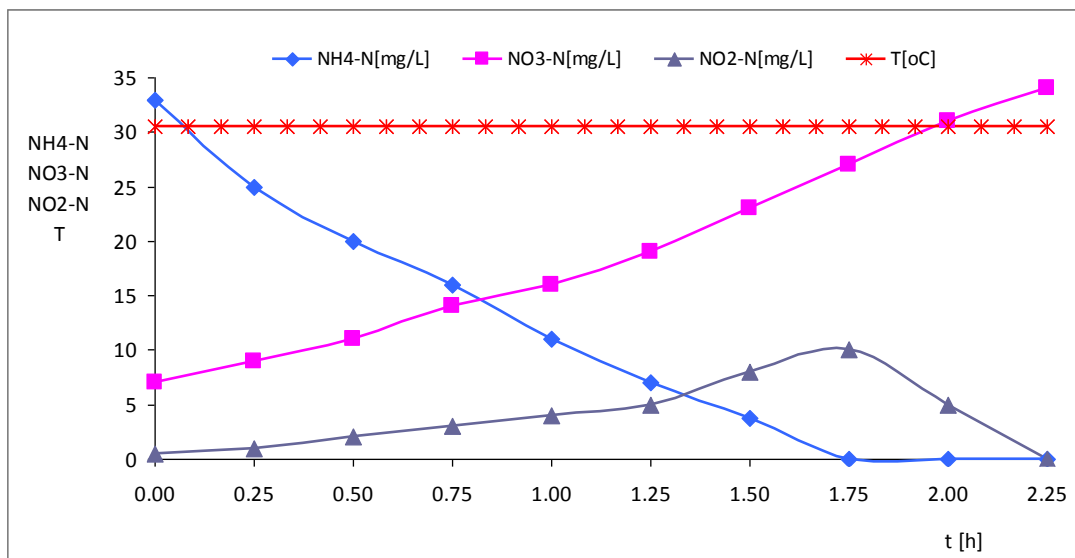
Nitrifikacija je inhibirana, i u svim pokusima je nakon 3-3,5 sata provođenja procesa ostvarena učinkovitost od oko 70% oksidiranog  $NH_4-N$ .

Na brzinu procesa nitrifikacije pri 13 °C, i održavanje viših vrijednosti pH procesa nema učinka na brzinu, na aktivnost mikrobne kulture aktivog mulja i na učinkovitost procesa (Slike 19, 21 i 23).

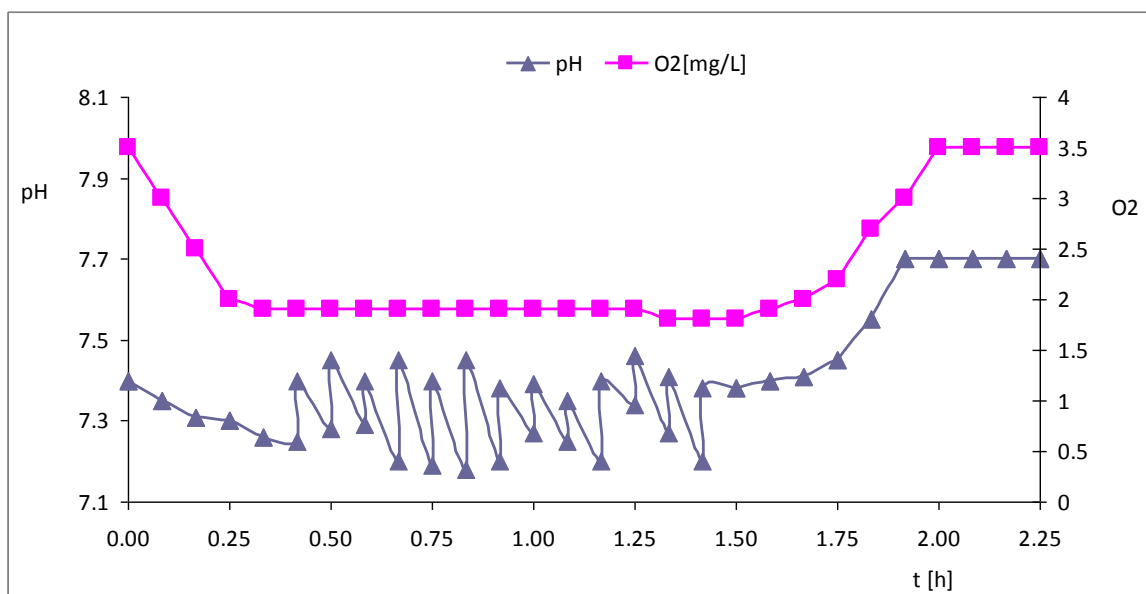
Tijekom pokusa nitrifikacije pri 13 °C vrijednost pH je održavana na odabranim vrijednostima korekcijom pH uz dodavanje 2M NaOH (Slike 20, 22 i 24).

Učinak niske temperature (13 °C) se odražava na biološki proces nitrifikacije tako što je proces usporen i nepotpun. Koncentracija otopljenog kisika u pokusima pri  $DO > 2$  mg/L je relativno visoka tijekom cijelog procesa.

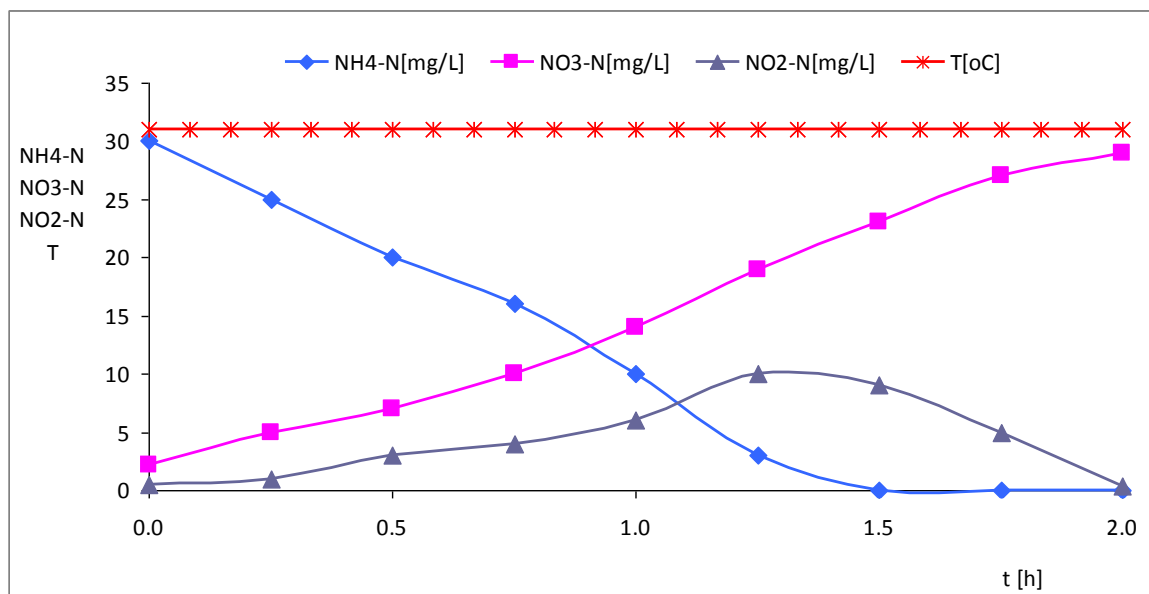
Najbolji rezultati nitrifikacije su ostvareni pri temperaturi 30 °C, pri svim vrijednostima odabranih raspona pH (Slike 25-36), usporedljivo sa pokusima pri drugim odabranim temperaturama, pri 13 °C i 20 °C (Slike 7-24).



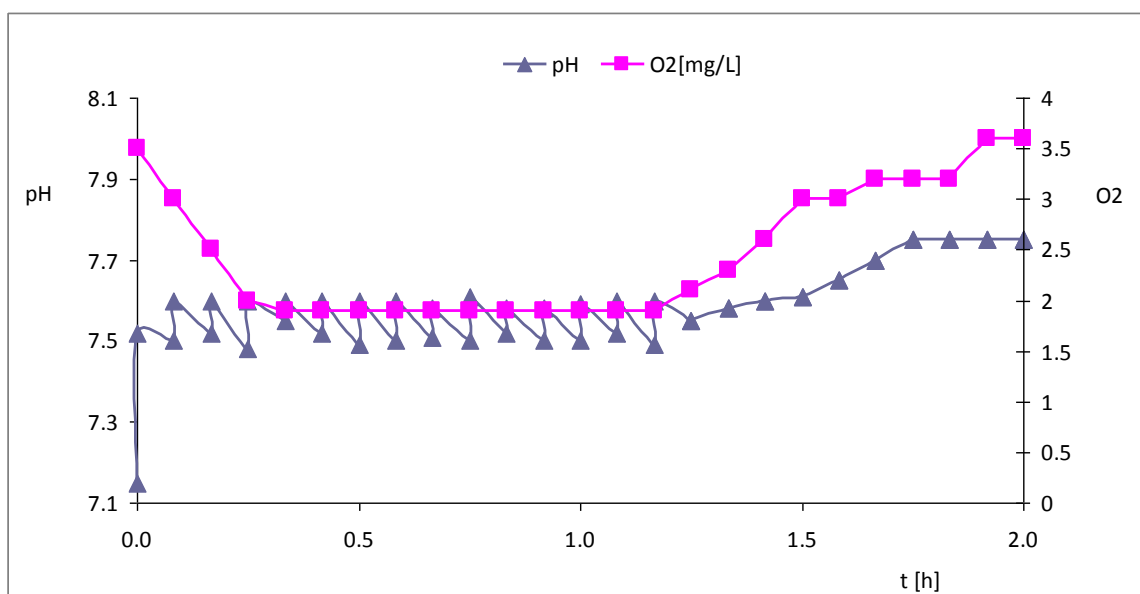
Slika 25.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,2-7,4



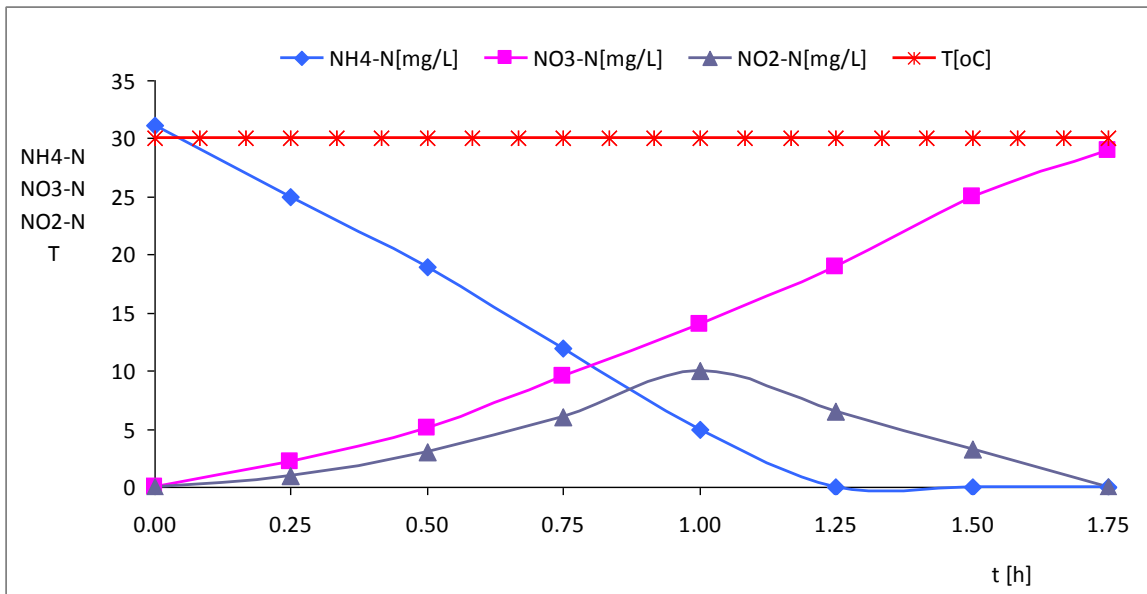
Slika 26. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,2-7,4



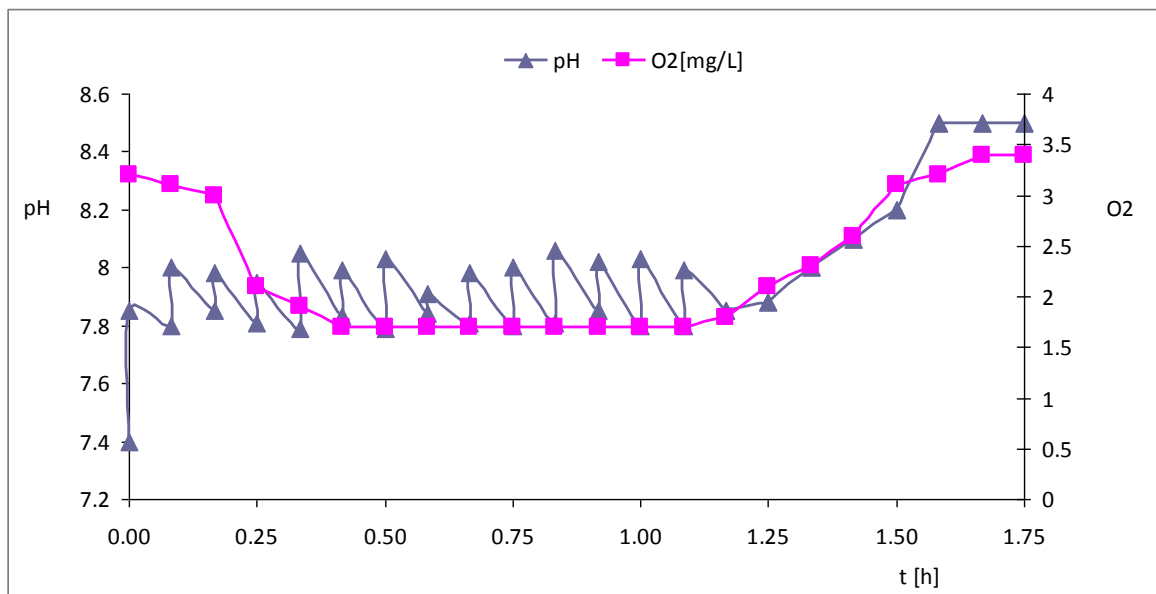
Slika 27.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} > 2$  mg/L, pri pH 7,5-7,6



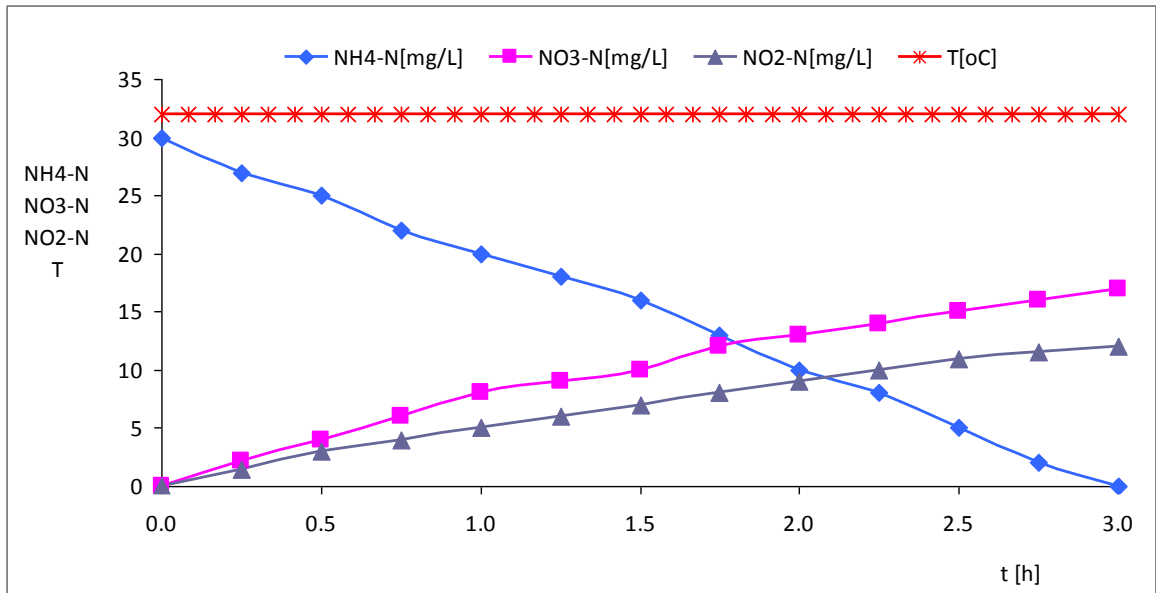
Slika 28. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} > 2$  mg/L, pri pH 7,5-7,6



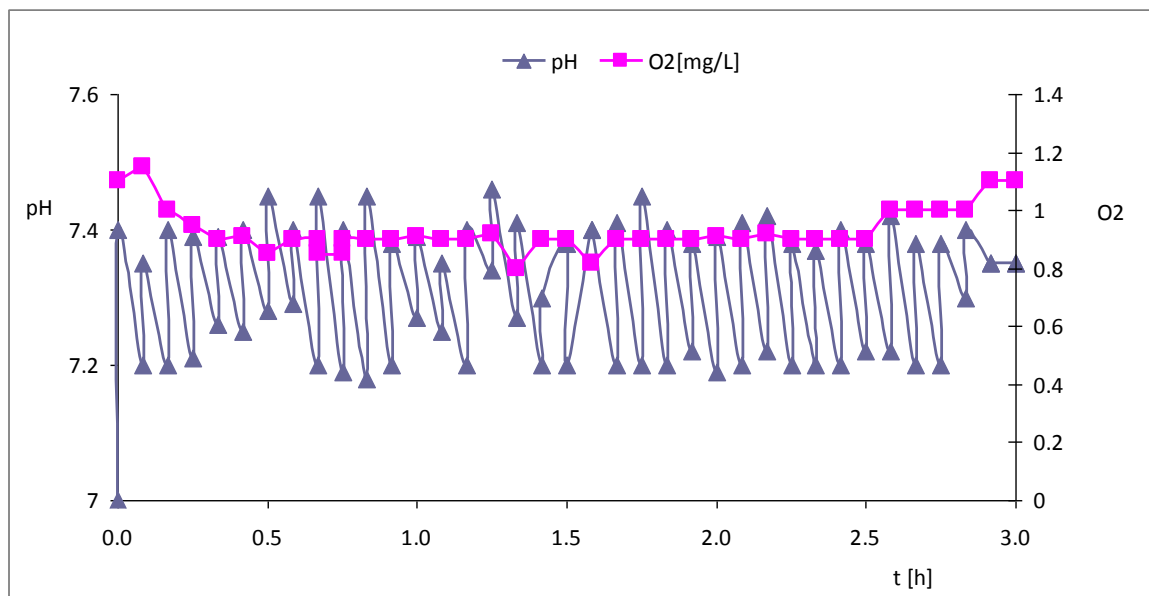
Slika 29.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} > 2$  mg/L, pri pH 7,8-8,0



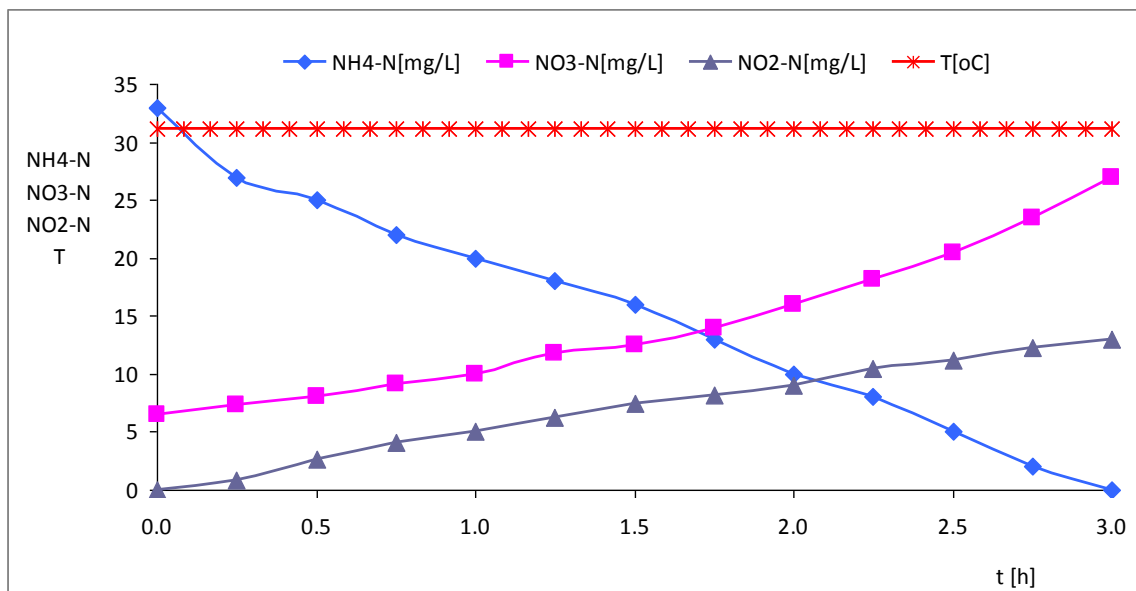
Slika 30. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} > 2$  mg/L, pri pH 7,8-8,0



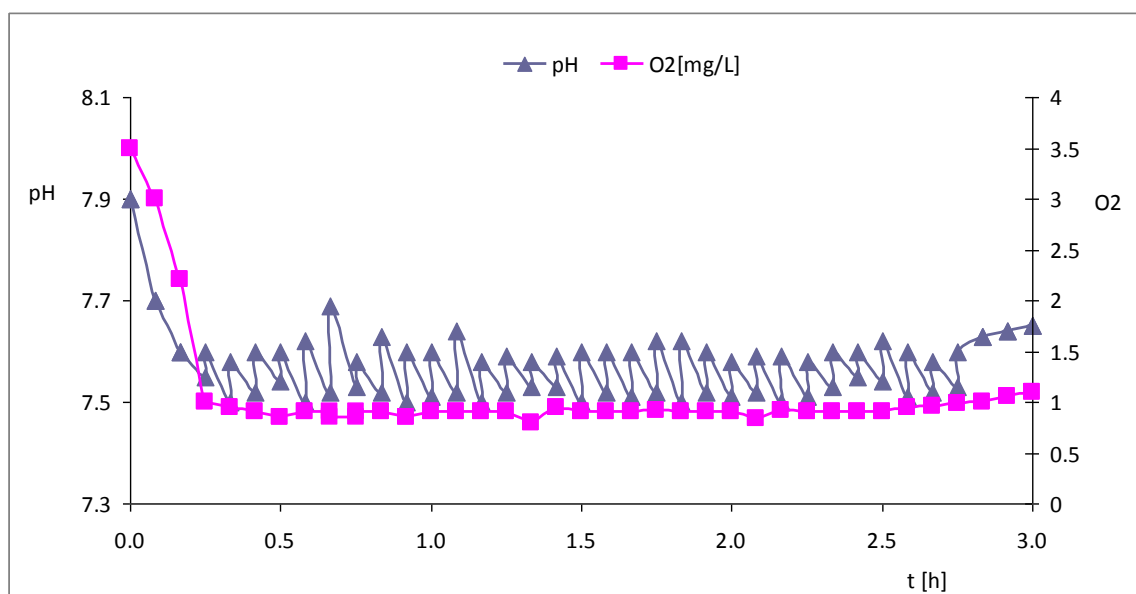
Slika 31. NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4



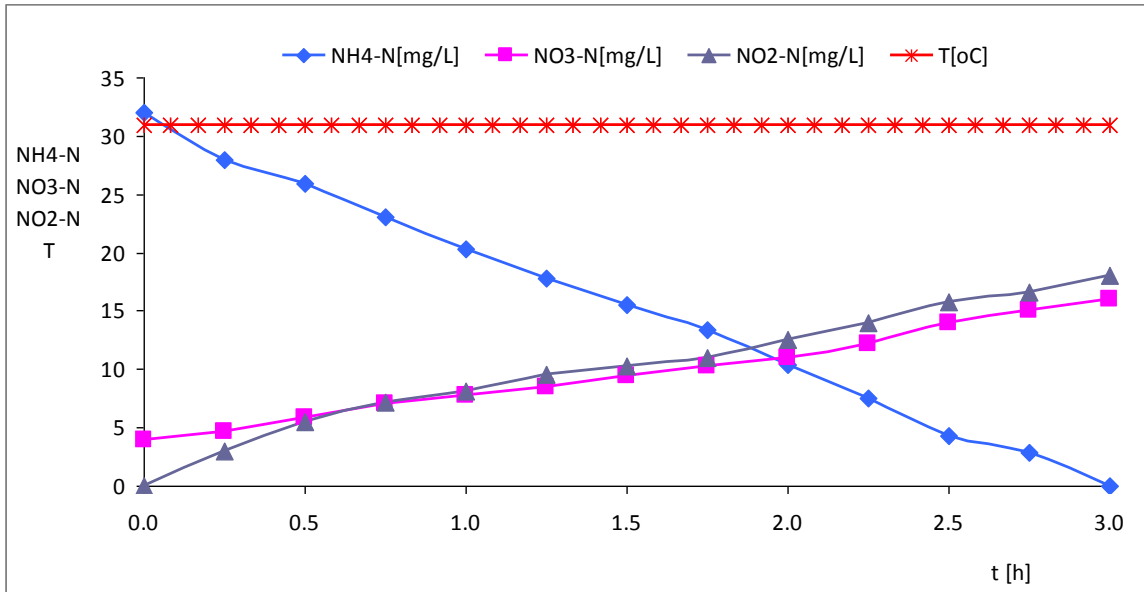
Slika 32. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,2-7,4



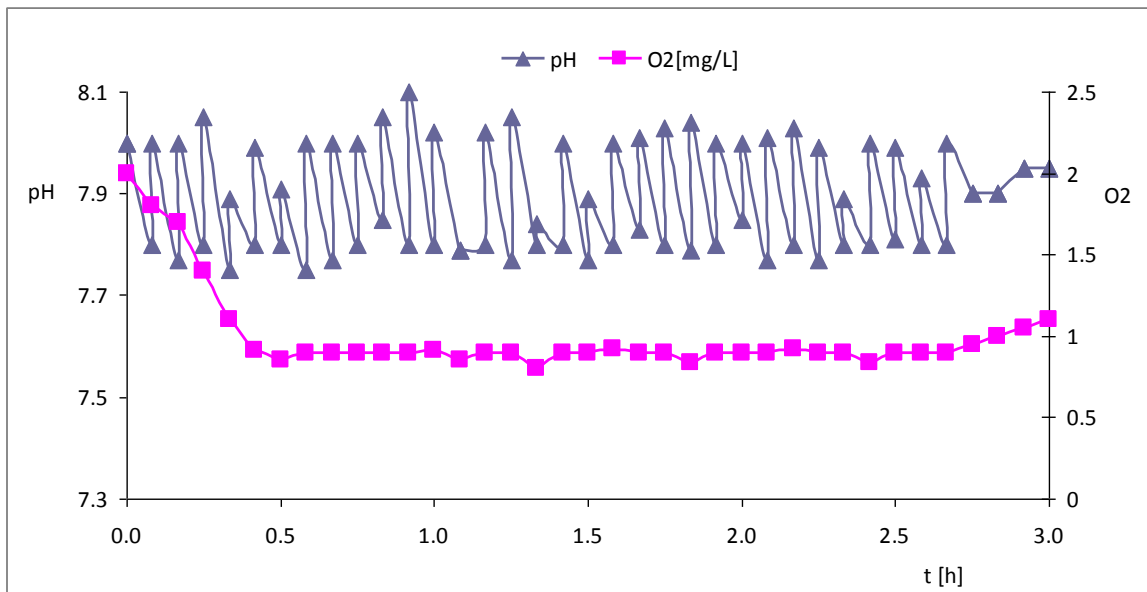
Slika 33.  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6



Slika 34. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C,  $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ , pri pH 7,5-7,6



Slika 35. NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,8-8,0



Slika 36. pH i DO tijekom autotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, pri pH 7,8-8,0



U pokusima nitrifikacije pri temperaturi 30 °C krivulje promjena koncentracije NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N i NO<sub>2</sub>-N su pokazatelji aktivnosti mikrobne kulture, za odabrane uvjete DO i pH (Slike 25-36). Tijekom nitrifikacije oksidira se NH<sub>4</sub>-N pri čemu se troši raspoloživi otopljeni kisik. Oksidacijom se NH<sub>4</sub>-N prevodi u NO<sub>3</sub>-N i NO<sub>2</sub>-N, i pri tome se najveća koncentracija NO<sub>2</sub>-N postiže u točki potpune oksidacije NH<sub>4</sub>-N, te se daljnjom oksidacijom NO<sub>2</sub>-N prevodi u NO<sub>3</sub>-N. Također, vrijednosti pH su održavane na odabranim vrijednostima korekcijom pH vrijednosti dodatkom 2M NaOH.

Pokusi autotrofne nitrifikacije provedeni su sa ciljem da se istraži učinak različitih okolišnih uvjeta na aktivnost mikrobne kulture aktivnog mulja za nitrifikaciju i to pri različitim odabranim uvjetima vrijednosti pH, temperature i otopljenog kisika (Slike 7-36).

Pokusni autotrofne nitrifikacije pri temperaturi 30 °C, pokazuju najbolje rezultate od istraženih kombinacija odabranih temperatura (13 °C, 20 °C i 30 °C), pH vrijednosti (pH 7,2-7,4; pH 7,5-7,6 i pH 7,8-8,0), kao i koncentracija otopljenog kisika (DO>2 mg/L i DO<1 mg/L), postignute su najveće brzine oksidacije NH<sub>4</sub>-N kao i potpune nitrifikacije.

Tako, i pri 30 °C oksidaciju NH<sub>4</sub>-N prati nastanak NO<sub>3</sub>-N i NO<sub>2</sub>-N (Slike 25, 27 i 29). Veće brzine se postižu pri DO>2 mg/L (Slike 25-30) u usporedbi s pokusima uz DO<1 mg/L (Slike 31-36).

Nitrifikacija pri DO>2 mg/L traje kraće vrijeme (Slike 25-30) u usporedbi s pokusima pri DO<1 mg/L (Slike 31-36).

Brzine oksidacije NH<sub>4</sub>-N pri 30 °C, pri DO>2 mg/L i pri odabranim pH 7,2-7,4; pH 7,5-7,6 i pH 7,8-8,0 iznose 18,8 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh, 20,1 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh i 24,8 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slike 25-30).

U pokusima pri 30 °C, pri DO<1 mg/L brzine oksidacije NH<sub>4</sub>-N pri odabranim pH 7,2-7,4; pH 7,5-7,6 i pH 7,8-8,0 su 10 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh, 11 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh i 10,7 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slike 31-36).

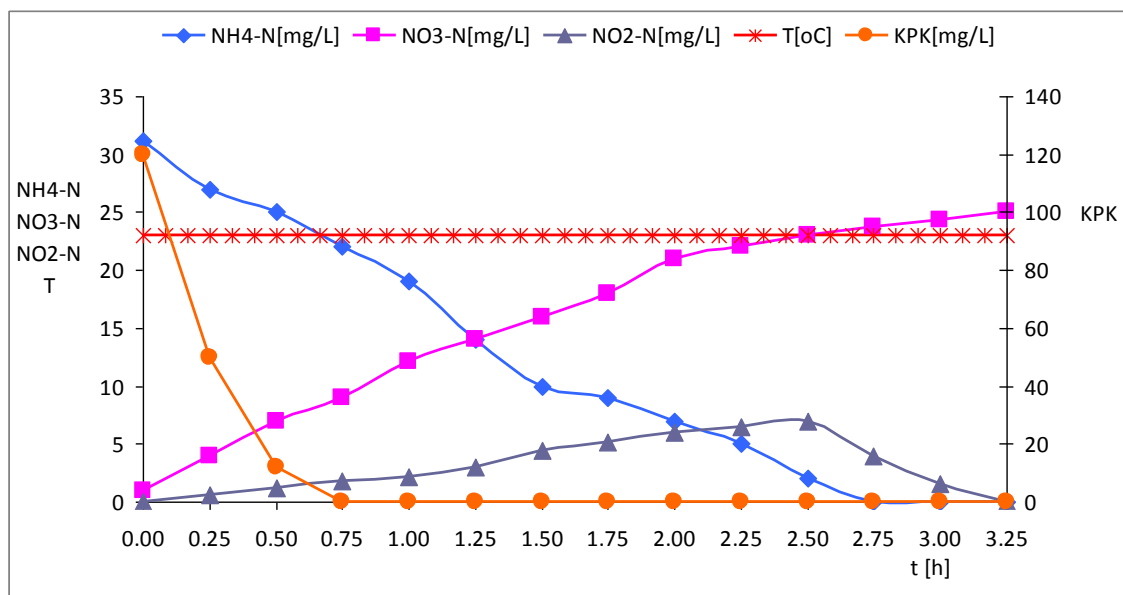
## **5.2. Heterotrofna nitrifikacija – učinak temperature, otopljenog kisika i omjera C/N**

Pokusni nitrifikacije uz organske sastojke su istraženi, kao i pokusi autotrofne nitrifikacije, pri različitim uvjetima koncentracije otopljenog kisika i temperature, s ciljem određivanja aktivnosti mikrobne kulture i učinkovitosti u procesu nitrifikacije.

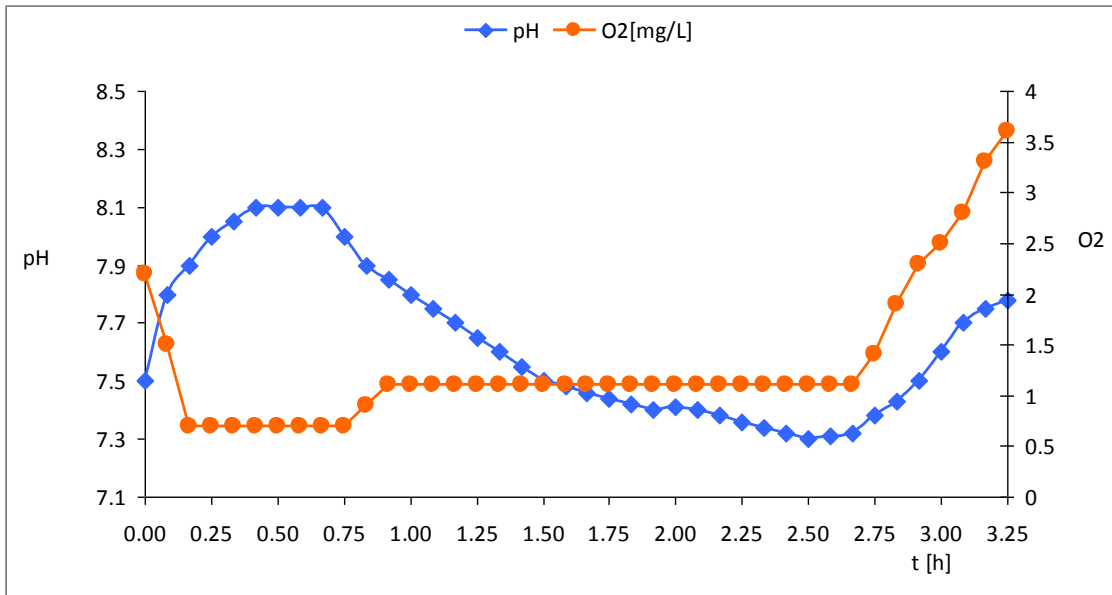
Pokusi heterotrofne nitrifikacije su provedeni uz natrijev acetata kao izvor ugljika dodan u omjeru C/N 2 i 4 i početnu koncentraciju 30 mg NH<sub>4</sub>-N/L, pri slijedećim odabranim uvjetima:

- C/N 2, DO>2 mg/L i 20 °C (Slike 37 i 38)
- C/N 2, DO<1 mg/L i 20 °C (Slike 39 i 40)
- C/N 2, DO>2 mg/L i 13 °C (Slike 41 i 42)
- C/N 2, DO<1 mg/L i 13 °C (Slike 43 i 44)
- C/N 2, DO>2 mg/L i 30 °C (Slike 45 i 46)
- C/N 2, DO<1 mg/L i 30 °C (Slike 47 i 48)
- C/N 4, DO>2 mg/L i 20 °C (Slike 49 i 50)
- C/N 4, DO<1 mg/L i 20 °C (Slike 51 i 52)
- C/N 4, DO>2 mg/L i 13 °C (Slike 53 i 54)
- C/N 4, DO<1 mg/L i 13 °C (Slike 55 i 56)
- C/N 4, DO>2 mg/L i 30 °C (Slike 57 i 58)
- C/N 4, DO<1 mg/L i 30 °C (Slike 59 i 60)

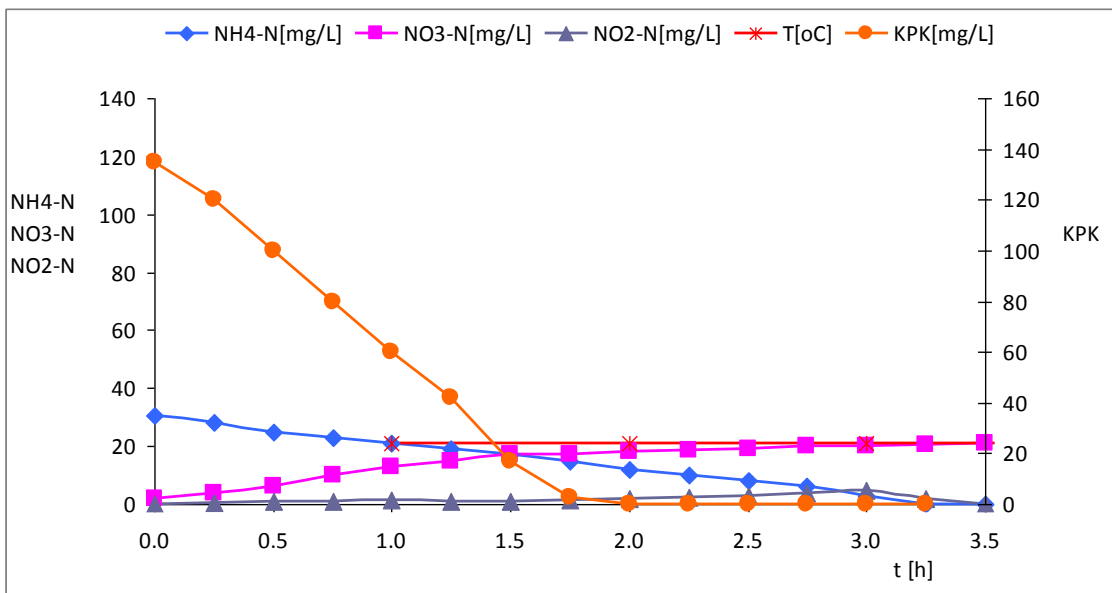
Krivulje promjena motrenih pokazatelja zbijanja tijekom biološkog procesa nitrifikacije uz C/N 2 i DO>2 mg/L i DO<1 mg/L, pri odabranim temperaturama 13 °C, 20 °C i 30 °C prikazane su slikama 37-48.



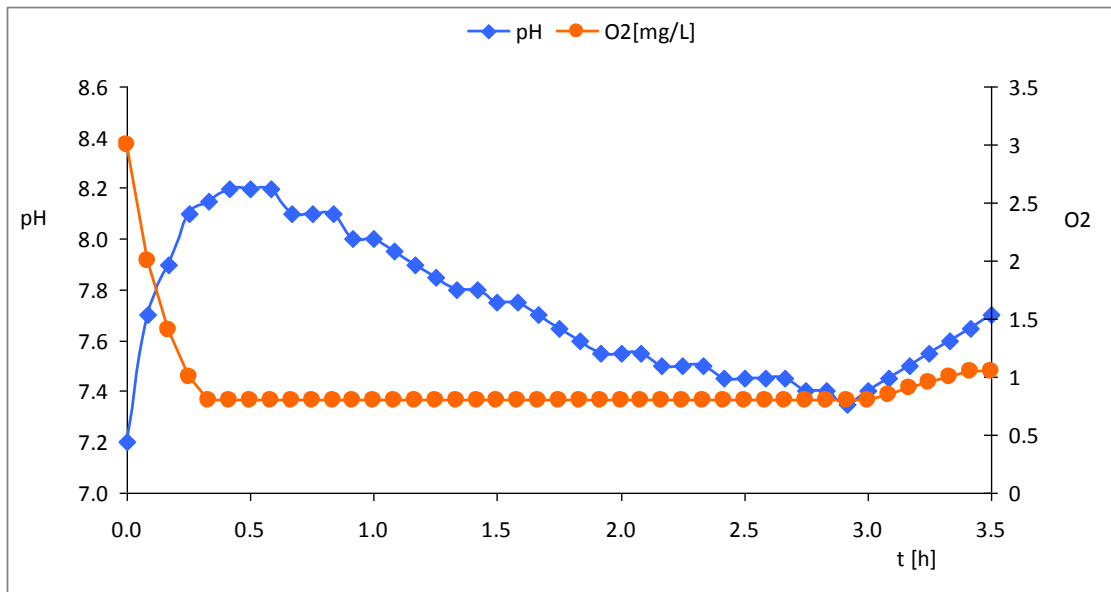
Slika 37. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 2



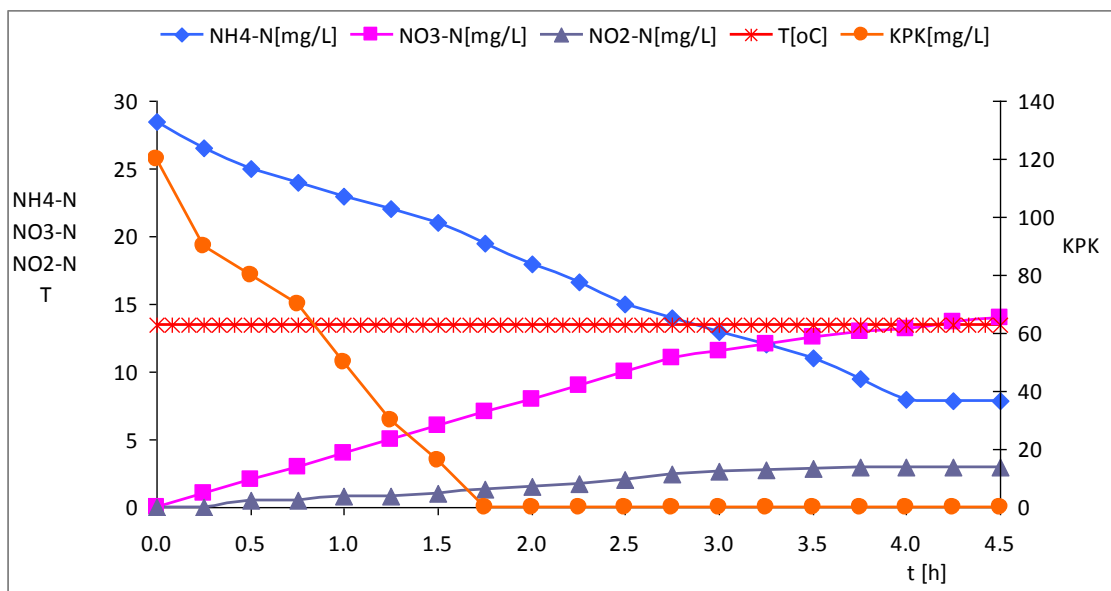
Slika 38. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 2



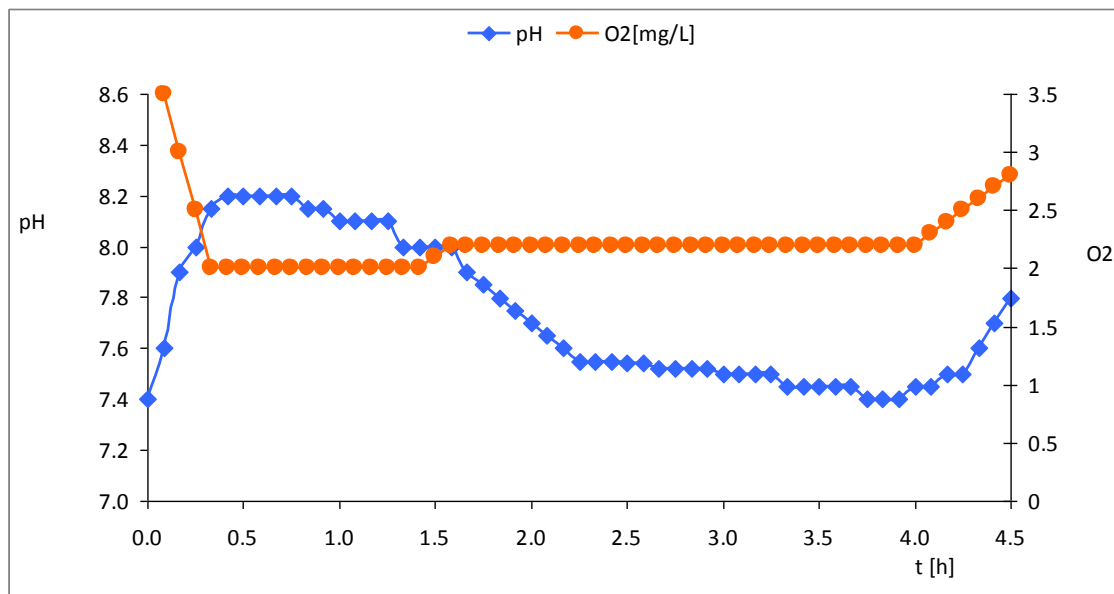
Slika 39. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 2



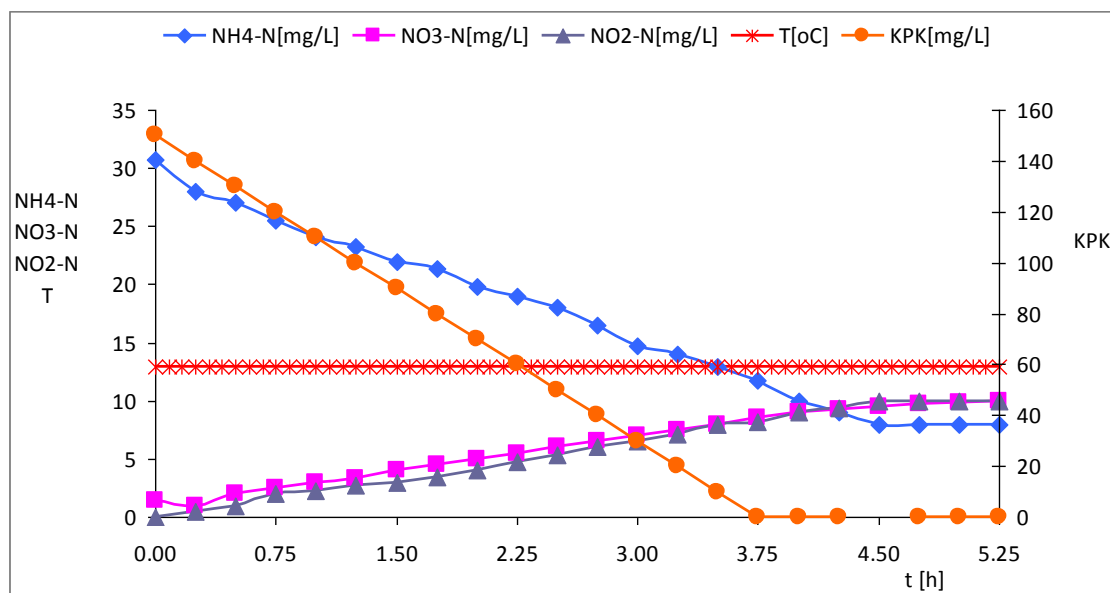
Slika 40. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 2



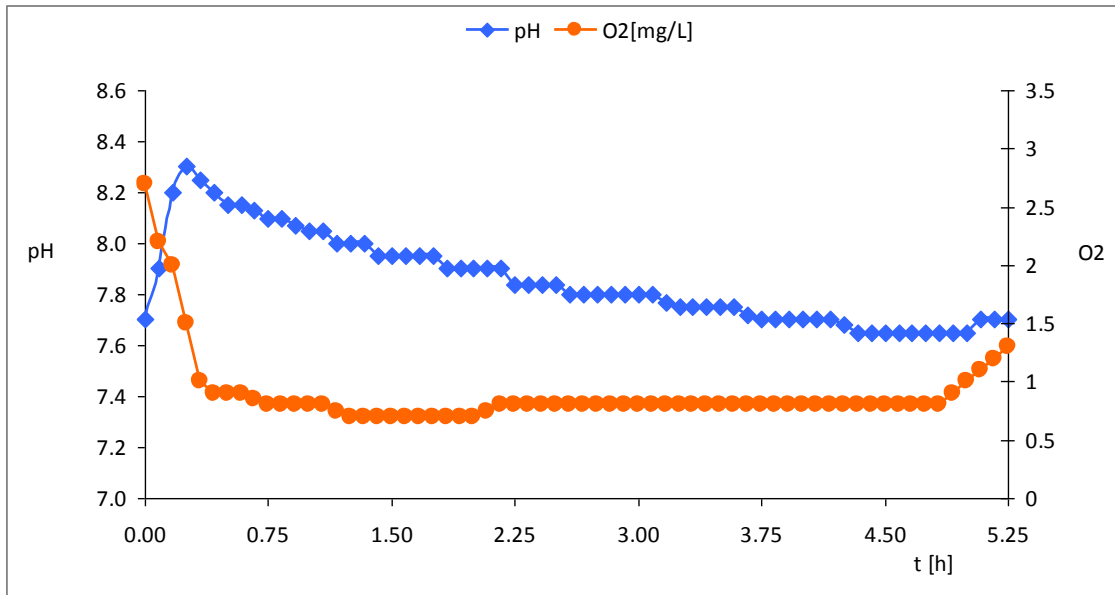
Slika 41. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 2



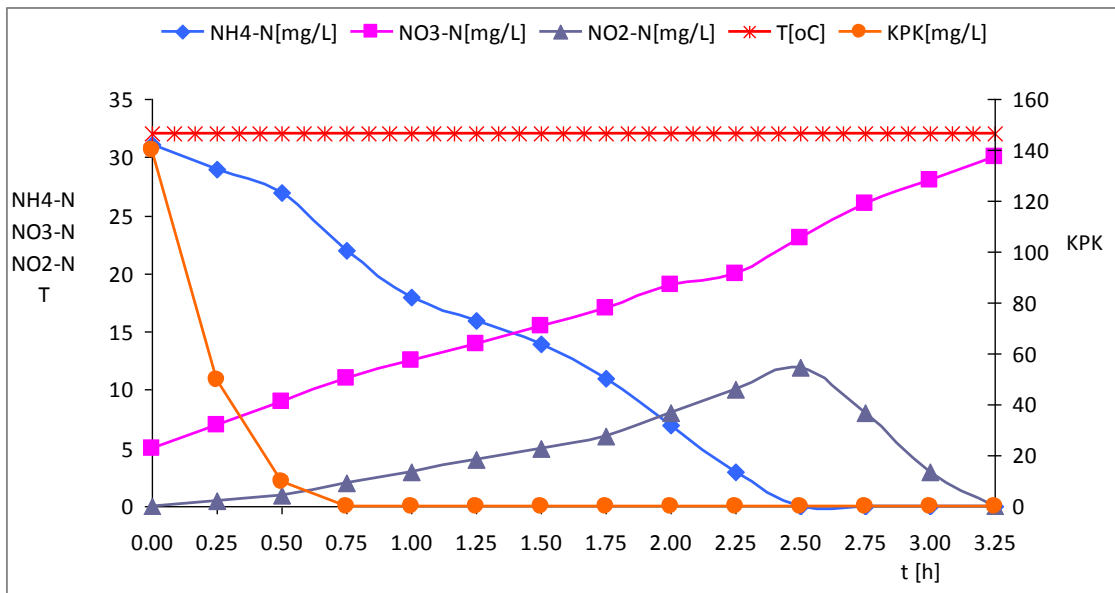
Slika 42. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 2



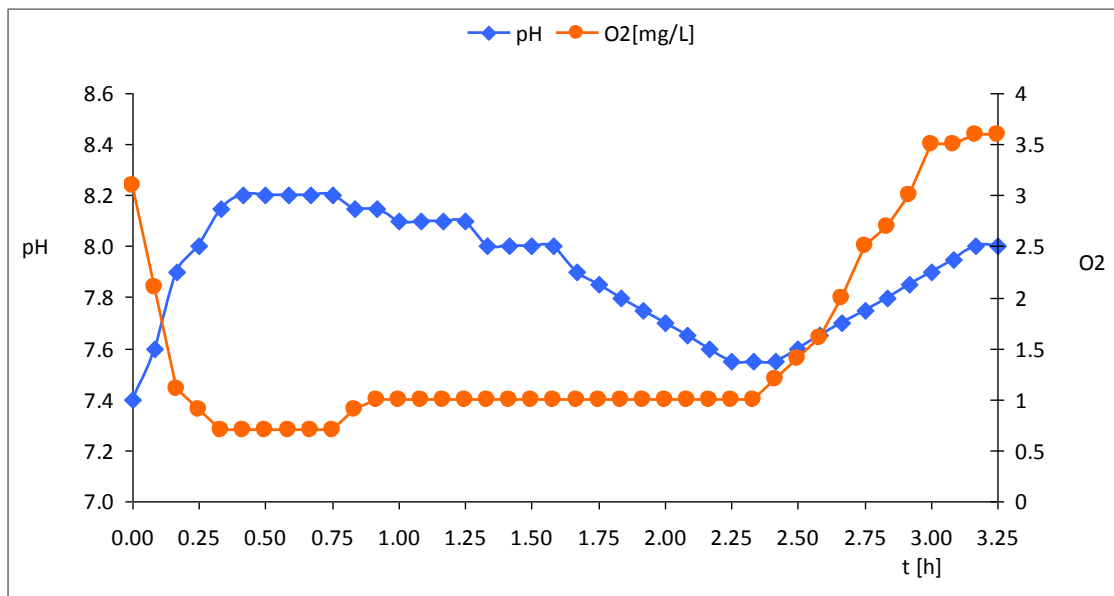
Slika 43. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 2



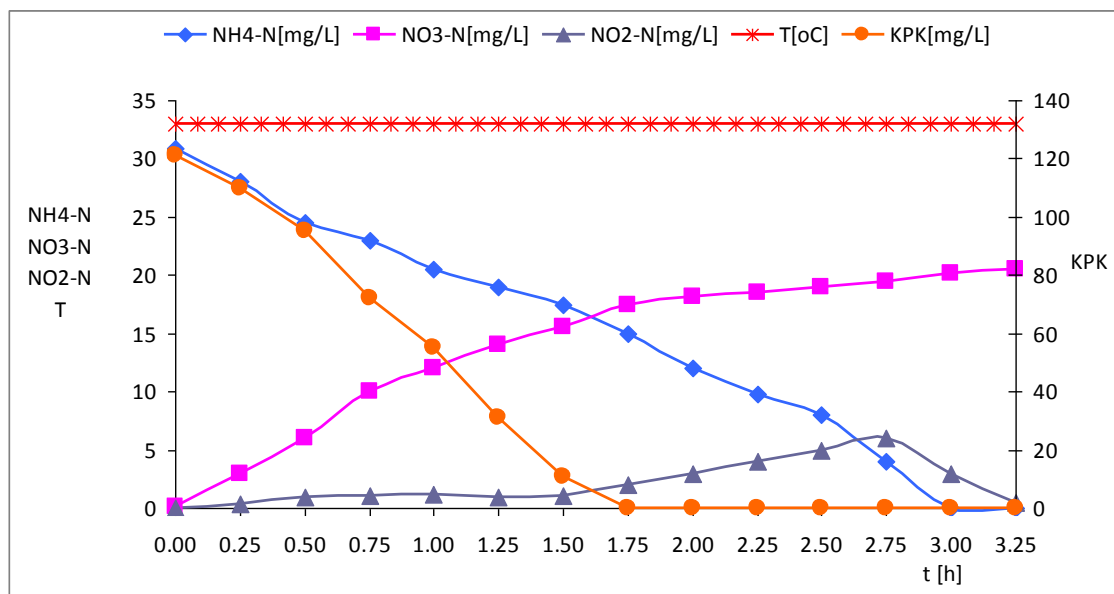
Slika 44. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 2



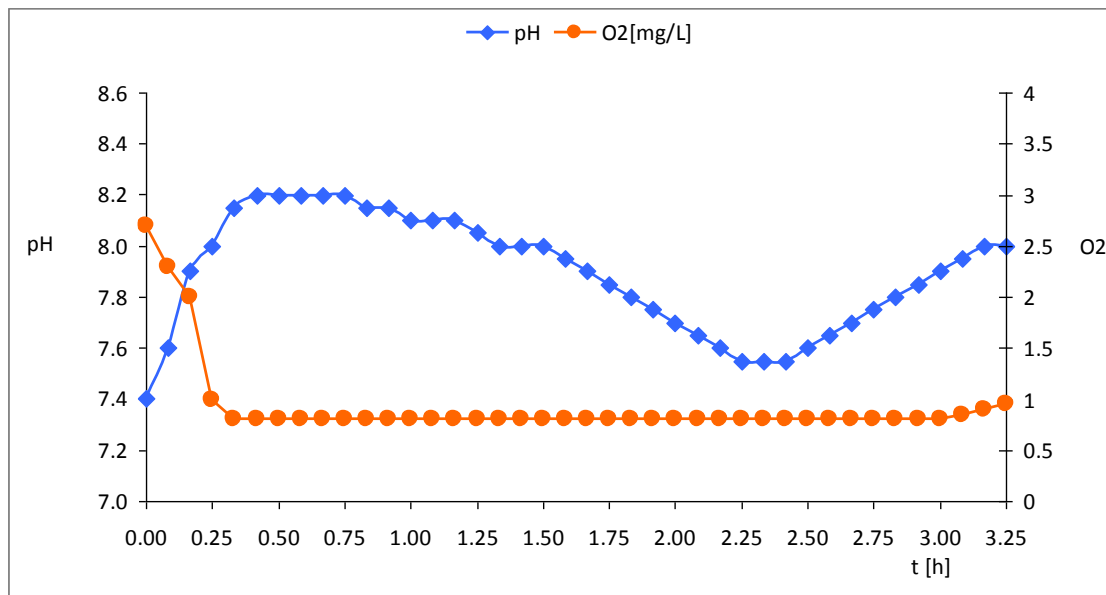
Slika 45. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 2



Slika 46. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 2



Slika 47. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 2



Slika 48. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO < 1 mg/L, C/N 2

U pokusima nitrifikacije uz C/N 2 (Slike 37-48), pri DO > 2 mg/L (Slike 37, 38, 41, 42, 45 i 46) brzina procesa je ovisna o temperaturi, te se pri 13 °C (Slike 41 i 42) provodi djelomična oksidacija NH<sub>4</sub>-N, postiže se 72% oksidacija NH<sub>4</sub>-N uz nakupljanje 14 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 3 mg NO<sub>2</sub>-N/L.

Potpuna oksidacija NH<sub>4</sub>-N se postiže pri 20 °C (Slike 37 i 38) i 30 °C (Slike 45 i 46).

Brža nitrifikacija je pri višoj temperaturi (30 °C) i iznosi 12,5 mg NH<sub>4</sub>-N/L (Slike 45 i 46) u odnosu na 11,35 mg NH<sub>4</sub>-N/L pri 20 °C (Slike 37 i 38).

Krivulje pH i otopljenog kisika, pokazuju mikrobne reakcije uklanjanja N u zadanim uvjetima tijekom vremena. Vrijednost pH u početku procesa poraste zbog natrijeva acetata u podlozi, te se lagano smanjuje do točke oksidacije NH<sub>4</sub>-N i nakon toga raste.

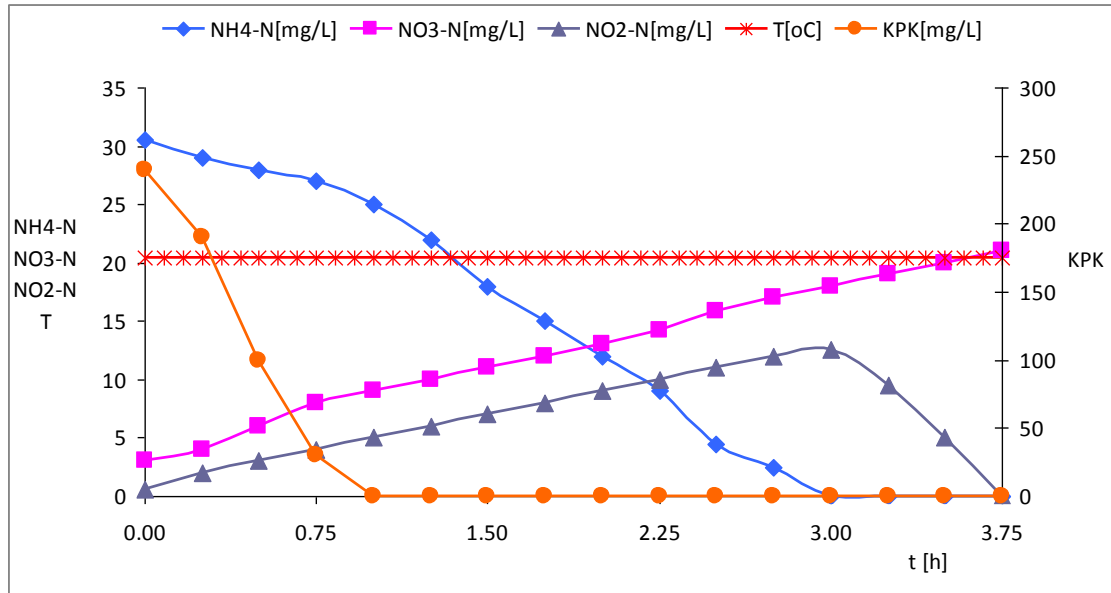
Krivulja DO pokazuje utrošak kisika tijekom oksidacije NH<sub>4</sub>-N, a po završetku oksidacije NH<sub>4</sub>-N u krivulji koncentracije otopljenog kisika vidljiv je porast vrijednosti (Slike 38, 42 i 46).

U pokusima uz C/N 2 i pri DO < 1 mg/L (Slike 39, 40, 43, 44, 47 i 48) brzine oksidacije NH<sub>4</sub>-N su manje u odnosu na vrijednosti pri DO > 2 mg/L (Slike 37, 38, 41, 42, 45 i 46), i iznose 9,5 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (20 °C, Slika 37) odnosno 10,3 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (30 °C, Slika 45).

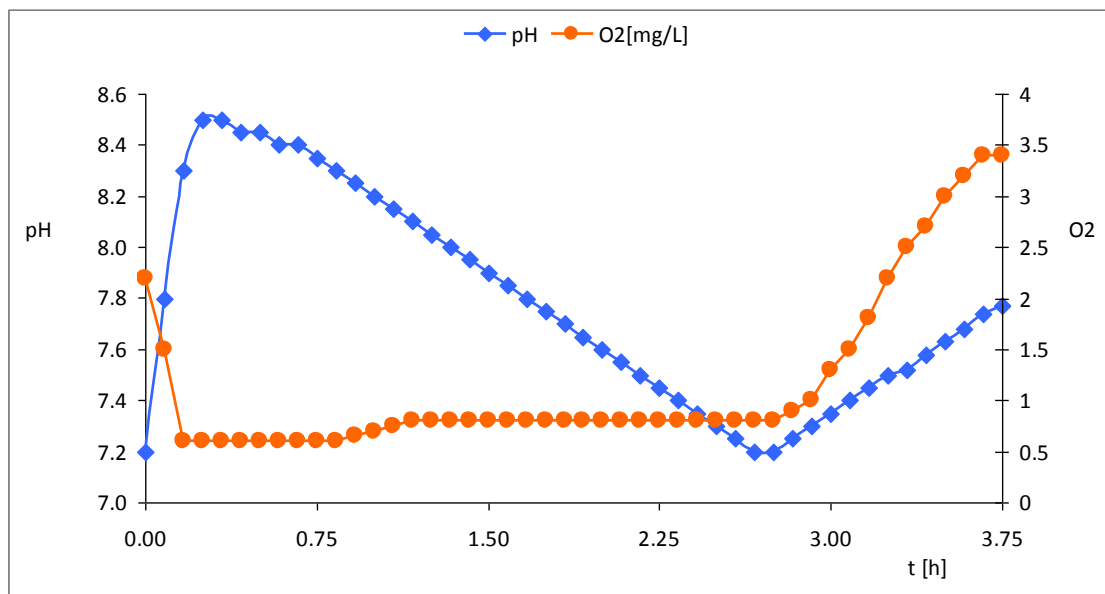


Vrijednost pH je tijekom pokusa u odabranom rasponu pH vrijednosti, kao i DO (Slike 40, 44 i 48).

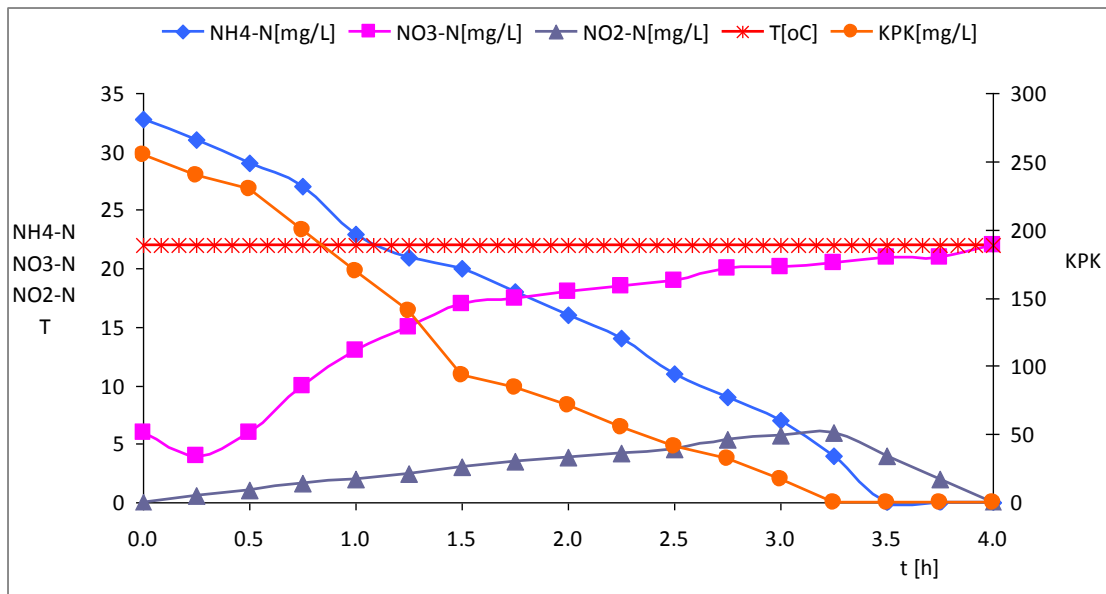
Pokusi heterotrofne nitrifikacije uz veće organsko opterećenje su istraženi za C/N 4, i prikazani su slikama 49-60.



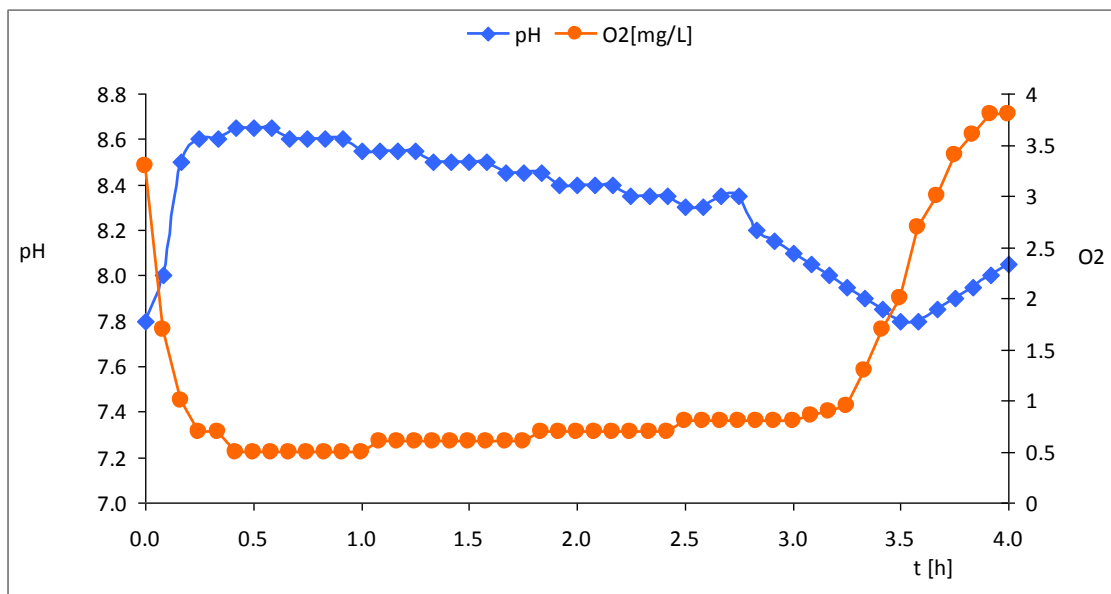
Slika 49. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 4



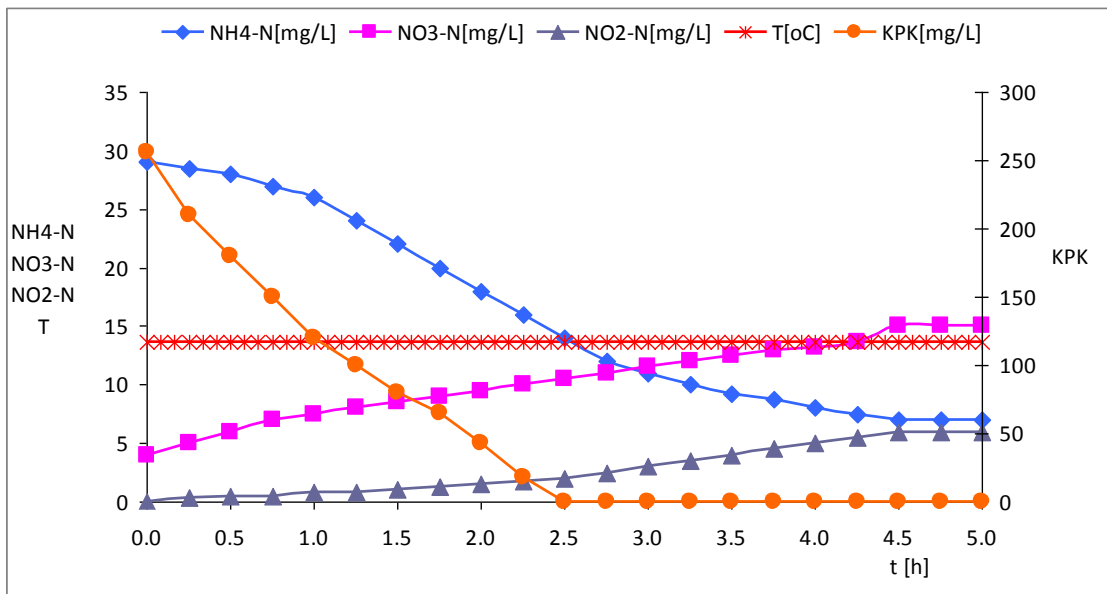
Slika 50. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO>2 mg/L, C/N 4



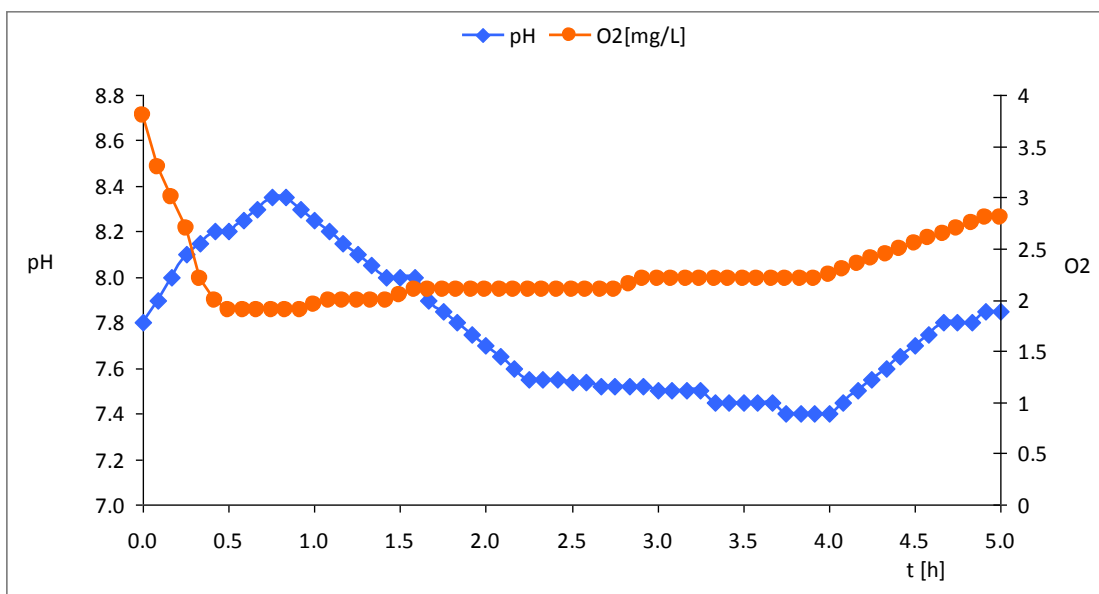
Slika 51. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 4



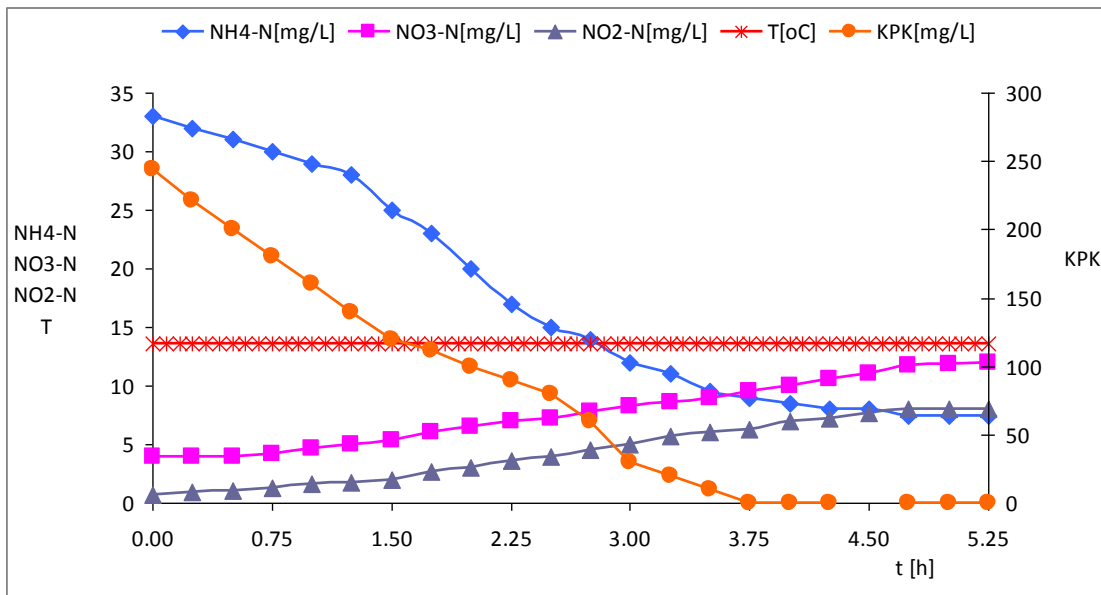
Slika 52. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 20 °C, DO<1 mg/L, C/N 4



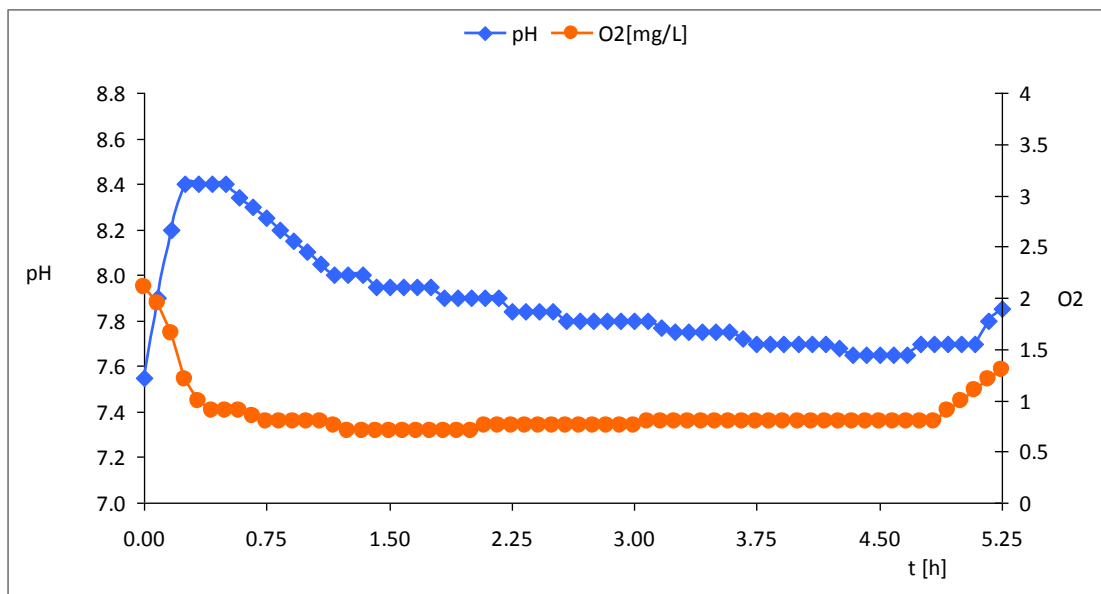
Slika 53. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 4



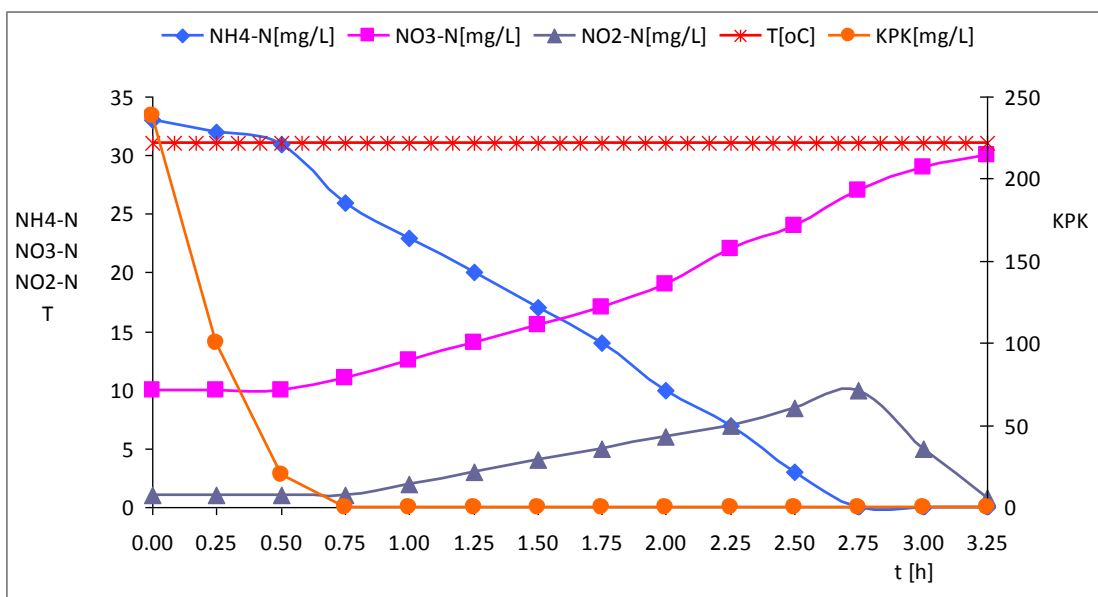
Slika 54. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO>2 mg/L, C/N 4



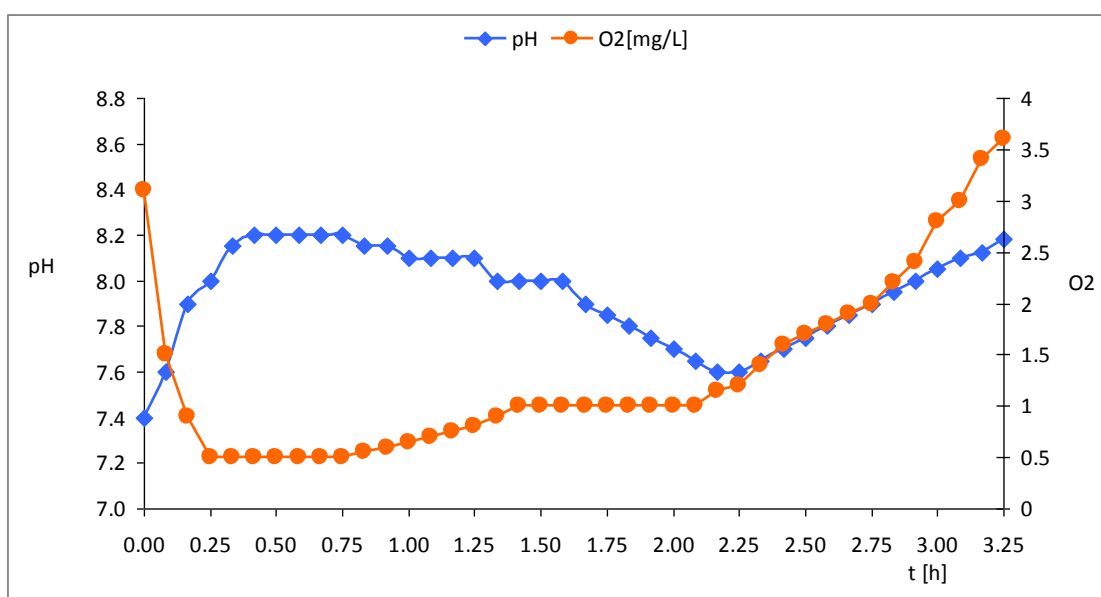
Slika 55. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 4



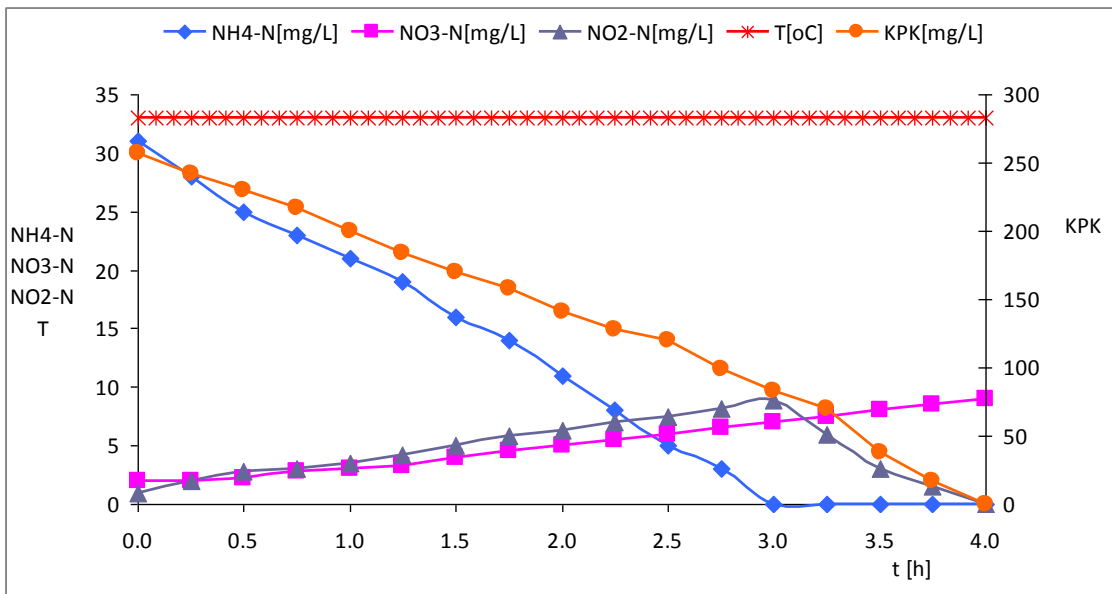
Slika 56. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 13 °C, DO<1 mg/L, C/N 4



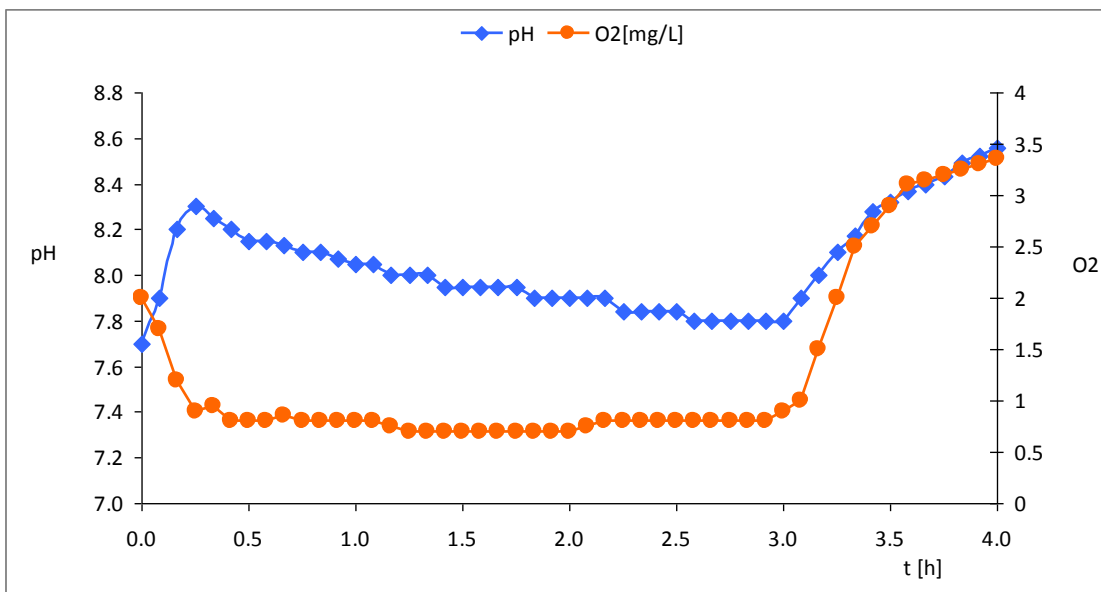
Slika 57. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 4



Slika 58. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO>2 mg/L, C/N 4



Slika 59. KPK, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i temperatura u procesu heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 4



Slika 60. pH i DO tijekom heterotrofne nitrifikacije pri 30 °C, DO<1 mg/L, C/N 4

Pokusi heterotrofne nitrifikacije 30 mg NH<sub>4</sub>-N/L uz C/N 4 pokazuju ovisnost odabrane temperature i DO o brzini i učinkovitosti procesa nitrifikacije (Slike 49-60).

Tako pri 13 °C, C/N 4 i DO>2 mg/L (Slike 53 i 54) KPK se potpuno ukloni tijekom 2,5 sata, od početnih 256 mg/L, istovremeno se zbiva oksidacija NH<sub>4</sub>-N koji se ne oksidira u potpunosti, postiže se 76% smanjenje NH<sub>4</sub>-N, koji se prevodi u 11 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 6 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slika 53).

Pri DO<1 mg/L i 13 °C i C/N 4 (Slike 55 i 56), KPK se tijekom 3,75 sati oksidira, nepotpuna je oksidacija NH<sub>4</sub>-N koji se ukloni za 77%, pri čemu se nakupi 8 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 7,3 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slika 55).

U pokusu heterotrofne nitrifikacije, pri omjeru C/N 4, DO>2 mg/L i 20 °C (Slike 49 i 50) 240 mg KPK/L se oksidira tijekom 1 sata, od početka se zbiva istovremena oksidacija NH<sub>4</sub>-N koja je potpuna nakon 3 sata. Tada je u podlozi nakupljeno oko 13 mg NO<sub>2</sub>-N/L, koji se daljnjom oksidacijom prevodi u NO<sub>3</sub>-N. Na kraju pokusa nakupljeno je 18 mg NO<sub>3</sub>-N/L (Slika 49). Brzina oksidacije NH<sub>4</sub>-N iznosi 10,2 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh.

U pokusu s DO<1 mg/L, pri 20 °C i C/N 4 (Slike 51 i 52) potpuna oksidacija KPK se zbiva tijekom 3,25 sati, a oksidacija NH<sub>4</sub>-N za 3,5 sata. Pri tome je u podlozi nakon završene nitrifikacije nakupljeno 16 mg NO<sub>3</sub>-N/L, uz brzinu 9,4 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slika 51).

Pri temperaturi 30 °C i DO>2 mg/L i C/N 4 (Slike 57 i 58) KPK se potpuno ukloni tijekom 2,75 sati, a njegovu oksidaciju prati oksidacija NH<sub>4</sub>-N koja je potpuna nakon 2,75 sati a rezultira nakupljanjem 20 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri brzini oksidacije NH<sub>4</sub>-N od 12 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slika 57).

U pokusu uz omjer C/N 4, DO<1 mg/L, pri 30 °C (Slike 59 i 60), proces nitrifikacije je brži u usporedbi sa pokusom pri 20 °C. Niža koncentracija otopljenog kisika je povoljna za nitritaciju. KPK se ukloni tijekom 4 sata, a oksidacija NH<sub>4</sub>-N je potpuna tijekom 3 sata. Oksidacija NH<sub>4</sub>-N je rezultirala u nakupljanju 7 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 8,9 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slika 59), pri brzini uklanjanja NH<sub>4</sub>-N od 10,3 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slika 59).

Krivulje pH i DO u pokusima pri DO>2 mg/L i C/N 4 su istih karakteristika, otopljeni kisik se troši te nakon završene oksidacije NH<sub>4</sub>-N pokazuje porast vrijednosti (Slike 50 i 58). Krivulja DO u pokusu pri 13 °C ne pokazuje porast DO jer je oksidacija NH<sub>4</sub>-N nepotpuna (Slika 54).

Pokusi nitrifikacije uz organske sastojke odnosno pokusi heterotrofne nitrifikacije 30 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$ , su istraženi s obzirom na koncentraciju otopljenog kisika pri  $\text{DO}>2$  mg/L i  $\text{DO}<1$  mg/L i temperaturu 13 °C, 20 °C i 30 °C, kao i omjer C/N 2 i 4, dodatkom natrijeva acetata kao izvora ugljika (Slike 37-60).

Pokusi nitrifikacije uz organske sastojke su provedeni uz natrijev acetat dodan u omjeru C/N 2 i 4. U motrenju – određivanju učinkovitosti procesa heterotrofne nitrifikacije pri  $\text{DO}>2$  mg/L kao i pri  $\text{DO}<1$  mg/L i pri temperaturi 13 °C, 20 °C i 30 °C (Slike 37-60) evidentan je učinak temperature na proces.

Pri temperaturi 30 °C proces nitrifikacije traje najkraće vrijeme i rezultira prevođenjem  $\text{NH}_4\text{-N}$  u  $\text{NO}_2\text{-N}$  i  $\text{NO}_3\text{-N}$  (Slike 45-48 i 57-60).

Pri temperaturi 20 °C postiže se također potpuna nitrifikacija, nakupljaju se  $\text{NO}_3\text{-N}$  i  $\text{NO}_2\text{-N}$  (Slike 37-40 i 49-52). Temperatura 13 °C nije povoljna za proces heterotrofne nitrifikacije. Proces pri toj temperaturi nije potpun, utroši se KPK dok je učinkovitost uklanjanja N 76-77% (Slike 41-44 i 53-56).

Procese heterotrofne nitrifikacije prate karakteristične krivulje promjena pH i DO.

Općenito, uspoređujući pokuse autotrofne i heterotrofne nitrifikacije, veće brzine nitrifikacije se postižu pri uvjetima autotrofne nitrifikacije, dok organski sastojci usporavaju proces nitrifikacije. Pri tome veći udio organskih sastojaka (veće optrećenje s KPK), odnosno veći omjer C/N ili KPK/N u otpadnoj vodi ima učinak na proces nitrifikacije tako što s povećanjem omjera C/N u vodi usporava se proces nitrifikacije (manja je brzina procesa nitrifikacije).

### **5.3. Denitrifikacija – učinak omjera C/N i $\text{NO}_3\text{-N}/\text{NO}_x\text{-N}$**

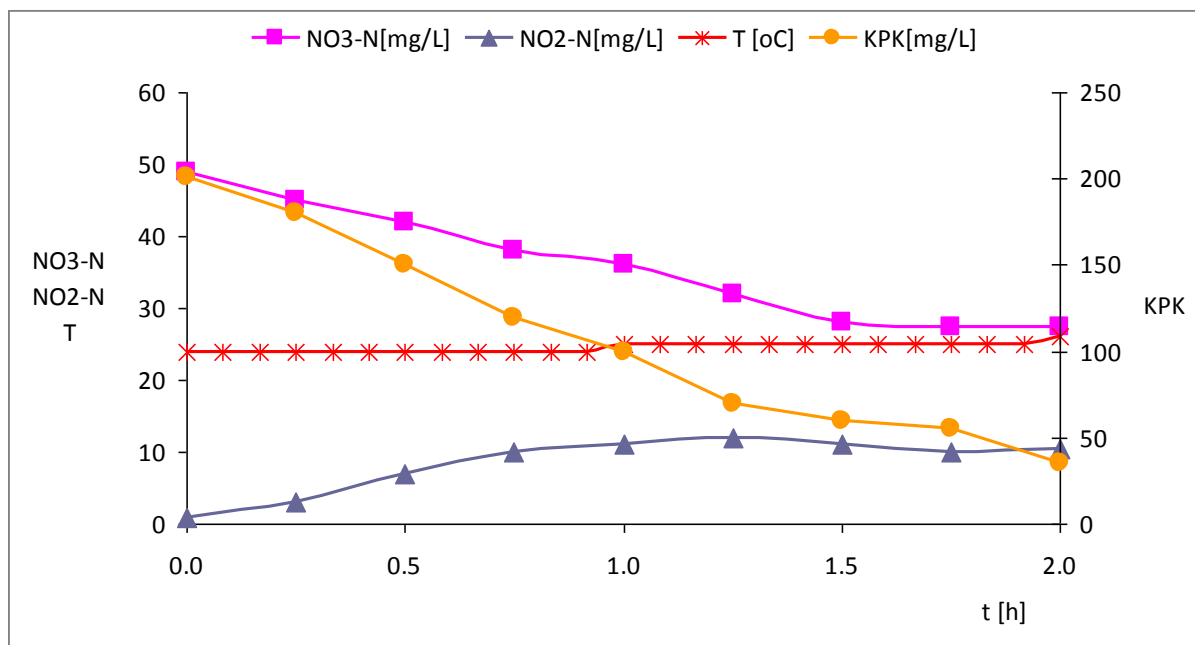
Pokusi denitrifikacije su provedeni s ciljem da se odredi potencijal - iskoristljivost odabranog izvora ugljika, natrijeva acetata, za denitrifikaciju različitih početnih koncentracija  $\text{NO}_3\text{-N}$  i  $\text{NO}_2\text{-N}$  u  $\text{NO}_x\text{-N}$ , kao i aktivnost mikrobne kulture u procesu denitrifikacije pri različitim omjerima C/N, odnosno učinkovitost procesa denitrifikacije pri odabranim uvjetima.



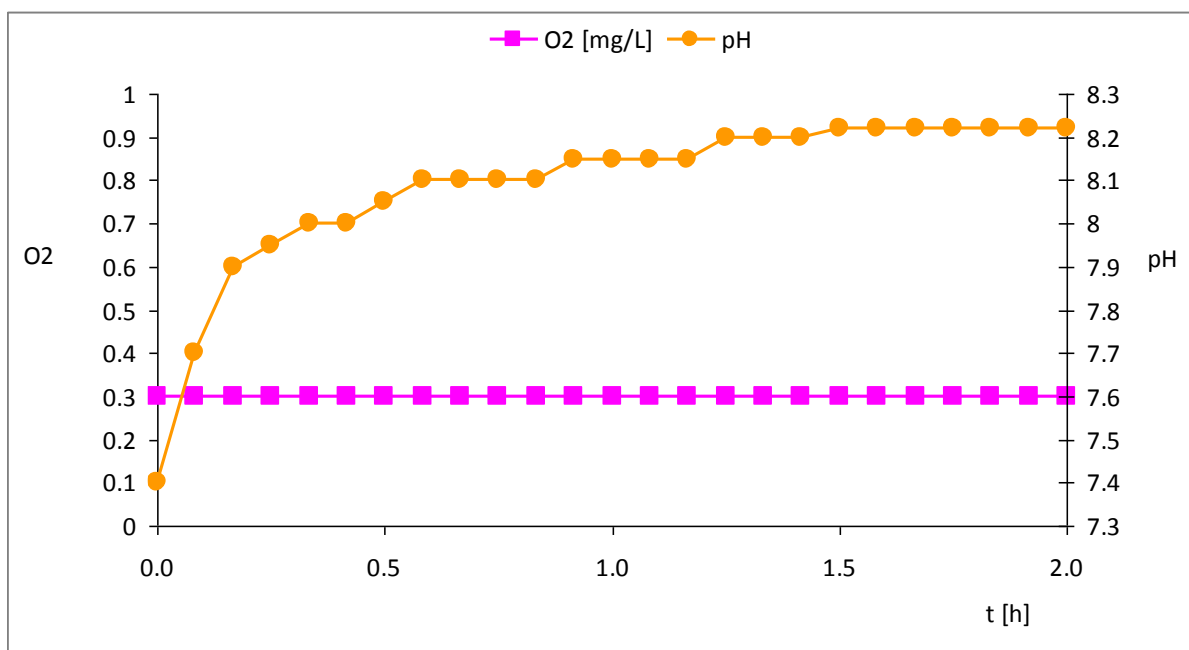
Denitrifikacija je istražena pri različitim udjelima  $\text{NO}_3\text{-N}$  i  $\text{NO}_2\text{-N}$  u  $\text{NO}_x\text{-N}$ , pri  $\text{DO} < 0,4 \text{ mg/L}$  i pri različitim omjerima C/N, i to:

- 50 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (bez  $\text{NO}_2\text{-N}$ ), C/N 2 (Slike 61 i 62), C/N 3 (Slike 63 i 64), C/N 4 (Slike 65 i 66) i C/N 5 (Slike 67 i 68)
- 25 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  + 25 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$ , C/N 2 (Slike 69 i 70), C/N 3 (Slike 71 i 72), C/N 4 (Slike 73 i 74)
- 5 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  + 45 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$ , C/N 1 (Slike 75 i 76), C/N 2 (Slike 77 i 78), C/N 3 (Slike 79 i 80)

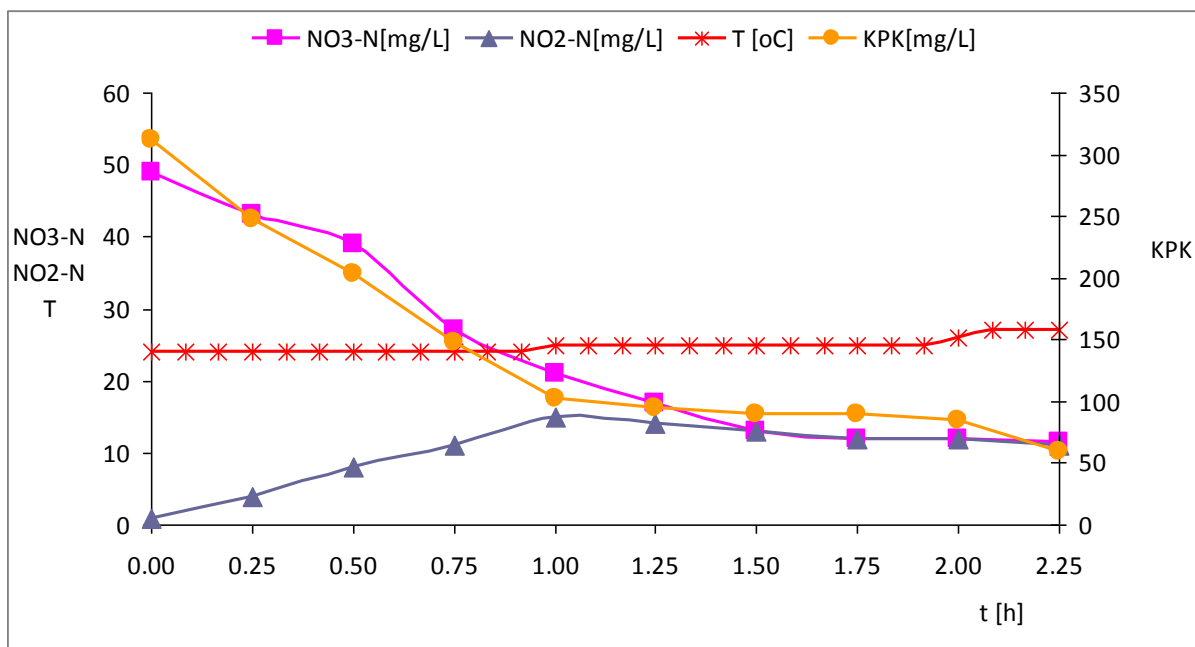
Krivulje motrenih pokazatelja kakvoće biološkog procesa denitrifikacije uz različite udjele  $\text{NO}_3\text{-N}$  i  $\text{NO}_2\text{-N}$  u  $\text{NO}_x\text{-N}$  su prikazane slikama 61-80.



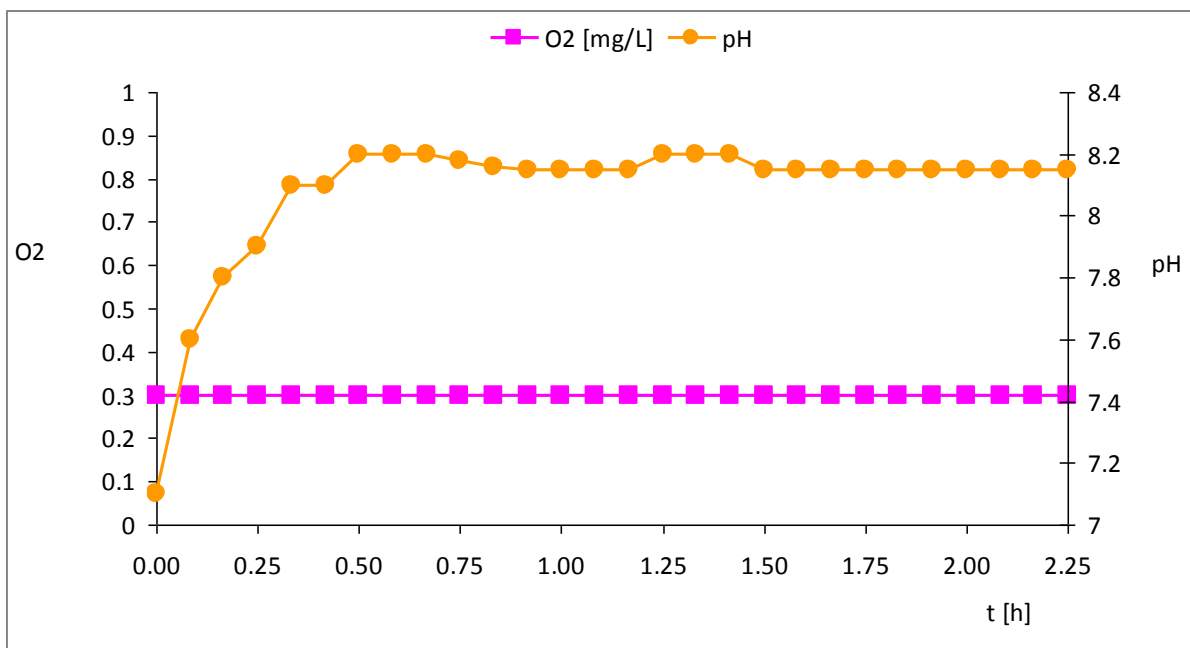
Slika 61.  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ , KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ , pri C/N 2



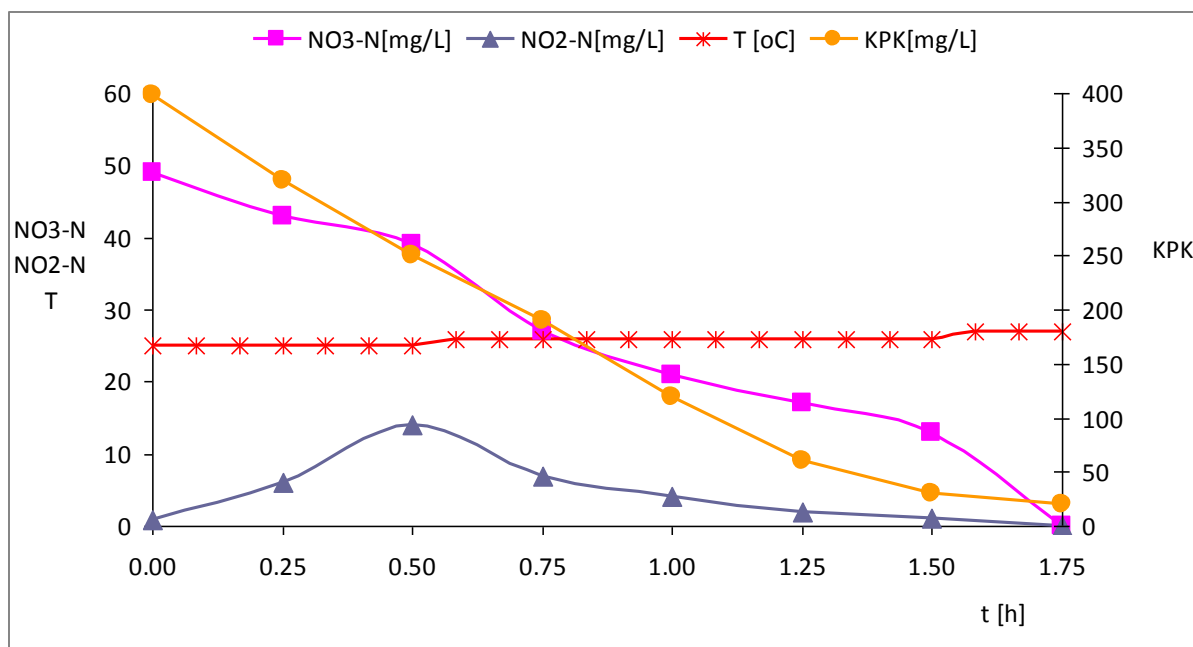
Slika 62. DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 2



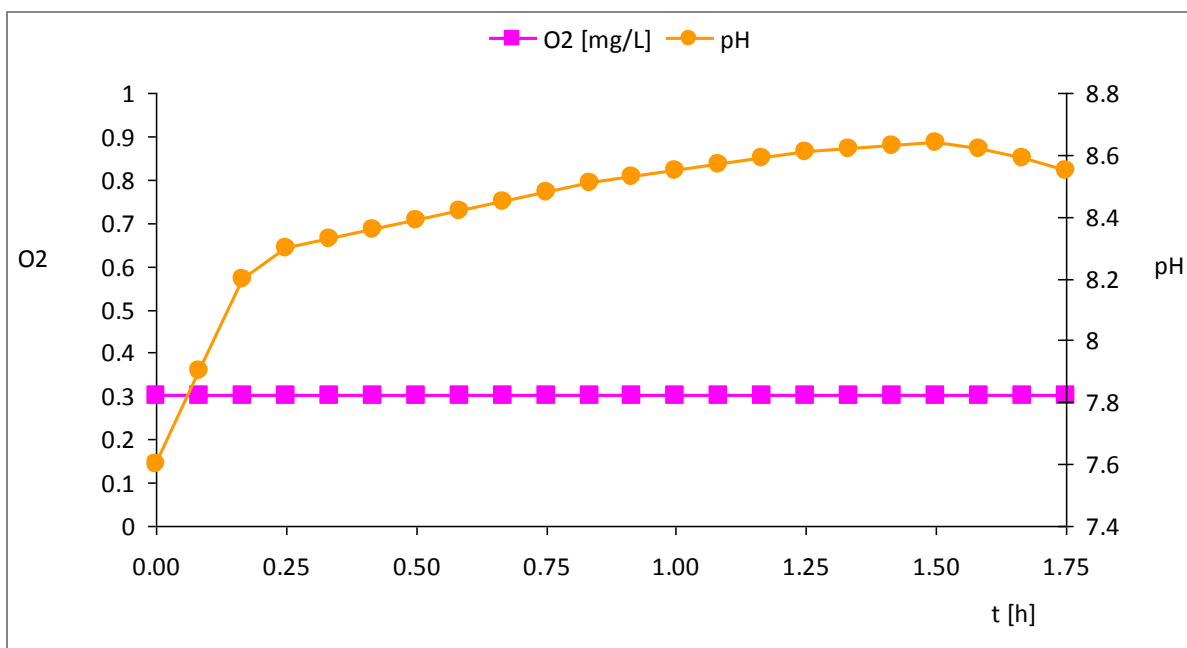
Slika 63. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 3



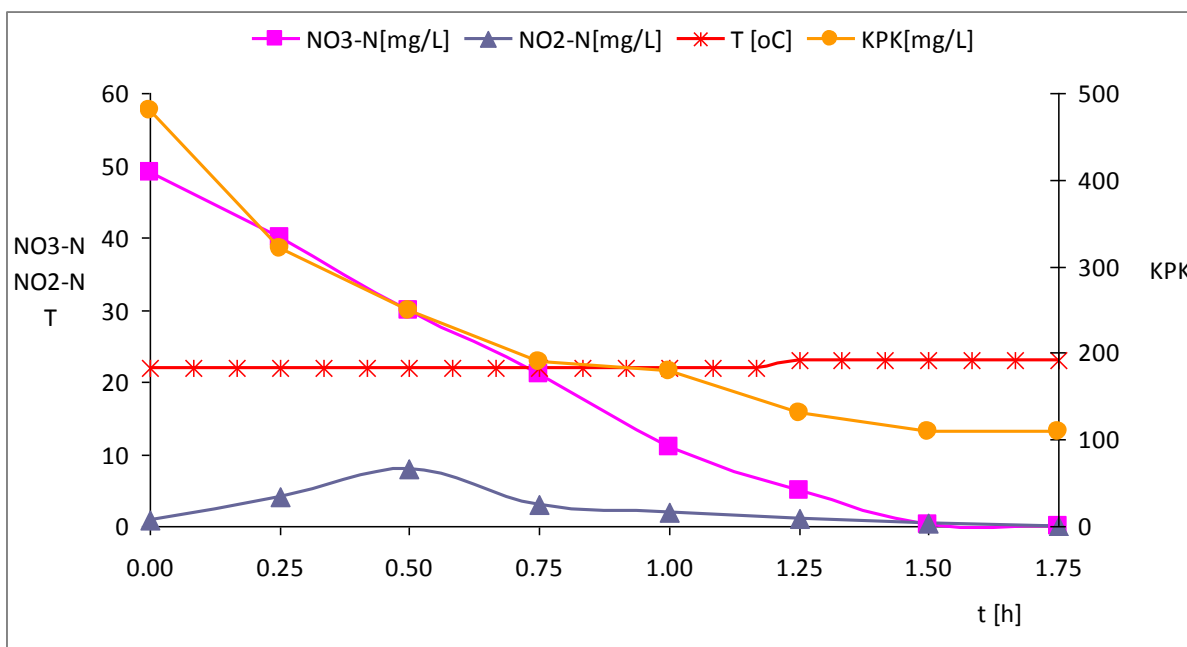
Slika 64. DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 3



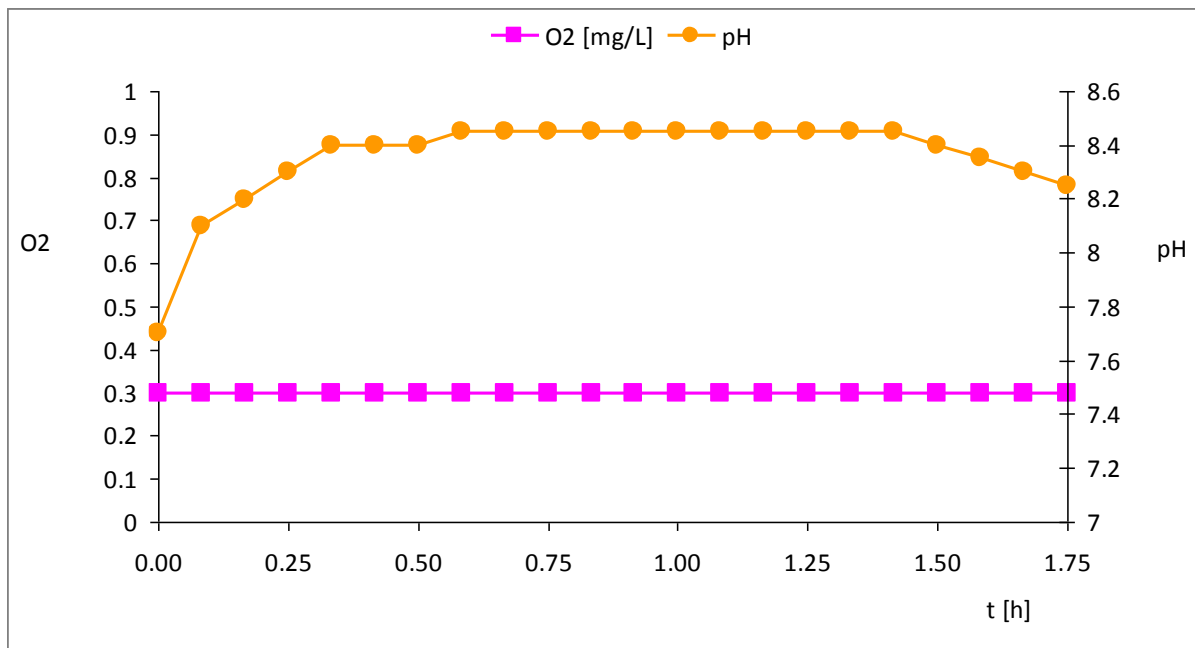
Slika 65. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 4



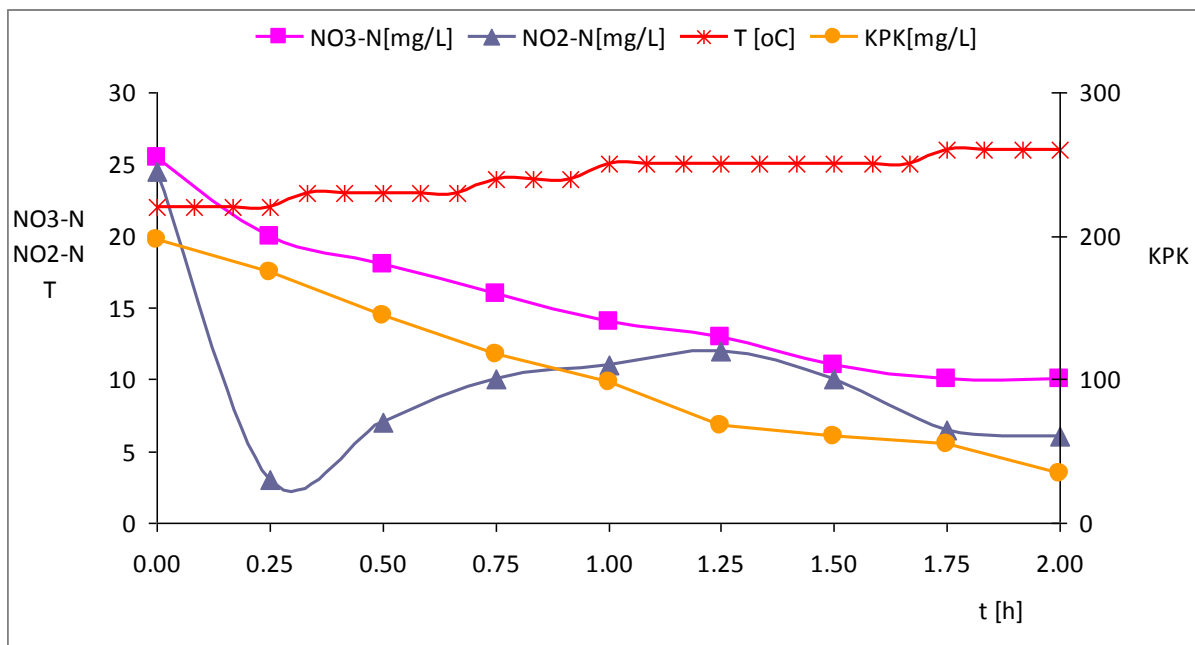
Slika 66. DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 4



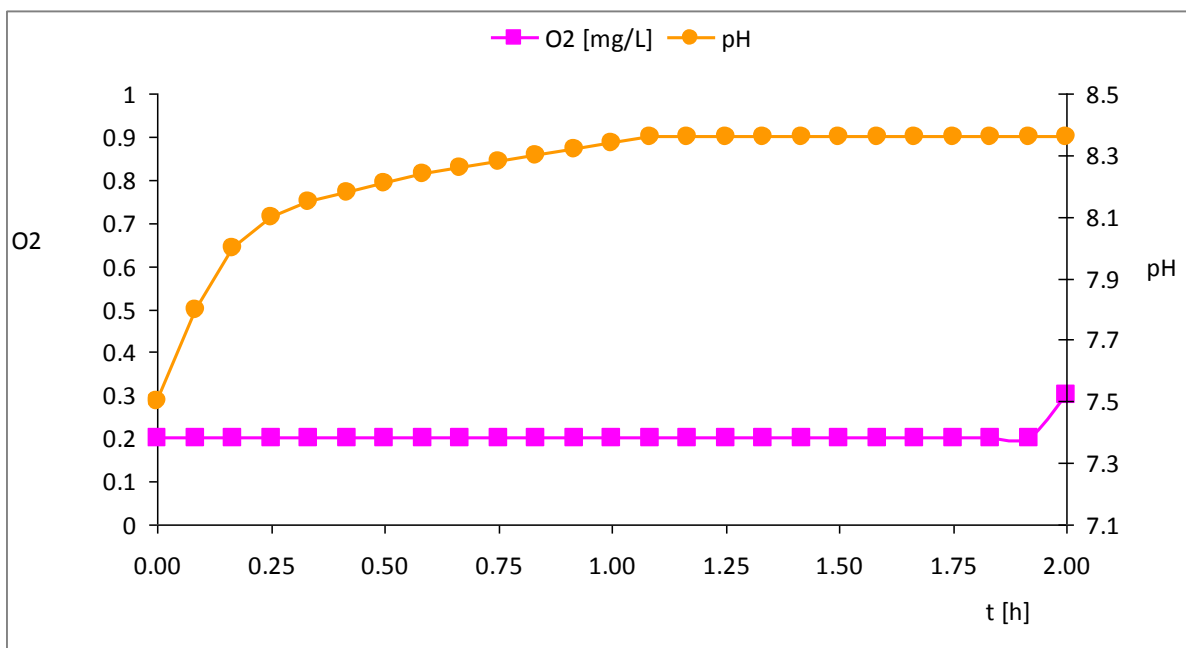
Slika 67. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 5



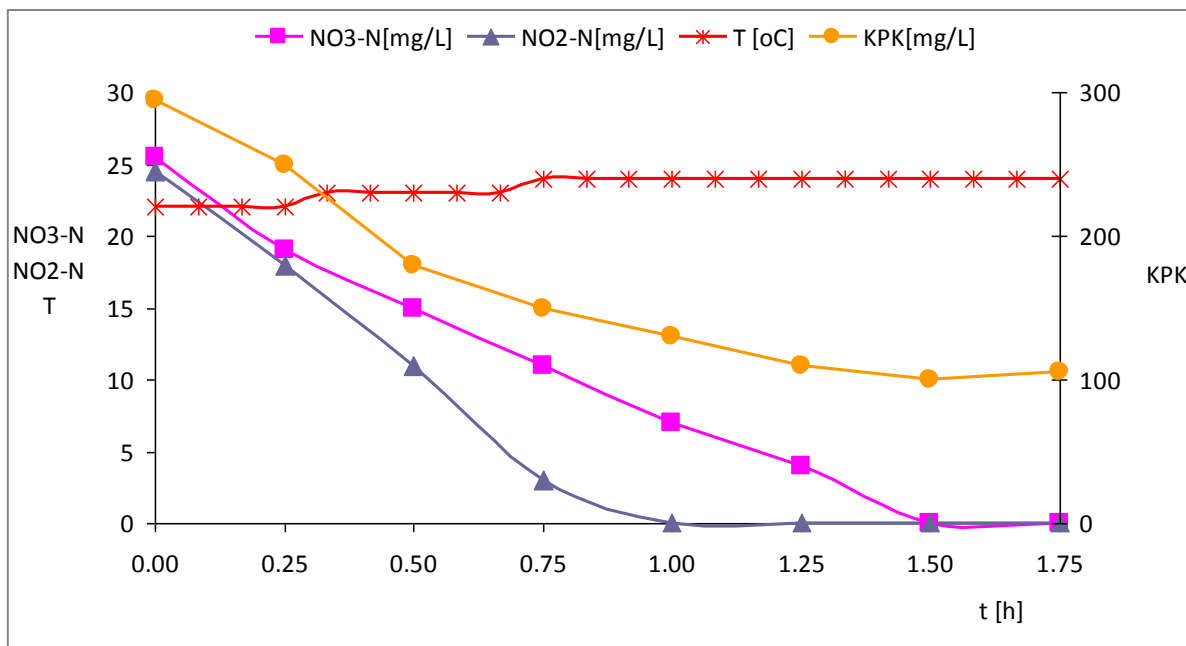
Slika 68. DO i pH u procesu denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 5



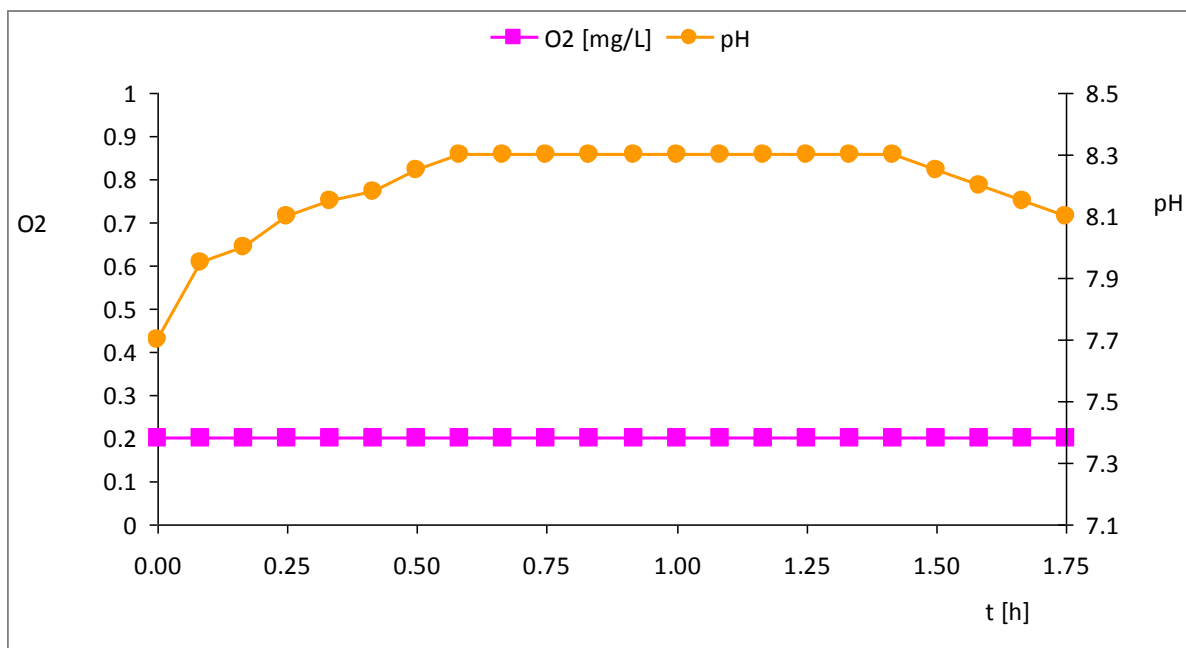
Slika 69. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 2



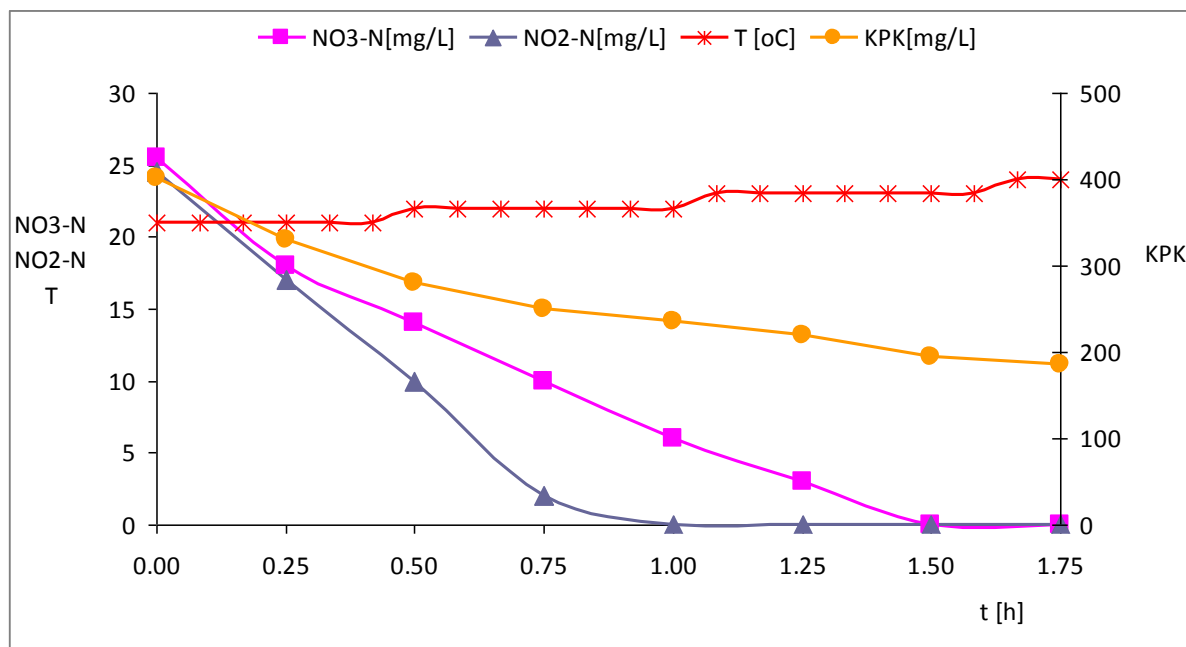
Slika 70. DO i pH u procesu denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 2



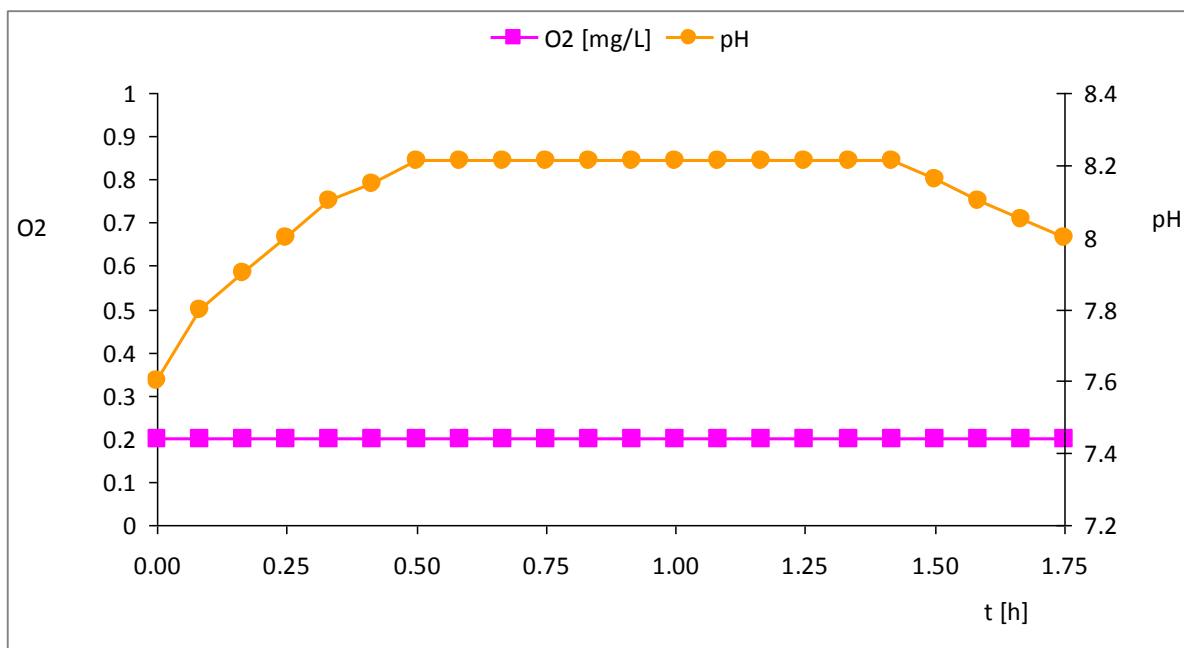
Slika 71. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 3



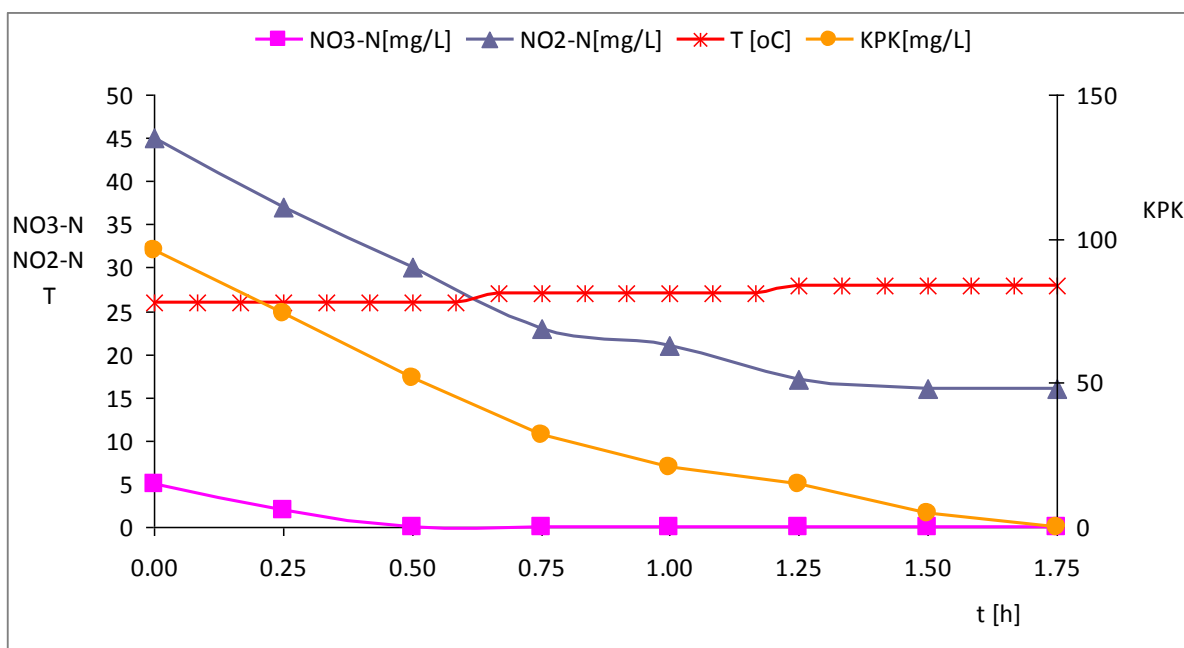
Slika 72. DO i pH u procesu denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 3



Slika 73. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 4

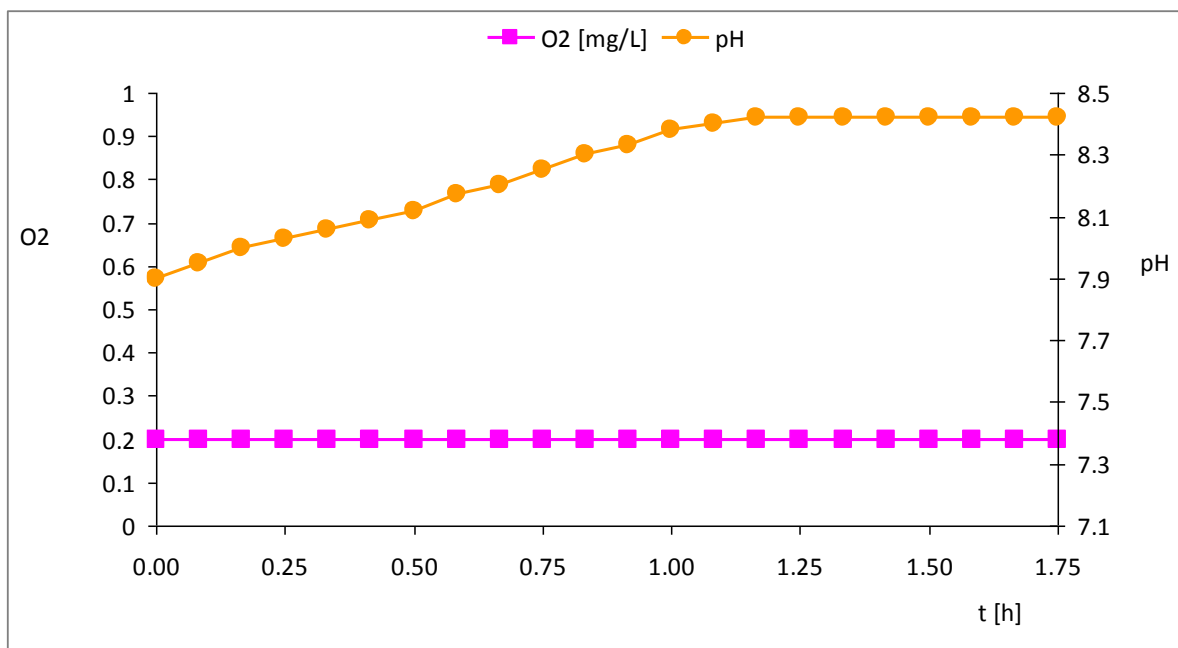


Slika 74. DO i pH u procesu denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 4

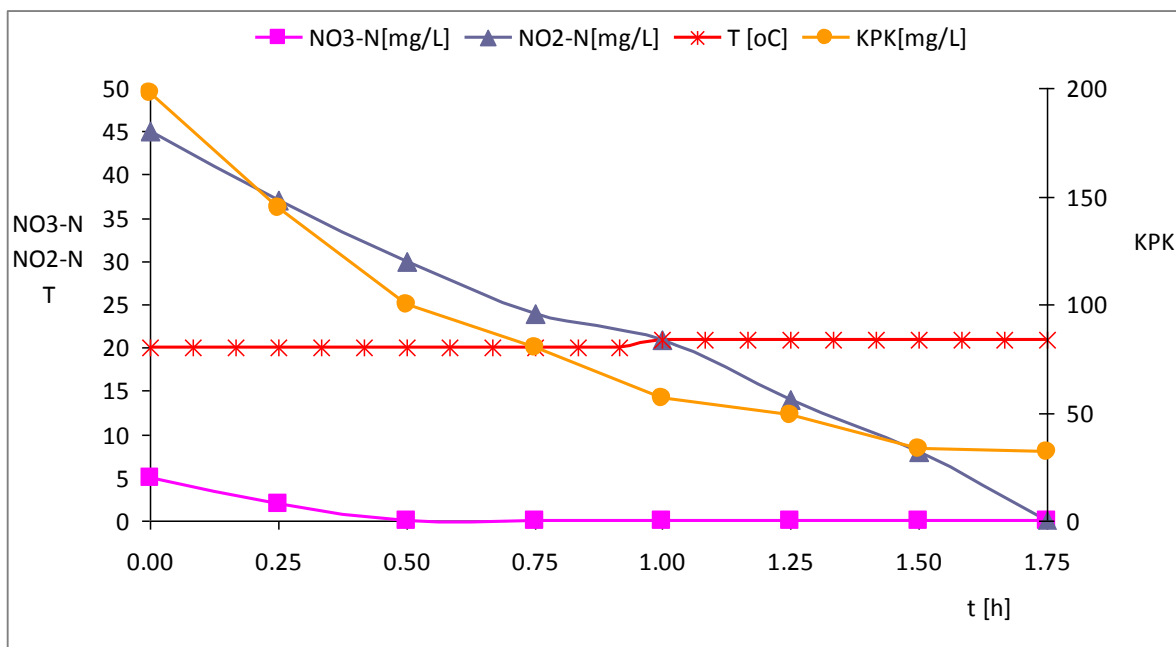


Slika 75. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 1

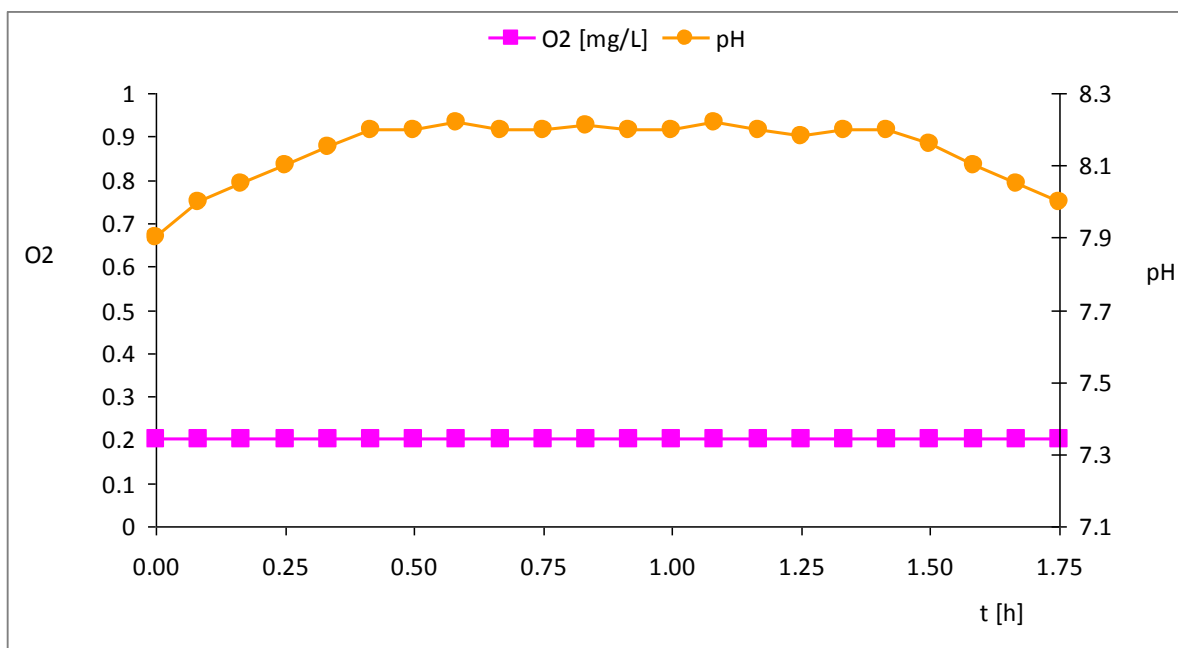




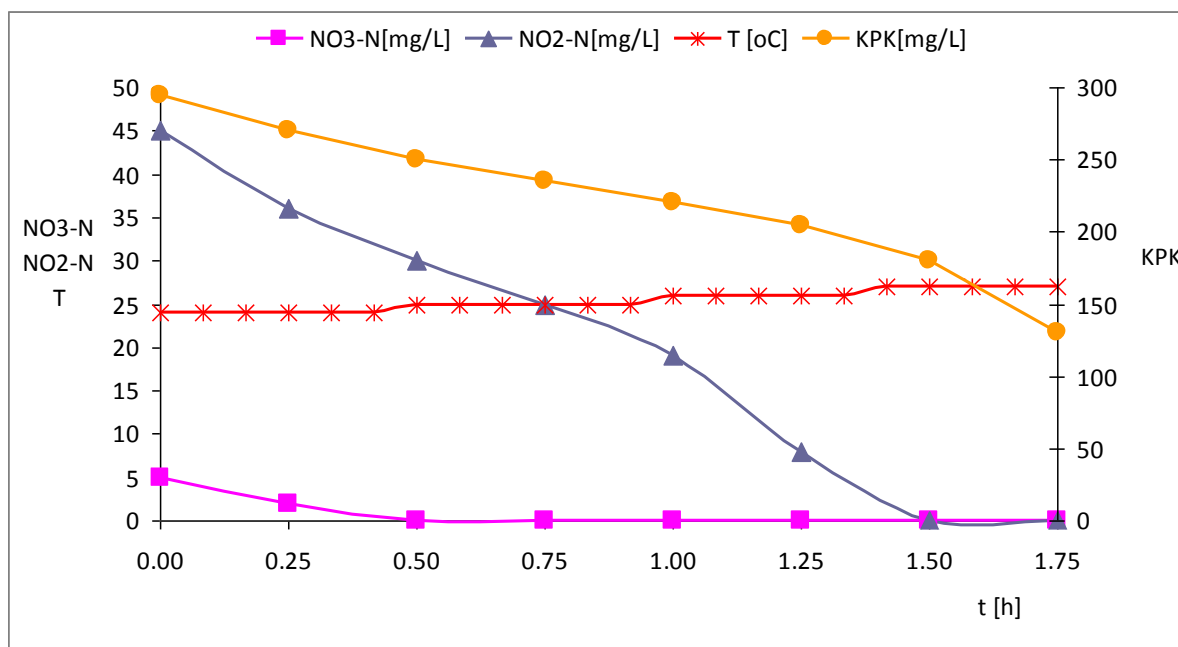
Slika 76. DO i pH u procesu denitrifikacije 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 1



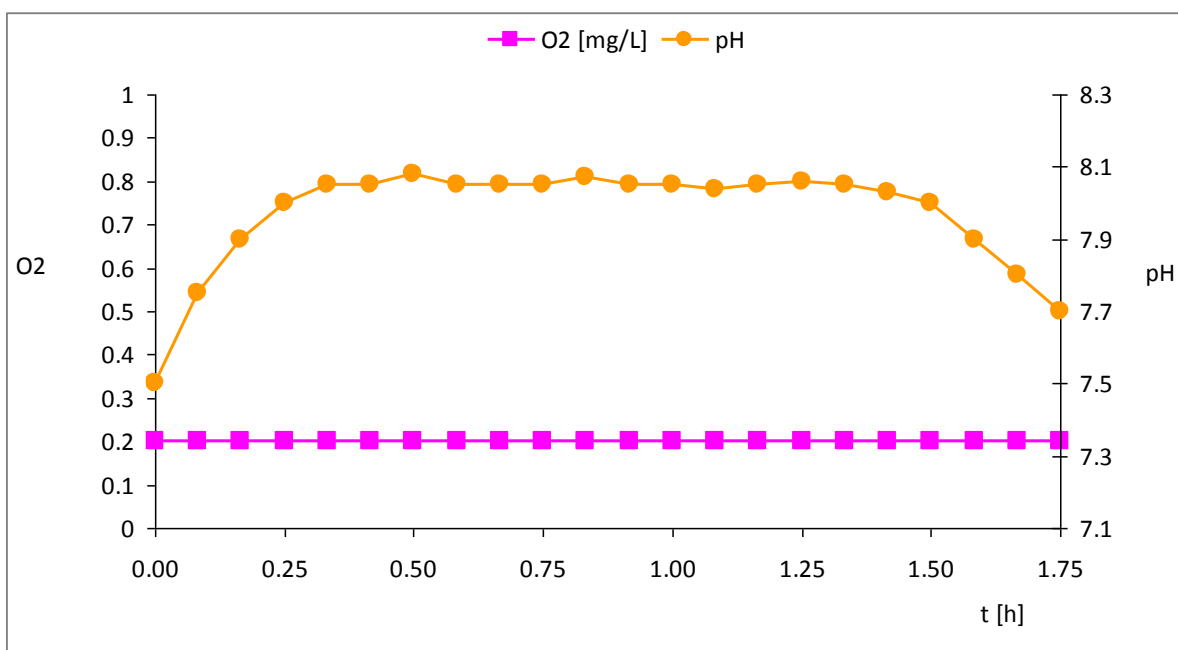
Slika 77. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 2



Slika 78. DO i pH u procesu denitrifikacije 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 2



Slika 79. NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, KPK i temperatura u procesu denitrifikacije 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 3



Slika 80. DO i pH u procesu denitrifikacije 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N 3

Pokusima denitrifikacije određena je aktivnost aktivnog mulja, određena je potreba na organskim sastojcima za denitrifikaciju NO<sub>3</sub>-N i NO<sub>2</sub>-N, kao i učinkovitost procesa (Slike 61-80).

U pokusima denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L istražena je učinkovitost denitrifikacije pri omjerima C/N 2, 3, 4 i 5 (Slike 61-68).

U pokusu uz dodani natrijev acetat za omjer C/N 2 (Slike 61 i 62) KPK se od početnih 201 mg/L smanji za 83%. Pri tome se provede 44% redukcija NO<sub>3</sub>-N i nakupi 10 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slika 61). Redukciju NO<sub>3</sub>-N prati istovremeno smanjenje koncentracije KPK i nakupljanje NO<sub>2</sub>-N.

Pri omjeru C/N 3 provede se 77% redukcija NO<sub>3</sub>-N i 81% redukcija KPK od početnih 312 mg/L, i pri tome se nakupi 10 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slika 63).

Potpuna denitrifikacija se postiže pri omjeru C/N ≥ 4 (Slike 65 i 67). Pri tome se uz C/N 4 KPK smanji za 95% (Slika 65), odnosno za 77% pri C/N 5 (Slika 67).

Brzina denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N uz aklimatizirani mulj pri C/N 4 je 28 mg NO<sub>3</sub>-N/Lh (Slika 65), odnosno 32 mg NO<sub>3</sub>-N/Lh pri C/N 5 (Slika 67).

Krivulje pH vrijednosti tijekom pokusa denitrifikacije 50 mg NO<sub>3</sub>-N/L pri C/N 2, 3, 4 i 5 (Slike 62, 64, 66 i 68) pokazuju iste profile, u kojima tijekom cijelog procesa denitrifikacije raste pH vrijednost.

U pokusima denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L, uz dodani natrijev acetat za omjer C/N 2 (Slike 69 i 70) postiže se 61% smanjenje NO<sub>3</sub>-N i 76% smanjenje NO<sub>2</sub>-N i 82% smanjenje KPK (Slika 69).

Pri omjeru C/N ≥ 3 denitrifikacija 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L uz natrijev acetat je potpuna, uz utrošak KPK 63% pri C/N 3 (Slika 71) i utrošak KPK od 53% pri C/N 4 (Slika 73).

Brzina denitrifikacije 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L + 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L pri C/N 3 iznosila je 33,3 mg NO<sub>x</sub>-N/Lh, odnosno pri C/N 4 iznosila je 33,6 mg NO<sub>x</sub>-N/Lh (Slike 71 i 73).

I u ovim pokusima karakteristične su krivulje promjena pH vrijednosti, koje pokazuju porast pH od početka procesa denitrifikacije (Slike 70, 72 i 74).

U denitrifikaciji 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L + 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L uz C/N 1 (Slike 75 i 76) postiže se 100% redukcija NO<sub>3</sub>-N, 64% smanjenje NO<sub>2</sub>-N i 100% smanjenje KPK.

Potpuna denitrifikacija 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L + 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L postignuta je pri omjeru C/N ≥ 2 (Slike 77-80). Pri tome se KPK smanjio za 83% pri C/N 2 (Slika 77), odnosno 56% pri C/N 3 (Slika 79). Brzina denitrifikacije 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L + 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L pri C/N 2 iznosila je 28,6 mg NO<sub>x</sub>-N/Lh (Slika 77), odnosno pri C/N 3 iznosila je 33,3 mg NO<sub>x</sub>-N/Lh (Slika 79).

I u ovim pokusima denitrifikacije 45 mg NO<sub>2</sub>-N/L + 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L karakterističan je profil krivulje pH koji pokazuje porast vrijednosti.

U svim pokusima denitrifikacije DO je bio manji od 0,4 mg/L.

Vrijednost promjena pH tijekom pokusa denitrifikacije daje krivulju koja pokazuje porast pH tijekom cijelog procesa denitrifikacije. U točki potpune denitrifikacije vrijednost pH se počinje smanjivati (Slike 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 i 80).

Pokusi koji su rezultirali nepotpunom denitrifikacijom su imali manjak organskih sastojaka raspoloživih za redukciju NO<sub>3</sub>-N i/ili NO<sub>2</sub>-N.

Iz rezultata denitrifikacije vidljivo je da je veći utrošak KPK, odnosno veći je zahtijevan i potreban omjer C/N za redukciju  $\text{NO}_3\text{-N}$  negoli  $\text{NO}_2\text{-N}$ .

Kada je u tekućini prisutan  $\text{NO}_3\text{-N}$  brzina denitrifikacije raste s porastom omjera C/N, te je uz aklimatizirani aktivni mulj potrebno osigurati organske sastojke u omjeru C/N 4 (čak i nešto manji omjer C/N) iz natrijeva acetata za denitrifikaciju 50 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ , odnosno potrebno je osigurati opterećenje s KPK da se osigura omjer KPK/N 7,56 (čak i nešto manji omjer KPK/N).

Pokusi u kojima je udio  $\text{NO}_3\text{-N/NO}_2\text{-N}$  1, potpuna denitrifikacija je provedena pri omjeru C/N 3 za koncentraciju 25 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  + 25 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$ . I u ovim pokusima se brzina nitrifikacije povećava s povećanjem omjera C/N. Za potpunu denitrifikaciju 25 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  + 25 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$  bilo je potrebno osigurati organske sastojke u količini koja zadovoljava omjer  $\text{KPK}/(\text{NO}_3\text{-N/NO}_2\text{-N } 1)$  5,9, što odgovara omjeru C/N 3 iz natrijeva acetata.

Pokusi denitrifikacije, kada je u tekućini prisutan  $\text{NO}_2\text{-N}$  uz vrlo mali udio  $\text{NO}_3\text{-N}$  u  $\text{NO}_x\text{-N}$ , za potpunu denitrifikaciju 45 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$  + 5 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  potrebno je osigurati omjer C/N 2 što odgovara omjeru  $\text{KPK}/(90\% \text{NO}_2\text{-N}+10\% \text{NO}_3\text{-N})$  3,96 iz natrijeva acetata kao izvora ugljika.

Iz toga proizlazi da je za redukciju 50 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  potrebno 380 mg KPK/L, a za redukciju 45 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$  + 5 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  potrebno je 170 mg KPK/L, odnosno za svaki mg  $\text{NO}_3\text{-N}$  potrebno je osigurati 7,6 mg KPK, te za svaki mg  $\text{NO}_2\text{-N}$  (uz 10%  $\text{NO}_3\text{-N}$ ) potrebno je osigurati 3,4 mg KPK. Prema tome, za redukciju  $\text{NO}_3\text{-N}$  potrebno je osigurati 2,2 puta više organskih sastojaka u usporedbi s potrebom na KPK za redukciju  $\text{NO}_2\text{-N}$ .

#### **5.4. Biološki postupci motreni on-line**

Kontrola – motrenje – određivanje bioloških reakcija u biološkim procesima u stvarnom vremenu – „real time“ kontrola se može provoditi mjerenjem izravnih i neizravnih parametara kao pokazatelja zbivanja u biološkim procesima.

Izravna on-line kontrola se fokusira na određivanje koncentracije sastojaka, primjerice  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_x\text{-N}$ , KPK. Problemi kod „real time“ mjerenja izravnih parametara su skupi senzori, kompleksno održavanje i prilagodba biosenzora - lag faza (Casellas i sur., 2006).

Profili pH, DO i ORP (oksidoredukcijski potencijal, ORP, eng. *Oxidation-Reduction Potential*), kao neizravni parametri bioloških procesa nitrifikacije i denitrifikacije, daju karakteristične uzorke – točke u krivuljama tih pokazatelja tijekom zbivanja bioloških procesa, koji upućuju na kraj nitrifikacije i denitrifikacije (Chang i Hao, 1996).

On-line motrenje ORP, pH i DO se može primijeniti za optimizaciju procesa i stabilnu obradu otpadne vode (Casellas i sur., 2006).

„Real time“ kontrola, koja se bazira na DO, ORP i pH kao indikacijskim parametrima se koristi za optimizaciju trajanja duljine nitrifikacije i denitrifikacije za učinkovitije uklanjanje dušika i uštedu energije (Gao i sur., 2009).

„Real time“ kontrola biološkog uklanjanja dušika je važna za unaprijeđenje učinkovitosti obrade otpadnih voda, posebno kada se primjenjuje u kombinaciji s procesima preko nitritnog puta.

Tijekom proteklih desetaka godina brojni istraživači su se fokusirali na određivanje-motrenje indirektnih parametara (pH, DO, ORP) za kontrolu konvencionalne nitrifikacije i denitrifikacije.

U biološkoj obradi otpadne vode potrebno je prilagoditi trajanje aerobne/anoksične faze u procesu prema karakteristikama ulazne vode, a neodgovarajuća duljina trajanja pojedine faze vodi do neučinkovite obrade, odnosno neučinkovite potrošnje energije ili slabe kvalitete izlazne vode. Neodgovarajuća duljina aerobne/anoksične faze može rezultirati ozbiljnim narušavanjem procesa, posebno kod uklanjanja fosfora (Plisson-Saune, 2005).

Trenutačno, većina postrojenja za obradu otpadnih voda koristi zadano fiksno vrijeme trajanja pojedinih faza obrade.

U uklanjanju dušika, u aerobnoj i anoksičnoj fazi se preko indirektnih parametara mogu prepoznati završne točke nitrifikacije i denitrifikacije (Ra i sur., 1998), te «intervenirati» u biološkom procesu promjenom uvjeta vođenja procesa.

**Točka završetka oksidacije amonijaka** se može prepoznati po „amonijevoj dolini“ u profilu pH (Chang i Hao, 1996) i „kisikovom laktu“ u profilu DO (Antileo i sur., 2013), kao i u krivulji ORP.

„Amonijeva dolina“ je najniža vrijednost pH koja odgovara potpunoj oksidaciji amonijaka. Tijekom oksidacije amonijaka dolazi do snižavanja pH vrijednosti zbog nastajanja  $H^+$  iona.

U trenutku potpune oksidacije amonijaka se zapaža i iznenađan porast DO. Kako AOB imaju veliku potrebu na kisiku, tijekom oksidacije amonijaka troše velike količine raspoloživog otopljenog kisika u mediju. Kada završi oksidacija amonijaka, utrošak kisika je manji, što se vidi u porastu koncentracije DO.

Ako je u sustavu podešena stalna koncentracija otopljenog kisika, ne može se zapaziti „kisikov lakat“, pa se onda niti ne može koristiti profil DO za „real time“ kontrolu nitrifikacije. Tijekom oksidacije amonijaka raste i vrijednost ORP, a kada je sav amonijak oksidiran ORP naglo pada.

U nitrifikaciji s dodanim – vanjskim izvorom ugljika, natrijevim acetatom, zbiva se porast pH vrijednosti na početku pokusa. Biološka oksidacija acetata proizvodi dva spoja koja utječu na stabilnost pH vrijednosti,  $HCO_3^-$  i  $CO_2$ . Porast koncentracije  $HCO_3^-$  pomiče ravnotežu ka nastajanju  $OH^-$ . Biološkim reakcijama također nastaje  $CO_2$ , koji tvori  $H_2CO_3$ , doprinoseći sa  $H^+$  u mediju, ali u manjoj količini od doprinosa  $OH^-$  zbog nastajanja  $HCO_3^-$ . Posljedično, oksidacija acetata u aerobnim uvjetima uzrokuje porast pH vrijednosti (Antileo i sur., 2013).

U heterotrofnoj nitrifikaciji dolazi do kompeticije heterotrofa i nitrifikanata za DO. Kako su heterotrofi dominantniji, na početku heterotrofne nitrifikacije se raspoloživi otopljeni kisik «troši» - upotrebljuje od strane heterotrofa i odvija se oksidacija KPK, a amonijak se neznatno smanji u koncentraciji. Također, tijekom utroška KPK vrijednost ORP raste, slično kao u denitrifikaciji. Nakon utroška KPK, započinje oksidacija amonijaka, te nitrifikanti upotrebljuju raspoloživi otopljeni kisik.

**Krajnje točke denitrifikacije** su „nitratni vrh“ u profilu pH i „nitratno koljeno“ u profilu ORP (Antileo i sur., 2013).

Ovisno o početnoj koncentraciji KPK, mjerenje ORP postaje manje pouzdano u anoksičnoj fazi, pa se pH profil ne može uvijek učinkovito koristiti kao kontrolni parametar za denitrifikaciju (Kishida i sur., 2004).

Tijekom denitrifikacije u anoksičnoj fazi se može zamijetiti porast pH vrijednosti zbog otpuštanja hidroksid iona (Holman i Wareham, 2005).

Kada se postigne potpuna redukcija nitrata i nitrita, u profilu pH se uočava najviša vrijednost – „nitratni vrh“.

U isto vrijeme, u profilu ORP se može zapaziti blagi porast, a ta točka u kojoj započinje rast ORP vrijednosti se zove „nitratno koljeno“.

„Nitratno koljeno“ i „nitratni vrh“ se javljaju gotovo istovremeno, i označavaju kraj denitrifikacije (Won i Ra, 2011).

Dakle, pouzdano i praktičano detektiranje kraja nitrifikacije i denitrifikacije u stvarnom vremenu se može postići praćenjem profila DO, pH i ORP (Puig i sur., 2005; Holman i Wareham, 2005).

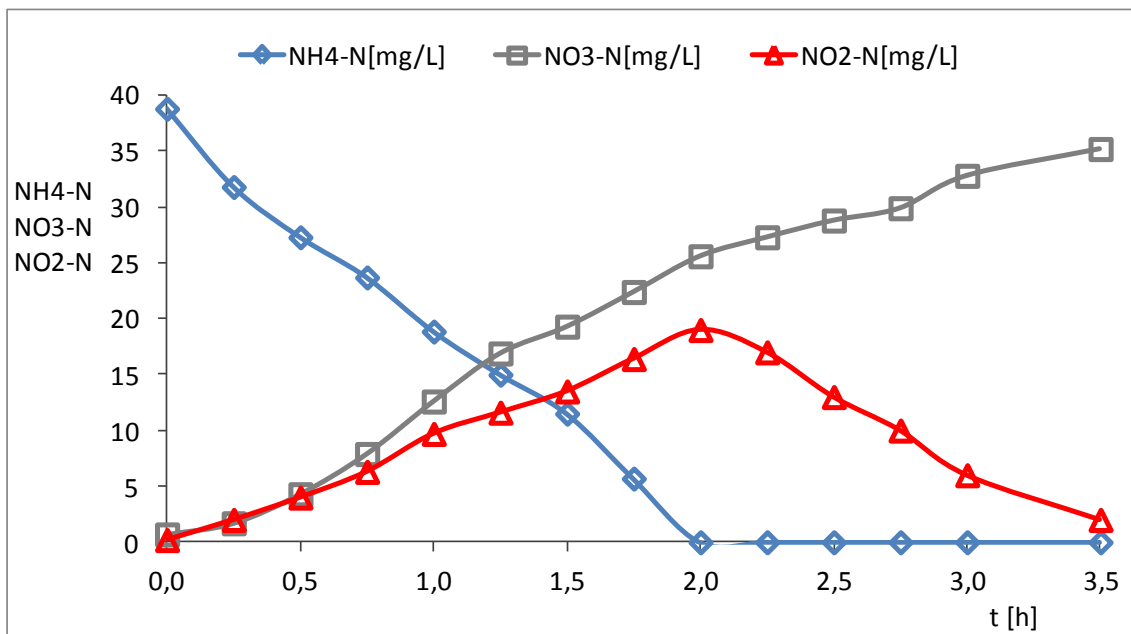
Praćenje bioloških procesa preko „real time“ kontrole se može primijeniti ne samo u konvencionalnom sustavu nitrifikacija-denitrifikacija, nego i kod parcijalne nitrifikacije, intermitentne aeracije, u SBR reaktoru, skraćenom biološkom uklanjanju dušika preko nitrita i brojnim drugim.

Karakteristični profili DO, pH i ORP su tijekom nitrifikacije i denitrifikacije u provođenju istraživanja na ovom projektu (Slike 81-89), pokazali mogućnost „real-time“ kontrole bioloških procesa nitrifikacije i denitrifikacije.

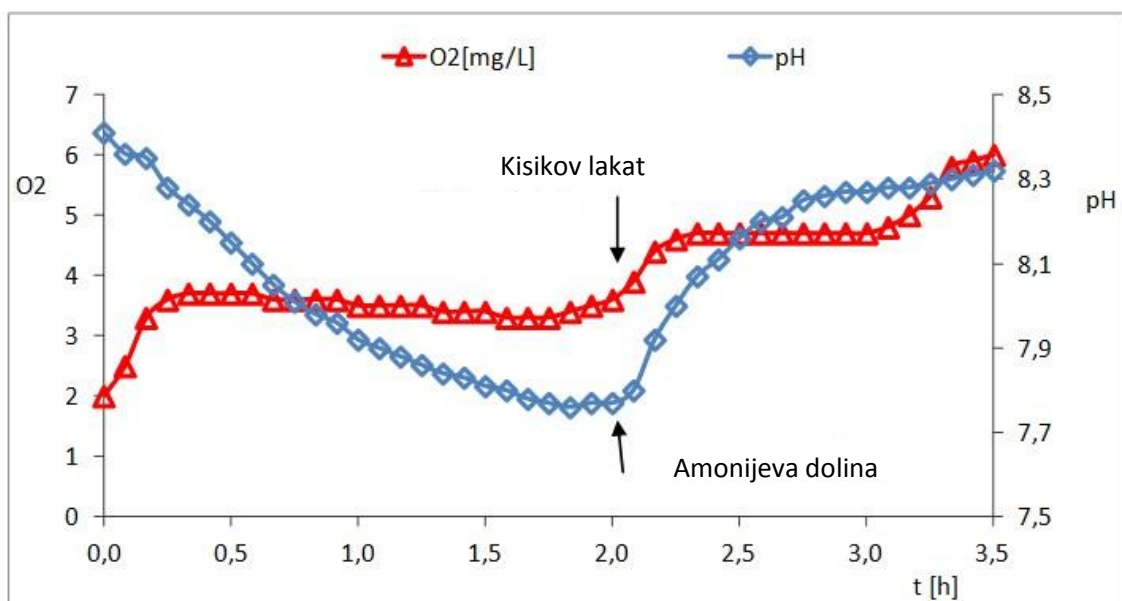
Promjene koncentracije  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ , KPK,  $\text{PO}_4\text{-P}$ , te profili pH, DO i ORP su određeni tijekom bioloških procesa autotrofne nitrifikacije i heterotrofne nitrifikacije, i denitrifikacije.

Promjene u krivuljama motrenih pokazatelja kakvoće biološkog procesa autotrofne nitrifikacije, kao izravni i neizravni pokazatelji bioloških reakcija, te istaknute točke u profilima pH, ORP i DO kao pokazatelji završetka procesa nitrifikacije, su prikazane slikama 81-83.

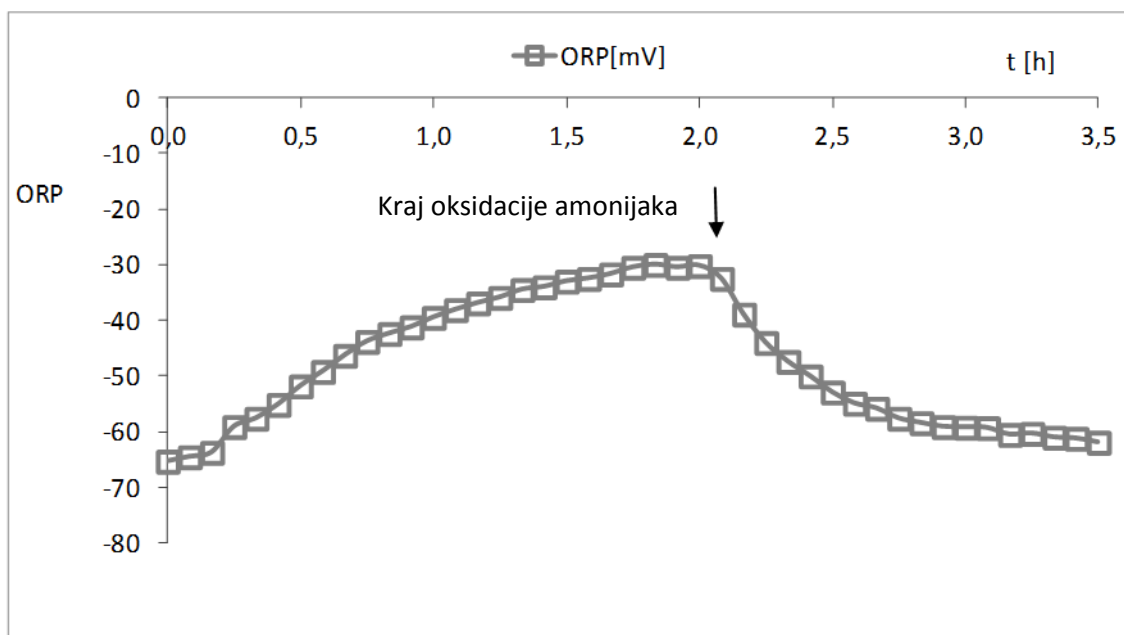




Slika 81. NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N i NO<sub>2</sub>-N tijekom autotrofne nitrifikacije



Slika 82. Koncentracija otopljenog kisika i pH tijekom autotrofne nitrifikacije



Slika 83. Vrijednosti ORP tijekom autotrofne nitrifikacije

Oksidaciju amonijaka prate karakteristični profili DO, pH i ORP koji se u krivuljama prepoznaju kao „amonijeva dolina“ i „kisikov lakat“, a indirektni su pokazatelji zbivanja u biološkim procesima nitrifikacije.

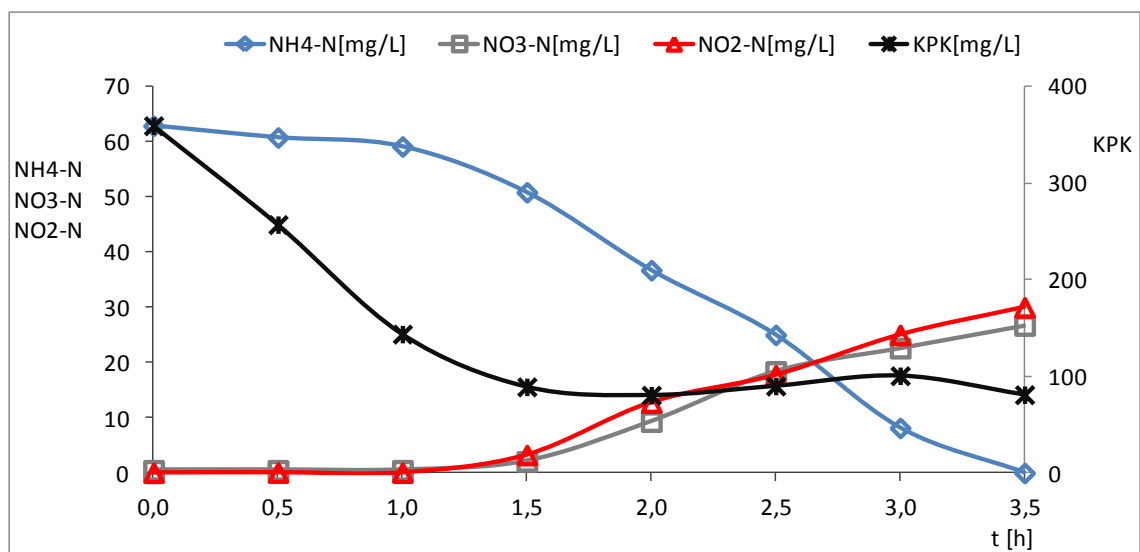
U procesu autotrofne nitrifikacije (Slike 81-83), u krivulji pH u profilu pH vrijednosti je vidljiva točka «amonijeva dolina» i u profilu DO je vidljiva točka «kisikov lakat» (Slika 82), koje odgovaraju točki završetka oksidacije amonijaka (Slika 81).

«Amonijeva dolina» koja predstavlja točku porasta pH – najnižu vrijednost pH, kao i «kisikov lakat» koji označava točku porasta vrijednosti koncentracije otopljenog kisika (Slika 82) se prepoznaju kao točke potpune oksidacije amonijaka (Slika 81), a vrijednost «amonijeve doline» ili najniži pH je ujedno i točka koja odgovarana najvišoj vrijednosti  $\text{NO}_2\text{-N}$  u procesu nitrifikacije (Slika 81).

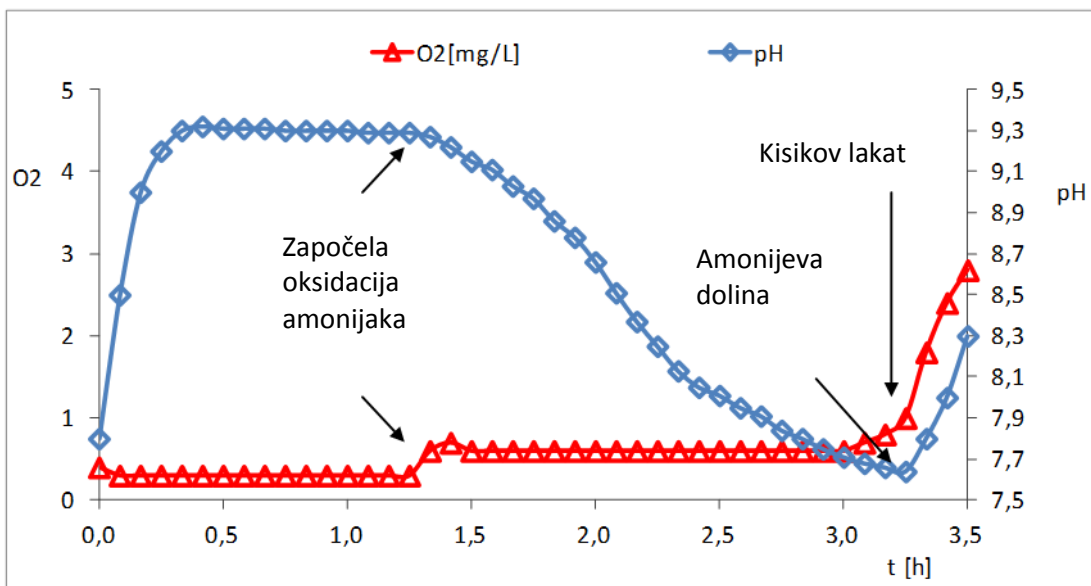
Tako je u pokusu nitrifikacije 39 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$  tijekom 2 sata potpuno oksidiran  $\text{NH}_4\text{-N}$  i u toj točki je najviša koncentracija  $\text{NO}_2\text{-N}$  (19 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$ ), a u toj točki izmjereno je i 26 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ . Ta točka se prepoznaje kao „amonijeva dolina“. Daljnjom oksidacijom, tijekom još 1,5

sati sav je  $\text{NO}_2\text{-N}$  oksidiran u  $\text{NO}_3\text{-N}$  (Slika 81). Isto tako, potpuna oksidacija  $\text{NH}_4\text{-N}$  se u krivulji ORP prepoznaje po naglom padu vrijednosti ORP (Slika 83). Krivulja ORP predstavlja gotovo zrcalnu sliku krivulje pH, te se u profilu ORP uočava točka kraja oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$ , koja u profilu ORP predstavlja točku sniženja vrijednosti ORP (Slika 83).

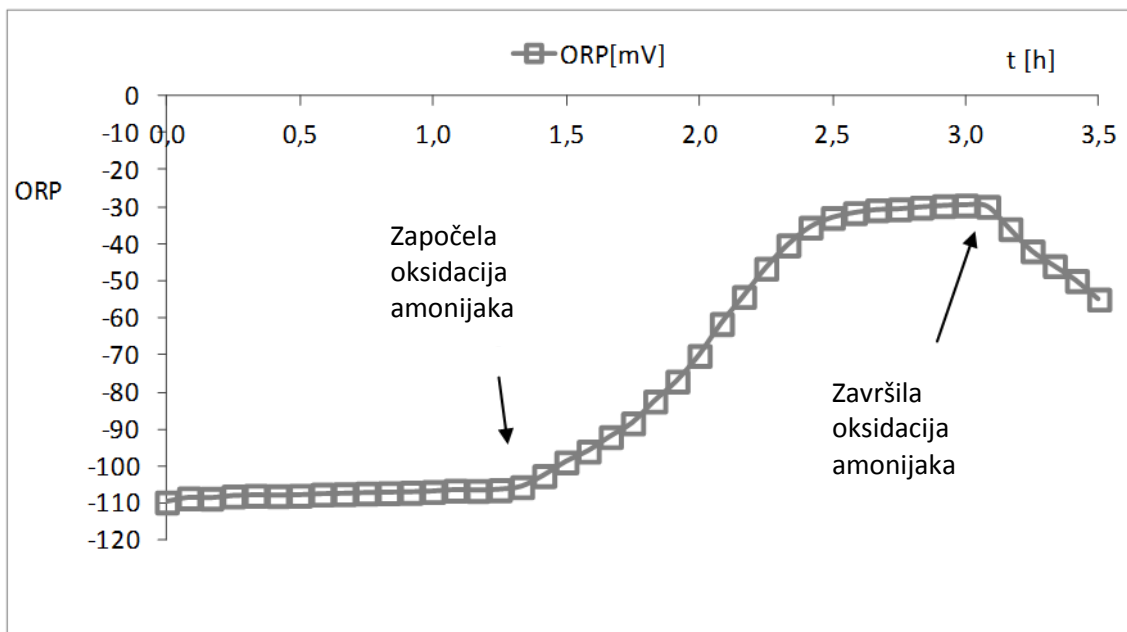
Karakteristične krivulje izravnih i neizravnih pokazatelja kakvoće biološkog procesa određene tijekom heterotrofne nitrifikacije su prikazane slikama 84-86.



Slika 84. KPK,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$  i  $\text{NO}_2\text{-N}$  tijekom heterotrofne nitrifikacije



Slika 85. Koncentracija otopljenog kisika i pH tijekom heterotrofne nitrifikacije



Slika 86. Vrijednosti ORP tijekom heterotrofne nitrifikacije

U heterotrofnoj nitrifikaciji (Slike 84-86) zbiva se oksidacija organskih sastojaka, i oksidacija  $\text{NH}_4\text{-N}$  koji se prevodi u  $\text{NO}_3\text{-N}$  i  $\text{NO}_2\text{-N}$  (Slika 84).

Te promjene se mogu prepoznati u profilima pH, DO i ORP (Slike 85 i 86).

U procesu se prvo zbiva oksidacija organskih sastojaka koja je izražena sniženjem KPK vrijednosti i pri tome je određena niska koncentracija otopljenog kisika koji se upotrebljuje u mikrobnim reakcijama oksidacije organskih sastojaka, koju prati porast pH (Slike 84 i 85).

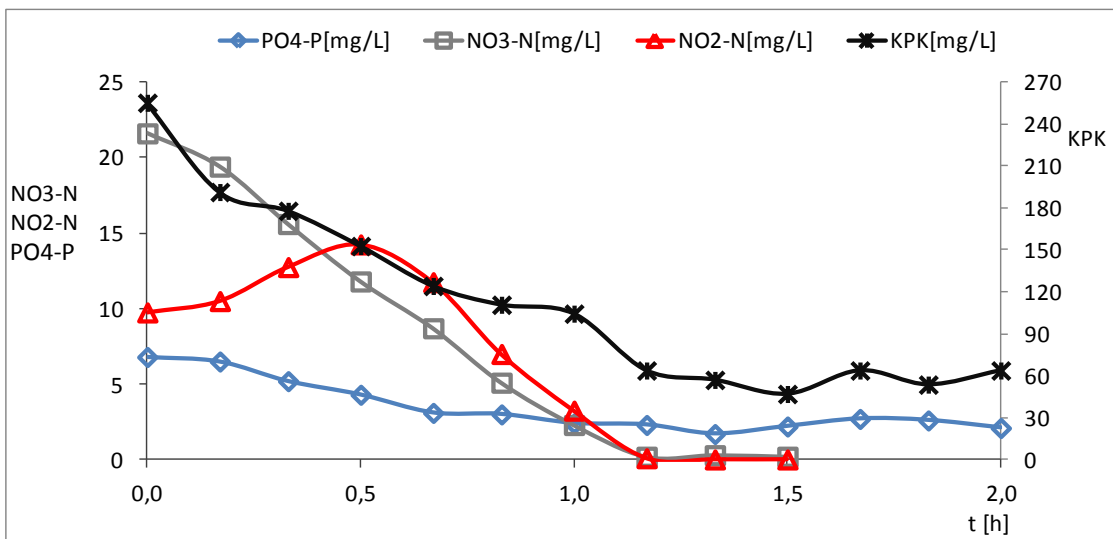
Točka kad pH počne padati u profilu pH, odnosno točka u kojoj poraste vrijednost koncentracije otopljenog kisika u profilu DO koji je i dalje niske vrijednosti koncentracije jer se upotrebljuje u nitrifikaciji, predstavljaju točku početka oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$  (Slika 85).

Kraj oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$  se prepoznaje u profilu pH kao točka u kojoj počne pH rasti, kao i u profilu DO kao točka u kojoj DO počne rasti (Slika 85). U profilu ORP, početak oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$  se prepoznaje točkom u kojoj počne rasti ORP, a točka završetka oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$  se u krivulji ORP prepoznaje kao točka u kojoj dođe do pada vrijednosti ORP (Slika 86).

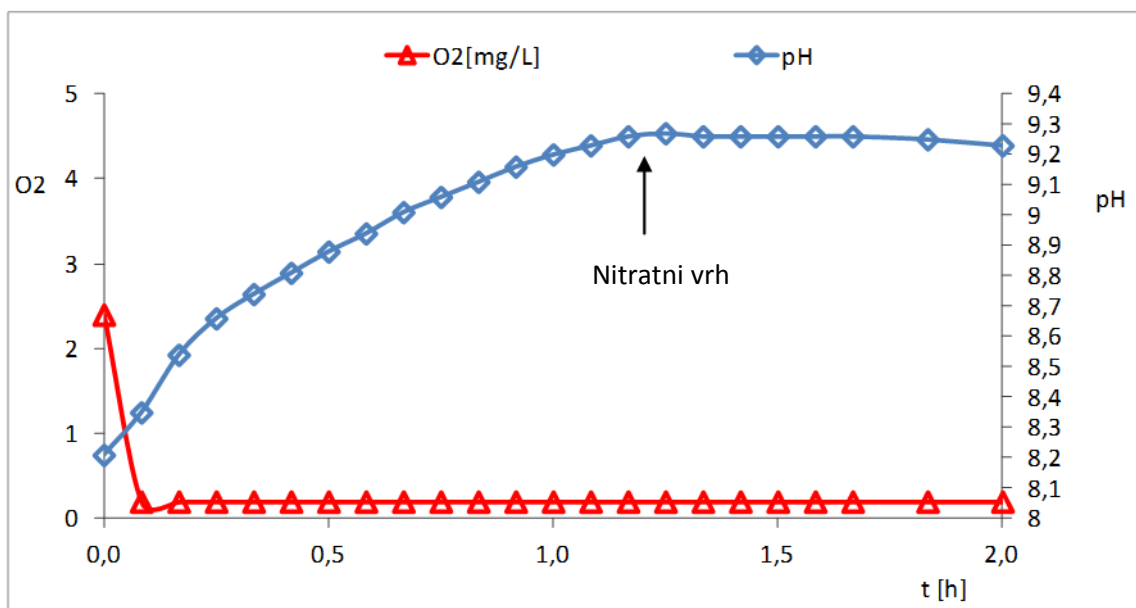
U heterotrofnoj nitrifikaciji je KPK smanjen od 350 mg KPK/L na ispod 100 mg KPK/L tijekom 1-1,5 sata što prati značajniji utrošak otopljenog kisika, a nakon oksidacije organskih sastojaka započinje oksidacija  $\text{NH}_4\text{-N}$  što je određeno porastom koncentracije  $\text{NO}_2\text{-N}$  i  $\text{NO}_3\text{-N}$ , kao i sniženjem koncentracije  $\text{NH}_4\text{-N}$ , odnosno točkom kad malo poraste koncentracija otopljenog kisika koji se nadalje troši za oksidaciju  $\text{NH}_4\text{-N}$  (Slike 84 i 85). Tako se vrijednost koncentracije  $\text{NH}_4\text{-N}$  od početnih 63 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$  tijekom prvih sat vremena procesa neznatno smanji (za 1-2 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$ ) kad se otopljeni kisik koristi za oksidaciju organskih sastojaka. Kad započne oksidacija  $\text{NH}_4\text{-N}$  zbiva se ustaljenom brzinom, nešto sporije negoli tijekom autotrofne nitrifikacije. Tijekom 2,5 sata (ukupno vrijeme 3,5 sata)  $\text{NH}_4\text{-N}$  se potpuno oksidira i prevede u 30 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$  i 25 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (Slika 84).

U profilu pH i DO (Slika 85) vidljive su točke početka oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$ , kao i točke potpune oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$ , prepoznate kao «kisikov lakat» u profilu DO i «amonijeva dolina» u profilu pH (Slika 85). Točka početka i završetka oksidacije  $\text{NH}_4\text{-N}$  se prepoznaje i u specifičnim točkama u krivulji ORP (Slika 86).

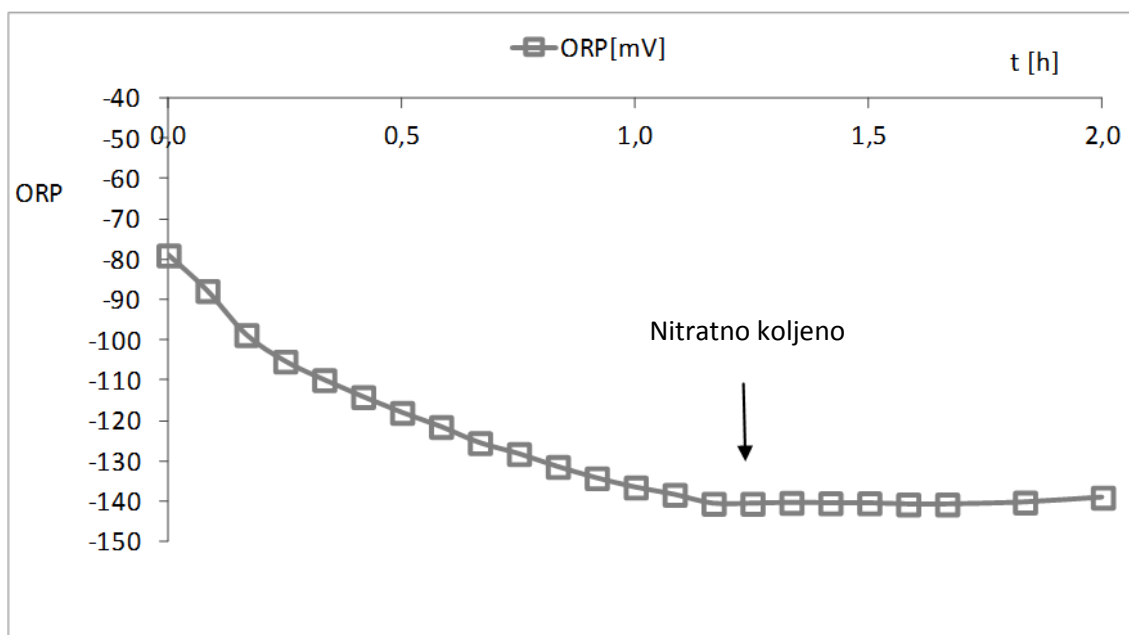
Točke u krivuljama pH i ORP, kao neizravni pokazatelji karakteristični za biološke reakcije koje prate proces denitrifikacije, su prikazane tijekom denitrifikacije uz natrijev acetat kao izvor ugljika slikama 87-89.



Slika 87. KPK, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i PO<sub>4</sub>-P tijekom denitrifikacije



Slika 88. Koncentracija otopljenog kisika i pH tijekom denitrifikacije



Slika 89. Vrijednosti ORP tijekom denitrifikacije

U denitrifikaciji 22 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  i 10 mg  $\text{NO}_2\text{-N/L}$ , uz 250 mg KPK/L, što odgovara omjeru KPK/N 7,97 iz natrijeva acetata, aklimatizirani mulj pokazuje aktivnost uklanjanja 32 mg  $\text{NO}_x\text{-N/L}$  tijekom 1,20 sati što daje brzinu denitrifikacije od 26,7 mg  $\text{NO}_x\text{-N/Lh}$  (Slika 87).

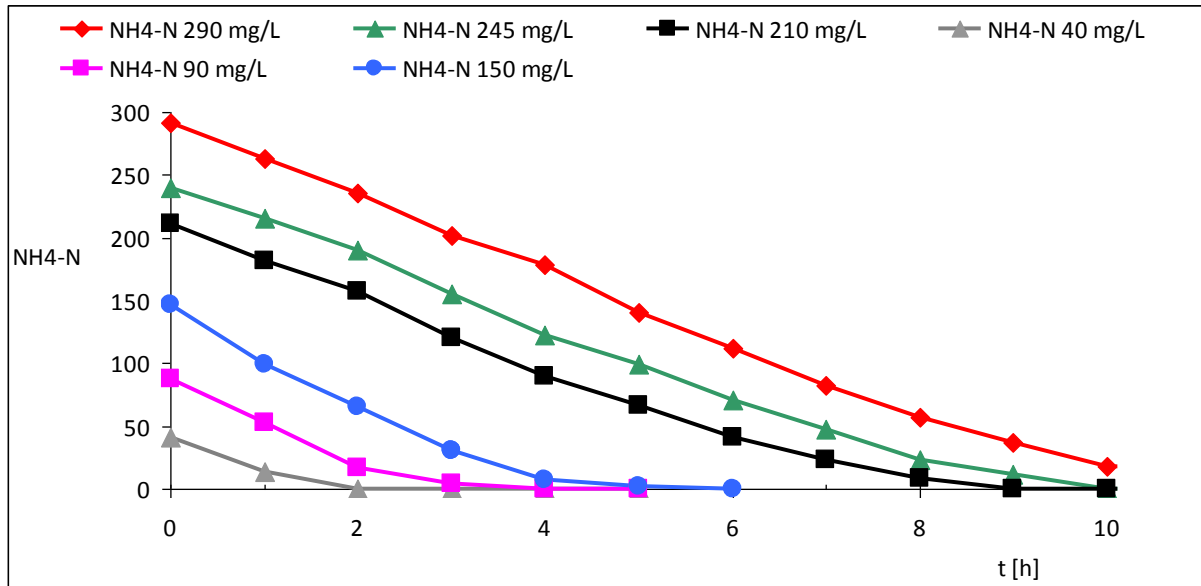
Potpuna denitrifikacija se prepoznaje u profilu pH i ORP. U procesu denitrifikacije «nitrarni vrh» u profilu pH predstavlja točku u kojoj pH dostiže vrhunac i počne padati (Slika 88), odnosno «nitrarno koljeno» u profilu ORP predstavlja točka u krivulji ORP kada se prestane smanjivati vrijednost ORP, počne rasti vrijednost ORP (Slika 89).

Organski sastojci izraženi kao KPK se smanjuju tijekom denitrifikacije, jer su donori elektrona za reduksijske procese (Slika 87).

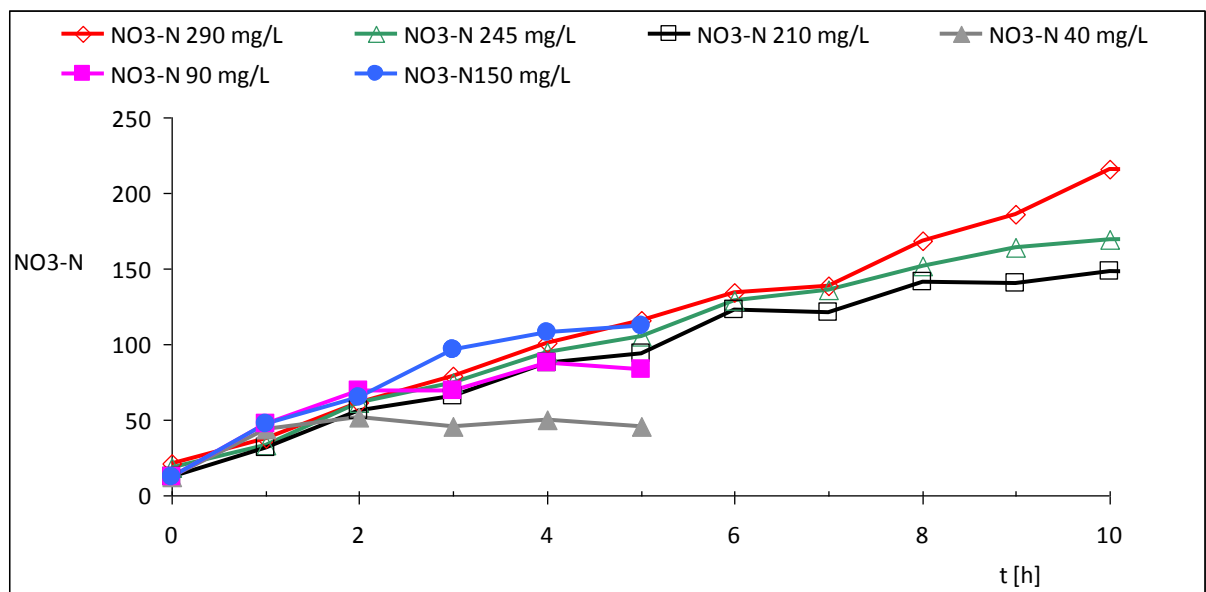
## 5.5. Nitrifikacija i denitrifikacija visokih koncentracija $\text{NH}_4\text{-N}$ i $\text{NO}_3\text{-N}$

Aktivnost aklimatiziranog mulja je, nakon niza pokusa nitrifikacije i denitrifikacije, provjerena za nitrifikaciju 40 do 290 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$  (Slike 90-92) i denitrifikaciju do 200 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (Slike 93-95).

Nitrifikacija 40-290 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$  je provedena uz korekciju pH na 7,2-7,4 i uz koncentraciju otopljenog kisika  $\text{DO}>2$  mg/L.

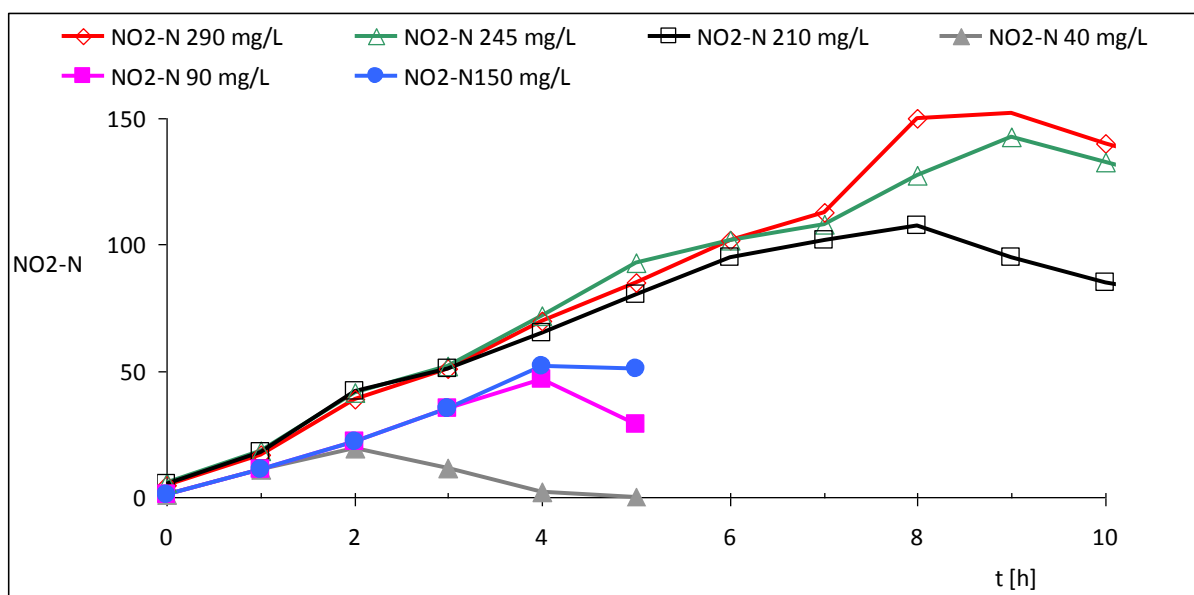


Slika 90.  $\text{NH}_4\text{-N}$  tijekom nitrifikacije 40-290 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$



Slika 91.  $\text{NO}_3\text{-N}$  tijekom nitrifikacije 40-290 mg  $\text{NH}_4\text{-N/L}$





Slika 92. NO<sub>2</sub>-N tijekom nitrifikacije 40-290 mg NH<sub>4</sub>-N/L

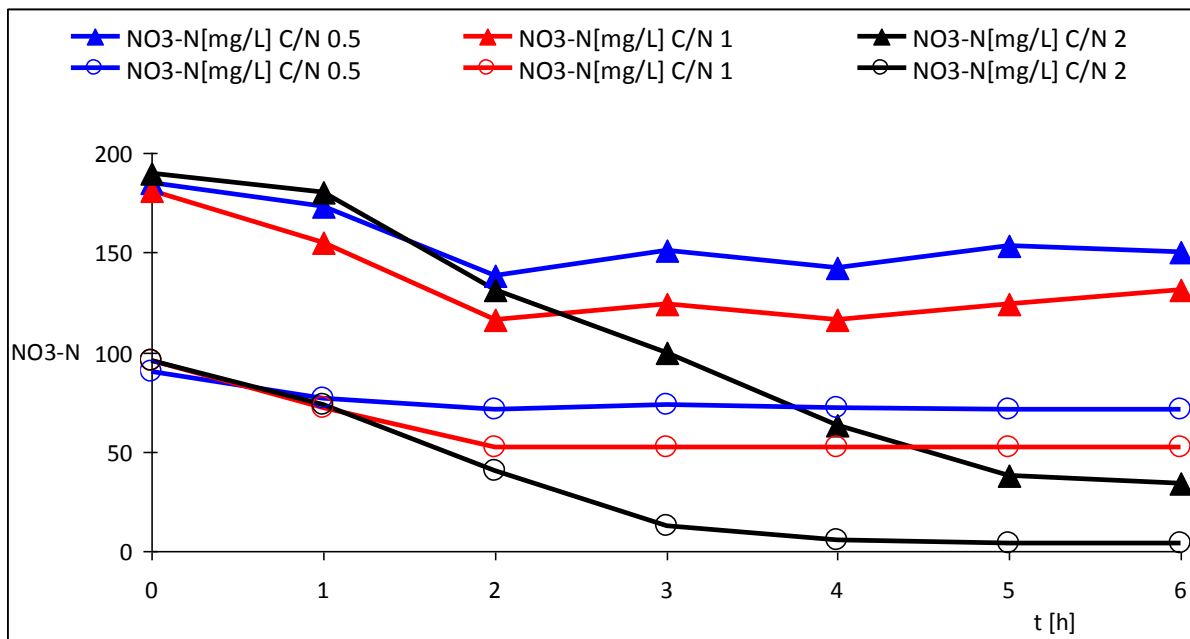
Rezultati nitrifikacije 40-290 mg NH<sub>4</sub>-N/L (Slike 90-92) pokazuju da je mulj aklimatiziran na visoke koncentracije NH<sub>4</sub>-N. Brzina oksidacije amonijaka za početne vrijednosti do 150 mg NH<sub>4</sub>-N/L raste s porastom koncentracije NH<sub>4</sub>-N, i to od 27,6 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh do 36,7 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slika 90). Provođena je korekcija pH na 7,2-7,4. Oksidacijom NH<sub>4</sub>-N nakupljao se NO<sub>2</sub>-N i NO<sub>3</sub>-N, s tim da se oksidacijom nižih vrijednosti NH<sub>4</sub>-N, do 150 mg NH<sub>4</sub>-N/L, nakupljalo više NO<sub>3</sub>-N u NO<sub>x</sub>-N, pri čemu je omjer nakupljenih NO<sub>3</sub>-N/NO<sub>2</sub>-N=1,9±0,2 u točki oksidacije NH<sub>4</sub>-N, dok je oksidacijom viših vrijednosti NH<sub>4</sub>-N, od 210-290 mg NH<sub>4</sub>-N/L omjer nakupljenih NO<sub>3</sub>-N/NO<sub>2</sub>-N=1,2±0,1 u točki oksidacije NH<sub>4</sub>-N (Slike 91-92).

Veće početne koncentracije NH<sub>4</sub>-N, od 210-290 mg NH<sub>4</sub>-N/L, su oksidirane pri brzini oksidacije NH<sub>4</sub>-N u rasponu 28-30 mg NH<sub>4</sub>-N/Lh (Slika 90).

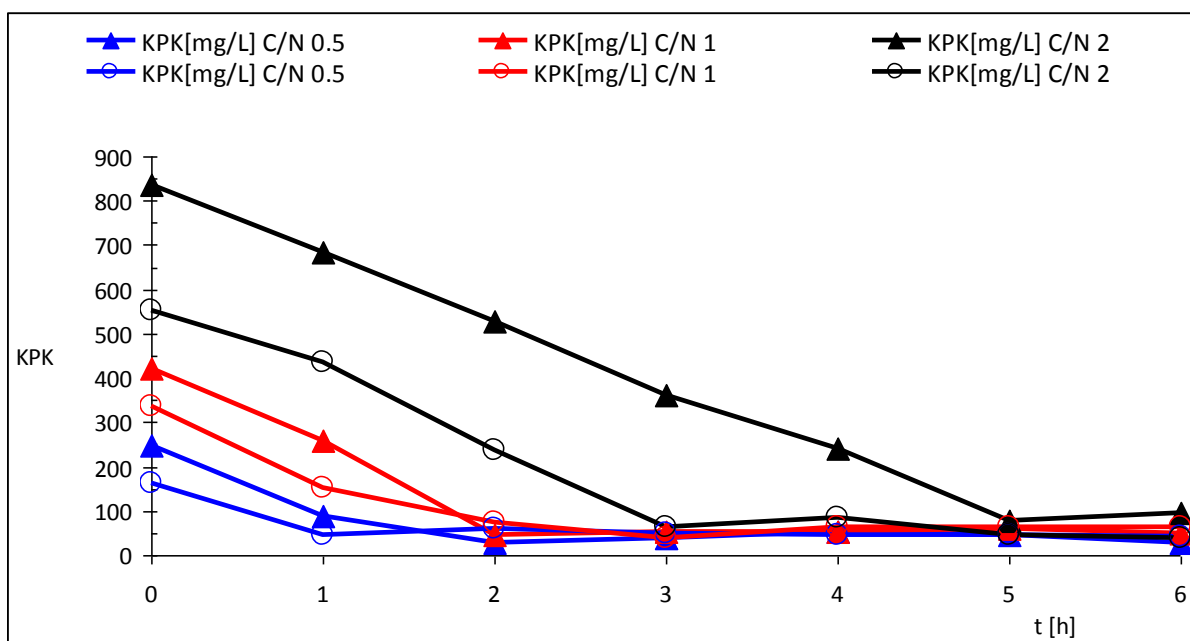
Denitrifikacija je provedena za početnih 90 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 180 mg NO<sub>3</sub>-N/L, uz dodani vanjski izvor ugljika, natrijev acetat, pri omjerima C/N 0,5, C/N 1 i C/N 2. Koncentracija NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N i KPK kao funkcija vremena je pokazana slikama 93-95.

Denitrifikacija kao kompleksan proces je pokazala prevođenje NO<sub>3</sub>-N u NO<sub>2</sub>-N i njihovu daljnju redukciju (Slike 93-95).

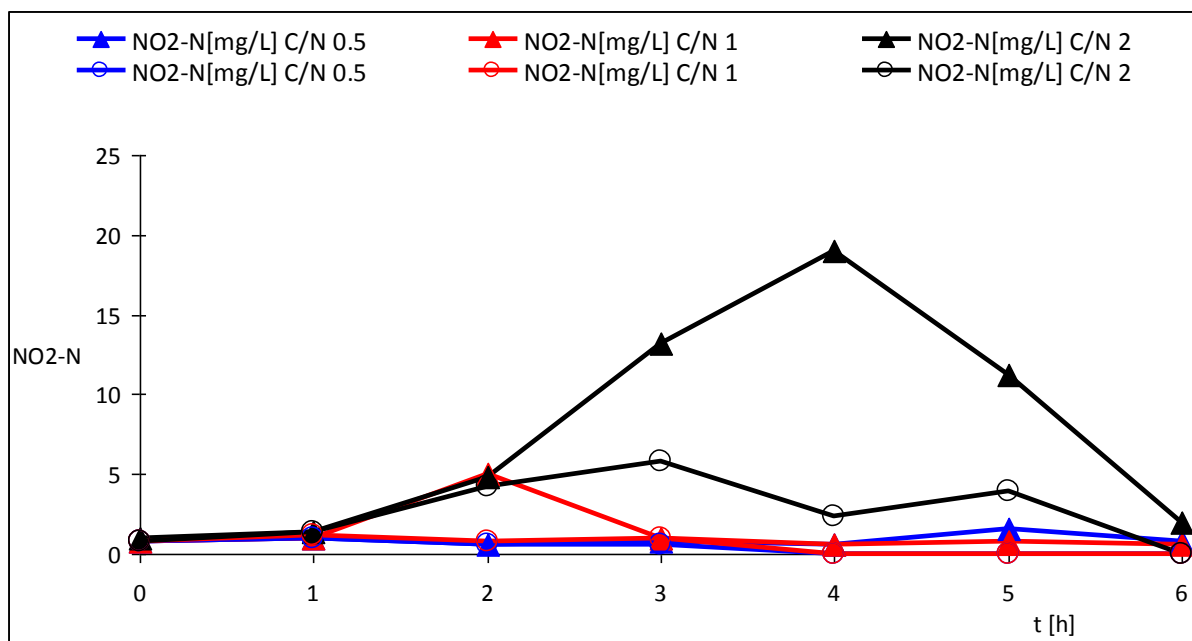
U krivuljama  $\text{NO}_2\text{-N}$  promjene koncentracije  $\text{NO}_2\text{-N}$  pokazuju uobičajeni tijekom mikrobnе reakcije biološke denitrifikacije (Slika 95).



Slika 93.  $\text{NO}_3\text{-N}$  tijekom denitrifikacije 90 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  i 180 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$



Slika 94. KPK tijekom denitrifikacije 90 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  i 180 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$



Slika 95. NO<sub>2</sub>-N tijekom denitrifikacije 90 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 180 mg NO<sub>3</sub>-N/L

Tijekom denitrifikacije organski sastojci su utrošeni pri svim istraženim omjerima C/N, i za 90 mg NO<sub>3</sub>-N/L i za 180 mg NO<sub>3</sub>-N/L (Slika 92).

KPK vrijednost je na kraju pokusa denitrifikacije u koncentraciji od 30-90 mg/L.

Brzina utroška KPK je 164±1 mg KPK/Lh pri C/N 0,5. Pri omjeru C/N 1 brzina utroška KPK je 189±3 mg KPK/Lh, dok je pri omjeru C/N 2 brzina utroška KPK 162±8 mg KPK/Lh.

U pokusu uz 90 mg NO<sub>3</sub>-N/L zadovoljavajuća količina organskih sastojaka je bila pri C/N 2, pri čemu je provedena 96% redukcija NO<sub>3</sub>-N. Pri tome se redukcijom NO<sub>3</sub>-N nakupilo i utrošilo 6 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slike 93 i 95). Potreba na KPK za potpunu redukciju 90 mg NO<sub>3</sub>-N/L je 6 mg KPK/mg NO<sub>3</sub>-N uklonjenog, uz natrijev acetat kao izvor ugljika (Slike 93 i 94). Pri tome brzina denitrifikacije iznosi 28,8 mg NO<sub>3</sub>-N/Lh.

U pokusu uz početnih 180 mg NO<sub>3</sub>-N/L pri C/N 2 iz natrijeva acetata, postignuta je 80% redukcija NO<sub>3</sub>-N, i pri tome je KPK smanjen za 91%, od početnih 836 mg KPK/L na 79 mg KPK/L tijekom 5 sati (Slike 93 i 94). Za tu postignutu redukciju KPK i NO<sub>3</sub>-N potreba na KPK iznosi 4,98 mg KPK/mg NO<sub>3</sub>-N uklonjenog.

Na brzinu denitrifikacije nije utjecala početna koncentracija  $\text{NO}_3\text{-N}$ .

Pri ostalim istraženim omjerima C/N koncentracija organskih sastojaka nije bila dostatna za potpunu redukciju  $\text{NO}_3\text{-N}$ , KPK je utrošen tijekom procesa (preostalo KPK od 30-90 mg/L) (Slika 94).

Postignute su redukcije  $\text{NO}_3\text{-N}$ : 28% (za početnih 180 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$  i C/N 1), odnosno 46% (za početnih 90 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$  i C/N 1); 19% (za početnih 180 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$  i C/N 0,5), te 21% (za početnih 90 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$  i C/N 0,5) (Slika 93).

## 6. ZAKLJUČAK

Ubrzani razvoj znanosti i tehnologije doprinosi povećanju ukupnog znanja čovječanstva, što za posljedicu ima poboljšanje kvalitete života ali i sve veće opterećenje za okoliš.

Zajedno s tim trendom, odgovornost znanstvenika u sve većoj mjeri postaje razvijanje sustava kontrole kojim bi se maksimalno smanjio negativan učinak tehnološkog, gospodarskog i ekonomskog razvoja na okoliš.

U tom smislu otpadne vode predstavljaju veliki problem i izazov, radi raznolikosti onečišćenja koje mogu proširiti u sve sfere ekosustava. Rješenje predstavlja obrada otpadnih voda – primjena bioloških postupaka.

Cilj odabira, primjene i vrednovanja tehnologije, odnosno postupaka u procesu obrade otpadne vode je zaštita javnog zdravstva, zaštita recipijenata u okolišu od procesa razgradnje ili kontaminacije, smanjenje troškova obrade, ponovna upotreba.

Istraživanje procesa biološke obrade otpadnih voda je usmjereno ka istraživanju učinkovite obrade otpadne vode, niske cijene koštanja i održavanja procesa obrade.

Osnova bioloških procesa su mješovite mikrobne zajednice koje imaju sposobnost metaboliziranja različitih sastojaka u otpadnim vodama.

Na aktivnost mikrobne zajednice utječu brojni čimbenici, okolišni i procesni uvjeti određuju dominaciju mikrobnih vrsta, kao i izvori energije, koncentracija otopljenog kisika, akceptora elektrona, temperatura, dostupnost hranjivih tvari i dr.

Stavljanje mikrobne ekologije u praksu znači tražiti i pronaći odgovore:

- istraživačkog pristupa: koji organizam ima koju funkciju i koje uvjete oni zahtijevaju za rast i konkurentnost?
- kreativnog pristupa: pružanje – stvaranje uvjeta za odabir – selekciju mikroorganizama za obavljanje željene funkcije
- inženjerskog pristupa: «koliko?» (stehiometrija), «koliko brzo?» (kinetika), «koliko veliko?» (dizajn), i kakvoća – «koliko dobro?» (analitika)

U literaturi su istaknuti brojni čimbenici koje treba razmotriti pri odabiru i vrednovanju procesa obrade otpadne vode (Tablica 2).

Tablica 2. Osvrt na neke čimbenike koje je nužno razmotriti pri odabiru i vrednovanju procesa obrade

Čimbenik	Komentar
Primjenjivost procesa	Vrednuje se na temelju prijašnjeg iskustva, podataka iz velikih postrojenja, objavljenih podataka i pilot istraživanja.
Primjenjiv raspon protoka	Proces bi trebao biti usklađen sa očekivanim rasponom protoka.
Primjenjiva varijacija protoka	Većina radnih jedinica i procesa moraju biti dizajnirani kako bi djelovali sa širokim rasponom protoka.
Influent – karakteristike	Karakteristike influenta utječu na vrste procesa koje se treba primjeniti (kemijske ili biološke) i utječu na uvjete za njihovo uklanjanje.
Inhibirajući sastojci	Koji sastojci bi mogli djelovati kao inhibitori procesa obrade.
Klimatski uvjeti	Temperatura utječe na brzinu reakcije većine kemijskih i bioloških procesa.
Procesna veličina temeljeno na brzini reakcije ili opterećenju	Veličina reaktora se temelji na brzini reakcije i kinetičkim koeficijentima. Ako nisu dostupni kinetički izrazi koriste se kriteriji za opterećenje procesa. Podaci za izračun kinetike i kriteriji za opterećenje procesa uglavnom potječu iz iskustva, objavljenih rezultata ili pilot istraživanja.
Procesna veličina temeljeno na brzini prijenosa mase ili kriterija opterećenja	Veličina reaktora se temelji na koeficijentima prijenosa mase. Ako brzine prijenosa mase nisu dostupne koriste se kriteriji za opterećenje procesa. Podaci za koeficijente prijenosa mase i kriterije opterećenja procesa uglavnom potječu iz iskustva, objavljenih rezultata i rezultata pilot istraživanja.
Performanse	Djelotvornost se uglavnom mjeri kao kvaliteta efluenta i njegove varijabilnosti koje moraju biti usklađene.
Ostaci obrade	Vrste i količine krutih, tekućih i plinovitih proizvedenih ostataka moraju biti poznati ili barem procijenjeni. Često se pilot istraživanja koriste za identificiranje i utvrđivanje količine ostataka.
Procesiranje mulja	Da li postoje ikakvi uvjeti koji bi učinili obradu mulja i njegovo odlaganje neisplativo ili skupo? Kako bi opterećenje povrata iz obrade mulja moglo utjecati na proces obrade. Odabir sustava procesiranja mulja bi se trebao slagati sa odabirom sustava obrade tekućina.
Okolišni čimbenici	Okolišni čimbenici poput prevladavajućih vjetrova, smjera vjetrova i blizine naselja mogu ograničiti ili utjecati na uporabu određenih procesa pogotovo gdje su mogući rezultat mirisi. Buka i promet mogu utjecati na odabir mjesta za postrojenje. Vode prijemnici mogu imati posebna ograničenja kao primjerice potreba za uklanjanjem određenih onečišćenja poput nutrijenata.
Kemijski zahtjevi	Koji resursi i koje količine moraju biti uporabljene na dulji period vremena za uspješan rad procesa. Kakve učinke bi dodavanje kemikalija

	moglo imati na karakteristike ostataka obrade i troška obrade.
Energetski zahtjevi	Potrebna energija kao i vjerojatna buduća cijena energije mora biti poznata ako se želi dizajnirati ekonomski isplative sustave obrade.
Ostali zahtjevi	Treba li primjeniti ikakve dodatne resurse radi uspješne primjene predloženog sustava obrade koristeći razmatranu jedinicu ili proces.
Zahtjevi - osoblje	Koliko ljudi i s kojim vještinama je potrebno da se provodi proces. Jesu li te vještine spremno dostupne? Koliko će biti potrebno obučavanja?
Zahtjevi – rad i održavanje	Koji posebni zahtjevi za rad i održavanje će morati biti osigurani. Hoće li biti potrebe za rezervnim dijelovima te kolika će im biti dostupnost i cijena?
Dodatni procesi	Koji dodatni procesi su potrebni? Kako oni utječu na kvalitetu efluenta pogotovo kad više ne djeluju.
Pouzdanost	Kolika je pouzdanost razmatranog procesa? Da li se može lako poremetiti, može li izdržati periodična šok opterećenja i ako je tako, kako takvi događaji utječu na kvalitetu efluenta?
Složenost	Kolika je složenost procesa pri djelovanju pod rutinskim ili izvanrednim uvjetima? Koliku razinu obuke osoblje mora imati da rukovodi procesom?
Kompatibilnost	Može li proces biti uspješno korišten sa već postojećim postrojenjima, može li se postrojenje lako proširiti?
Prilagodljivost	Može li proces biti izmijenjen ili modificiran da zadovolji ikakve buduće zahtjeve obrade?
Analiza isplativosti	Procjena troškova mora uzeti u obzir prvotni trošak kapitala te troškove rada i održavanja na dugi period. Postrojenje s najmanjim početnim troškom kapitala ne mora biti najdjelotvornije s obzirom na troškove rada i održavanja. Priroda ili izvor dostupnih novčanih sredstava će također utjecati na izbor procesa.
Dostupnost zemljišta	Ima li dovoljno prostora da se na njemu smjeste ne samo trenutno razmatrane jedinice postrojenja, nego i moguća proširenja u budućnosti. Kolika je dostupna tampon zona da se vizualni i drugi učinci svedu na minimum.

Postoji mnogo različitih konfiguracija sustava s aktivnim muljem, razvijenih za uklanjanje N i mogu se podijeliti u dvije skupine: konfiguracija u odvojenim spremnicima ili konfiguracija u jednom spremniku. Ekonomsko razmatranje čini primarnu motivaciju za razvoj konfiguracije u jednom spremniku.

Postupci uklanjanja dušika (nitrifikacija i denitrifikacija) se mogu vrednovati kroz aspekt aktivnosti mikrobne kulture, utroška energije i učinkovitosti u uklanjanju dušika.

Ciljevi optimiranja procesa sa aktivnim muljem za uklanjanje dušika su:

- proizvesti efluent sa minimalnom količinom dušika
- provesti uklanjanje dušika uz minimalne troškove izgradnje i rada

Za biološko uklanjanje dušika bitan je operativni nadzor aerobnih i anoksičnih uvjeta za nitrifikaciju i denitrifikaciju. Loša izvedba znači malu brzinu nitrifikacije i denitrifikacije.

Na temelju provedenih diskontinuiranih istraživanja, koji su ciklički procesi, treba istaknuti da se optimiranje procesa temelji na zahtjevima kakvoće efluenta, mogućnosti motrenja on-line bioloških reakcija, poznavanju mikrobne kinetike.

Proizašlo iz ovih istraživanja, smjernice za vrednovanje bioloških postupaka, temeljene na zakonskoj regulativi, obuhvaćaju poznavanje:

- karakteristika mikrobiološke kakvoće i biokemijske aktivnosti mikrobne kulture
- mikrobnih reakcija bioloških procesa
- međuovisnosti procesnih i okolišnih varijabli, za postizanje i konfiguraciju ciljane izvedbe procesa
- dužinu trajanja pojedinih mikrobnih reakcija
- održavanje procesa – dugotrajno vođenje, lakoću izvedbe
- jednostavno upravljanje i vođenje
- mogućnost on-line vođenja procesa
- troškovi vođenja i održavanja procesa
- upravljanje sa nusproizvodima („zero waste technology“)
- učinkovitost biološkog postupka
- u kojoj kombinaciji drugih bioloških postupaka čini sustav

Pri tome je nužno istaknuti potrebu rada stručnog osoblja - djelatnika u vođenju i upravljanju biološkim sustavima. Nužnost je u interdisciplinarnom pristupu struka, poput biotehnologa, mikrobiologa, građevinara i dr.

Kombinacijom – odabirom procesnih čimbenika za uspješnu – učinkovitu primjenu postupaka nitrifikacije i denitrifikacije, temeljeno na poznavanju mikrobne kinetike,



mikrobnih reakcija, te na taj način ostvarivanje različitih izvedbi bioloških procesa a sve prema zahtijevanoj kakvoći efluenta kao i ekonomskim, prostornim i tehničkim mogućnostima, daju:

- mogućnost izbora najpovoljnije tehnologije
- uvid u mogućnosti „intervencije“ na postojećim sustavima, a u svrhu poboljšanja rada

Nove tehnologije (poput primjerice provođenja nitrifikacije do nitrita – prvi korak nitrifikacije) imaju prednosti pred konvencionalnim tehnologijama za uklanjanje dušika iz otpadne vode u smislu uštede u izvedbi – konfiguraciji, aeraciji i izvoru ugljika. No, svaka nova tehnologija nudi obećavajuće mogućnosti i potencijalne probleme.

Glavni izazov je obogaćivanje-održavanje-kontrola mikroorganizama sposobnih za ciljane procese. Molekularna biologija i biotehnologija okoliša mogu identificirati funkcionalne mikroorganizame, karakterizirati mikrobne zajednice, te razvijati nove procese uklanjanja dušika.

Opsežna istraživanja treba provoditi u smislu primjene i optimiziranja novih procesa na uređaju za obradu otpadnih voda.

Više truda treba uložiti da se kombiniraju procesi kako bi se poboljšala učinkovitost uklanjanja dušika.

Također, strategija „real-time“ kontrole (DO, pH i ORP) bioloških procesa razvijena je kako bi se postigla stabilnost u provođenju bioloških reakcija u procesima obrade otpadne vode.

Temeljeno na spoznajama iz provedenih istraživanja definiranih ovim projektom kao i spoznajama iz dostupne literature zahtijevani okolišni i procesni čimbenici za postupke nitrifikacije i denitrifikacije, a koji se mogu tumačiti i kao prednosti i nedostaci tih bioloških postupaka uklanjanja dušika iz otpadne vode su:

#### **za provođenje nitrifikacije:**

- **otopljeni kisik:** Nitrificirajuće vrste su striktni aerobi i mogu nitrificirati samo u prisustvu otopljenog kisika; značajna nitrifikacija se zbiva pri 2-2,9 mg DO/L, dok je pri DO=3 mg/L nitrifikacija maksimalna. Za pretvorbu svakog mg  $\text{NH}_4^+$  utroši se 4,57 mg

O<sub>2</sub> (utroši se 3,43 mg O<sub>2</sub>/mg proizvedenog NO<sub>2</sub>-N i 1,14, mg O<sub>2</sub>/mg oksidiranog NO<sub>2</sub>-N). Kako se pri tome zbiva i sinteza mikrobne biomase i nastaje 0,16 mg novih stanica i pri tome se utroši 0,08 mg CO<sub>2</sub> kao i 7,07 mg alkaliteta izraženog kao CaCO<sub>3</sub>, proizlazi da je za pretvorbu svakog mg NH<sub>4</sub>-N potrebno 4,25 mg O<sub>2</sub>.

- **omjer KPK/N – reakcijsko vrijeme** mora biti dovoljno dugo (prvo se mora ukloniti KPK), što je povezano sa omjerom hrana/mikroorganizam
- **održavanje mikrobne biomase** – zbog male brzine rasta nitrifikanata (generacijsko vrijeme nitrificirajućih bakterija je od 8-10 sati do nekoliko dana) vrijeme zadržavanja biomase mora biti dovoljno dugo (min. > 5 dana; optimalno > 8 dana)
- **temperatura:** niska temperatura uzrokuje sporiji rast nitrifikanata i utječe na aktivnost – 90% nitrifikacija se postiže pri minimalno 15 °C, a pri temperaturi <10 °C očekivana je maksimalna 50% nitrifikacija; učinak niže temperature se može nadomjestiti-kompenzirati većom koncentracijom MLSS. Temperatura vodenog medija ima limitirajući učinak na prijenos kisika. Optimalni temperaturni raspon za proces nitrifikacije je 28-32 °C.
- **pH-vrijednost:** nitrifikanti su pH osjetljivi; povoljni pH za nitrifikaciju je pH=7,2-8,0
- **alkalitet:** Alkalitet se gubi tijekom nitrifikacije jer se koristi alkalitet kao izvor ugljika pomoću nitrificirajućih bakterija i zbiva se gubitak alkaliteta zbog proizvodnje H<sup>+</sup> i NO<sub>2</sub><sup>-</sup> tijekom nitrifikacije, što se očituje i smanjenjem pH-vrijednosti. Zbog toga je važno održavati odgovarajući alkalitet u aeracijskom spremniku-reaktoru da se osigura stabilan pH i osigura prisutnost CO<sub>2</sub> za nitrifikante. Poželjno je da nakon završene nitrifikacije u aeracijskom reaktoru preostane najmanje 50 mg/L alkaliteta.

#### za provođenje denitrifikacije:

- **otopljeni kisik:** potrebno je osigurati anoksične uvjete (niska koncentracija otopljenog kisika (različiti navodi, do DO<1 mg/L) ili bez kisika
- **pH-vrijednost:** povoljni pH za denitrifikaciju je oko pH=7
- **izvor ugljika:** za denitrifikaciju je nužno prisustvo biorazgradive organske tvari kao donora elektrona. Ako u otpadnoj vodi nema dovoljno biološki razgradivih organskih sastojaka za denitrifikaciju potrebno ih je dodati kao vanjske izvore ugljika

- **alkalitet:** denitrifikacija obnavlja alkalitet; denitrifikacijom se obnavlja oko 50% alkaliteta utrošenog u nitrifikaciji. Tijekom denitrifikacije proizvedeni  $\text{OH}^-$  i  $\text{CO}_2$  se vraćaju u proces aktivnog mulja kao alkalitet.

Kombinacijom bioloških postupaka nitrifikacije i denitrifikacije, poput primjerice primjenjenih naizmjeničnih aerobnih i anoksičnih uvjeta čini uštedu u smislu smanjenja potrebe na kisiku i nema potrebe za dodavanjem vanjskog izvora ugljika.

## 7. LITERATURA

1. Amann, R.I. (1995) Fluorescently labeled sRNA-targeted nucleotide probes in the study of microbial ecology. *Microb. Ecol.* **4**, 543-554.
2. Antileo, C., Medina, H., Bornhardt, C., Munoz, C., Jaramillo, F., Proal, J. (2013) Actuators monitoring system for real time control of nitrification-denitrification via nitrite on long term operation. *Chem. Eng. J.* **223**, 467-478.
3. Arp, D.J., Bottomley, P.J. (2006) Nitrifiers: more than 100 years from isolation to genome sequences. *Microbe.* **1**, 229-234.
4. Arp, D.J., Chain, P.S.G., Klotz, M.G. (2007) The impact of genome analyses on our understanding of ammonia-oxidizing bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **61**, 503-528.
5. Benefield, L.D., Randall, C.W. (1985) Biological process design for wastewater treatment. Prentice Hall Inc., Charlottesville, Va.
6. Bitton, G. (2005) Wastewater Microbiology. 3. izd., John Wiley & Sons Inc, New Jersey.
7. Bock, E., Harms, H. (1986) Cell biology of nitrifying bacteria. U: Nitrification. (J.J. Prosser, ur.), IRL Press, Oxford.
8. Burrel, P.C., Keller, J., Blackall, L.L. (1998) Microbiology of nitrite-oxidizing bioreactor. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 1878-1883.
9. Casellas, M., Dagot, C., Baudu, M. (2006) Set up and assessment of control strategy in a SBR in order to enhance nitrogen and phosphorus removal. *Process Biochem.* **41**, 1994-2001.
10. Chang, C.H., Hao, O.J. (1996) Sequencing batch reactor system for nutrient removal: ORP and pH profiles. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **67**, 27-28.
11. Chen, G.H., Wong, M.T., Okabe, S., Watanabe, Y. (2003) Dynamic response of nitrifying activated sludge batch culture to increased chloride concentration. *Water Res.* **37**, 3125-3135.
12. Constantin, H., Fick, M. (1997) Influence of C-sources on the denitrification rate of a high-nitrate concentrated industrial wastewater. *Water Res.* **31**, 583-589.
13. Coskuner, G., Curtis, T.P. (2002) *In situ* characterization of nitrifiers in an activated sludge: detection of *Nitrobacter* spp. *J. Appl. Microbiol.* **93**, 431-437.

14. Daims, H., Nielsen, J.L., Nielsen, P.H., Schleifer, K.H., Wagner, M. (2001) *In situ* characterization of *Nitrospira*-like oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 5273-5284.
15. De Filippis, P., Di Palma, L., Scarsella, M., Verdone, N. (2013) Biological denitrification of high-nitrate wastewaters: a comparison between three electron donors. *Chemical Engineering Transactions.* **32**, 319-324.
16. Dionisi, H.M., Layton, A.C., Harms, G., Gregory, I.R., Robinson, K.G., Sayler, G.S. (2002) Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plant by competitive PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 245-253.
17. Dugdale, R.C., Goering, J.J. (1967) Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in marine production. *Limnol. Oceanogr.* **12**, 196-206.
18. Ensign, S.A., Hyman, M.R., Arp, D.J. (1993) *In vitro* activation of ammonia monooxygenase from *Nitrosomonas europaea* by copper. *J. Bacteriol.* **175**, 1971–1980.
19. EPA (1993) Process design manual for nitrogen control. USEPA, Washington, DC.
20. Eppley, R.W., Peterson, B.J. (1979) Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature.* **282**, 677-680.
21. Finstein, M.S., Delwiche, C.C. (1965) Molybdenum as a micronutrient for *Nitrobacter*. *J. Bacteriol.* **89**, 123-128.
22. Forster, S., Snape, J.R., Lappin-Scott, H.M., Porter, J. (2002) Simultaneous fluorescent gram staining and activity assessment of activated sludge bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 4772-4779.
23. Galloway, J.N., Dentener, F.J., Capone, D.G., Boyer, E.W., Howarth, R.W., Seitzinger, S.P., Asner, G.P., Cleveland, C.C., Green, P.A., Holland, E.A., Karl, D.M., Michaels, A.F., Porter, J.H., Townsend, A.R., Vorosmarty, C.J. (2004) Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry.* **70**, 153-226.
24. Gao, D., Peng, Y., Li, B., Liang, H. (2009) Shortcut nitrification-denitrification by real-time control strategies. *Bioresour. Technol.* **100**, 2298-2300.
25. Gardner, L.M. (2008) Denitrification enzyme activity as an indicator of nitrate loading in a wetland receiving diverted Mississippi river water, A Thesis submitted to the

- Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science.
26. Gerardi, M.H. (2002) Nitrification and denitrification in the activated sludge process. John Wiley and Sons Inc., New York.
  27. Gyeseke, A., Purkhold, U., Wagner, M., Amann, R., Schramm, A. (2001) Community structure and activity dynamics of nitrifying in a phosphate-removing biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 1351-1362.
  28. Hallin, S., Lydmark, H., Hermansson, S.F., Jarvis A., Kindgren, P. (2005) Community survey of ammonia-oxidizing bacteria in full-scale activated sludge processes with different solids retention time. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 6219-640.
  29. Henze, M., Harremoës, P., la Cour Jansen, J., Arvin, E. (2000) Wastewater treatment. Biological and chemical processes. 3. izd., Springer, Berlin.
  30. 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.
  31. Hooper, A.B., Vannelli, T., Bergmann, D.J., Arciero, D.M. (1997) Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek.* **71**, 59-67.
  32. Juretschko, S., Timmermann, G., Schmid, M., Schleifer, K., Roser, P.A., Koops, H.P., Wagner, M. (1998) Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 3042-3051.
  33. Khanitchaidecha, W., Sumino, T., Kazama, F. (2010) Influence of carbon source on biological nitrogen removal by immobilised bacteria. *JWARP.* **2**, 527-531.
  34. Khin, T., Annachhatre, A.P. (2004) Novel microbial nitrogen removal processes. *Biotechnol. Adv.* **22**, 519-532.
  35. Kindaichi, T., Ito T., Okabe, S. (2004) Ecophysiological interaction between nitrifying bacteria and heterotrophic bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by microautoradiography-fluorescence *in situ* hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 1641-1650.
  36. Kishida, N., Kim, J.H., Chen, M., Tsuneda, S., Sasaki, H., Sudo, R. (2004) Automatic control strategy for biological nitrogen removal of low C/N wastewater in a sequencing batch reactor. *Water Sci. Technol.* **2**, 45-50.

37. Koops, H.P., Pommerening-Röser, A. (2001) Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiol. Ecol.* **37**, 1-9.
38. Kumar, M., Lin, J-G. (2010) Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal – Strategies and issues. *J. Hazard. Materials.* **178**, 1-9.
39. Mackenzie, L.D. (2011) Water and wastewater engineering. Design principles and practice. International ed., McGraw-Hill, New York.
40. Mahvi, A.H. (2008) Sequencing batch reactor: a promising technology in wastewater treatment. *Iran J. Environ. Healt.* **5**, 79-90.
41. Metcalf & Eddy (2004) Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. 4. izd., McGraw-Hill, New York.
42. Morgenroth, E., Obermayer, A., Arnold, A., Bruhl, A., Wagner, M., Wilderer, P.A. (2000) Effect of long term idle periods on the performance of sequencing batch reactors. *Water Sci. Technol.* **41**, 105-113.
43. Naik, S.S., Setty, P.Y. (2012) Biological denitrification of wastewater-A mini review on carbon source. International Conference on Chemical, Environmental Science and Engineering (ICEEBS'2012) July 28-29, 2012 Pattaya (Thailand).
44. Obaja, D., Mace, S., Mata-Alvarez, J. (2005) Biological nutrient removal by a sequencing batch reactor (SBR) using an internal organic carbon source in digested piggery wastewater. *Bioresour. Technol.* **96**, 7-14.
45. Onnis-Hayden, A., Gu, A.Z. (2008) Comparisons of organic sources for denitrification: biodegradability, denitrification rates, kinetic constants and practical implication for their application in WWPTS. *WEFTEC.* 253-273.
46. Painter, H.A. (1986) Nitrification in the treatment of sewage and waste-waters. U: Nitrification. (J.J. Prosser, ur.), IRL Press, Oxford.
47. Park, J.Y., Yoo, Y.J. (2009) Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment: which electron donor we can choose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **82**, 415-429.
48. Plisson-Saune, S. (2005) Real-time control of nitrogen removal using three ORP bending points: signification, control strategy and results. *Water Sci. Technol.* **33**, 275-280.

49. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, NN 43/14, Zagreb, Hrvatska
50. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, NN 80/13, Zagreb, Hrvatska
51. Puig, S., Corominas, L., Vives, M.T., Balaguer, M.D., Colprim, J., Colomer, J. (2005) Development and implementation of a real-time control system for nitrogen removal using OUR and ORP as end points. *Ind. Eng. Chem. Res.* **44**, 3367-3373.
52. Purkhold, U., Pommerening-Röser, A., Juretschko, S., Schmidt, M.C., Koops, H.P., Wagner, M. (2000) Phylogeny of all recognized species of ammonia-oxidisers based on comparative 16SrRNA and AmoA sequence analysis: implications for molecular diversity survey. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 5368-5382.
53. Ra, C.S., Lo, K.V., Mavinic, D.S. (1998) Real time control of two stage sequencing batch reactor system for the treatment on animal wastewater. *Environ. Technol.* **19**, 343-356.
54. Randall, C.W., Barnard, J.L., Stensel, H.D. (1992) Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. PA Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster.
55. Rittman, B.E., Lapidou, C.S., Flax, J., Stahl, D.A., Urbain, V., Harduin, H., Waard, J., Geurkink, B., Henssen, M.J., Brouwer, H., Klapwijk, A., Wetterauw, M. (1999) Molecular and modeling analyses of the structure and function of nitrifying activated sludge. *Water Sci. Technol.* **39**, 51-59.
56. Sage, M., Daufin, G., Gesan-Guiziu, G. (2006) Denitrification potential and rates of complex carbon source from dairy effluents in activated sludge system. *Water Res.* **40**, 2747-2755.
57. Schramm, A, van den Beer, D., Heuvel, J.C., Ottengraf, S., Amann, R. (1999) Microscale distribution of populations and activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. along a macroscale gradient in a nitrifying bioreactor: quantification by *in situ* hybridization and the use of microsensors. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 3690-3696.
58. Tsuneda, S., Nagano, T., Hoshino, T., Ejiri, Y., Noda, N., Hirata, A. (2003) Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor. *Water Res.* **37**, 4965-4973.



59. Ueda, T., Shinogi, Y., Yamaoka, M. (2006) Biological nitrate removal using sugar-industry wastes. *Paddy and Water Environ.* **4**, 139-144.
60. Van Loosdrecht, M.C.M., Jetten, M.S.M. (1998) Microbiological conversion in nitrogen removal. *Water. Sci. Technol.* **38**, 1-7.
61. Wagner, M.R., Koops, G., Flood, P.H., Aman, R. (1996) *In situ* analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Water Sci. Technol.* **34**, 237-244.
62. Ward, B.B., Arp, D.J., Klotz, M.G. (2011) Nitrification. American Society for Microbiology Press, Washington.
63. Watson, S.W., Bock, E., Valois, F.W., Waterbury, J.B., Schlosser, U. (1986) *Nitrospira marina*, gen. nov. sp. nov.: a chemolithotrophic nitrite oxidizing bacterium. *Arch. Microbiol.* **144**, 1-7.
64. Watson, S.W., Waterbury, J.B. (1971) Characteristics of two marine nitrite oxidizing bacteria, *Nitrospina gracilis* nov. gen. nov. sp. and *Nitrococcus mobilis* nov. gen. nov. sp. *Archiv für Mikrobiologie.* **77**, 203-230.
65. Wilderer, P.A., Irvine, R.L., Goronszy, M.C. (2001) Sequencing batch reactor technology. IWA Publishing, London, UK.
66. Won, S.G., Ra, C.S. (2011) Biological nitrogen removal with a real-time control strategy using moving slope changes of pH (mV)- and ORP-time profiles. *Water Res.* **45**, 171-178.
67. Yang, X., Wang, S., Zhou, L. (2012) Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by *Pseudomonas stutzeri* D6. *Bioresour. Technol.* **104**, 65-72
68. You, S.J., Hsu, C.L., Chuang, S.H., Ouyang, C.F. (2003) Nitrification efficiency and nitrifying bacteria abundance in combined AS-RBC and A<sup>2</sup>O systems. *Water Res.* **37**, 2281-2290.
69. Zhu, G.B., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q., Wang, S. (2008) Biological removal of nitrogen from wastewater. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **192**, 159-195.