

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Iztok JEVŠNIKAR

**SPREMLJANJE DELOVANJA BIOLOŠKE ČISTILNE NAPRAVE  
MEŽICA V POSKUSNEM OBRATOVANJU**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**OBSERVATION OF BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT  
PLANT MEŽICA DURING ITS TRIAL RUN**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo predstavlja zaključek univerzitetnega medoddelčnega študija mikrobiologije. Delo je bilo opravljeno na čistilni napravi Mežica ter Katedri za mikrobiologijo in mikrobnobiotehnologijo Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija dodiplomskega študija mikrobiologije je 29. avgusta 2005 za mentorico imenovala prof. dr. Romano Marinšek-Logar. Za recenzentko je bila imenovana prof. dr. Ines Mandić-Mulec.

Mentorica: prof. dr. Romana MARINŠEK-LOGAR

Recenzentka: prof. dr. Ines MANDIĆ-MULEC

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Peter RASPOR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Članica: prof. dr. Romana MARINŠEK-LOGAR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: prof. dr. Ines MANDIĆ-MULEC

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Iztok Jevšnikar

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn  
DK UDK 579.26 : 628.35 (043) = 163.6  
KG mikrobna ekologija / odpadne vode / biološko čiščenje odpadnih vod / nitrifikacija / denitrifikacija / čistilne naprave / aktivno blato / ATP  
AV JEVŠNIKAR, Iztok  
SA MARINŠEK-LOGAR, Romana (mentorica)/ MANDIĆ-MULEC, Ines (recenzentka)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije  
LI 2011  
IN SPREMLJANJE DELOVANJA BIOLOŠKE ČISTILNE NAPRAVE MEŽICA V POSKUSNEM OBRATOVANJU  
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)  
OP X, 55 str., 16 sl., 10 pregl., 7 pril., 80 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Več mesecev trajajoča raziskava na biološki čistilni napravi Mežica (ČNM), kjer smo spremljali številne kemijske in biološke parametre, je dobra podlaga za oceno delovanja ČNM preko daljšega obdobja. Povprečna kemijska potreba po kisiku (KPK) na dotoku 298 mgO<sub>2</sub>/l in iztoku pod mejo detekcije testa, ki je 15 mgO<sub>2</sub>/l, ter povprečna koncentracija amoniaka 11,1 mgNH<sub>4</sub>-N/l na dotoku in manj kot 0,2 mgNH<sub>4</sub>-N/l na iztoku nakazuje na učinkovito čiščenje odpadnih voda. Občasno je bil učinek čiščenja slabši, kar lahko pripišemo nezadostnim količinam kisika v aeracijskem bazenu. Količino aktivne biomase v aeracijskem bazenu smo določali z merjenjem koncentracije mikrobnega ATP (adenozin trifosfat). Količina mikrobnega ATP ni korelirala s koncentracijo sušine v aeracijskem bazenu (MLSS) ali volumnom posedenega blata. Toksičnost iztoka smo preverjali z inhibicijo rasti testnega organizma *Tetrahymena thermophila* v komercialno dostopnem biotestu ProtoxkitF<sup>TM</sup>. V enem vzorcu smo zaznali 13,24 % slabšo rast migetalkarja pri 50 % raztopini vzorca v primerjavi z rastjo v kontrolnem vzorcu. Izračunana efektivna doza, ki bi povzročila inhibicijo rasti pri 50 % organizmov (EC50), je znašala 238 %.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn  
DC UDC 579.26 : 628.35 (043) = 163.6  
CX microbial ecology / wastewater / biological treatment of wastewater / nitrification / denitrification / wastewater treatment plants / activated sludge / ATP  
AU JEVŠNIKAR, Iztok  
AA MARINŠEK-LOGAR, Romana (supervisor)/ MANDIČ-MULEC, Ines (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije  
PY 2011  
TI OBSERVATION OF BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT PLANT MEŽICA DURING ITS TRIAL RUN  
DT Graduation thesis (university studies)  
NO X, 55 p., 16 fig., 10 tab., 7 ann., 80 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB The research done at the biological waste water treatment plant (WWTP) in Mežica, which was being carried out over a period of several months, included several chemical and biological analyses and serves as a suitable basis for the assessment of WWTP's operation over a longer period of time. The average value of chemical oxygen demand (COD), namely 298 mg O<sub>2</sub>/l in the influx and 15 mgO<sub>2</sub>/l in the outflow, which was below the test detection limit, along with the average ammonium concentration of 11.1 mg NH<sub>4</sub>-N/l in the inflow and less than 0.2 mg NH<sub>4</sub>-N/l in the outflow indicates an efficient waste water purification process. Occasionally, the water purification process was not as efficient as usual, which can be attributed to insufficient oxygen in the aeration pool. For the viability testing of activated sludge, we used bacterial ATP (adenosine triphosphate) concentration measurements. Bacterial ATP concentration measurements, in turn, did not correlate with the measurements of the mixed liquid suspended solids (MLSS) or the settled sludge volume. The commercially available biotest Protoxkit<sup>TM</sup> and the test organism *Tetrahymena thermophila* were used to perform the outflow toxicity test. One sample with the 50 % sample solution showed a 13,24 % growth inhibition compared to that of the control sample. The half maximal effective concentration (EC50), needed for the 50 % growth inhibition, was estimated to be 238 %.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VII</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>VIII</b>
<b>KAZALO PRILOG .....</b>	<b>IX</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>X</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 NAMEN DELA .....	2
1.2 HIPOTEZE .....	3
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>4</b>
2.1 ZAKONODAJA .....	4
2.2 ČISTILNA NAPRAVA MEŽICA .....	5
2.3 PROCES ČIŠČENJA NA KOMUNALNIH ČISTILNIH NAPRAVAH.....	7
<b>2.3.1 Mehansko čiščenje .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3.2 Biološko čiščenje .....</b>	<b>8</b>
<b>2.3.3 Aktivno blato in ločevanje od prečiščene vode .....</b>	<b>9</b>
2.4 OKSIDACIJA ORGANSKIH SNOVI .....	11
2.5 NITRIFIKACIJA .....	14
<b>2.5.1 Autotrofna nitrifikacija.....</b>	<b>14</b>
2.5.1.1 Temperatura.....	15
2.5.1.2 Vrednost pH.....	16
2.5.1.3 Koncentracija raztopljenega kisika.....	17
2.5.1.4 Zadrževalni čas aktivnega blata.....	18
2.5.1.5 Inhibitorne snovi.....	18
2.6 HETEROTROFNA NITRIFIKACIJA .....	19
2.7 DENITRIFIKACIJA IN ODSTRANJEVANJE FOSFORJA .....	20
2.8 UGOTAVLJANJE KONCENTRACIJE AKTIVNE BIOMASE V AKTIVNEM BLATU.....	23
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>24</b>
3.1 KEMIKALIJE.....	24
<b>3.1.1 Hitri test za določevanje KPK, koncentracije dušika in fosforja.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.2 Merjenje koncentracij ATP v vzorcih aktivnega blata.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.3 Toksičnost iztoka, ki smo jo merili s Protoxkit<sup>TM</sup> .....</b>	<b>24</b>
3.2 METODE .....	25
<b>3.2.1 Hitri testi za merjenje KPK, koncentracije dušika in fosforja.....</b>	<b>26</b>
3.2.1.1 Meritev KPK (kemijska potreba po kisiku).....	26
3.2.1.2 Meritve amoniaka (NH <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) .....	26

3.2.1.3	Meritev nitrita ( $\text{NO}_2^-$ ) .....	26
3.2.1.4	Meritev nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ).....	27
3.2.1.5	Meritev skupnega dušika (tN) .....	28
3.2.1.6	Meritve skupnega fosforja (tP).....	28
<b>3.2.2</b>	<b>On-line podatki o koncentraciji kisika v aeracijskem bazenu .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Merjenje koncentracije ATP v vzorcih aktivnega blata .....</b>	<b>30</b>
3.2.3.1	Postopek ekstrakcije ATP z vročim pufrom.....	31
<b>3.2.4</b>	<b>Toksičnost iztoka, ki smo jo merili s ProtoxkitF<sup>TM</sup> .....</b>	<b>31</b>
3.2.4.1	Priprava inokuluma .....	31
3.2.4.2	Priprava redčitvene vrste ter vzorca .....	32
3.2.4.3	Inokulacija in merjenje OD .....	32
3.2.4.4	Kontrola .....	32
3.2.4.5	Izračun inhibicije .....	32
<b>3.2.5</b>	<b>Volumetrični preskus za usedljive snovi .....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>34</b>
4.1	KEMIJSKI PARAMETRI .....	34
4.2	KONCENTRACIJA KISIKA V AERACIJSKEMU BAZENU .....	35
4.3	MERITVE KONCENTRACIJE MIKROBNEGA ATP V VZORCIH AKTIVNEGA BLATA ..	37
4.4	TOKSIČNOST IZTOKA, KI SMO JO MERILI S PROTOXKITF <sup>TM</sup> .....	39
4.5	VOLUMETRIČNI PRESKUS ZA USED LJIVE SNOVI.....	40
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>POVZETEK.....</b>	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>49</b>

**ZAHVALA**  
**PRILOGE**

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica 1:</b> Sestava bakterijske celice (Eikelboom, 2000).....	13
<b>Preglednica 2:</b> Taksonomska razvrstitev amonij oksidirajočih bakterij iz rodu <i>Nitrosomonas</i> (Madigan in sod, 2000).....	15
<b>Preglednica 3:</b> Primerjava dnevnih stroškov čiščenja odpadne vode z različnimi postopki (Rosso in Stenstrom, 2005).....	21
<b>Preglednica 4:</b> Koncentracije ATP v aktivnem blatu podane v literaturi (Gikas in Livingston, 1998).....	23
<b>Preglednica 5:</b> Povprečne vrednosti kemijskih parametrov odpadne vode na ČNM od junija 2005 do februarja 2006.....	34
<b>Preglednica 6:</b> Rezultati meritev kemijskih parametrov odpadne vode ob »normalnih« pogojih delovanja ČNM.....	35
<b>Preglednica 7:</b> Rezultati, ki odstopajo od povprečnih meritev kemijskih parametrov iz preglednice 5.....	35
<b>Preglednica 8:</b> Koncentracija mikrobne ATP v primerjavi s koncentracijo aktivnega blata.....	39
<b>Preglednica 9:</b> Kemijski parametri združenega vzorca za testiranje toksičnosti iztoka iz ČNM.....	39
<b>Preglednica 10:</b> Rezultati ProtoxkitF <sup>TM</sup> testa za dva združena vzorca z rezultati optične gostote, stopnjo inhibicije ter izračunano vrednostjo EC50.....	40

## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b>	Čistilna naprava Mežica.....	2
<b>Slika 2:</b>	Nadzorni sistem SCADA (Hidroinženering d.o.o., SI).....	6
<b>Slika 3:</b>	Pritok odpadne vode na vhodno črpališče ČNM.....	7
<b>Slika 4:</b>	Polžni kompaktor .....	8
<b>Slika 5:</b>	Shematski diagram prehranjevalne verige v aktivnem blatu z zunanjim in notranjim virom substrata (Moussa in sod., 2005).....	9
<b>Slika 6:</b>	Transformacija dušika in gradient kisika v flokuli (Zeng in sod., 2004) ....	10
<b>Slika 7:</b>	Aeracijski bazen s primarnim usedalnikom, posnemalnikom maščob ter prelivnim robom.....	11
<b>Slika 8:</b>	Mikrobna transformacija ogljikovih atomov v aktivnem blatu (Liang in sod., 2006).....	12
<b>Slika 9:</b>	Shematski prikaz poskusov .....	25
<b>Slika 10:</b>	Test za določevanje koncentracije nitrita na iztoku iz ČNM.....	27
<b>Slika 11:</b>	Profil gibanja koncentracije kisika v aeracijskem bazenu na ČNM med 12. in 17. oktobrom 2005 .....	36
<b>Slika 12:</b>	Dnevne on-line meritve kisika v aeracijskem bazenu, razdeljene v koncentracijska območja (oktober 2005).....	37
<b>Slika 13:</b>	Koncentracija mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata od 15.09–24.10. 2005 .....	38
<b>Slika 14:</b>	Koncentracija mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata od 02.11.2005–15.02.2006.....	38
<b>Slika 15:</b>	Stopnja inhibicije združenega vzorca XVII/XVIII na iztoku iz ČNM .....	40
<b>Slika 16:</b>	Izplavljanje aktivnega blata pri različnih temperaturah.....	41



## KAZALO PRILOG

- Priloga A:** Kemijske analize odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM, izvedene s strani zaposlenih pred začetkom diplomske naloge
- Priloga B:** Kemijske analize odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med diplomsko nalogo; med 07.07.2005 – 25.08.2005
- Priloga C1:** Rezultati kemijskih analiz odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med 15.09.2005 - 24.10.2005
- Priloga C2:** Rezultati kemijskih analiz odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med 02.11.2005 - 09.01.2006
- Priloga C3:** Rezultati kemijskih analiz odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med 16.01.2006 - 15.02.2006
- Priloga D:** Koncentracija kisika v aeracijskemu bazenu med 16.12.2005 – 20.12.2005
- Priloga E:** Sezonsko gibanje temperature odpadne vode na iztoku in v aeracijskemu bazenu na ČNM

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AOB	amonij oksidirajoče bakterije
ATP	adenozin trifosfat (adenosine triphosphate)
BPK	biološka potreba po kisiku
CBPK	oglikova biološka potreba po kisiku
ČNM	čistilna naprava Mežica
DO	raztopljeni kisik (dissolved oxygen)
EC50	efektivna doza, ki povzroči odziv pri polovici testnih organizmov
HRT	hidravlični zadrževalni čas (hydraulic retention time)
KPK	kemijska potreba po kisiku
MLSS	koncentracija sušine v aeracijskemu bazenu (mixed liquor suspended solids)
NH <sub>4</sub> -N	amoniak
NO <sub>2</sub> -N	nitrit
NO <sub>3</sub> -N	nitrat
NOB	nitrit oksidirajoče bakterije
PE	populacijski ekvivalent
PAO	fosfat akumulirajoči organizmi (phosphate accumulating organisms)
RLU	relativne luminiscenčne enote
SND	simultana nitrifikacija/denitrifikacija
SRT	zadrževalni čas sušine (solids retention time)
tN/tP	celokupni dušik/fosfor
VIB	volumski indeks blata
VSS	žarina (volatile suspended solids)

## 1 UVOD

Občina Mežica leži v zgornji mežiški dolini in šteje po zadnjemu popisu iz leta 2000 4014 prebivalcev. Nahaja se na nadmorski višini 491 metrov ter pod vrhovi Pece (2126 m), Jankovce (1231 m), Gorne (1187 m) in ostalih. S 4014 prebivalci občine Mežice ob zadnjemu štetju spada med manjše slovenske občine (Občina Mežica, 2010). Njena preteklost je v veliki meri povezana z rudarjenjem svinčeve rude ter njeno predelavo, ki so v okolju pustile globoke rane. Že dolgo znana onesnaženost zemlje s težkimi kovinami, kot so svinec (Pb), cink (Zn) in kadmij (Cd) je potrdila primerjalna študija onesnaženosti okolja v Zgornji Mežiški dolini med letoma 1989 in 2001 (Pokorny in sod., 2002).

Morda je ravno to pripomoglo k večji osveščenosti za čistejše okolje, da se je začelo razmišljati o izgradnji čistilne naprave že leta 1991.

Biološke čistilne naprave so najbolj razširjena oblika sekundarne obdelave odpadne vode. Uporabljajo se lahko tako za obdelavo odpadne vode iz gospodinjstev (komunalne vode) kot tudi za industrijske odpadne vode. Pojavljajo se v najrazličnejših oblikah, vendar je vsem skupna ena stvar. Za čiščenje odpadnih voda izrabljajo kompleksno mikrobno združbo, ki raztopljene in suspendirane organske in anorganske snovi porabi za rast in razmnoževanje (Van den Broeck in sod., 2009).

Organski ogljik, ki ga izpustimo v vodotoke, povzroči pomanjkanje kisika v vodi, kar lahko vpliva na celoten ekosistem. Merimo ga kot biološko potrebo po kisiku (BPK). BPK je količina kisika potrebna za biokemično oksidacijo na enoto volumna vode pri dani temperaturi in času. BPK je indeks stopnje onesnaženosti vode z organskimi snovmi (EEA, 2010).

Nadaljnji problem predstavlja amoniak, ki v večjih koncentracijah deluje toksično na ribe in ostale vodne živali. Sočasno prispeva k eutrofikaciji ter povzroči veliko porabo kisika v sprejemnih vodah. Posledično vodne živali nimajo na razpolago zadostne količine raztopljenega kisika, kar lahko povzroči njihovo odmiranje (Siripong in Rittmann, 2007).

Podobno kot amoniak imata nitrit, kot vmesni produkt nitrifikacije, ter nitrat, kot končni produkt, prav tako velik vpliv na vodno okolje ter človeško zdravje. V povečanih količinah povzročata eutrofikacijo (Qin in Liu, 2006). Nitrate, ki jih vnašamo v telo, predvsem preko zelenjave in vode, lahko bakterije v želodcu in debelemu črevesju spremenijo v nitrozamine, ki so kancerogene spojine. Še posebej močna kancerogena spojina je dimetilnitrozamin, zato je pomembno odstranjevanje nitratov iz organsko razbremenjene odpadne vode (ZZV – Celje, 2005).

Sočasno odstranjevanje organske snovi, amoniaka in nitratov iz vodnega okolja je mogoče na podlagi dveh procesov:

- Heterotrofna razgradnja organskih snovi
- Denitrifikacija/nitrifikacija

Ker je biološka čistilna naprava dinamičen sistem, kjer se neprestano spreminjajo pretok in sestava odpadne vode, sezonska temperatura ter so prisotna nihanja v obremenitvi čistilne naprave, je zagotavljanje pogojev za uspešno čiščenje zelo težavno (Carruci in sod., 2001). Tradicionalno se je odstranjevanje organskih snovi ter nitrifikacija/denitrifikacija izvajala v dveh ločenih bazenih z aerobnimi oziroma anaerobnimi pogoji. Raziskave v zadnjih letih kažejo na možnost sočasnega poteka procesov znotraj istega bazena. Tako imenovana simultana nitrifikacija/denitrifikacija (SND) (Balku in Berber, 2005; Holman in Wareham, 2005).

V prvi fazi se organske snovi razgradijo do amoniaka, vode in CO<sub>2</sub>. Amoniak v aerobnih pogojih oksidirajo nitrifikatorji v nitrit in nitrat. Denitrifikatorji prevzamejo v anoksičnih pogojih nitrit/nitrat ter ga reducirajo v neškodljiv N<sub>2</sub> (Ruiz in sod., 2006).

Faktorji, ki vplivajo na uspešnost čiščenja, so številni. Vključujejo koncentracijo kisika, pH, zadrževalni čas aktivnega blata, temperaturo, razmerje KPK/N, velikost flokul itd. in so predstavljeni v kasnejših poglavjih.

V diplomski nalogi smo želeli pripraviti dobre podlage za oceno delovanja Čistilne naprave Mežica (ČNM) preko daljšega obdobja kot tudi za kasnejšo optimizacijo delovanja in uvedbo novih tehnoloških procesov.



**Slika 1:** Čistilna naprava Mežica

## 1.1 NAMEN DELA

Komunalne čistilne naprave se po vstopu Slovenije v Evropsko Unijo srečujejo z reševanjem problematike prevelikih količin dušikovih spojin v iztoku očiščene vode, ki se izpusti v odvodnike. Čistilna naprava je kompleksen sistem, ki deluje le ob pravilnih procesnih nastavitvah. Vsakršno odstopanje procesnih nastavitvev od optimalnih pogojev

lahko privede v zmanjšano čistilno sposobnost čistilne naprave in posledično večjega obremenjevanja okolja.

Ker lahko na biološki čistilni napravi nadzorujemo le nekaj dejavnikov procesa, je pomembno, da so le-ti pravilno naravnani in omogočajo kar najboljšo stopnjo čiščenja. Med parametre, ki jih nadzorujemo in/ali kontroliramo, tako prištevamo:

- Koncentracija raztopljenega kisika v prezračevalniku
- Hitrost mešanja
- Recikliranje aktivnega blata
- Koncentracija amoniaka na dotoku in iztoku čistilne naprave
- Koncentracija nitritov in nitratov na iztoku
- Koncentracija skupnega dušika na dotoku in iztoku
- Koncentracija fosforja na dotoku in iztoku
- Kemijska potreba po kisiku na dotoku in iztoku
- Pretok odpadne vode

V primeru ČNM spremljajo koncentracijo raztopljenega kisika, temperaturo, pretok odpadne vode ter koncentracijo blata v prezračevalniku on-line. Vsi kemijski testi potekajo off-line enkrat tedensko. Ker takšne meritve niso dovolj pogoste za nazorni prikaz delovanja, smo v času spremljanja delovanja čistilne naprave frekvenco vzorčenja povečali.

Cilj naloge je bil na podlagi večmesečnega opazovanja oceniti delovanje čistilne naprave preko daljšega obdobja ter skozi skrbno analizo delovanja podati tudi strategijo za izboljšave.

## 1.2 HIPOTEZE

Z rednim spremljanjem in kritično analizo fizikalno-kemijskih in bioloških parametrov ter ustreznim prilagajanjem pogojev obratovanja ČNM je možno:

- a) izboljšati delovanje čistilne naprave za doseganje večjega učinka čiščenja organskih snovi kot tudi pri odstranjevanju dušika;
- b) zmanjšati človekov vpliv na okolje;
- c) zmanjšati obratovalne stroške čistilne naprave.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 ZAKONODAJA

Zakonska podlaga, ki ureja celotno okoljsko področje, je Zakon o varstvu okolja (ZVO-1), ki je bil sprejet v letu 2004.

Ta zakon ureja varstvo okolja pred obremenjevanjem kot temeljni pogoj za trajnostni razvoj in v tem okviru določa temeljna načela varstva okolja, ukrepe varstva okolja, spremljanje stanja okolja in informacije o okolju, ekonomske in finančne instrumente varstva okolja, javne službe varstva okolja in druga z varstvom okolja povezana vprašanja (Zakon o varstvu ..., 2004).

Z vstopom Slovenije v Evropsko Unijo smo prevzeli tudi del pravne ureditve s področja varovanja okolja. Tako je bila sprejeta uredba o emisiji snovi pri odvajanju odpadnih voda. Ta uredba v skladu z Direktivo Sveta z dne 21. maja 1991 o čiščenju komunalne odpadne vode (91/271/EGS) določa za komunalne čistilne naprave emisije snovi pri odvajanju odpadne vode (Direktiva ..., 1991):

- mejne vrednosti parametrov odpadne vode,
- mejne vrednosti učinkov čiščenja odpadne vode,
- posebne ukrepe v zvezi z načrtovanjem in obratovanjem komunalnih čistilnih naprav,
- dejavnosti, za katere veljajo posebne zahteve pri odvajanju industrijske odpadne vode.

Ta uredba določa tudi občutljiva območja in njihova prispevna območja (Uredba o emisiji ..., 2007).

Med pomembnejša določila v uredbi spadajo:

- Čas, do katerega mora biti zagotovljeno odvajanje komunalne odpadne vode po javni kanalizaciji.
- Čas, do katerega mora biti zagotovljeno sekundarno čiščenje odpadne vode iz javne kanalizacije.
- Mejne vrednosti parametrov odpadne vode, ki se odvajajo iz komunalne čistilne naprave.

V primeru ČNM z predvideno obremenitvijo 4000 populacijskih ekvivalentov (PE) je tako za 1 kot tudi za 2 alinejo zakonsko določen rok 31. 12. 2015. Mejne vrednosti parametrov odpadne vode ne smejo presegati:

- Amonijev dušik : 10 mg/l
- Celotni dušik: 25 mg/l
- Kemijska potreba po kisiku (KPK): 125 mg/l

V letu 2009 je stopila v veljavo uredba o spremembah in dopolnitvah uredbe o emisiji snovi pri odvajanju odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav. Uredba določa mejne vrednosti pri izpustu voda v površinske ali podzemne vode na prispevnemu območju Donave in vplivnemu območju kopalnih voda ter prehodno obdobje za ureditev terciarnega čiščenja odpadne vode. Terciarno čiščenje se zahteva za območja s poselitvijo enako ali večjo od 10.000 PE in mora biti urejeno do najkasneje 31. 12. 2015 (Uredba o spremembi ..., 2009).

## 2.2 ČISTILNA NAPRAVA MEŽICA

ČNM je klasična biološka čistilna naprava s kontinuiranim pretokom, kar pomeni, da se v bazenu stalno vzdržuje enak nivo odplak. Projektirana je za 4000 populacijskih ekvivalentov (PE), pri čemer večinski delež odpadne vode izvira iz gospodinjstev ter javne porabe (3500 PE) in obrti (120 PE). 380 PE ostaja kot rezerva (Gruden, 2004).

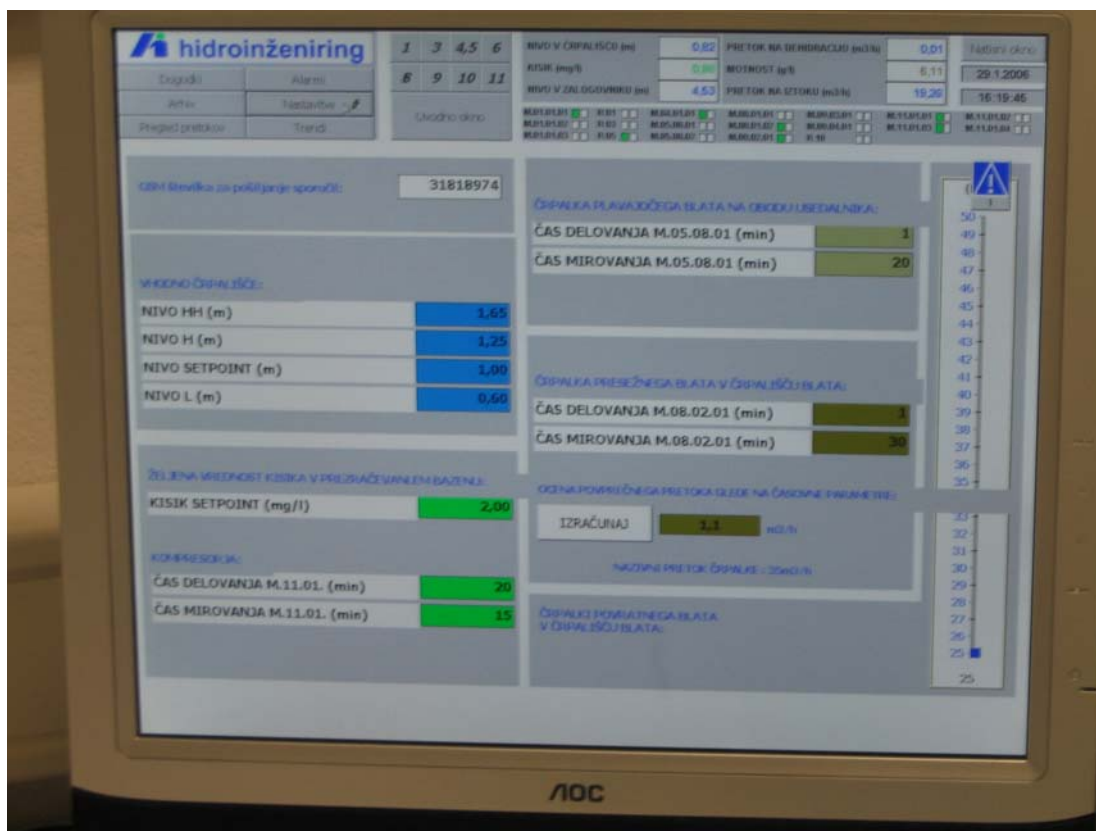
Na ČNM se izvaja primarno ter sekundarno čiščenje odpadne vode. Primarno čiščenje obsega mehansko odstranjevanje neraztopljenih snovi, sekundarno čiščenje pa obsega biološko oksidacijo v aeracijskemu bazenu. Terciarnega in kvartarnega čiščenja ni.

Odpadna voda, ki priteče na čistilno napravo, gre skozi čistilno napravo po naslednjemu zaporedju čiščenja:

1. Mehansko čiščenje – odstranjevanje večjih ter manjših neraztopljenih delcev ter odstranitev maščob.
2. Biološko čiščenje – čiščenje odpadne vode s kompleksno mikrobno združbo v aeracijskemu bazenu z volumnu 1190 m<sup>3</sup>
3. Sekundarni usedalnik – posedanje aktivnega blata ter recikliranje le tega oz. odstranjevanje odvečnega blata.
4. Iztok očiščene vode v odvodnik (reka Meža).

Delovanje ČNM je regulirano preko računalniškega nadzornega sistema SCADA (supervisory control and data acquisition), ki je namenjen računalniškemu vodenju tehnološkega procesa (Hidroinženiring d.o.o., SI). Program omogoča spremljanje ter spreminjanje operativnih parametrov čistilne naprave.

Sedanji režim delovanja omogoča mehansko čiščenje, oksidacijo organskih ogljikovih spojin ter nitrifikacijo, ne pa tudi nadzorovane denitrifikacije, saj proces poteka le v aerobnih pogojih z visoko koncentracijo kisika.



Slika 2: Nadzorni sistem SCADA (Hidroinženiring d.o.o., SI)

Na sliki (Slika 2) je eden izmed pogledov na delovanje ČNM preko programa SCADA. Na njej se vidi regulacija prepihanja, trenutna raven kisika, gostota aktivnega blata in ostali parametri. Program avtomatizirano vklaplja/izklaplja strojne inštalacije na ČNM na dane nastavitve, ob vzdrževalnih delih je možen tudi ročni nadzor ali izklop.



## 2.3 PROCES ČIŠČENJA NA KOMUNALNIH ČISTILNIH NAPRAVAH

### 2.3.1 Mehansko čiščenje

Z gravitacijskim dotokom odpadne vode na vhodno črpališče teče voda skozi grobe grablje (Slika 3). S tem se odstranijo večji mehanski delci (veje, odpadlo sadje ...), ki se odlagajo v zabojnik ter odvažajo na deponijo Lokovica (Gruden, 2004).



**Slika 3:** Pritok odpadne vode na vhodno črpališče ČNM

Iz vhodnega črpališča se odpadna voda prečrpa v kompaktno napravo za mehansko predčiščenje. S finimi grabljami in polžastim kompaktorjem se odstranijo manjši suspendirani delci (do 95 % delcev velikosti 0,16 mm). V nadaljnji fazi se odstranjuje pesek, kjer z vpihavanjem zraka dosežemo hitrejše posedanje, ki ga odstranjujemo s spiralnim transporterjem. V maščobolovilcu premična gred ter vrhnje strgalo posnameta maščobe in preostale plavajoče snovi, čemur sledi biološka stopnja čiščenja v aeracijskem bazenu. Posnete snovi se skladišči v sodih, kasneje jih ustrezno reciklira pogodbeno podjetje (Gruden, 2004).



**Slika 4:** Polžni kompaktor

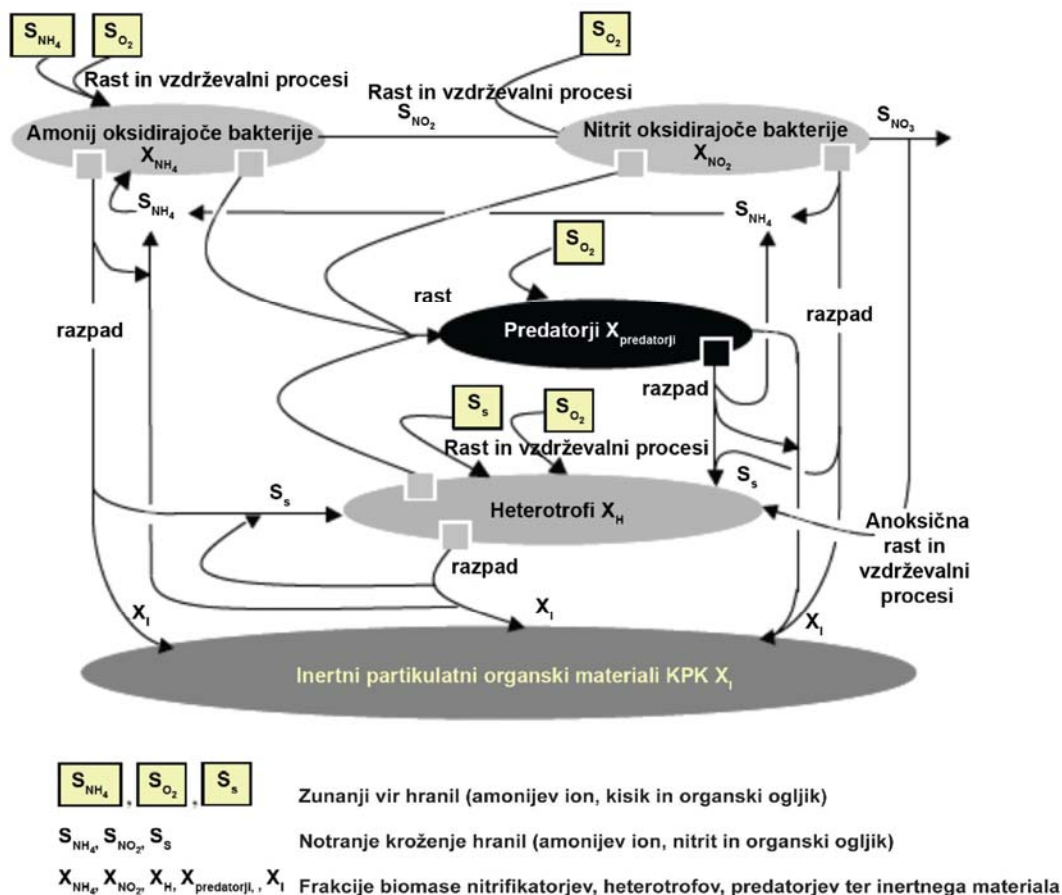
Na dotoku odpadne vode v napravo za mehansko čiščenje, kjer se nahaja polžni kompaktor (Slika 4), je zbiralno mesto za vzorce dotoka. Drugje dostop ni mogoč.

### 2.3.2 Biološko čiščenje

Aeracijski bazen je glavno mesto čiščenja odpadnih voda. Tu se odstrani večina organskih snovi. V ta namen izkoriščamo aktivno blato, ki je sestavljeno iz kompleksne mikrobne združbe bakterij, bakteriofagov, protozojev in metazojev (Moussa in sod., 2005).

Čeprav so bakterije ključnega pomena pri razgradnji raznolikih organskih snovi v odplakah, je vloga spremljajoče združbe pri čiščenju prav tako pomembna. Njihova vloga je predvsem odstranjevanje dispergiranih bakterij in redukcija aktivne biomase zaradi lize celic ali predatorstva. Ker odstranjujejo prosto plavajoče bakterije in delce, se zmanjša motnost očiščene vode in število bakterij v iztoku. Med protozoje spadajajo prosto plavajoči ciliati (*Paramecium* sp.), pritrjeni ciliati (*Vorticella* sp.), amebe (*Arcella* sp.), bičkarji (*Euglena* sp.) itd. Predstavniki metazojev so kotačniki (*Rotaria* sp., *Colurella* sp.), gliste in črvi (*Aelosoma* sp.). Z mikroskopsko analizo aktivnega blata lahko na podlagi indikatorskih organizmov ocenimo starost ter obremenitev aktivnega blata. Tako so kotačniki indikatorski organizmi za staro blato (>15 dni) in če z identifikacijo mikroorganizmov ugotovimo prisotnost posamezne vrste/rodu, npr. *Colurella* sp., to nakazuje na nizko obremenjeno blato (<0,15 kgBPK/kgMLSS\*d) ter dobro preskrbljenost s kisikom. Prav tako so tudi med preostalimi skupinami indikatorske vrste, na podlagi

katerih lahko ocenimo stanje aktivnega blata (Das mikroskopische ..., 1999). Zaradi številnih interakcij med različnimi populacijami bakterij in spremljajoče družbe (Slika 5), je kontrola in uspešnost biološkega procesa velikokrat težavna in neuspešna.



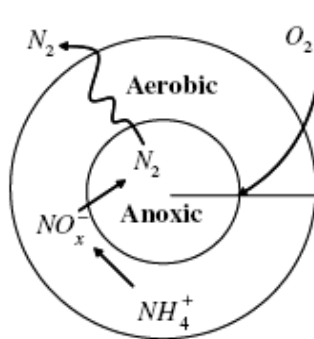
**Slika 5:** Shematski diagram prehranjevalne verige v aktivnem blatu z zunanjim in notranjim virom substrata (Moussa in sod., 2005)

Glavni proces, ki se vrši v prezračevalnem bazenu, je oksidacija organskih snovi, nitrifikacija in/ali denitrifikacija tečeta dodatno skupaj z odstranjevanjem fosforja. Odstranjevanje fosforja ni zajeto na sliki (Slika 5). Procesni so podrobneje opisani v kasnejših poglavjih.

### 2.3.3 Aktivno blato in ločevanje od prečiščene vode

Aktivno blato v bioloških čistilnih napravah se organizira v obliki flokul. Flokula je skupek bakterij, mikro-kolonij ter ekstracelularnega matriksa, ki ga izločajo bakterije (Chaignon in sod., 2002). Navadno meri od 10–150 µm, lahko se tudi pojavlja kot večja in gostejša granula (Carvalho in sod., 2006). Filamentozne bakterije tvorijo ogrodje, na katerega se še pritrdijo ostale bakterije. Tako združene bakterije predstavljajo gosto, dobro usedljivo biomaso, ki ima večjo gostoto od vode in jo gravitacijsko zlahka ločimo od očiščene vode (Balku in Berber, 2006). Filamentozne bakterije (*Zooglea* sp., *Leptothrix* sp.,

*Rhodococcus* sp., *Microthrix* sp. in *Nocardia* sp.) lahko v prevelikemu številu tudi povzročajo težave pri ločevanju blata in očiščene vode zaradi penjenja in slabše usedljivosti (Wagner in Loy, 2002). Podoben učinek nastane ob pretiranemu mešanju (Chaignon in sod., 2002). Posledično se lahko poslabša kvaliteta iztočne vode. Zaradi gradienta difuzije kisika v strukturo flokule ter sprotne porabe s strani aktivne biomase lahko v notranjosti nastanejo tudi anoksična območja, kjer lahko uspevajo anoksični denitrifikatorji, kar je še posebej pomembno za simultano nitrifikacijo-denitrifikacijo (SND). Schramm in sod. (1999) so pokazali, da lahko anoksične cone znotraj flokule nastanejo le ob primerni velikosti agregatov in tipični koncentraciji kisika v aeracijskem bazenu, ki znaša okrog 2 mgO<sub>2</sub>/l.



**Slika 6:** Transformacija dušika in gradient kisika v flokuli (Zeng in sod., 2004)

Ločevanje aktivnega blata od očiščene vode poteka na ČNM v primarnem usedalniku, kjer se aktivno blato posede na dno usedalnika, očiščena voda pa preko prelivnega roba ter kasneje merilnega mesta za pretok zapusti ČNM ter izteče v reko Mežo.



**Slika 7:** Aeracijski bazen s primarnim usedalnikom, posnemalnikom maščob ter prelivnim robom

Od tu lahko posedeno aktivno blato potuje v dve smeri:

- Blato vrnemo v prezračevalni bazen – povratni tok
- Prečrpamo v sekundarni usedalnik – odvečno blato

Z vračanjem aktivnega blata v aeracijskem bazenu dosežemo primerno koncentracijo aktivne biomase ter zadostno starost aktivnega blata. Pomen starosti aktivnega blata je opisan v poglavju 2.5.1.4.

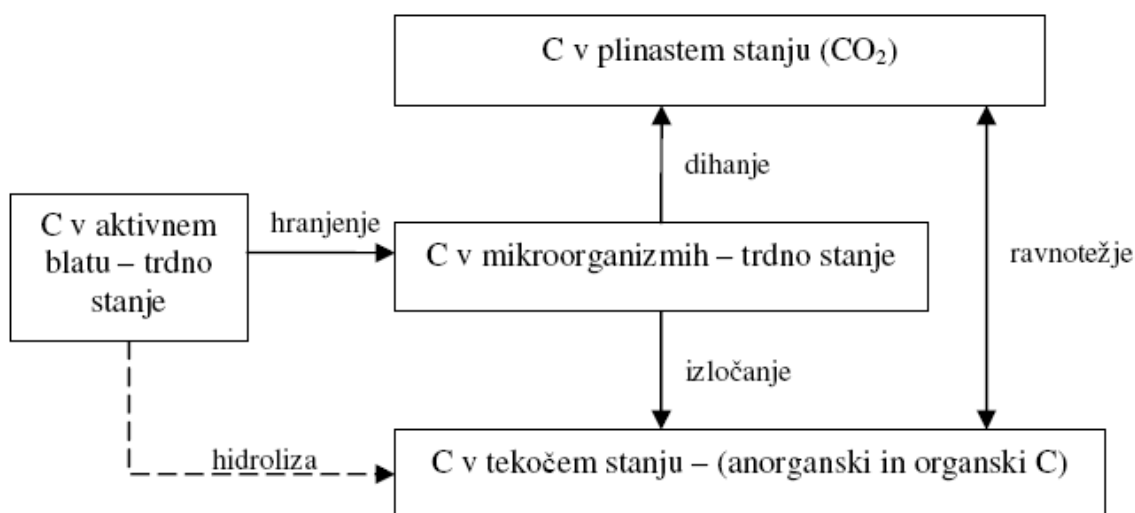
Presežno blato se prečrpa v sekundarni usedalnik, kjer se še dodatno zgosti, preostala voda odteče preko prekata nazaj v prezračevalni bazen.

Delovanje črpalk povratnega ter odvečnega blata je pri večini sodobnih bioloških čistilnih naprav regulirano avtomatsko.

## 2.4 OKSIDACIJA ORGANSKIH SNOVI

Organska snov, ki priteka na čistilno napravo, vsebuje ogljikove hidrate, maščobe, proteine in aminokislino. Biološka razgradnja organske snovi poteka z mikrobim dihanjem ob prisotnosti kisika ali v anoksičnih pogojih s fermentacijo ter z denitrifikacijo ob prisotnosti nitratov (Winter in Jördening, 2005; Gray, 2004).

Mikrobna združba bakterij, ki jo najdemo na bioloških čistilnih napravah in je odgovorna za odstranjevanje organskih ogljikovih in dušikovih spojin, je zelo kompleksna. Pripadniki dominantnih bakterijskih rodov v aerobnih bioloških čistilnih napravah so navadno heterotrofne, Gram-negativne palčke s polarnim bičkom. Najpogosteje se pojavljajo bakterije iz rodov *Zoogloea*, *Pseudomonas*, *Sphoerotilus*, *Chromobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* in *Flavobacterium* (Gray, 2004).



**Slika 8:** Mikrobna transformacija ogljikovih atomov v aktivnem blatu (Liang in sod., 2006)

Čeprav lahko ti organizmi uporabljajo številne organske snovi, so le topni sladkorji, organske kisline in aminokisline takoj dostopni kot vir hranil. Maščobne kisline in proteine morajo najprej s hidrolitičnimi in proteolitičnimi encimi razgraditi na oligomere in monomere, preden lahko vstopijo v mikrobno celico. Navadno uporabijo isti substrat kot vir energije, kot tudi vir ogljika. Dušik pridobijo iz metabolizirane organske snovi (proteini, aminokisline) ali z asimilacijo amoniaka (Gray, 2004). Ker mikroorganizmi potrebujejo za optimalno rast širok spekter elementov C, O, N, P, S itd., morajo biti ti elementi tudi prisotni v dotoku na čistilno napravo. Njihovo razmerje mora ustrezati sestavi bakterijske celice z izjemo ogljika. Ker ogljik zapušča sistem kot CO<sub>2</sub>, je za nemoteno celično sintezo potrebna večja količina ogljika v odpadni vodi v razmerju z ostalimi elementi, kot je pogojena s kemijsko sestavo mikrobne celice prikazani v preglednici (Preglednica 1) (Eikelboom, 2000).

**Preglednica 1:** Sestava bakterijske celice (Eikelboom, 2000)

Element	Delež suhe teže (%)
Ogljik	50
Kisik	20
Dušik	14
Vodik	8
Fosfor	3
Žveplo	1
Kalij	1
Natrij	1
Kalcij	0,5
Magnezij	0,5
Klor	0,5
Železo	0,2
Ostali (Mn, Mo, Zn ...)	0,3

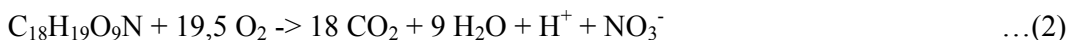
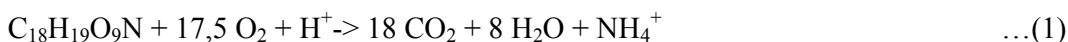
Mikroorganizmi ogljikove hidrate razgradijo do glukoze, preden vstopijo v nadaljne metabolne poti. Nadaljna razgradnja poteka do acetyl-CoA ali piruvata, ki sta ključna intermedijata v celični sintezi.

Študije na *Sphaerotilus natans* kažejo, da je rast na sladkorjih, kot so glukoza, manoza, galaktoza, fruktoza itd. najhitrejša. Glukoza velja kot najboljši vir ogljika in energije. Ob prisotnosti glukoze se ostale organske snovi, kot so aminokisliline in organske kisline, le slabo razgrajujejo. Ob odsotnosti glukoze in ostalih hitro razgradljivih sladkorjev so tudi te spojine hitro porabljene kot vir ogljika. To nakazuje na metabolno represijo (Gray, 2004).

Tako se lahko metabolizirana organska snov uporabi v različne namene (Gray, 2004):

- produkcija energije z oksidacijo s kisikom ali nitratom do CO<sub>2</sub>,
- rast,
- produkcija intracelularnih polimerov,
- produkcija ekstracelularnih polimerov.

Oksidacijo organske snovi s kisikom do amoniaka ali do nitrata ponazarjata enačbi (1) in (2), kjer je C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>O<sub>9</sub>N povprečna kemijska formula organske spojine (ogljikovi hidrati, aminokisliline, proteini ...). Enačba (3) prikazuje oksidacijo glukoze.



Iz enačb 1 in 2 lahko izračunamo, da je mikrobná poraba kisika za oksidacijo organske snovi do CO<sub>2</sub> 1,42 kgO<sub>2</sub>/kg organske snovi brez nitrifikacije ter 1,59 kgO<sub>2</sub>/kg organske snovi z nitrifikacijo. Kisik je potrebno vpihat v aeracijski bazen. Enačba 3 kaže potek oksidacije glukoze (Henze in sod., 2002).

Sodeč po Henze in sod. (2002) je tipičen izkoristek energije pri aerobni oksidaciji organske snovi med 55–60 % s prirastom biomase okrog 50 %. Kulikowska in sod. (2007) so z uporabo semi-šaržnega reaktorja prišli do podobnih rezultatov prirasta biomase. Navadno

opaženi prirastek na čistilnih napravah se giblje med 30–50 %. Razlika med izkoristkom in dejanskim prirastom nastane zaradi endogenih procesov.

Tako se zmanjša BPK odpadne vode pred izpustom v reko na račun oksidacije organskih snovi do CO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O ter nove prirasle biomase, ki se vrača v aeracijski bazen ali zapušča čistilno napravo kot odvečno blato.

## 2.5 NITRIFIKACIJA

### 2.5.1 Autotrofna nitrifikacija

Nitrifikacija je oksidacija amoniaka/amonija NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do nitrata NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kot najbolj oksidirane oblike anorganskega dušika. Pretvorba amoniaka je dvostopenjski proces, ki ga vršita dve skupini med seboj filogenetsko nesorodnih bakterij, ki spadajo med Proteobakterije. Med amonij oksidirajoče bakterije, ki vršijo prvo stopnjo oksidacije amoniaka v nitrit preko hidrosil-amina, se najpogosteje omenjajo bakterije iz rodu *Nitrosomonas* (Egli in sod., 2003; Layton in sod., 2005). Vse bakterije, ki oksidirajo amoniak v nitrit, imajo predpono imena »Nitroso«. Tako so poleg rodu *Nitrosomonas* uvrščene v to skupino še *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobulus* ter *Nitrosovibrio* (Madigan in sod., 2000; Winter in Jördening, 2005). Med nitrit oksidirajoče bakterije, ki jih včasih tudi imenujejo »pravi nitrifikatorji« in vršijo oksidacijo nitrata v nitrat, prištevamo bakterije iz rodu *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus* (Madigan in sod., 2000). Označuje jih predpona »Nitro«. Vse omenjene skupine bakterij se pojavljajo v različnem številu in medsebojnemu razmerju oziroma so posamezne vrste odsotne.

Mikrobna populacija se razlikuje od naprave do naprave, saj nanjo vplivajo številni dejavniki, kot na primer: razlike v sestavi odpadne vode, temperaturni pogoji, način obratovanja in številni drugi (Winter in Jörden, 2005). To dejstvo potrjujejo tudi številne raziskave mikrobne populacije z *in situ* tehnikami, kot je fluorescentna *in situ* hibridizacija (FISH), in kasnejše analize 16sRNA (Wagner in Loy, 2002; Carvalho in sod., 2006; Siripong in Rittmann, 2007).

Molekularne metode kažejo tudi na to, da je pogosto prevladujoča vrsta nitrit oksidirajočih bakterij bakterije iz rodu *Nitrospira* sp. in njej sorodne bakterije in ne *Nitrobacter* sp. (Juretschko in sod., 1998; Dionisi in sod., 2003; Egli in sod., 2003).

Energijski izplen oksidacije amoniaka znaša  $\Delta G^0 = -287$  kJ/mol, v primeru oksidacije nitrata je izplen le  $\Delta G^0 = -74.1$  kJ/reakcijo (Madigan in sod., 2000). Do sedaj še niso odkrili bakterije, ki bi bila sposobna vršiti celotno reakcijo.

Fiksacija ogljika pri amonij oksidirajočih bakterijah porabi 80 % pridobljene energije. Za eno molekulo asimiliranega ogljika morajo oksidirati 35 molekul amonija. Nitrit oksidirajoče bakterije morajo za asimilacijo ene molekule ogljika pretvoriti 85 do 115 molekul nitrata (Prinčič, 2001).



**Preglednica 2:** Taksonomska razvrstitev amonij oksidirajočih bakterij iz rodu *Nitrosomonas* (Madigan in sod, 2000)

<b>Kraljestvo:</b>	Bacteria
<b>Deblo:</b>	Proteobacteria
<b>Razred:</b>	Beta Proteobacteria
<b>Red:</b>	<i>Nitrosomonadales</i>
<b>Družina:</b>	<i>Nitrosomonadaceae</i>
<b>Rod:</b>	<i>Nitrosomonas</i>

Potek kemijskih reakcij amonij in nitrit oksidirajočih bakterij predstavljata reakcija 4 in 5. Reakcija 6 predstavlja oksidacijo amoniaka do nitrata (Zupančič in Roš, 2008).



Amonij in nitrit oksidirajoče bakterije so obligatni kemolitotrofni avtotrofi, kar pomeni, da oksidirajo anorganske molekule za pridobivanje energije. Kot vir ogljika za asimilacijo v biomaso porabljajo  $\text{CO}_2$ , ki ga vežejo preko Kalvinovega cikla. Za oksidacijo amoniaka in nitrita potrebujejo kisik, zato so tudi obligatni aerobi (Madigan in sod., 2000).

Ker je nitrifikacija uspešna le ob določenih okoljskih in populacijskih pogojih, so le-ti podrobneje predstavljeni v naslednjih poglavjih.

### 2.5.1.1 Temperatura

Temperatura tako kot pri vseh živih bitjih vpliva tudi na nitrifikacijske bakterije. Optimalna temperatura za rast nitrifikacijskih bakterij je med 25–30 °C. Pri 18 °C se rast zmanjša za 50 %, pri temperaturi med 7–10 °C je rast upočasnjena za 75 % in se ustavi vsaka dejavnost pri temperaturi okrog 4 °C. Spodnji ter zgornji tolerančni prag temperature, pri kateri celice propadejo, je 0 °C oz. 49 °C.

Za izračun maksimalne hitrosti rasti nitrifikacijskih bakterij pri različnih temperaturah se lahko uporabljajo različni modeli, kot na primer Downing/Hopwood, Hultman, Bernard, Painter/Loveless model, pri čemer pa EPA (Environmental protection agency) priporoča uporabo Downing/Hopwood-ovega modela (Sears in sod., 2003):

$$\mu_n = (0,47)e^{0,098(T-15)} \quad \dots(7)$$

kjer je  $\mu_n$  – specifična hitrost rasti nitrifikatorjev,  $e$  je Eulerjevo število (2,7182 ...) in  $T$  temperatura vode.

Downing/Hopwood-ov model predvideva hitrost rasti pri 15 °C 0,47  $\mu_n$ max/d oz. 0,29  $\mu_n$ max/d pri 10 °C. V primeru ČNM se v zimskem času in zelo nizkih zunanjih temperaturah tesno približamo območju popolne ustavitve rasti in nitrifikacijskega procesa.

Na sami ČNM temperatura sezonsko zelo niha, z letnim maksimumom 16,8 °C ter minimumom 4,5 °C na iztoku iz čistilne naprave. V primeru dolgotrajnejših nizkih zunanjih temperatur so možne tudi spremembe za več °C v le nekaj dneh. Trendu gibanja temperature iztoka sledi tudi temperatura v aeracijskemu bazenu. Podatki temperature v aeracijskemu bazenu so zajeti le za obdobje v času raziskave, saj se redno beleži le temperatura iztoka. Gibanje temperature je prikazano v Prilogi E.

### 2.5.1.2 Vrednost pH

Vrednost pH vpliva na nitrifikacijo na dva načina. S spremenjenim razmerjem koncentracij amoniaka/amonijevega iona ( $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ ) ter razmerjem dušikove III kisline oz. nitrita ( $\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-$ ) pri različnih vrednostih pH vpliva na dostopnost substrata. Med nitrifikacijo lahko pH pade, ker se med oksidacijo amoniaka do nitrata sproščajo protoni v vodno okolje, če odpadna voda nima zadostne puferske kapacitete (Park in sod., 2007). Občutljivost nitrifikacijskih bakterij na kisle pogoje rasti povezujejo predvsem z eksponentnim padcem koncentracije amoniaka, ki je substrat (Campos in sod., 2007). Optimalni pogoji za rast nitrifikacijskih bakterij se ustvarijo pri pH-vrednosti okrog nevtralnega oz. v območju pH med 7,5-8,5. *Nitrosomonas* raste optimalno pri pH-vrednosti med 7,9-8,2, *Nitrobacter* pa pri pH-vrednosti med 7,2-7,6 (Philips in sod., 2002).

Pri pH-vrednosti okrog 6,5 so inhibirane bakterije iz rodu *Nitrosomonas*, kar ima lahko za posledico akumulacijo amoniaka. Pri padcu pH pod 6,5 je v glavnem inhibirana rast vseh nitrifikacijskih bakterij (Campos in sod., 2007).

Campos in sod. (2007) so nakazali, da so nitrit oksidirajoče bakterije (NOB) manj občutljive na pH-šoke kot amonij oksidirajoče bakterije (AOB). Pri izpostavitvi nitrifikacijskih bakterij visokim vrednostim pH se šele pri pH = 11 pojavi upad učinkovitosti čiščenja ter povišana vrednost KPK, ki kaže na delno lizo celic, medtem ko kratkotrajno povišanje pH na 9-10 ni imelo nobenega vpliva. Amonij oksidirajoče bakterije ob pH-šoku v veliki meri ireverzibilno izgubijo sposobnost konverzije amoniaka v nitrit, medtem ko se specifična hitrost konverzije nitrita v nitrat bistveno ne spremeni (Campos in sod., 2007). Na drugi strani so Ruiz in sod. (2003) s poskusi ugotovili, da nitrifikacija poteka nemoteno v pH-območju med 6,45-8,95, nad ali pod to vrednostjo so inhibirane tako AOB kot tudi NOB. Različne zgornje meje, pri katerih je nastopila inhibicija nitrifikacije pri obeh avtorjih, lahko pripišemo prisotnosti različnih vrst/sevov nitrifikatorjev.

Pojav, pri kateremu se pri visokih vrednostih pH oksidacija nitrita ustavi ali upočasni, lahko pripišemo povečanim koncentracijam prostega amoniaka (FA – free ammonia), ki lahko v povišanih koncentracijah inhibira nitrit oksidirajoče bakterije. Prosti amoniak je kompetitivni inhibitor nitritne oksidoreduktaze nitratatorjev, ki se nahaja v njihovi membrani. Avtorji navajajo različne koncentracije FA, ki imajo vpliv na respiracijo čistih kultur nitratatorjev in so v območju od 0,1 mgNH<sub>3</sub>/l – 9,0 mgNH<sub>3</sub>/l (Philips in sod., 2002; Vadivelu in sod., 2007). Izračun koncentracije prostega amoniaka poteka po naslednji enačbi in je odvisen od pH, temperature ter celokupne koncentracije amoniaka:

$$\text{FA (mg/l)} = 17/14 \times \text{total ammonia as nitrogen (mg/l)} * 10^{\text{pH}} / ((\text{Kb}/\text{Kw}) + 10^{\text{pH}}) \quad \dots(8)$$

kjer je  $\text{Kb}/\text{Kw} = e^{6344/(273+T (^{\circ}\text{C}))}$ , T je temperatura, Kb ravnotežna konstanta ter Kw ionska moč vode, e Eulerjevo število (2,7182...) (Jianlong in Ning, 2004).

Ker je pH v aeracijskem bazenu v območju nevtralnega (pH~7), je inhibicija s strani prostega amoniaka manj verjetna. Možnost pojava je večja v primeru izpusta greznične vode v kolektor odpadne komunalne vode, s čimer priteče na čistilno napravo večja količina organsko zelo obremenjene odpadne vode z rahlo bazičnim pH (pH 7,8) in visoko koncentracijo amoniaka. Zaradi tega dejstva je potrebno greznične odpadne vode spuščati v kolektor na najbolj oddaljeni lokaciji od ČNM, da na poti do ČNM pride do mešanja visoko ter nizko obremenjene odpadne vode.

V ta namen so se upravljalci ČNM ter Komunalno podjetje Mežica dogovorili o obveščanju ob izpustu ter lokaciji izpuščanja grezničnih voda, ki je sedaj na bolj oddaljeni lokaciji z razliko od prejšnje 300 m oddaljene lokacije.

### 2.5.1.3 Koncentracija raztopljenega kisika

Koncentracija raztopljenega kisika (DO – dissolved oxygen) je eden izmed najpomembnejših parametrov, ki določajo uspešno oksidacijo organskih spojin ter nitrifikacijo (Philips in sod., 2002). Medtem ko fakultativni heterotrofi odstranjujejo organski ogljik v aerobnih kot tudi v anoksičnih pogojih, so amonij ter nitrit oksidirajoče bakterije obligatni aerobi, zato moramo vpihati zadostno količino ter vzdrževati primerno koncentracijo kisika v aeracijskemu bazenu za popolno oksidacijo do nitrata.

Roš (2001) omenja, da je potrebno za ogljikovo biokemijsko potrebo po kisiku (CBPK) v procesu z aktivnim blatom dovajati od 1 do 1,4 kgO<sub>2</sub>/kgBPK za doseganje izpustov CPBK med 5 in 15 mg/l, ter 4,3 in 4,6 mgO<sub>2</sub>/mg amonijskega dušika za nadaljno oksidacijo v nitrat. Za večino domačih odpadnih vod sta potreba po kisiku za nitrifikacijo in potrebna moč kompresorja za 30–40 % večja kot za samo odstranjevanje CBPK.

Koncentracijo kisika, ki jo moramo vzdrževati v aeracijskemu bazenu, določa saturacijska konstanta. Saturacijska konstanta za kisik po Monodovi kinetiki znaša za nitrifikacijo 0,36 mgO<sub>2</sub>/L in za nitratacijo 1,1 mgO<sub>2</sub>/l (Campos in sod., 2007). Posledica tega je tudi večja toleranca amonij oksidirajočih bakterij na nižje koncentracije kisika. Če želimo preprečiti inhibicijo prve ali druge stopnje nitrifikacije, moramo vedno vzdrževati količino raztopljenega kisika nad vrednostjo K<sub>s</sub>.

Ruiz in sod. (2006) navajajo, da koncentracija DO med 1,7–5,7 mgO<sub>2</sub>/l omogoča popolno nitrifikacijo. Pri koncentraciji 1,4 mgO<sub>2</sub>/l se začne akumulacija nitrita, ki se povečuje z nižanjem koncentracije DO. Vse do koncentracije DO = 0,7 mgO<sub>2</sub>/l je bilo prizadeto samo odstranjevanje nitrita, medtem ko je konverzija amoniaka potekala nemoteno. Koncentracija DO pod to vrednostjo prav tako vpliva tudi na odstranjevanje amoniaka. Tako je akumulacija nitrita pogosto povezana z modifikacijo rastnih konstant amonij in nitrit oksidirajočih bakterij, pri čemer so NOB bolj prizadete kot AOB, kar se sklada z vplivom koncentracije DO (Philips in sod., 2002).

Povečane koncentracije nitrita sproži neenakomerno rast AOB in NOB. Stein in Arp (1998) sta s pomočjo modelnega organizma *Nitrosomonas europea*, ki je obligatni nitrifikator, pokazala, da povišane koncentracije nitrita vplivajo negativno na encim amonij monooksigenazo. In sicer sta zaznala največji padec aktivnosti encima pri 20 mM koncentraciji nitrita, kar ustreza pretvorjeno v masno bilanco 0,92 g/l nitrita izračunano po enačbah 9, 10 in 11. V nevtralnem do rahlo bazičnem okolju (pH 7–8) obratuje tudi ČNM, vendar so koncentracije nitrita, ki jih dosega ČNM, bistveno nižje.

$$c = n / V [\text{mol/l}]$$

...(9)

$$c = m / M * V \text{ [g/l]} \quad \dots(10)$$

$$n = m / M \text{ [mol]} \quad \dots(11)$$

c – koncentracija, n – množina snovi (mol), V – volumen, M – molska masa

#### 2.5.1.4 Zadrževalni čas aktivnega blata

Poleg že omenjenih kritičnih parametrov za uspešno nitrifikacijo, kot so temperatura, pH ter koncentracija DO v aeracijskemu bazenu, ki so podrobneje opisani v poglavjih 2.5.1.1–2.5.1.3, je zadrževalni čas aktivnega blata (solids retention time – SRT) prav tako zelo pomemben dejavnik.

Ker so nitrifikacijske bakterije počasi rastoče celice s podvojevalnim časom od 8–35 ur za amonij oksidirajoče bakterije ter minimalnim podvajevalnim časom 12–39 ur za nitrit oksidirajoče bakterije ob optimalnih laboratorijskih pogojih, je možnost izplavljanja nitrifikatorjev iz prezračevalnega bazena velika (Philips in sod., 2002; Vadivelu in sod., 2006; Prosser, 2007). Za uspešno čiščenje je potrebna zadostna zastopanost nitrifikacijskih bakterij. V aktivnem blatu, starem 3 dni, poleg oksidacije organskih spojin nitrifikacija/denitrifikacija ne poteka. S 6 dni starim blatom lahko odstranimo le del dušika. Le ob procesnih pogojih, kjer je aktivno blato dosegalo starost 16 oz. 23 dni, preden je zapustilo sistem, je bilo odstranjevanje dušika uspešno in je bilo odstranjenega 95 % in več dušika. Z višjo starostjo aktivnega blata dosegamo boljše učinke čiščenja KPK in fosfata.

Pospešeno odstranjevanje fosforja, ki je podrobneje opisano v poglavju 2.7, je v veliki meri odvisno od starosti blata. Lee in sod. (2007) so ugotovili, da se kapaciteta shranjevanja poli-fosfata s starostjo večja in omogoča uspešnejše odstranjevanje fosforjevih spojin. S starostjo blata upada tudi volumski indeks aktivnega blata oz. VIB [ml/g], kar pomeni, da je v manjšemu volumnu brozge več biomase sposobne biološkega čiščenja. Po študiji Bernal–Martinez in sod. (2000) je VIB aktivnega blata s starostjo 23 dni znašal okrog 110 ml/g.

Operativna temperatura obratovanja ČNM se giblje med 5–14 °C. Temperatura ključno vpliva na hitrost kemijsko/bioloških reakcij in s tem na oksidacijo organskih spojin kot tudi na nitrifikacijo/denitrifikacijo. Starejše aktivno blato je manj občutljivo na spremembe temperature, zato je čistilna sposobnost mikrobne združbe manj prizadeta (Komorowska–Kaufman in sod., 2006). Starost blata je pomembna tudi zato, ker se v anoksičnih pogojih lahko sproži deflokulacija in izplavljanje biomase na površje. Čeprav prihaja ob aerobnih pogojih do reflokulacije, se kljub vsemu nekaj biomase ne poveže nazaj v agregate, temveč se pojavi kot plavajoče blato. Z naraščajočo starostjo blata je struktura flokula stabilnejša, zaradi česar zmanjšamo pojavljanje plavajočega blata (Wilén in sod., 2000a; Wilén in sod., 2000b).

#### 2.5.1.5 Inhibitorne snovi

Na mikrobno populacijo v aktivnem blatu čistilnih naprav vplivajo številne organske in anorganske snovi. Med inhibitorne organske spojine prištevamo klorobenzen, trikloroetilen, fenole in druge. Med anorganskimi snovmi so najbolj preučeni učinki težkih kovin. Heterotrofni organizmi so manj občutljivi na prisotnost težkih kovin kot autotrofna populacija nitrifikatorjev (Juliastuti in sod., 2003). Še posebej v okoljih, kjer so prisotne velike koncentracije inhibitornih snovi, lahko učinki inhibicije postanejo problem.

Čeprav so baker, nikelj in cink esencialne kovine in v nizkih koncentracijah pospešujejo rast, delujejo pri višjih koncentracijah toksično za mikroorganizme (Gikas in Livingston, 1998). Nitrit oksidirajoče bakterije so bolj občutljive na prisotnost težkih kovin kot nitrit oksidirajoče, kar se kaže v zmanjšani respiraciji in konverziji substratov (Hu in sod., 2002).

Madoni in sod. (1996) je testiral toksičnost težkih kovin na protozojih, ki jih najdemo skoraj v vseh okoljih kot tudi v aktivnem blatu. Najbolj toksična sta bila Cd in Cu, sledil je Pb, Zn in Cr kot najmanj toksičen. Nekatere vrste so po kultivaciji ob prisotnosti težkih kovin izginile iz sistema.

Protozoji predstavljajo pomemben trofični nivo za obvladovanje učinkovitosti čiščenja odpadnih voda, zato njihova pojavnost in spremljanje velikega pomena (Eikelboom, 2000). Hkrati pa je njihovo gojenje tako enostavno in ekonomično kot gojenje prokariotov (Pauli in Berger, 2000).

Med teste, s katerimi lahko preučujemo toksičnost voda, spada tudi ProtoxkitF<sup>TM</sup>, ki ga proizvaja podjetje Microbiotests Inc. iz Belgije.

Toxkit je generično ime za skupino mikrobiotestov, ki jih je razvila raziskovalna skupina prof. Dr. G. Persoone v laboratoriju za biološke raziskave vodnega onesnaževanja v Belgiji. Skupaj z raziskovalno ekipo Dr. W. Pauli so razvili ProtoxkitF<sup>TM</sup>. Test temelji na merjenju motnosti raztopine migetalkarja in substrata, ki se porablja za rast. V normalnih rastnih pogojih migetalkar v 24 urah porabi ves substrat, zato se raztopina zbistri in zmanjša optična gostota. Ob inhibiciji rasti del substrata ostane v raztopini, kar vidimo kot motnost in jo lahko izmerimo s spektrofotometrom.

ProtoxkitF<sup>TM</sup> testi so takoj pripravljeni za uporabo, saj zahtevajo minimalno laboratorijsko opremo in kulture ni potrebno gojiti, ker je takoj aktivna.

Test je primeren za preučevanje toksičnosti čistih kemikalij ter za oceno toksičnosti okoljskih vzorcev (ProtoxkitF<sup>TM</sup>, 2006).

## 2.6 HETEROTROFNA NITRIFIKACIJA

Poleg autotrofne nitrifikacije v mikrobem svetu poteka tudi heterotrofna nitrifikacija. Nekatere heterotrofne bakterije iz rodov *Paracoccus*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium* in *Thiosphaera* so zmožne oksidacije dušikovih organskih spojin do nitrata, kar prikazuje naslednja reakcija:



Heterotrofni nitrifikatorji oksidirajo organske dušikove spojine, kot so hidrosilamin, alifatske in aromatske dušikove spojine, vendar se z razliko od autotrofne nitrifikacije pri tvorbi nitratov ne sprosti energija. Zato morajo sočasno oksidirati organske spojine, da zadovoljijo svoje potrebe po energiji (Winter in Jördening, 2005).

Heterotrofno nitrifikacijo pogosto povezujejo z aerobno denitrifikacijo.

Ni še popolnoma jasno, v kakšnem obsegu poteka ta oblika nitrifikacije, zato je potrebno vlogo in mehanizme heterotrofne nitrifikacije v bioloških čistilnih napravah še dodatno preučiti (Crossman in sod., 1997; Nemergut in Schmidt, 2002).

## 2.7 DENITRIFIKACIJA IN ODSTRANJEVANJE FOSFORJA

Denitrifikacijo obravnavamo kot reverzni proces nitrifikacije in pomeni redukcijo oksidiranih dušikovih spojin, kot sta nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) ter nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) v plinske oblike dušika v obliki didušikovega oksida ( $\text{N}_2\text{O}$ ) in dušika ( $\text{N}_2$ ) (Madigan in sod., 2000).

Denitrifikacijo vršijo številni heterotrofni mikroorganizmi, npr. *Pseudomonas* sp., *Paracoccus* sp., *Zooglea* sp. ali fosfat akumulirajoči organizmi, kjer kot sprejemnika elektronov uporabljajo nitrat ali nitrit, kot donorja elektronov pa organsko snov (Madigan in sod., 2000; Heylen in sod., 2006).

Filogenetske študije kažejo na veliko pestrost denitrifikacijskih bakterij v aktivnem blatu. Tako so Heylen in sod. (2006) odkrili v vzorcu aktivnega blata iz delujoče čistilne naprave z aerobno in anoksično fazo čiščenja kar 199 denitrifikacijskih sevov. Večina teh izolatov je spadala med *Betaproteobacteria* (50,4 %) in *Alphaproteobacteria* (36,8 %).

Denitrifikacija najbolje poteka v anoksičnih pogojih, ker je nitrat reduktaza, ki je prvi encim v verigi disimilativne redukcije nitrata reprimiran s strani molekularnega kisika. Prav tako so vsi nadaljnji encimi, ki so potrebni za redukcijo nitrata do molekularnega dušika, regulirani na isti način in se zato tudi ob prisotnosti kisika ne izražajo. Za popolno ekspresijo encimov denitrifikacije mora biti prisoten tudi nitrat ali nitrit (Madigan in sod., 2000). Do podobnih ugotovitev so prišli Chen in sod. (2003).

Na drugi strani so Takaya in sod. (2003) pokazali z meritvami v laboratoriju, da denitrifikacija poteka tudi v aerobnih pogojih, le da se tvori  $\text{N}_2\text{O}$  in  $\text{NO}$  v bistveno višjih koncentracijah kot v anoksičnih pogojih.

Ker je nitrat na ČNM prisoten in lahko reguliramo količino kisika v aeracijskem bazenu, je možno poleg nitrifikacije vzpostaviti tudi pogoje za denitrifikacijo v enem aeracijskem bazenu. Načini oz. principi za doseganja tega so lahko različni:

- Gradient kisika v flokuli.
- Delna nitrifikacija oz. denitrifikacija preko nitrita.
- Denitrifikacija v anoksičnih pogojih.

Zaradi flokulacije aktivnega blata nastaja znotraj flokul gradient koncentracije kisika (Slika 6). Tako se na površju kisik porablja za nitrifikacijo in z difuzijo ne prodre do središča, kjer lahko poteka denitrifikacija. V tem primeru govorimo o sistemu simultane nitrifikacije/denitrifikacije (SND) (Zeng in sod., 2004; Jianlong in Ning, 2004).

Če vzdržujemo koncentracijo kisika v bazenu med 0,7 in 1,1  $\text{mgO}_2/\text{l}$ , kjer je druga stopnja nitrifikacije inhibirana, torej oksidacija nitrita v nitrat ne steče zaradi pomanjkanja kisika, govorimo o tako imenovani denitrifikaciji preko nitrita (SND preko nitrita). Na ta način lahko prihranimo veliko (do 25 %) pri volumnu vpihanega zraka, drugače potrebnega za 2. stopnjo nitrifikacije in/ali do 40 % organskega substrata za denitrifikacijo, kar vodi tudi v manjše operativne stroške (Zeng in sod., 2009).

Tretji način vodenja čiščenja odpadne vode v enem bazenu je z uvajanjem anoksične faze. Po določenem času se puhala izklopijo, nakar zaradi porabe kisika le-ta pade na 0  $\text{mg/l}$  in se vzpostavi anoksično stanje, ki omogoča denitrifikacijo. Denitrifikacija uspešno poteka v pogojih, ko pade nasičenost raztopine s kisikom pod 2 % in je dostopen primeren vir ogljika (Gray, 2004). Dolžina, kdaj in v kakšnih intervalih se zamenjujeta aerobna in anoksična faza se določi posamično za vsako čistilno napravo posebej glede na procesne karakteristike.

Prednosti takšnega sistema vodenja so številne (Lee in sod., 2007):

- Manjša poraba kisika.
- Manjši prirast aktivnega blata.
- Odstranitev dušikovih spojin.
- Nižji operativni stroški.

Oceno operativnih stroškov sta podala Rosso in Stenstrom (2005), ki sta preko daljšega obdobje preučevala različne načine čiščenja ter stroške povezane z njimi. V primerjavo sta zajela čistilne naprave s tremi vodenji procesa:

- a. odstranjevanje organskih C-spojin,
- b. odstranjevanje organskih C-spojin z nitrifikacijo in
- c. odstranjevanje organskih C-spojin z nitrifikacijo/denitrifikacijo.

Sistem nitrifikacija/denitrifikacija se je izkazal kot stroškovno najugodnejši.

**Preglednica 3:** Primerjava dnevni stroškov čiščenja odpadne vode z različnimi postopki (Rosso in Stenstrom, 2005)

	Odstranjevanje organskih C spojin	Samo nitrifikacija	Nitrifikacija / denitrifikacija
<b>Stroški odstranjevanja presežnega blata (USD/d)</b>	140	78	69
<b>Potreba po kisiku (kgO<sub>2</sub>/d)</b>	3800	5034	3469
<b>Učinkovitost prenosa kisika (%)</b>	15,3	17,6	18,8
<b>Stroški aeracije (USD/d)</b>	39	52	36
<b>Produkcija CH<sub>4</sub> (USD/d)</b>	96	36	32
<b>Skupni stroški (USD/d)</b>	83	94	73

Dodatno sta tudi pokazala, da je vnos kisika v raztopino pri sistemu nitrifikacija/denitrifikacija najboljši in v veliki meri odvisen od vzdrževanja in čiščenja difuzorjev, kjer se novi in očiščeni difuzorji najbolje obnesejo.

Problem denitrifikacije je, da nastaja pri redukciji dušikovih spojin tudi didušikov oksid, ki je močan toplogredni plin in uničuje ozon. Natančne vzroke, zakaj prihaja do produkcije tega plina med denitrifikacijo, so preučili šele v zadnjih letih. Tako Hwang in sod. (2006) na podlagi eksperimentov nakazujejo, da na produkcijo N<sub>2</sub>O vpliva razmerje med C/N, SRT in koncentracija nitrita/prostega amoniaka.

Razmerje med C/N izračunamo po naslednji enačbi:

$$C/N = \text{Topni KPK (mg/l)} / [\text{NO}_2^-](\text{mg/l}) + [\text{NO}_3^-](\text{mg/l}) \quad \dots(13)$$

Ob nizkemu razmerju C/N, kjer prihaja do omejevanja z organskim ogljikom, se produkcija N<sub>2</sub>O poveča.

Prav tako je za povečano produkcijo  $N_2O$  dokazana povezava s koncentracijo nitrita. Že v nizkih koncentracijah ( $>5$  mg/l) se zaradi nitrita produkcija  $N_2O$  znatno poveča. Kljub vsemu pa ni mogoče pripisati vsega vpliva le povečani prisotnosti nitrita (Lemaire in sod., 2006). Če spreminjamo SRT, lahko pričakujemo povečano produkcijo  $N_2O$ , ki se pa po nekaj dnevih aklimatizacije povrne na normalno stanje.

Ravno produkcija  $N_2O$  predstavlja največji problem denitrifikacije, ki pa jo je možno v precejšnji meri nadzorovati, če držimo pogoje delovanja v naslednjih pogojih:

- $[NO_2^-] < 5$  mg/l,
- $[NH_3] < 4$  mg/l,
- $[O_2] - [0,7$  mg/l]  $< [1,4$  mg/l] – denitrifikacija preko nitrita,
- Dovolj lahko razgradljivega organskega substrata.

Aerobno/anoksični režim delovanja bioloških čistilnih naprav omogoča še dodatne možnosti čiščenja odpadnih voda. Pri takšnem načinu obratovanja čistilne naprave se lahko odstranjujejo tudi fosfati in druge fosforjeve spojine ob prisotnosti lahko razgradljivih organskih molekul kot virom energije. Fosfat akumulirajoči organizmi shranjujejo med anoksično fazo topne maščobne kisline kot na primer acetat in ga uporabijo za sintezo intracelularnih ogljikovih in energijskih rezerv v obliki poli-hidroksialkanoatov (PHA) ali poli-hidroksibutiratov (PHB). Med anoksično fazo se pri oksidaciji polifosfatov fosfat sprosti v raztopino. Med aerobno fazo, kjer so ekstracelularni topni substrati v nizkih koncentracijah, lahko fosfat akumulirajoči organizmi zaradi energetskih rezerv rastejo in vežejo fosfat iz raztopine ter ga pretvorijo v polifosfat. Ker je vezava fosforja med aerobno fazo večja, kot se ga sprosti med anoksično fazo, je neto izplen pozitiven (Meinhold in sod., 1999; Carucci in sod., 2001; Ahn in sod., 2007).

Ahn in sod. (2007) so pokazali, da lahko akumulacijo fosfatov dosežemo tudi v aerobnem reaktorju. Ob dodatku acetata je le-ta bil takoj prevzet s strani mikrobne združbe in porabljen za sintezo intracelularnih energetskih rezerv. Sočasno se je v raztopino sprostilo veliko fosfatov, kar ustreza anoksični fazi.

Po porabi acetata in dostopnemu fosfatu v raztopini bakterije začno porabljati intracelularne energetske rezerve v obliki PHA in PHB, ki jih nadomestijo s presežno vezavo fosfatov iz raztopine, kar ustreza aerobni fazi aerobno/anoksično vodenega sistema čiščenja.

Študije nakazujejo, da so vsaj nekateri denitrifikatorji sposobni tudi odstranjevanja fosforja (Barak in van Rijn, 2000).

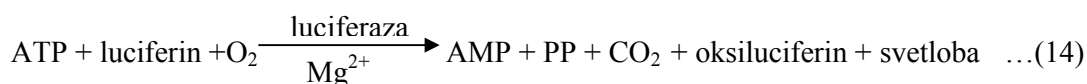
Eden izmed najpomembnejših parametrov za pospešeno odstranjevanje fosforja je ustrezen SRT. Daljši SRT favorizira fosfat akumulirajoče organizme. Podobno kot na nitrifikacijo in nenazadnje tudi denitrifikacijo, vplivajo na pospešeno odstranjevanje fosfatov povišane koncentracije nitrita. Čeprav lahko pri akumulaciji fosfata nitrit služi kot sprejemnik elektronov in v območju 4–5 mg/l  $NO_2^-$  ne vpliva na sam proces, je v območju okrog 8 mg/l onemogočeno anoksična vezava fosfatov v celoti, aerobna vezava pa delno (Meinhold in sod., 1999). Na drugi strani so Lee in sod. (2007) ugotovili, da niti koncentracije nitrita okrog 10 mg/l niso bistveno vplivale na prevzemanje fosfatov.



## 2.8 UGOTAVLJANJE KONCENTRACIJE AKTIVNE BIOMASE V AKTIVNEM BLATU

Za ugotavljanje koncentracije biomase v aeracijskemu bazenu lahko uporabljamo več načinov, kot so gojitvene tehnike na ploščah, koncentracija suhe snovi v raztopini ali izmera žarine (VSS). Vendar te metode ne podajo informacije o dejanski aktivni biomasi vzorca (Whalen in sod., 2006).

Adenozin trifosfat (ATP) je temeljna biološka molekula, ki je prisotna le v živih celicah. ATP lahko izmerimo z reakcijo encimskega kompleksa luciferin-luciferaza, kjer nastaja svetloba, ki je sorazmerna količini prisotnega ATP. Količino emitirane svetlobe merimo z luminometrom (Whalen in sod., 2006).



Na koncentracijo ATP v mikrobnih celicah vpliva veliko dejavnikov: mikrobná vrsta, faza rasti, okoljski dejavniki (pH, temperatura, pomanjkanje substrata ...), submerzna ali pritrjena rast (Levin in sod., 1975; Hong in Brown, 2009.; He in sod., 2009; Whalen in sod., 2006).

Tako sta Hong in Brown (2009) pokazala, da lahko pritrjene mikrobné celice *E.coli* in *B. brevis* lahko vsebujejo od 2–5x večjo koncentracijo ATP kot planktonski mikrobi.

Koncentracije ATP v aktivnem blatu na gram suhe snovi, ki so jih določili različni raziskovalci, variirajo med vrednostmi 0,1–5,5 mgATP/g suhe snovi in so podane v preglednici (Preglednica 4).

Roe in Bhagat (1982) sta v laboratorijski čistilni napravi določala živost biomase pri različnih zadrževalnih časih. Vrednosti ATP/MLSS padajo s podaljševanjem zadrževalnega časa, medtem ko so dokazali pozitiven trend naraščanja količine mikrobnega ATP s povečevanjem hitrosti razredčevanja v kontinuirnih sistemih (Gikas in Livingston, 1998).

**Preglednica 4:** Koncentracije ATP v aktivnem blatu podane v literaturi (Gikas in Livingston, 1998)

VIRI	[ATP] mg ATP/g suhe snovi
Ali in sod., 1985	0,1-0,4
Gikas in Livingston, 1993	0,5-1,8
Jorgensen in sod., 1992	2,2-3,7
Kucnerowicz in Verstraete, 1979	0,4-3,0
Levin in sod., 1975	1,6-7,7
Nelson in Lawrence, 1980	2,5
Roe in sod., 1982	5,5
Upadhyaya in Eckenfelder, 1975	0,5-1,0
Weddle in Jenkins, 1971	1,0-1,5

Biološki indikatorji, kot so ATP, koncentracija DNA in VSS lahko nudijo dober vpogled v aktivnost mikrobov pri konverziji različnih substratov v biološkemu čiščenju ali drugih sistemih (Whalen in sod., 2006; Lim in sod., 2008; Kim in sod., 2008).

### 3 MATERIALI IN METODE

Na ČNM smo opravili analize dotoka ter iztoka na čistilno napravo, pri čemer je bilo vzorčenje opravljeno vedno na istemu mestu in po istemu zaporedju (dotok odpadne vode na mehansko pred-čiščenje, iztok očiščene vode iz čistilne naprave, vzorec aktivnega blata iz aeracijskega bazena). Vzorčenje je potekalo med junijem 2005 ter februarjem 2006. Dodatno smo zbirali vzorce aktivnega blata ter vzorce očiščene vode za analizo koncentracije ATP in test toksičnosti z biotestom ProtoxkitF™. On-line podatke o koncentraciji kisika v prezračevalnem bazenu smo pridobili iz računalniških arhivov na ČNM.

#### 3.1 KEMIKALIJE

##### 3.1.1 Hitri test za določevanje KPK, koncentracije dušika in fosforja

Hitri test proizvajalca Macherey–Nagel omogoča takojšnje merjenje brez kakšne dodatne priprave. Reakcijska mešanica je že pripravljena v epruvetah, katerim po odvzemu vzorca dodamo ustrezen volumen. Testi so standarizirani in sledijo predpisanemu postopku. Metodologija detekcije je opisana pri posameznih testih.

##### 3.1.2 Merjenje koncentracij ATP v vzorcih aktivnega blata

Za merjenje koncentracije ATP v vzorcih aktivnega blata smo uporabili Adenosine 5'-triphosphate (ATP) Bioluminiscent Assay kit proizvajalca Sigma (FL-AA).

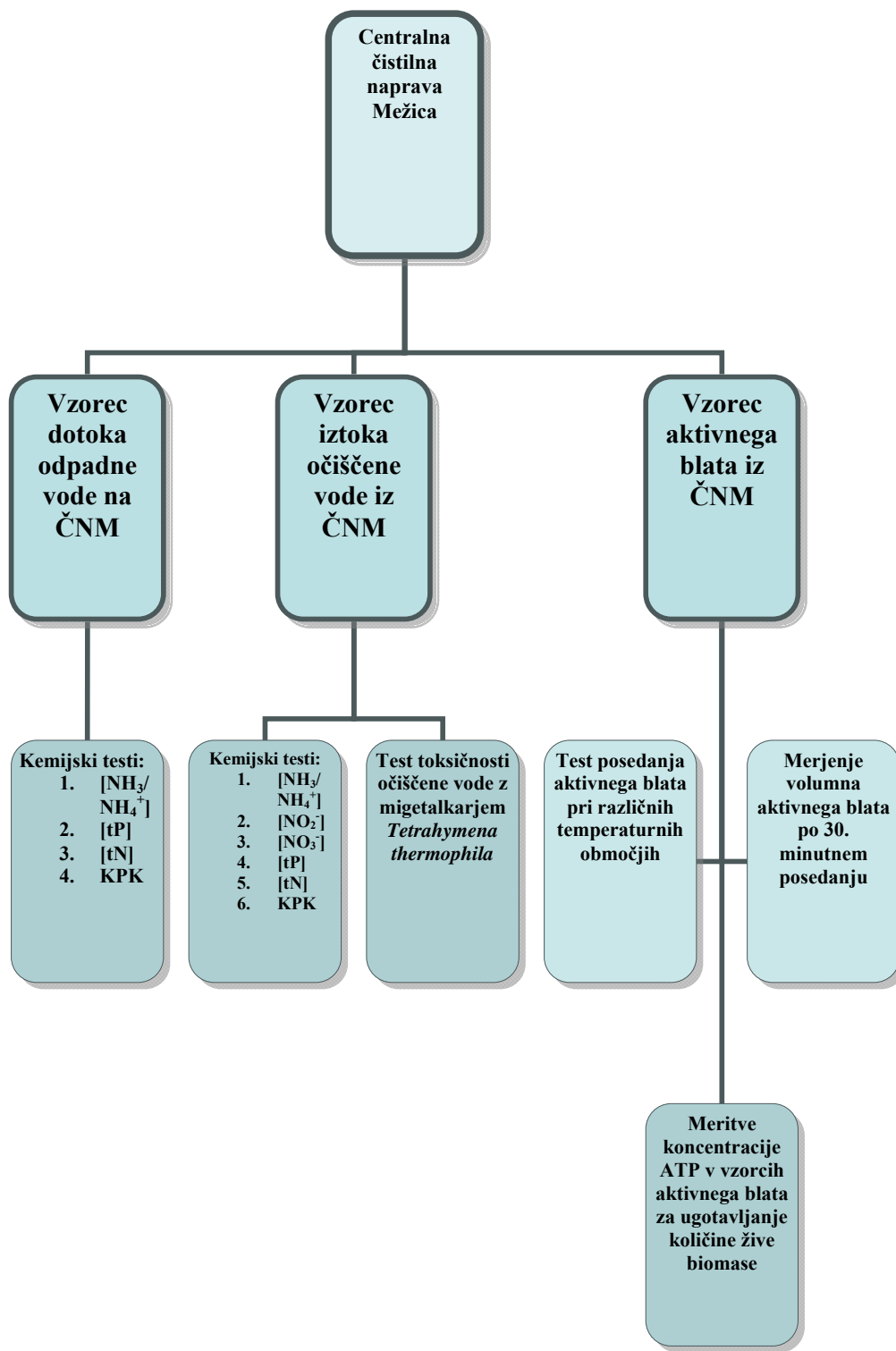
- ATP Assay Mix (Luciferaza, luciferin, MgSO<sub>4</sub>, DTT, EDTA, BSA, puferske soli)
- ATP Assay mix dilution buffer (FL-AAB) (MgSO<sub>4</sub>, DTT, EDTA, goveji serumski albumin, puferske soli)
- ATP Standard (FL-AAS) (Steklenička z 0.9g ATP)
- MQ voda
- Tris – EDTA

##### 3.1.3 Toksičnost iztoka, ki smo jo merili s ProtoxkitF™

Za ugotavljanje toksičnosti smo uporabili ProtoxkitF™ proizvajalca MicroBioTests Inc.

- 3 ml steklenička z viabilno kulturo migetalkarja *Tetrahymena termophila*
- Rekonstitucijska raztopina
- Substrat
- K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

### 3.2 METODE



Slika 9: Shematski prikaz poskusov

### 3.2.1 Hitri testi za merjenje KPK, koncentracije dušika in fosforja

#### 3.2.1.1 Meritev KPK (kemijska potreba po kisiku)

Kemijska potreba po kisiku je ekvivalent za prisotnost organske snovi v vzorcu (razgradljivo in nerazgradljivo) (Roš, 2001). Primerjava KPK na dotoku in iztoku iz čistilne naprave kaže, koliko se je organska obremenitev zmanjšala po prehodu skozi čistilno napravo. Za analizo smo uporabljali hitri test proizvajalca Macherey - Nagel z zgornjo občutljivostno mejo 1500 mgO<sub>2</sub>/l (katološka št. 985 029) za vzorec dotoka oz. 160 mgO<sub>2</sub>/l (katološka št. 985 026) za vzorec iztoka iz čistilne naprave.

Test temelji na fotometričnem zaznavanju zmanjšanja koncentracije svinčevega dikromata po dveurni oksidaciji s svinčevim dikromatom, žvepleno kislino in srebrovim sulfatom pri temperaturi 148 °C.

Test izvajamo po sledečemu postopku:

- Odvzem vzorca v plastični merilni valj na odvzemnem mestu.
- Dodatek 2 ml vzorca v reakcijsko mešanico.
- Inkubacija pri 148 °C za 120 minut.
- Ohlajanje na sobno temperaturo.
- Meritev absorbance s spektrofotometrom ( $\lambda = 436 \text{ nm}$ ).

#### 3.2.1.2 Meritve amoniaka (NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

Koncentracije amoniaka smo merili na dotoku in iztoku iz čistilne naprave. Glede na vrsto vzorca (dotok ali iztok) smo izbrali ustrezen test. Za dotok smo uporabljali test, katerega zgornje občutljivostno območje je segalo med 1–40 mgNH<sub>4</sub>-N/l (katološka št. 985 005), za iztok iz čistilne naprave pa test z občutljivostnim območju 0,2–8,0 mgNH<sub>4</sub>-N/l (katološka št. 985 004).

Pri pH-vrednosti okrog 12,6 amonij reagira s hipokloritom in salicilatom v prisotnosti natrijevega pentacianonitrosilferata (III) kot katalizatorja, pri čemer nastane modro obarvani indofenol, ki ga fotometrično merimo.

Test smo izvajali po sledečemu postopku:

- Odvzem vzorca v plastičen merilni valj na odvzemnem mestu.
- Dodatek 200 µl vzorca k pripravljeni reakcijski mešanici.
- Dodatek reagenta R2.
- Inkubacija pri sobni temperaturi (15 minut).
- Meritev absorbance s spektrofotometrom ( $\lambda = 690 \text{ nm}$ ).

#### 3.2.1.3 Meritev nitrita (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

Koncentracijo nitrita smo merili na iztoku iz čistilne naprave. Ker je vmesni produkt nitrifikacije, kaže na uspešnost konverzije dušika v prvi stopnji nitrifikacije. Test se

uporablja za koncentracijsko območje nitrita 0,003–0,460 mgNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l (katološka št. 985 068).

Nitrit reagira z sulfanilamidom in N-(1-naftil)-etilen diaminom v rdečkasto raztopino. Spremembo barve lahko zaznamo fotometrično.

Test smo izvajali po sledečemu postopku:

- Odvzem vzorca v plastičen merilni valj na odvzemnem mestu.
- Dodatek 4 ml vzorca v reakcijsko mešanico.
- Dodatek 200 µl R2.
- Inkubacija 10 minut pri sobni temperaturi.
- Meritev absorbance s spektrofotometrom ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ).



**Slika 10:** Test za določevanje koncentracije nitrita na iztoku iz ČNM.

Na Sliki 10 koncentracija NO<sub>2</sub><sup>-</sup> pada od leve proti desni.

#### 3.2.1.4 Meritev nitrata (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

Koncentracijo nitrata smo merili na iztoku iz čistilne naprave. Količina nitrata glede na nitrit in amoniak kaže na uspešnost nitrifikacije, saj je nitrat končni produkt. Test je občutljiv v koncentracijskem območju od 0,3–22,0 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l (katološka št. 985 064).

V kislih pogojih nitrat reagira z 2,6- dimetilfenolom in nastane 4-nitro-2,6-dimetilfenol, ki ga lahko izmerimo fotometrično.

Test smo izvajali po sledečemu postopku:

- Odvzem vzorca v plastični merilni valj na odvzemnem mestu.
- Dodatek 500 µl vzorca v reakcijsko mešanico.

- Dodatek 500 µl reagenta R2, ki jo dodamo reakcijski mešanici.
- Inkubacija pri sobni temperaturi (10 minut).
- Meritev absorbance s spektrofotometrom ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ).

### 3.2.1.5 Meritev skupnega dušika (tN)

Skupni dušik je vsota masnih koncentracij dušika po Kjeldahlu, nitritnega in nitratnega dušika. Skupaj z informacijo o posameznih anorganskih oblikah dušika dobimo dobro informacijo o pogojih, v katerih poteka proces čiščenja in uspešnost mineralizacije organskih oblik dušika.

Pri testu (katološka št. 985 083) se vse organske in anorganske snovi z dušikom v kislih pogojih in pri temperaturi 120 °C oksidirajo do nitrata, ki naprej reagira v 4-nitro-2,6-dimetilfenol in ga lahko določimo spektrofotometrično.

Test smo izvajali po sledečemu postopku:

- Odvzem vzorca v plastični merilni valj na odvzemnem mestu.
- V prazno epruveto: 5 ml vzorca.
- Dodatek 1 žličke NaOx N dekompozicijskega reagenta.
- Prekuhavanje mešanice pri 120 °C za 30 minut ali 100 °C za 60 min.
- Dodatek 1 žličke dekompenzacijskega reagenta.
- Odvzem 500 µl raztopine + dodatek 500 µl reagenta R2.
- Inkubacija pri sobni temperaturi (10 minut).
- Meritev absorbance s spektrofotometrom ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ).

### 3.2.1.6 Meritve skupnega fosforja (tP)

Fosfor je osnovni element za biološko rast in reprodukcijo. Pojavlja se v različnih oblikah, kot so ortofosfat, polifosfat ali organsko vezani fosfat. Ker lahko prevelika količina fosfata privede do eutrofikacije rek, moramo koncentracijo le-tega na biološki čistilni napravi redno spremljati. Analize za skupni fosfor (vse tri oblike fosfata) smo opravljali na dotoku kot tudi na iztoku.

Amonijev molibdat reagira z ortofosfatnimi ioni, pri čemer nastane fosfomolibdenska kislina, ki je reducirana v molibden modro.

Območje občutljivosti je od 1,0–45,0 mgPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/l (katološka št. 985 080).

Test smo izvajali po sledečemu postopku:

- 500 µl vzorca + 1x NANOFIX R2.
- Prekuhavanje pri temperaturi 120 °C/30 min ali 100 °C/60 min.
- Ohlajanje na sobno temperaturo.
- Dodatek reagenta R3 + 200 µl R4.
- Inkubacija pri sobni temperaturi 10 minut.
- Meritev absorbance s spektrofotometrom ( $\lambda = 690 \text{ nm}$ ).

### 3.2.2 On-line podatki o koncentraciji kisika v aeracijskemu bazenu

Zaradi velike količine podatkov, ki vključujejo obdobje 20 mesecev, so predstavljeni le nekateri rezultati in analize. Za njihovo obdelavo smo uporabili Microsoft Office Excel.

S kisikovo sondo izmerimo koncentracijo kisika v aeracijskemu bazenu vsako minuto. Število podatkov izračunamo po enačbi 15:

$$\text{Število dni (mesec)} * 24 \text{ ur/dan} * 60 \text{ minut/uro} = \text{število podatkov} \quad \dots(15)$$

Naraščanje koncentracije kisika v bazenu je izključno posledica delovanja puhal, njegova poraba pa posledica mikrobne porabe in oksidacije. Na podlagi tega, lahko iz razlike med dvema zaporednima podatkom ugotovimo, ali je puhalo delovalo ( $\Delta c > 0$ ) ali mirovalo ( $\Delta c < 0$ ).

$$X_{a+1} - X_a = \Delta c, \quad \dots(16)$$

kjer je  $X_{a+1}$  koncentracija kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) v času  $t_1$ ,  $X_a$  koncentracija kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) v času  $t_0$ , ter  $\Delta c$ , ki pomeni razliko koncentracije kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ).

Ker trend koncentracije kisika ob nespremenjenih strojnih nastavitvah praviloma narašča med 24.00 in 6.00 uro ter pada med 6.00 in 24.00 uro, smo podatke za analizo razdelili na temu ustrezen interval. S pomočjo vrtilnih tabel v Excelu smo izračunali povprečno naraščanje koncentracije kisika oz. njegovo porabo.

Vrtilne tabele nam omogočajo, da v istemu koraku iz baze podatkov izluščimo potrebne podatke, jih uredimo ter naredimo delne vsote. Z njeno pomočjo se lahko osredotočimo na posamezen element v bazi podatkov ali pa obdelamo celotno bazo.

Optimalna koncentracija kisika, ki jo moramo dosegati v aeracijskemu bazenu za uspešno oksidacijo organskih ogljikovih spojin in nitrifikacijo, znaša 1,5–3,0  $\text{mgO}_2/\text{l}$ . Za analizo časa, v kateremu dosegamo (ne)optimalne koncentracije, smo on-line meritve koncentracije kisika za posamezen dan združili v interval velikosti 1,5  $\text{mgO}_2/\text{l}$ . Tako lahko pridobimo podatek, koliko časa je bila koncentracija kisika nezadostna (0–1,5  $\text{mgO}_2/\text{l}$ ), optimalna (1,5–3,0  $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) ali previsoka (3,0–4,5  $\text{mgO}_2/\text{l}$ ; 4,5–6,0  $\text{mgO}_2/\text{l}$  itd.) glede na trenutno strategijo čiščenja odpadne vode.

Na podlagi enačb 17 in 18 lahko izračunamo razliko v količini kisika, ki se je vpihala oziroma porabila čez cel dan in ocenimo primernost vpihanja zraka v aeracijski bazen.

$$\sum(X_{a+1} - X_a) / \text{število podatkov} = \Delta c / \text{min} (\text{mg/l min}); X_{a+1} - X_a > 0, \quad \dots(17)$$

kjer je  $X_{a+1}$  koncentracija kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) v času  $t + 1\text{min}$ ,  $X_a$  koncentracija kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) v času  $t$ , ter pogoj  $X_{a+1} - X_a > 0$ , ki pomeni, da je puhalo zaradi pozitivne razlike koncentracije DO delovalo.

$$\sum(X_{a+1} - X_a) / \text{število podatkov} = \Delta c / \text{min} (\text{mg/l min}); X_{a+1} - X_a < 0, \quad \dots(18)$$

kjer je  $X_{a+1}$  koncentracija kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) v času  $t + 1$  min,  $X_a$  koncentracija kisika ( $\text{mgO}_2/\text{l}$ ) v času  $t$ , ter pogoj  $X_{a+1} - X_a < 0$ , ki pomeni, da je puhalo zaradi negativne razlike koncentracije DO ni delovalo.

### 3.2.3 Merjenje koncentracije ATP v vzorcih aktivnega blata

S tem testom smo ugotavljali koncentracijo mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata in tako posredno količino živih mikroorganizmov v aktivnem blatu. Vzorci so bili po odvzemu shranjeni v tekočemu dušiku pri temperaturi  $-196\text{ }^\circ\text{C}$  ter nato prenešeni v zamrzovalnik s temperaturo  $-70\text{ }^\circ\text{C}$ . Ekstrakcijo ATP smo izvedli po metodi z vrelim pufrom, ki je opisana v poglavju 3.2.3.1.

Po navodilih proizvajalca reagentov Sigma smo vzorce ekstrahiranega ATP ali standardne raztopine ATP (pripravljene iz reagenta FL-AAS) in reagent FL-AAM prenesli v ledeno kopel. 100 ml reagenta FL-AAM (ki smo ga redčili s pufrom za redčenje FL-AAB) smo prenesli v Ependorfovo epruveto ter pri sobni temperaturi pustili za tri minute, da se je reagent ogrel na optimalno temperaturo za delovanje encima luciferaze. Sočasno smo na sobni temperaturi ogreli tudi prvi standard ali prvi vzorec. Po preteklih treh minutah smo meritev pričeli s hitrim vbrizgavanjem 100  $\mu\text{l}$  standarda ali vzorca v pripravljen reagent FL-AAM, rahlo premešali in takoj prenesli epruvete v luminometer.

Z luminometrom Junior LB 9509 proizvajalca Berthold technologies smo izmerili intenziteto oddane svetlobe v relativnih luminiscenčnih enotah (RLU = Relative Luminescent Units), ki so odvisne od koncentracije ATP v vzorcih.

Pri vsakemu merjenju oz. pri pripravi novih reakcijskih mešanic smo pripravili novo umeritveno krivuljo (11–13 točk) z znanimi koncentracijami ATP v priloženemu standardu. Na podlagi dobljenih rezultatov smo izračunali regresijsko premico. Ker je izvajanje testa potekalo dva dni, sta bile v ta namen pripravljene dve umeritveni krivulji.

Enačba umeritvene krivulja se glasi:

$$y = a * x + b, \quad \dots(19)$$

kjer je  $y$  log RLU,  $x$  je log molarne koncentracije ATP, faktorja  $a$  in  $b$  izračunamo iz umeritvene krivulje.

Umeritvena krivulja je podlaga za izračun neznanih koncentracij ATP v vzorcih aktivnega blata iz ČNM.

Ker smo želeli, da rezultati dajejo čim bolj realno sliko dejanske koncentracije, smo pri pripravi umeritvene krivulje oz. določanju neznanih koncentracij ATP v vzorcu od povprečnih vrednosti RLU standarda (pri različnih koncentracijah) in vzorca odšteli RLU vode MQ oziroma v primeru vzorca RLU Tris–EDTA. S tem smo dobili dejanski RLU vzorca.

Koncentracijo ATP v vzorcu izračunamo z naslednjo enačbo:

$$10^{(\log RLU - b)/a} * 10 = [ATP] [\text{mol/L}], \quad \dots(20)$$



kjer pomeni log RLU logaritmirana vrednost RLU vzorca, a in b sta faktorja iz umeritvene krivulje, enačbo je pomnožena z 10 zaradi redčenja vzorca z vrelim pufrom (1:9) med postopkom ekstrakcije ATP. [ATP] pomeni koncentracijo ATP.

### 3.2.3.1 Postopek ekstrakcije ATP z vročim pufrom

ATP smo ekstrahirali po metodi z vrelim pufrom (Zrimec, 2001). V Ependorfove epruvete smo pripravili 0,9 ml 0,1M Tris-HCl z 2mM EDTA umerjeno na pH 7,8 ter ga segrevali tri minute v vodni kopeli pri 100 °C. Nato smo v vreli pufer vbrizgali 0,1 ml homogeniziranega vzorca in vse skupaj segrevali tri minute v vodni kopeli pri 100 °C. Vzorce smo ohladili v ledeni kopeli ter izmerili koncentracijo ATP v vzorcih po metodi 3.2.3.

### 3.2.4 Toksičnost iztoka, ki smo jo merili s Protoxkit<sup>TM</sup>

Test toksičnosti z migetalkarjem *Tetrahymena thermophila* smo izvajali s testnim setom Protoxkit<sup>TM</sup>, ki se uporablja za ugotavljanje toksičnosti površinskih, podzemnih ali odpadnih voda. Testirali smo vzorec iztoka iz čistilne naprave, ki smo ga po odvzemu zamrznili v tekočem dušiku (-196 °C) ter kasneje hranili v zamrzovalniku (-70 °C).

Test je postavljen tako, da ciliat v 24 urah porabi substrat. Substrat se pretvori v biomaso in motnost raztopine pade, kar zmerimo s spektrofotometrom. V primeru, da je v vzorcu prisotna inhibitorna substanca, ki omejuje rast migetalkarja, ostane v vzorcu del substrata. Prisotnost substrata poveča motnost raztopine, zaradi česar je OD višji kot v primeru nemotene rasti. Na podlagi tega lahko ugotovimo stopnjo inhibicije rasti.

#### 3.2.4.1 Priprava inokuluma

Pred začetkom dela odvezamemo iz ampule 500 µl viabilne kulture *T. thermophila* ter dodamo 500 µl destilirane vode.

Raztopini izmerimo OD pri 330 nm.

Po enačbi 21, ki izraža povezavo med optično gostoto in številom ciliatov v kulturi, izračunamo število migetalkarjev v naši kulturi.

$$Y = 9,74 * 10^4 * X - 3,98 * 10^2 \quad \dots(21)$$

kjer je Y število migetalkarjev v kulturi, X je izmerjen OD pri 330 nm.

Po izračunu gostote izračunamo redčitveni faktor in volumen dodane destilirane vode, da dosežemo 10000 ciliatov na testno epruveto.

$$F = N/10000 \quad \dots(22)$$

$$V = 0,5 * (F - 1) \quad \dots(23)$$

V zgornjih enačbah F pomeni redčitveni faktor (22) in V volumen dodane destilirane vode. V enačbi (23) je faktor 0,5 zato, ker je faktor redčenja pri merjenju OD 0,5 (1:1; kultura : destilirana voda).

#### 3.2.4.2 Priprava redčitvene vrste ter vzorca

Redčitveno vrsto pripravimo od 100 % (neredčen vzorec) do 6,25 % raztopine vzorca (100 %, 50 %, 25 %, 12,5 % ter 6,25 % z oznakami C0 – C5, kjer je C0 kontrola).

Ker je bil volumen posameznega vzorca premajhen za izvedbo testa, smo za analizo združili vzorce odvzete ob različnih dneh. Med seboj smo združili vzorce, med katerimi je preteklo čim manj časa med vzorčenji in so imeli podobne vrednosti po KPK, nitratih in skupnemu fosforju.

Vzorci, ki smo jih združili, so bili: T/T1, I/VIII, XII/XIV, XVII/XVIII, XIX/XX ter 1/2. Pri ostalih vzorčenjih vzorca iztoka nismo odvzeli.

Na ta način, smo lahko pripravili vzorce s koncentracijo 50 %, 25 %, 12,5 % ter 6,25 %, ne pa tudi neredčenega vzorca.

#### 3.2.4.3 Inokulacija in merjenje OD

V vsak razredčen vzorec (koncentracije od 50 % do 6,25 %) dodamo 40 µl suspenzije hranil, ki jo pripravimo iz obnovitvenega medija in hranilnega medija. V testne vzorce prav tako dodamo 40 µl kulture migetalkarja *Tetrahymena thermophila*, ki smo jih pripravili, kot je opisano v poglavju 3.2.4.1.

Po rahlemu obračanju testnih epruvet izmerimo OD pri valovni dolžini 440 nm s spektrofotometrom. Ta meritev predstavlja čas T0. Vzorce inkubiramo za nadaljnjih 24 ur pri 30 °C.

#### 3.2.4.4 Kontrola

Za preverjanje učinkovitosti testa in občutljivosti migetalkarja naredimo kontrolni test s kalijevim dikromatom ( $K_2Cr_2O_4$ ).

Za test pripravimo raztopino kalijevega dikromata s koncentracijo 100 mg/l.

Pripravimo redčitveno vrsto s koncentracijami:

1. C1 = 100 mg/l
2. C2 = 56 mg/l
3. C3 = 32 mg/l
4. C4 = 18 mg/l
5. C5 = 10 mg/l

Test je veljaven, če pade optična gostota kontrolnih vzorcev v 24 urah za najmanj 75 %.

Test se izvaja enako kot pri vzorcih očiščene vode iz ČNM in je podrobneje opisan v poglavjih 3.2.4.1–3.2.4.3.

#### 3.2.4.5 Izračun inhibicije

Za izračun % inhibicije vzorcev iztoka smo uporabili priložen računalniški program.

Računalniški program sočasno izračuna tudi stopnjo zaupanja v experimentalne podatke kot tudi EC50.

Stopnja inhibicije se lahko izračuna tudi s sledečo enačbo:

$$\% \text{ inhibicije}_{(C1-C5)} = \left(1 - \frac{\Delta OD_{(C1-C5)}}{\Delta OD_{C0}}\right) \times 100 \quad \dots(24)$$

### 3.2.5 Volumetrični preskus za usedljive snovi

Test posedanja aktivnega blata smo izvajali po metodi 2710.C (Settled sludge volume), kjer smo odvzeli iz aeracijskega bazena 1L homogenizirane raztopine aktivnega blata (Standard methods ..., 2005). Ker nas je v eksperimentu zanimal le vpliv temperature na čas dvigovanja/izplavljanja aktivnega blata, so bili merilni valji z vzorci aktivnega blata inkubirani pri različnih temperaturah.

Meritve temperature so se opravljale s sobnim termometrom. Sprememba volumna aktivnega blata se je odčitala vsakih 15 minut.

Merilni valji so bili postavljeni na točno določena mesta, ki so se razlikovala samo po izmerjeni zunanji temperaturi, in sicer:

1. Hladilnik (6 °C)
2. Upravna zgradba (16 °C)
3. Na odprtem – senčna lega (18 °C)
4. Na odprtem – sončna lega (25 °C)

V času eksperimenta je bila temperatura v aeracijskemu bazenu 7,2 °C ter koncentracija raztopljenega kisika 2,72 mg/l.

## 4 REZULTATI

Na ČNM se izvajajo kemijske analize za KPK, dušik in fosfor ročno s hitrimi testi proizvajalca Macherey–Nagel. Dodatno smo opravili v obdobju devetih mesecev (junij 2005–februar 2006) še določevanje koncentracije ATP v vzorcih aktivnega blata ter test toksičnosti s ProtoxkitF<sup>TM</sup>. Z on-line meritvami spremljamo koncentracijo kisika, temperaturo vode v aeracijskem bazenu, temperaturo očiščene vode ter pritek odpadne vode na/iz ČNM. Zaradi obsežnosti podatkov on-line meritev koncentracije kisika so v diplomski nalogi predstavljeni rezultati teh analiz le za krajša obdobja (Slika 11 in 12, Priloga D). Vsi rezultati kemijskih analiz so podani v Prilogah A in B in C. Priloga E prikazuje sezonsko gibanje temperature v aeracijskem bazenu ter na iztoku iz ČNM.

### 4.1 KEMIJSKI PARAMETRI

Povprečna vrednost KPK odpadne vode na dotoku je znašala 298 mgO<sub>2</sub>/l, voda na iztoku manj kot 15 mgO<sub>2</sub>/l. Maksimalna izmerjena vrednost na dotoku je znašala 1076 mgO<sub>2</sub>/l in 52 mgO<sub>2</sub>/l na iztoku iz ČNM. Tako je učinkovitost čiščenja po KPK vsaj 95 % (Preglednica 5).

Povprečna vrednost amoniaka na dotoku znašala 11,1 mgNH<sub>4</sub>-N/l z maksimalno izmerjeno koncentracijo 22 mgNH<sub>4</sub>-N/l. Na iztoku iz ČNM je povprečna vrednost amoniaka <0,2 mgNH<sub>4</sub>-N/l. Z izjemo enega vzorca so vsi vzorci dosegali to vrednost, pri slednjem je bila izmerjena koncentracija amoniaka 0,4 mgNH<sub>4</sub>-N/l (Preglednica 5).

Očiščena voda, ki zapuša čistilno napravo, vsebuje v povprečju 0,06 mg/l nitrita ter 10,8 mg/l nitrata, ki sta produkta nitrifikacije (Preglednica 5).

Zaznati je tudi padec koncentracije fosforja iz 4,06 mg/l na polovično vrednost 2,1 mg/l na iztoku. Vrednosti za celokupni dušik so zaradi objektivnih razlogov vprašljive. Določene minimalne in maksimalne izmerjene koncentracije so bile pod oziroma nad mejo detekcije hitrega testa (Preglednica 5, Priloga C2 in C3).

**Preglednica 5:** Povprečne vrednosti kemijskih parametrov odpadne vode na ČNM od junija 2005 do februarja 2006

Analiza	Vzorec	Povprečna vrednost [mg/l]	Minimum [mg/l]	Maksimum [mg/l]
KPK	Dotok	298	<100	1076
	Iztok	<15	<15	52
NH <sub>4</sub> -N	Dotok	11,1	2	22
	Iztok	<0,2	<0,2	0,4
NO <sub>2</sub> -N	Iztok	0,06	0,01	>0,45
NO <sub>3</sub> -N	Iztok	10,8	1,2	>16
tP	Dotok	4,06	0,6	21,6
	Iztok	2,1	0,4	5
tN	Dotok	20,39	15	24
	Iztok	12,5	8,7	>16

Ko poteka celoten proces čiščenja brez motenj in omejitev, se le-to odraža na rezultatih z zelo nizkimi vrednostmi parametrov KPK, NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> in tP ter visoko ravni koncentracije NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Čeprav se vrednost KPK, koncentracije  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3^-$  in tP posameznih meritev ob normalnih pogojih obratovanja ČNM (Preglednica 6) ne razlikujejo veliko od povprečnih vrednosti (Preglednica 5), je koncentracija nitrita na iztoku iz ČNM precej nižja. Ob takšnih pogojih dosežemo le 16,6–33,3 % povprečne vrednosti, z izmerjeno koncentracijo 0,01–0,02  $\text{mgNO}_2^-/\text{l}$ , kar kaže na uspešno konverzijo nitrita v nitrat ali redukcijo v plinaste oblike dušika.

**Preglednica 6:** Rezultati meritev kemijskih parametrov odpadne vode ob »normalnih« pogojih delovanja ČNM

Datum	Čas	Vzorec	KPK [ $\text{mgO}_2/\text{l}$ ]	$\text{NH}_4\text{-N}$ [ $\text{mgN}/\text{l}$ ]	$\text{NO}_2\text{-N}$ [ $\text{mgN}/\text{l}$ ]	$\text{NO}_3\text{-N}$ [ $\text{mgN}/\text{l}$ ]	tP [ $\text{mgP}/\text{l}$ ]
12.10.2005	10:40	Iztok	<15	<0,2	0,01	10,2	1,5
	10:35	Dotok	142	7			3,2
13.10.2005	10:00	Iztok	<15	<0,2	0,01	11,4	1,3
	9:55	Dotok	220	9			3,3
15.10.2005	8:25	Iztok	<15	<0,2	0,02	12,1	1,4
	8:20	Dotok	528	16			4,5
17.10.2005	13:45	Iztok	<15	<0,2	0,02	13,5	1,9
	13:40	Dotok	231	9			3,4
20.10.2005	10:15	Iztok	<15	<0,2	0,02	13,1	1,6
	10:10	Dotok	153	10			0,7

Na drugi strani se motnje v procesu čiščenja na ČNM odražajo kot povečane vrednosti KPK (40  $\text{mgO}_2/\text{l}$ ), povišane koncentracije amoniaka (0,4  $\text{mgNH}_4\text{-N}/\text{l}$ ) ter nitrita (>0,45  $\text{mgNO}_2^-/\text{l}$ ) na iztoku in nizko koncentracijo nitrata (1,2  $\text{mgNO}_3^-/\text{l}$ ), ki se močno razlikujejo od povprečnih vrednosti. Vrednosti koncentracije fosforja ob motnjah čiščenja (Preglednica 7) ne odstopajo veliko od povprečnih vrednosti (Preglednica 5).

**Preglednica 7:** Rezultati, ki odstopajo od povprečnih meritev kemijskih parametrov iz preglednice 5

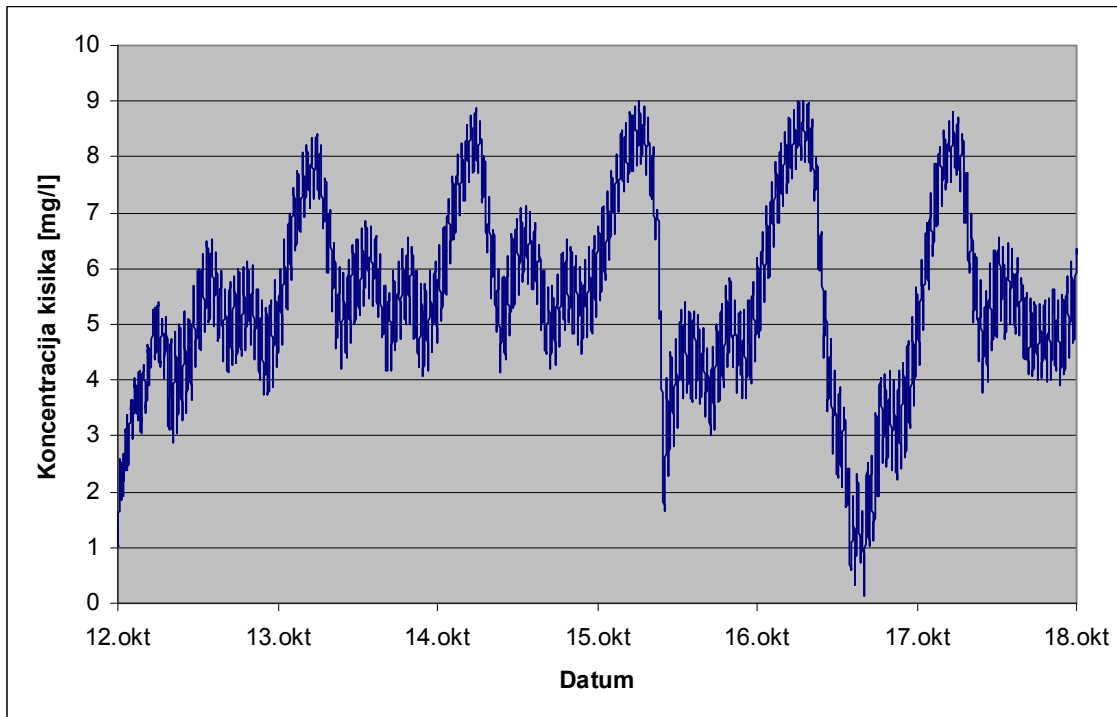
Datum	Vzorec	KPK [ $\text{mgO}_2/\text{l}$ ]	$\text{NH}_4\text{-N}$ [ $\text{mgN}/\text{l}$ ]	$\text{NO}_2\text{-N}$ [ $\text{mgN}/\text{l}$ ]	$\text{NO}_3\text{-N}$ [ $\text{mgN}/\text{l}$ ]	tP [ $\text{mgP}/\text{l}$ ]
24.10.2005	Iztok	<15	<0,2	>0,45	8,8	1,7
	Dotok	238	14	/	/	3,4
19.12.2005	Iztok	40	0,4	>0,45	1,2	2,8
	Dotok	358	11	0,14	<0,5	4,3
09.01.2006	Iztok	<15	<0,2	>0,45	8,5	2,8
	Dotok	258	10	0,1	<0,5	3

Koncentracije nitrita presegajo povprečne izmerjene vrednosti kar v 1/5 meritev, trije od teh vzorcev so presegli zgornjo mejo občutljivosti testa, ki je 0,45  $\text{mgNO}_2^-/\text{l}$ . To vrednost je presegel tudi vzorec, analiziran pred začetkom diplomsko-raziskovalne naloge, 20. 5. 2005, in je zabeležen v Prilogi A.

## 4.2 KONCENTRACIJA KISIKA V AERACIJSKEMU BAZENU

Izmerjene koncentracije kisika v aeracijskem bazenu se gibljejo med 0 in 9,5  $\text{mgO}_2/\text{l}$ . Opaziti je izrazito naraščanje koncentracije kisika med 24.00 in 6.00 ter dva manjša porasta med 10. in 14. uro ter 18. in 20. uro.

Občasno se lahko zaradi motenj pri preskrbi s kisikom koncentracija zniža celo za 8 mgO<sub>2</sub>/l v le štirih urah kljub dejstvu, da puhala delujejo (Slika 11). Vzrok za takšna nihanja je v nastavitvi časovnega intervala delovanja in mirovanja puhal.

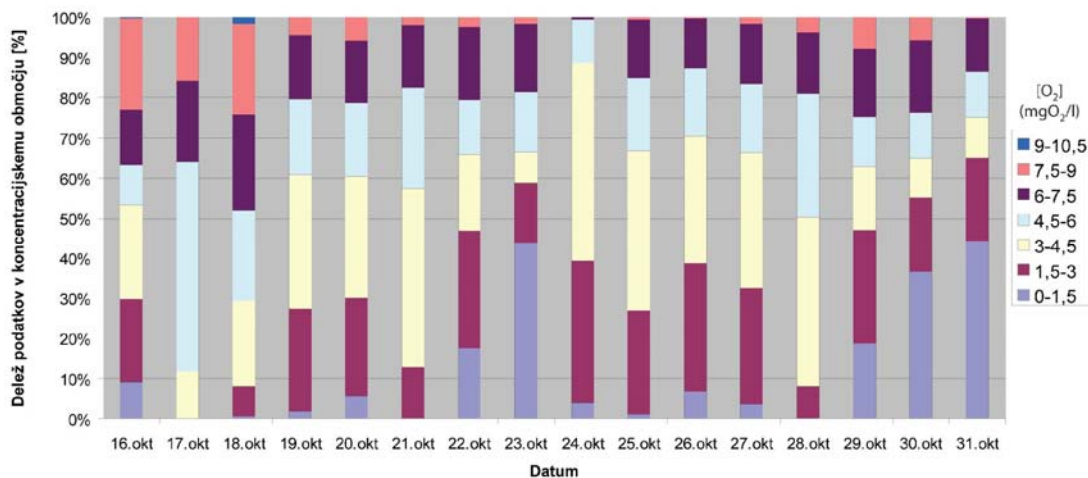


**Slika 11:** Profil gibanja koncentracije kisika v aeracijskem bazenu na ČNM med 12. in 17. oktobrom 2005

Velika nihanja v koncentraciji kisika je mogoče zaslediti dnevno (Slika 11). Profili dnevnih koncentracij kisika se razlikujejo le po dolžini (ne)optimalne koncentracije ter razponu nihanja. Še večje razlike zasledimo pri analizi koncentracij kisika celotnega meseca. Zaradi omejitve števila podatkov, ki so lahko prikazani v grafikonih programa Microsoft Excel, je prikazano le krajše obdobje.

Tako je bila v oktobru koncentracija raztopljenega kisika prenizka 9,5 % časa, v optimalnem območju 16,8 % ter 73,7 % časa višja od 3 mgO<sub>2</sub>/l (Slika 12). Število meritev koncentracije kisika v oktobru zajema 87,6 % teoretičnega števila podatkov, 12,4 % podatkov ni zabeleženih.

Najdaljše obdobje, kjer je bila koncentracija kisika optimalna, je obsegalo 30,45 % časa v mesecu januarju 2006, najkrajše le 3,04 % časa v mesecu juliju 2005.



**Slika 12:** Dnevne on-line meritve kisika v aeracijskem bazenu, razdeljene v koncentracijska območja (oktober 2005)

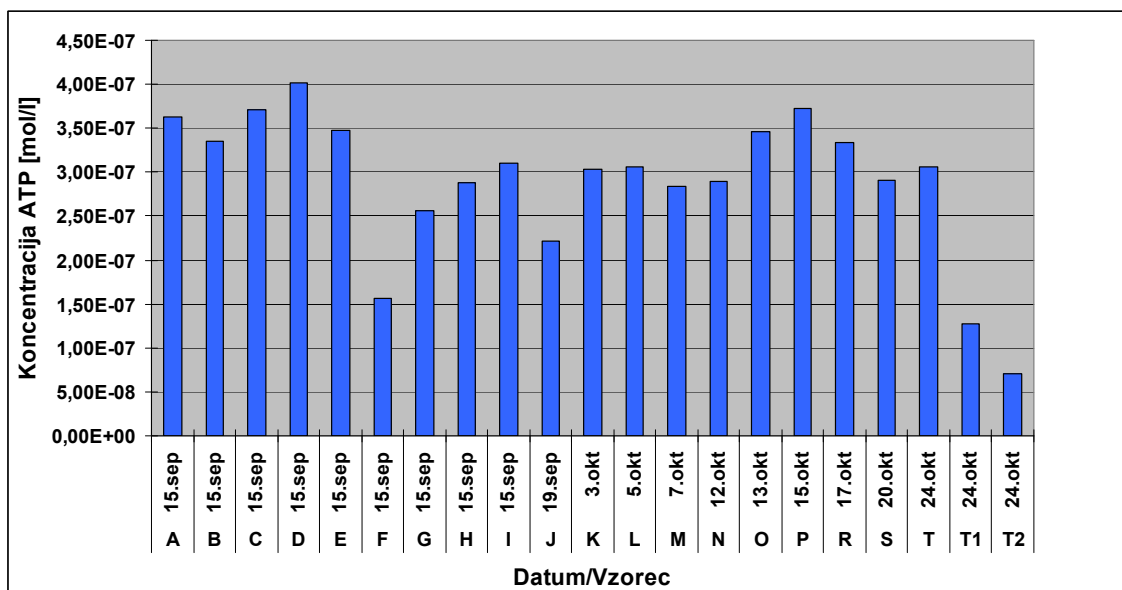
Rezultati so pokazali, da je poraba kisika preko noči manjša kot v dnevnemu času. Povprečna poraba kisika med 24.00 in 6.00 znaša:  $0,054\text{--}0,078\text{ mgO}_2/\text{lmin}$  medtem ko je povprečna poraba kisika med 6.00 in 24.00 med  $0,063\text{--}0,100\text{ mgO}_2/\text{lmin}$ . Razlika je tudi v vnosu kisika v aeracijski bazen čez dan in preko noči. Povprečni vnos kisika preko noči je  $0,064\text{--}0,141\text{ mgO}_2/\text{lmin}$  in  $0,067\text{--}0,124\text{ mgO}_2/\text{lmin}$  čez dan. Rezultati se nanašajo na oktober 2005. Razlika v vnosu kiska v aeracijski bazen nastane zaradi večje porabe kisika v dnevnemu času ob enakemu vnosu kisika. Vnos kisika praviloma presega potrebe po kisiku v nočnih časih, medtem ko le-ta ne zadostuje čez dan in posledično pade koncentracija kisika. Po izračunih za oktober je čas prekomernega delovanja puhala v nočnem času znašal 1027 minut, nezadostnega tekom dneva pa 1100 minut.

#### 4.3 MERITVE KONCENTRACIJE MIKROBNEGA ATP V VZORCIH AKTIVNEGA BLATA

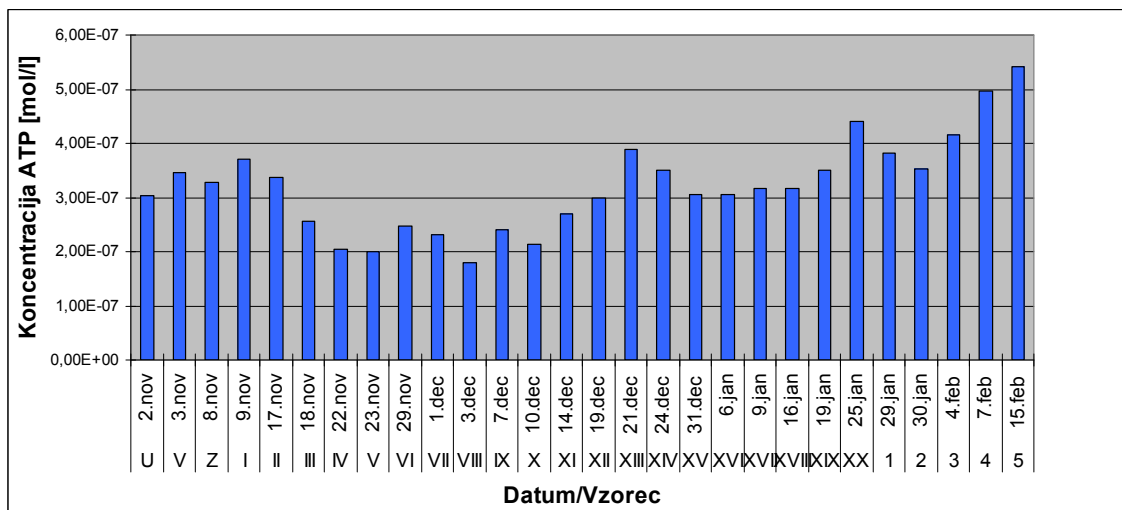
Predstavljeni vzorci so bili odvzeti med 15.09.2005–15.02.2006 in se med seboj razlikujejo (Slika 13 in 14). Vzorce A–I smo odvzeli 15.09. med 7. in 16. uro. Maksimalna izmerjena koncentracija mikrobnega ATP teh vzorcev je znašala  $4,01 \cdot 10^{-7}\text{ mol/l}$ , medtem ko je bila najnižja izmerjena koncentracija  $1,56 \cdot 10^{-7}\text{ mol/l}$ , kar je približno 2,5 x nižja koncentracija od maksimalno izmerjene (Slika 13).

Prav tako smo odvzeli vzorce z oznako T, T1 in T2 isti dan. Razlika v času vzorčenja aktivnega blata vzorca T in T1/T2 je bila 15 minut. Izmerjena koncentracija mikrobnega ATP vzorca T je bila  $3,06 \cdot 10^{-7}\text{ mol/l}$ , v vzorcih T1/T2 le  $1,27 \cdot 10^{-7}\text{ mol/l}$  oz.  $7,06 \cdot 10^{-8}\text{ mol/l}$ . To pomeni 2,4 x oz. 4,3 x manjšo koncentracijo mikrobnega ATP v vzorcih T1/T2 v primerjavi z izmerjeno koncentracijo ATP vzorca T (Slika 13).

Pri vzorcih U–5 smo izmerili koncentracije mikrobnega ATP od  $1,80 \cdot 10^{-7}$  -  $5,42 \cdot 10^{-7}\text{ mol/l}$  (Slika 14).



Slika 13: Koncentracija mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata od 15.09–24.10. 2005



Slika 14: Koncentracija mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata od 02.11.2005–15.02.2006

Z izmerjenimi koncentracijami mikrobnega ATP ter on-line meritvami koncentracije aktivnega blata lahko izračunamo vsebnost mikrobnega ATP na enoto aktivnega blata. Zaradi okvare sonde za koncentracijo sušine v aeracijskem bazenu (MLSS) je izračun možen le za vzorce po 14. decembru 2005. Izmerjene koncentracije aktivnega blata v aeracijskem bazenu so znašale med 5,02–9,42 g/l. Vsebnost mikrobnega ATP na enoto aktivnega blata se je tako gibala med 0,016–0,046 mgATP/gMLSS. Sočasno smo merili volumen poseđenega blata, ki je enakomerno naraščal od vrednosti 290 ml/l<sub>vzorca</sub> in vse do 800 ml/l<sub>vzorca</sub> (Preglednica 8).



**Preglednica 8:** Koncentracija mikrobnege ATP v primerjavi s koncentracijo aktivnega blata

Datum/ Vzorec	Koncentracija mikrobnege ATP [mg/l]	Koncentracija aktivnega blata [g/l]	Koncentracija mikrobnege ATP/ enoto aktivnega blata [mgATP/gMLSS]	Volumen posedenega blata [ml/l]
14.12 XI	0,14	5,02	0,027	290
19.12 XII	0,15	7,1	0,021	330
21.12 XIII	0,20	6,77	0,029	330
24.12 XIV	0,18	7,7	0,023	360
31.12 XV	0,16	9,42	0,016	430
06.1 XVI	0,16	8,82	0,018	460
09.01 XVII	0,16	5,06	0,032	500
16.01 XVIII	0,16	5,42	0,030	550
19.01 XIX	0,18	4,88	0,036	570
25.01 XX	0,22	6,35	0,035	600
29.01 1	0,19	6,48	0,030	750
30.01 2	0,18	6,33	0,028	720
04.01 3	0,21	5,64	0,037	750
07.01 4	0,25	5,43	0,046	800
15.01 5	0,28	7,4	0,037	800

#### 4.4 TOKSIČNOST IZTOKA, KI SMO JO MERILI S PROTOXKITF™

Izmed šestih združenih vzorcev so se podatki dobro prilegali trendni črti le pri dveh vzorcih. Pri preostalih vzorcih je bilo prileganje podatkov slabo, zato iz rezultatov ni možno potegniti zaključkov. Stopnja inhibicije rasti migetalkarja združenega vzorca iz Preglednice 9 je bila: 3,63 % za 6,25 % raztopino, 8,34 % za 12,5 % raztopino, 8,83 % pri 25 % raztopini ter 13,42 % pri 50 % raztopini očiščene vode (Slika 15). Izračunana efektivna doza (EC), ki bi povzročila odziv pri polovici testnih organizmov (EC50), je znašala 238,17 % (Preglednica 10). To pomeni, da mora biti vzorec 2-krat bolj koncentriran. Rezultati s tem kažejo na minimalno oz. netoksičnost vzorca.

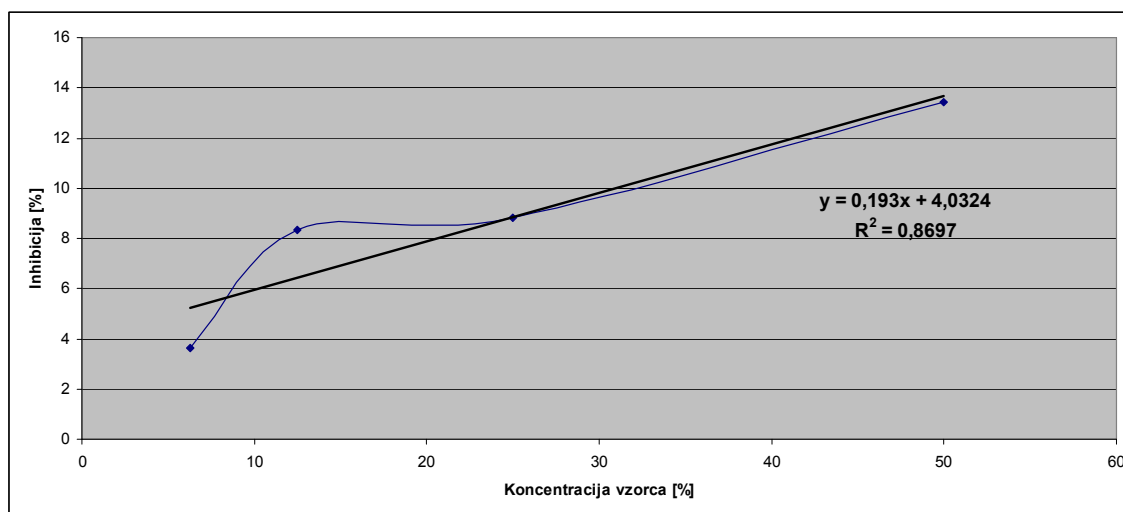
**Preglednica 9:** Kemijski parametri združenega vzorca za testiranje toksičnosti iztoka iz ČNM

Datum	Oznaka	Vzorec	KPK [mgO <sub>2</sub> /l]	NH <sub>4</sub> -N [mgN/ml]	NO <sub>2</sub> -N [mgN/ml]	NO <sub>3</sub> -N [mgN/ml]	tN [mgN/l]	tP [mgP/l]
09.01.2006	XVII	Iztok	<15	<0,2	>0,45	8,5	11,2	2,8
		Dotok	258	10	0,10	<0,5	18	3
16.01.2006	XVIII	Iztok	<15	<0,2	0,36	13,1	12,5	2,4
		Dotok	233	16	0,11	<0,5	24	3,6

Pri drugemu vzorcu zaradi negativnega trenda stopnje inhibicije izračun za EC50 ni mogoč.

**Preglednica 10:** Rezultati ProtoxkitF™ testa za dva združena vzorca z rezultati optične gostote, stopnjo inhibicije ter izračunano vrednostjo EC50

VZOREC IZTOKA	KONCENTRACIJA VZORCA [%]	OD		INHIBICIJA [%]	EC50 [%]
		T0	T40		
XVII/XVIII (09.01/16.01.2006)	KONTROLA	0,534	0,120	0	238,17
	100	/	/	/	
	50	0,546	0,188	13,422	
	25	0,529	0,152	8,827	
	12,5	0,529	0,150	8,343	
	6,25	0,517	0,118	3,628	
I/VIII (09.11/03.12.2005)	KONTROLA	0,543	0,172	0,000	/
	100	/	/	/	
	50	0,555	0,157	-7,278	
	25	0,554	0,160	-6,065	
	12,5	0,543	0,155	-4,582	
	6,25	0,539	0,152	-4,178	



**Slika 15:** Stopnja inhibicije združenega vzorca XVII/XVIII na iztoku iz ČNM

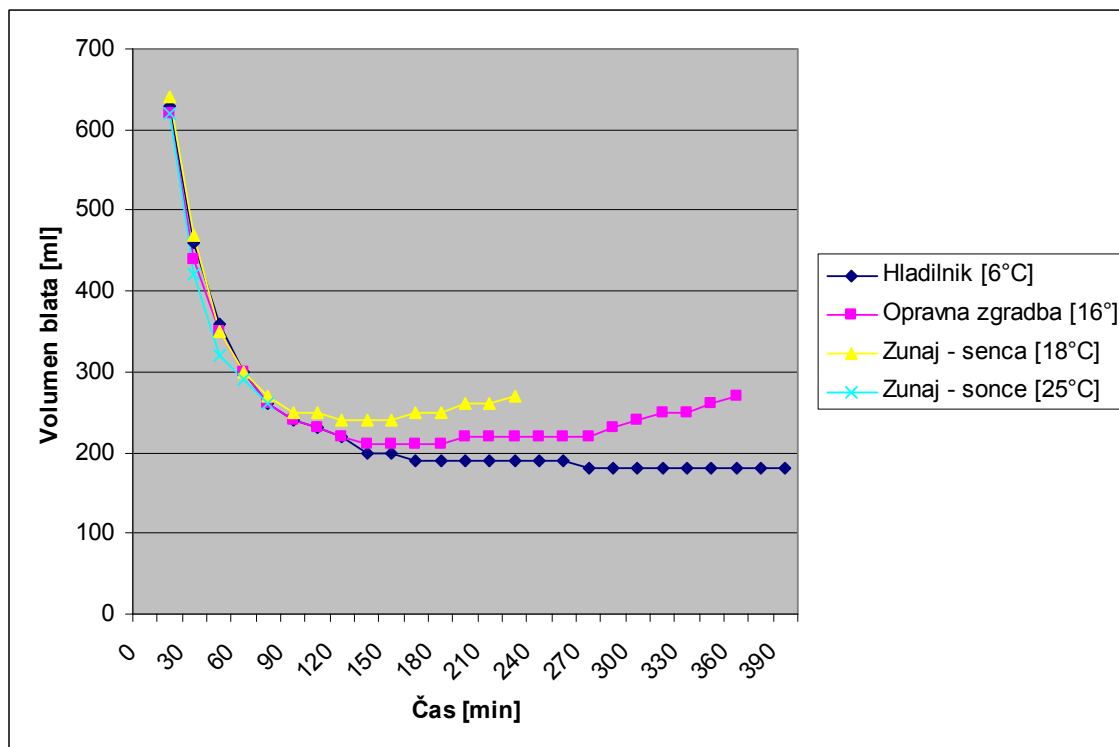
#### 4.5 VOLUMETRIČNI PRESKUS ZA USED LJIVE SNOVI

Pri tem poskusu nas je zanimal predvsem čas, po katerem je posedeno blato ponovno izplavalo.

Posedanje in volumen blata je bil v prvih 75 minutah neodvisen od zunanje temperature z vrednostjo 260–270 ml/L vzorca.

Očitne razlike se pojavijo pri izplavljanju. Izplavljanje biomase smo prvič opazili po 90 minutah v vzorcu, ki smo ga inkubirali pri temperaturi 25 °C, po 240 oz. 360 minutah v vzorcu, inkubiranem pri 18 °C oziroma 16 °C. V vzorcu, inkubiranem pri temperaturi 6 °C, pa tudi po 390 minutah, ko smo zaključili meritve, ni prišlo do izplavljanja (Slika 16). Enako stanje je bilo tudi po 24 urah, nato smo poskus zaključili.

Izplavljeno aktivno blato v ostalih vzorcih je v kratkemu času izgubilo svojo značilno strukturo v obliki flokul.



Slika 16: Izplavljanje aktivnega blata pri različnih temperaturah

Enaki pogoji kot v merilnih valjih so bili tudi ob 24-urni zaustavitvi čistilne naprave zaradi izpada elektike.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Namen raziskave je bil spremljanje realnega dogajanja na poskusno delujoči čistilni napravi preko daljšega obdobja in na podlagi velikega števila vzorčenj identificirati pomanjkljivosti in prednosti v procesu čiščenja.

V ta namen smo izvedli kemijske analize pri 60 vzorcih za KPK, amoniak, nitrit, nitrat, skupni dušik in skupni fosfor, ki smo jih opravili na ČNM (Priloga B in C). Informativno so podani tudi rezultati kemijskih analiz dotoka in iztoka iz ČNM, ki so bili zajeti na ČNM pred začetkom diplomske naloge.

Analize KPK, koncentracij dušikovih spojin, skupnega dušika in fosforja na dotoku nam nudijo vpogled v kakovost odpadne vode, ki priteka na ČNM. Analiza iztoka iz ČNM pa oceni učinkovitost čiščenja odpadne vode.

V času raziskave smo odvezemali vzorce aktivnega blata kot tudi vzorce očiščene vode na iztoku iz čistilne naprave. Za kasnejše raziskave smo jih zamrznili v tekočem dušiku pri  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob zaključku raziskave na ČNM smo izmerili koncentracijo mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata in toksičnost očiščene vode z ProtoxkitF™ ter migetalkarjem *Tetrahymena thermophila* kot testnim organizmom.

Redukcija KPK, ki jo pokaže razlika med vhodnim in izhodnim KPK na čistilni napravi, je posledica metabolne aktivnosti kompleksne mikrobne združbe v aktivnem blatu. Vršijo jo heterotrofni mikroorganizmi, ki potrebujejo za oksidacijo organskih snovi kisik oz. nitrit/nitrat pri denitrifikaciji (Winter in Jördening, 2005). Ker poteka na ČNM oksidacija organskih C-spojnin ter nitrifikacija, ne pa tudi denitrifikacija, je uspešnost čiščenja po KPK odvisna od zadostne količine aktivne biomase ter kisika v aeracijskem bazenu. Za oksidacijo 1 g organske snovi potrebujemo 1,42 g O<sub>2</sub> (Henze in sod., 2002). Vrednosti KPK na iztoku iz ČNM od junija 2005 so bile večinoma manjše od 15 mgO<sub>2</sub>/l, razen v desetih primerih, kjer smo izmerili vrednosti med 15 in 52 mgO<sub>2</sub>/l, ki je bila hkrati tudi najvišja izmerjena vrednost po KPK na iztoku (Priloga A, B in C). Zakonsko določena mejna vrednost po KPK na iztoku je 125 mgO<sub>2</sub>/l (Uredba o emisiji ..., 2007). Po seriji rezultatov za meritve KPK na iztoku od septembra naprej, kjer so vrednosti KPK na iztoku iz ČNM dosegale vrednosti manj kot 15 mgO<sub>2</sub>/l, smo v decembru izmerili vrednost 40 mgO<sub>2</sub>/l. Rezultat je v skladu s pričakovanji, saj je bila v tem obdobju koncentracija kisika nizka in se je gibala med 0-1 mgO<sub>2</sub>/l (Priloga D). Nikoli pa izmerjena koncentracija KPK na iztoku ni presegla zakonsko določenih vrednosti. Pred junijem v aeracijskem bazenu ni bilo dovolj aktivne biomase za popolno porabo organskih snovi. Najvišja izmerjena vrednost po KPK na dotoku je znašala 1076 mgO<sub>2</sub>/l in je verjetno posledica izpusta greznične vode ali preboja kanalizacijske cevi.

Preko daljšega obdobja je bila na podlagi povprečja izmerjenih koncentracij (Preglednica 5) redukcija po KPK večja od 95 %.

Produkti oksidacije organskih snovi so CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ter NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Ker je amonijev ion oz. amoniak toksičen za vodne organizme povzroči veliko potrebo po kisiku, ki je posledica biološke oksidacije amonijaka (nitrifikacija) in je močan agens evtrofikacije, je pomembno odstranjevanje le-tega iz vodnega okolja pred izpustom v odvodnik (Siripong in Rittmann, 2007).

Za uspešno odstranjevanje amoniaka in ostalih spojin lahko nadzorujemo in vplivamo na tri izmed petih ključnih spremenljivk v procesu čiščenja: primerno starost aktivnega blata, zadostno količino kisika in ustrezen pH. Na temperaturo in sestavo odpadne vode ne moremo vplivati.

Amonij oksidirajoče bakterije, ki oksidirajo amoniak v nitrit, se podvajajo le vsakih 8–35 ur v optimalnih laboratorijskih pogojih. Zato je njihovo namnoževanje v bioloških čistilnih napravah do primerne populacije, ki je sposobna odstraniti nastali amoniak, zaradi neoptimalnih pogojev dolgotrajno (Philips in sod., 2002; Vadivelu in sod., 2006; Prose, 2007). Počasno podvajanje je posledica nizkih energijskih izplenov pri oksidaciji amoniaka in energetsko potratne fiksacije anorganskega ogljika (Prinčič, 2001). Kemijske analize koncentracije amoniaka na iztoku kažejo na to, da se je šele do maja oz. junija 2005, kar je bilo 3 mesece po začetku obratovanja ČNM, izoblikovala stabilna družba amonij oksidirajočih bakterij. Po tem obdobju so bile izmerjene koncentracije amoniaka v vseh vzorcih razen pri enemu, kjer je bila koncentracija amoniaka na iztoku iz ČNM 0,4 mg/l, manjše od 0,2 mg/l (Priloga A, B, C).

Ker imajo amonij oksidirajoče bakterije nizko saturacijsko konstanto za kisik, ki znaša 0,36 mgO<sub>2</sub>/l po Monodovi kinetiki, šele koncentracije kisika nižje od 0,7 mgO<sub>2</sub>/l vplivajo na uspešno oksidacijo amoniaka v nitrit (Campos in sod., 2007; Philips in sod., 2002). V času meritve je koncentracija kisika nihala 48 ur med 0–1 mgO<sub>2</sub>/l, kar lahko pojasni rahlo povišano vrednost amoniaka (Priloga D). Izmerjena koncentracija amoniaka je še vedno znotraj zakonsko predpisanih mejnih vrednosti izpusta snovi, ki znaša <10 mgNH<sub>4</sub>/l (Uredba o emisiji ..., 2007).

Med nitrifikacijo se sprostijo velike količine protonov, ki zakisajo medij. pH je bil na ČNM ves čas konstanten, okrog pH = 7, kar kaže na zadostno pufersko kapaciteto odpadne vode (Park in sod., 2007).

Koncentracije nitrita na iztoku, ki smo jih izmerili, so bile med 0,01 in 0,45 mgNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, ki je zgornja meja hitrega testa za nitrit. To mejo so presegli trije vzorci. V vseh primerih je koncentracija kisika, v obdobju 24–48 ur pred kemijskimi analizami, bila več ur pod vrednostjo 1 mg/l. Gibanje koncentracije raztopljenega kisika v aeracijskemu bazenu za obdobje, kjer smo izmerili povišane koncentracije nitrita, je podano v Prilogi D.

Popolna poraba nitrita je mogoča le, če ves nastali nitrit iz oksidacije amoniaka porabijo za dihanje nitrit oksidirajoče bakterije še preden se ta uspe akumulirati. Sodeč po Campos in sod. (2007) je saturacijska konstanta za kisik pri nitrit oksidirajočih bakterijah 1,1 mgO<sub>2</sub>/l, zato so NOB bolj občutljive na nizke koncentracije kisika kot AOB. Učinkovitost oksidacije nitrita pade pri koncentracijah kisika manj od 1,4 mgO<sub>2</sub>/l, kar sovпада z dejanskim stanjem na ČNM (Priloga D).

Rezultati za skupni dušik niso zanesljivi (Priloga C2 in C3). Od zagona čistilne naprave konec februarja 2005 in vse do začetka decembra 2005 so tako skrbniki čistilne naprave, kot kasneje tudi mi, izvajali test po napačnem postopku. Po ugotovitvi z mote in začetku pravilnega izvajanja testa smo hitro spoznali tudi njegove pomanjkljivosti. Ker je zgornja meja detekcije celokupnega dušika 16 mgN/l, je ta neuporaben za analizo dotoka, kjer so bile vrednosti praviloma višje (Priloga C2 in C3). Ta je bila presežena tudi pri prvih meritvah v začetku decembra. Da bi lahko izmerili vrednosti celokupnega dušika znotraj mej detekcije, smo vzorce redčili z destilirano vodo. Redčitveni faktor in izmerjeno koncentracijo dušika smo uporabili za izračun dejanske koncentracije. Zaradi neznanega razloga ja bila koncentracija celokupnega dušika pogosto manjša kot koncentracija nitrata

in nitrita skupaj. Smiselno bi bilo, da bi se za analizo skupnega dušika uporabili hitri testi z mejo detekcije med 5–30 mgN/l, saj bi edino tako lahko zanesljivo izmerili, ali je koncentracija skupnega dušika na iztoku iz ČNM pod zakonsko določeno mejno vrednostjo, ki je 25 mgN/l (Uredba o emisiji..., 2007).

Koncentracija celokupnega fosforja pade iz povprečne vrednosti 4,06 mgP/l na dotoku na 2,1 mgP/l v iztoku, kar pomeni 48,3 % začetne koncentracije (Preglednica 5). Iz vodnega okolja lahko fosfate odstranjujemo s pomočjo fosfat akumulirajočih organizmov. Tradicionalno poteka odstranjevanje fosfatov v aerobno/anoksičnem načinu čiščenja, kjer v anoksični fazi mikrobi sprostitjo fosfate v vodno okolje, nato jih v aerobni fazi v večjem obsegu ponovno vežejo, da obnovijo intracelularne energetske rezerve (Meinhold in sod., 1999; Lee in sod., 2007).

Ahn in sod. (2007) so pokazali, da lahko z dodajanjem zunanjega vira ogljika dosežemo redukcijo fosfatov tudi v aerobnih pogojih.

Ker poteka čiščenje na ČNM le pri aerobnih pogojih in se ne dodaja zunanjega vira ogljika, je mehanizem redukcije koncentracije fosfatov na ČNM neznan, saj poteka pospešeno odstranjevanje fosforja v izmenjajočih aerobnih/anoksičnih pogojih.

Ker je ČNM majhna čistilna naprava (4000 PE) in ne leži na občutljivem območju oz. v bližini kopalnih voda, mejne vrednosti za skupni fosfor niso določene. V nasprotnem primeru znaša mejna vrednost za fosfor 2 mgP/l oz. 1 mgP/l – pri čistilnih napravah s kapaciteto večjo kot 100.000 PE (Uredba o emisiji..., 2007).

Mnogi raziskovalci omenjajo merjenje živosti mikroorganizmov z ATP metodo kot alternativo klasičnim metodam, kot je npr. merjenje VSS (Levin in sod., 1975; Gikas in Livingston, 1998; Whalen in sod., 2006). Spremljanje živosti z merjenjem koncentracije ATP v aktivnem blatu se je v našem primeru izkazala kot težavna metoda. Težave so nastopile predvsem z vzorčenjem. Ker mikrobnna združba živi v planktonski ali pritrjeni obliki in koncentracija ATP glede na način rasti variira, je zajemanje majhnih, homogenih volumnov vzorca aktivnega blata težavno, kar se je odražalo tudi na naših rezultatih. Velika odstopanja v vsebosti mikrobnega ATP vzorcev aktivnega blata, ki smo jih odvzeli isti dan (vzorci A–I), kjer odstopa vzorec F oz. v razmiku 15 minut (vzorci T in T1/T2) odražajo ravno to (Slika 13). Pri teh vzorcih se razlikuje koncentracija mikrobnega ATP celo za faktor 4, glede na ostale vzorce. Čeprav ni korelacije med koncentracijo ATP in MLSS ali volumetričnim testom usedljivosti, bi pričakovali, da bo razlika v koncentraciji ATP med obdobjem z volumnom blata 300 ml/l in MLSS 3–4 g/l ter 800 ml/l in MLSS 7–8 g/l večja (Preglednica 8). To verjetno nakazuje, da se je delež anorganskih snovi v flokulah v tem obdobju povečeval, ne pa tudi delež aktivne biomase. Koncentracije aktivnega blata je naraščala v tem obdobju zato, ker se je vse aktivno blato iz usedalnika vračalo nazaj v aeracijski bazen. V primerjavi s koncentracijami mikrobnega ATP, ki sta jih navedla Gikas in Livingston (1998) – Preglednica 4, smo mi izmerili 10 in večkrat manjše koncentracije mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata. Razlog bi lahko zopet bil v nehomogenemu zajemanju vzorcev aktivnega blata ter nehomogeni razporeditvi aktivne biomase.

V odpadni vodi se nahajajo številne organske in anorganske snovi, ki lahko inhibirajo rast mikrobnne populacije, kar lahko vodi v slabše učinke čiščenja (Juliastuti in sod., 2003).

Prisotnost le-teh in vpliv na rast smo merili z testom toksičnosti Protoxkit<sup>TM</sup> (proizvajalca MicroBioTest Inc.) in testnim organizmom *Tetrahymena thermophila*.

Ker smo imeli na voljo vzorce iztoka in možnost izvedbe testa toksičnosti, ki bi lahko dodatno pomagal razjasniti dobljene rezultate, smo test tudi izvedli. Izmed šestih združenih

vzorcev smo toksičnost oz. slabšo rast migetalkarja zaznali le v enem vzorcu. V tem vzorcu smo zaznali 13,42 % inhibicijo rasti v 50 % raztopini vzorca iztoka. Izračunana efektivna doza (EC50), ki bi povzročila odziv pri polovici testnih organizmov, je znašala 238 %. Na podlagi tega rezultata lahko govorimo o majhni toksičnosti odpadne vode. Možen vzrok za pojav inhibicije rasti bi lahko bile povišane koncentraciji nitrita, kar pa z zagotovostjo ne moremo trditi, saj pri drugih vzorcih s prav tako povišano koncentracijo nitrita inhibicije nismo zaznali.

Ker mora motnost kontrolne raztopine po navodilih proizvajalca upasti za 75 %, da je test veljaven, smo temu primerno izbrali čas inkubacije. Ta pogoj smo dosegli šele po 40 urah inkubacije in ne po 24 urah kot predvideva proizvajalec. Podobne težave sta imela tudi Avberšek (2004) in Kavčič (2007).

Ker testiranje toksičnosti s ProtoxkitF<sup>TM</sup> traja vsaj 24 ur, je njegova uporaba kot diagnostično orodje za vodenje procesa čiščenja omejena, takrat ko so potrebne hitre in natančne metode za takojšnje ukrepanje.

Čeprav testiranje toksičnosti s ProtoxkitF<sup>TM</sup> ni uporabno kot diagnostična metoda za vodenje tehnološkega procesa čiščenja odpadnih voda, pridobimo informacijo o možnih vplivih izpusta očiščene vode iz čistilne naprave na vodne organizme v odvodniku.

Ker smo dobili oprijemljive rezultate le v enem vzorcu, sklepanje o možnih vzrokih slabšega učinka na podlagi tega testa ni možno.

Motiv za izvajanje testa usedljivosti aktivnega blata je bilo opažanje, da aktivno blato ob merjenju usedljivosti po določenem času izplava na površje, kjer pride do deflokulacije, ter 24-urna zaustavitev delovanja čistilne naprave zaradi izpada električnega omrežja. V tem primeru je bilo aktivno blato še vedno posedeno na dnu bazena.

Test usedljivosti je bil zasnovan na način, da je čim bolj ponazarjal stanje ob zaustavitvi delovanja čistilne naprave (brez mešanja in prepihanja). Med vzorci se je razlikovala le temperatura inkubacije kot edina spremenljivka.

Aktivna biomasa v vzorcu je skoncentrirana in ves dostopen kisik se hitro porabi za aerobne procese. Ob anoksičnih pogojih in prisotnosti nitratov se zaradi denitrifikacije sproščajo plini, ki se ujamejo med flokule. Ko se nabere dovolj mehurčkov plina, blato izplava na površje in sčasoma deflokulira (Jenkins in sod., 2004).

Iz rezultatov je vidno, da je temperatura imela ključno vlogo pri naknadnem dviganju aktivnega blata. Čas, potreben za dvig blata, se je podaljševal s padajočo temperaturo. Pri temperaturi 6 °C dvigajočega blata nismo zasledili niti po 24 urah.

Če bi do tega pojava prišlo v aeracijskemu bazenu na čistilni napravi, bi lahko prišlo do motenj v čiščenju in do izgube aktivne biomase. V poskusu pri 6 °C in ob zaustavitvi čistilne naprave, kjer je bila temperatura 7,2 °C, nizke temperature niso omogočale produkcije dovolj velikih količin plina, čeprav je znano, da denitrifikacija poteka tudi ob takšnih temperaturah (Carrera in sod., 2003). Čeprav se denitrifikacijska aktivnost ni merila, je ta domneva podprta s strani raziskav, ki so jih izvedli Jenkins in sod. (2004).

Leta 2015 bodo stopila v veljavo nova določila uredbe o emisijah snovi pri odvajanju odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav, ki veljajo za prispevna območja Donave (Uredba o spremembah ..., 2009). Čeprav nobeno dopolnilo ne spreminja mejnih vrednosti snovi ob izpustu odpadne vode iz ČNM, bo vse težje dosegati vrednosti skupnega dušika na iztoku zaradi vse večje produkcije odpadnih voda v gospodinjstvih ter priključitve novih gospodinjstev na kanalizacijski sistem. Zakonsko predpisana mejna vrednost za skupni

dušik na iztoku iz aeracijskega bazena za ČNM je 25 mgN/l oz. 20 mgN/l za naprave s kapaciteto večjo od 100.000 PE, ta bo lahko v prihodnosti hitro presežena zaradi zgoraj navedenih razlogov. Zato je pomembno, da se že sedaj razmišlja o novih strategijah čiščenja, ki bodo zadoščala in omogočala doseganje mejnih vrednosti izpustov snovi iz komunalnih čistilnih naprav.

Za oceno delovanja čistilne naprave moramo spremljati in razumeti vse procese, ki se vršijo v procesu čiščenja, ter dejavnike, ki vplivajo na njih. Skupaj z velikim številom podatkov in njihovim vrednotenjem lahko podamo naslednje sklepe:

- Učinek čiščenja odpadne vode na ČNM je zelo visok v vseh letnih časih. Izpusti iz čistilne naprave dosegajo le nekaj % zakonsko predpisanih mejnih vrednosti spojin.
- Občasne motnje v procesu čiščenja bi lahko pripisali nezadostnim količinam kisika v aeracijskem bazenu, ki smo jih zaznali do 48 ur pred vzorčenjem, kar ustreza zadrževalnem času odpadne vode (HRT) na ČNM. Vpihovanje kisika je pogosto nezadostno ter stroškovno neučinkovito.
- Nadzor nad količino vpihanega kisika moramo spremeniti na način, kjer bo koncentracija kisika v raztopini merilo za delovanje ali mirovanje puhal in ne vnaprej nastavljen časovni interval, kjer se vpihava ista količina kisika ne glede na potrebe. Le na tak način, kisik nikoli ne bo v presežku (dodatni stroški) ali limitni faktor.
- Koncentracija mikrobnega ATP ne korelira z meritvam sušine v aeracijskemu bazenu ali volumnom aktivnega blata po 30-minutnem posedanju. Zato slednja ne moreta biti merilo za določevanje aktivne biomase v aeracijskemu bazenu.
- Uporaba biotesta ProtokitF<sup>TM</sup> za merjenje toksičnosti iztoka na biološki čistilni napravi ni smiselna, saj dobimo rezultate po najmanj 24 urah, kar pa ni dovolj hitro za takojšnje ukrepanje in spreminjanje procesnih parametrov, ki bi minimirali učinke inhibitornih substanc. Hkrati s testom ne pridobimo informacije o vrsti inhibitornih substanc, temveč le skupen inhibitorni učinek na mikrobnό združbo.



## 6 POVZETEK

Z vstopom Slovenije v Evropsko unijo, smo prevzeli del pravne ureditve, ki ureja tudi področje čiščenja odpadnih voda. Vse ostrejšše zakonske zahteve pri izpustih v odvodnike kot tudi vse glasnejše zahteve po čistejšemu okolju, so vodile v zadnjih letih do izgradnje številnih čistilnih naprav za prebivalstvo in industrijo.

Biološka čistilna naprava je kompleksen sistem, ki deluje le ob optimalnih operativnih nastavitvah. Le tako dosežemo visoke učinke čiščenja z nizkimi stroški ob zanemarljivih vplivih na okolje. Ker gre za zelo dinamičen sistem, je za dobro oceno delovanja potrebna dolgotrajnejše spremljanje delovanja.

Večmesečno opazovanje delovanja čistilne naprave, kjer so se spremljali številni kemijski kot tudi biološki parametri, je dalo dober vpogled v delovanje čistilne naprave kot celote. Velikega pomena pri raziskavi so bili on-line podatki gibanja koncentracije kisika.

Dodatno smo opravili analizo živosti aktivnega blata z merjenjem koncentracije mikrobnega ATP in preverili toksičnost očiščene vode z biotestom Protoxkit<sup>TM</sup> in testnim organizmom *Tetrahymena themophila*.

Kemijske analize šestdesetih vzorcev dotoka in iztoka na ČNM med diplomsko-raziskovalno nalogo ter 13 kemijskih analiz vzorcev pred diplomsko-raziskovalno nalogo za pH, KPK, koncentracije amoniaka, nitratov ter skupnega dušika in fosforja nakazujejo na zelo dobro čiščenje odpadnih voda. Vsi kazalci onesnaženosti odpadne vode so bili vedno pod zakonsko določenimi mejnimi emisijami snovi na iztoku iz čistilne naprave.

Določevanje živosti, z merjenjem koncentracije mikrobnega ATP v aktivnem blatu, se vse bolj uveljavlja kot pomembna metoda, potrebna za uspešno vodenje biološkega čiščenja odpadnih voda. Z avtomatizacijo in lažjo izvedbo testa bo v prihodnosti metoda postala rutinska, na podlagi katere se bomo odločali o procesnih nastavitvah biološkega čiščenja. Merjenje koncentracije mikrobnega ATP v vzorcih aktivnega blata se je v našem primeru pokazala kot težavna metoda, saj se izmerjene koncentracije mikrobnega ATP med seboj precej razlikujejo. Vzorci, odvzeti isti dan, kažejo razlike v koncentraciji mikrobnega ATP tudi za faktor 2,5 oz. 4,0, kar bi lahko bila posledica nehomogenega zajemanja vzorcev aktivnega blata. V primerjavi z ostalimi raziskovalci smo izmerili precej manjše koncentracije mikrobnega ATP v aktivnem blatu na ČNM.

Merjenje toksičnosti iztoka je informativnega značaja. Ker dobimo rezultate šele po 24 urah, je čas za ukrepanje že zamujen. Poleg tega ne pridobimo informacije o identiteti inhibitorne snovi, na podlagi česar bi lahko pravilno ukrepali. Pridobimo pa informacijo o možnih vplivih izpusta očiščene vode na vodne organizme v odvodniku. Na podlagi naših rezultatov je ta vpliv minimalen oz. vplivov na vodne organizme ni.

Dvigovanje aktivnega blata je posledica denitrifikacije in nabiranja plinov v flokulah. Posebej v primarnem usedalniku je pojav pogost, kar se lahko prepreči s hitrejšim vračanjem aktivnega blata v aeracijski bazen. Ob zaustavitvi obratovanja ČNM (24 ur, izpad električne energije) dvigovanja aktivnega blata v aeracijskemu bazenu in usedalniku nismo zaznali. Temu so botrovale nizke temperature (7,2 °C), ki so onemogočale večjo aktivnost denitrifikacijske združbe v aktivnem blatu in s tem dvigovanje aktivne biomase.

Opažanja so tudi v skladu z dobljenimi rezultati izplavljanja aktivnega blata pri različnih temperaturnih območjih.

Z manjšimi prilagoditvami vodenja tehnološkega procesa, predvsem s spremembo nadzora vpihovanja zraka v aeracijski bazen, lahko čiščenje odpadne vode vodimo bolj ekonomično ob enakih učinkih čiščenja. S tem bi preprečili nastanek pogojev, ki so botrovali povišanim koncentracijam kemijskih parametrov na iztoku iz ČNM.

## 7 VIRI

- Ahn J., Schroeder S., Beer M., McIlroy S., Bayly R.C., May J.W. 2007. Ecology of the microbial community removing phosphate from wastewater under continuously aerobic conditions in a sequencing batch reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7: 2257–2270.
- Avberšek M. 2004. Odkrivanje toksičnih učinkov onesnaževanja v Šaleški dolini z biotesti. Raziskovalna naloga. Velenje, samozaložba: 35 str.
- Balku S., Berber R. 2006. Dynamics of an activated sludge process with nitrification and denitrification: Start-up simulation and optimization using evolutionary algorithm. *Computers and Chemical Engineering*, 30: 490–499.
- Barak J., van Rijn Y. 2000. Atypical polyphosphate accumulation by the denitrifying bacterium *Paracoccus denitrificans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 3: 1209–1212.
- Bernal–Martinez A., Gonzales–Barcelo O., Gonzales–Martinez S. 2000. Nutrient removal and sludge age in sequencing batch reactor. *Bioprocess Engineering*, 23: 41–45.
- Campos J.L., Garrido J.M., Mosquera–Corral A., Mendez R. 2007. Stability of a nitrifying activated sludge reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 35: 87–92.
- Carrera J., Vicent T., Lafuente F.J. 2003. Influence of temperature on denitrification of an industrial high-strength nitrogen wastewater in a two-sludge system. *Water SA*, 29, 1: 11–16.
- Carucci A., Dionisi D., Majone M., Rolle E., Smurra P. 2001. Aerobic storage by activated sludge on real wastewater. *Water Research*, 30: 3833–3844.
- Carvalho G., Meyer R.L., Yuan Z., Keller J. 2006. Differential distribution of ammonia- and nitrite-oxidising bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, 39: 1392–1398.
- Chaignon V., Lartiges B.S., El Samrani A., Mustin C. 2002. Evolution of size distribution and transfer of mineral particles between flocs in activated sludges: an insight into floc exchange dynamics. *Water Research*, 36: 676–684.
- Chen F., Xia Q., Ju L. K. 2003. Aerobic denitrification of *Pseudomonas aeruginosa* monitored by online NAD(P)H fluorescence. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 11: 6715–6722.
- Crossman L. C., Moir J. W. B., Enticknap J. J., Richardson D. J., Spiro S. 1997. Heterologous expression of heterotrophic nitrification genes. *Microbiology*, 143: 3775–3783.

- Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserrinigung. 1999. München, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft: 172 str.
- Direktiva Sveta z dne 21.5.1991 o čiščenju komunalne odpadne vode. 1991. Uradni list Evropske skupnosti, 34, L135: 40–52.
- EEA. 2010. Environmental terminology and discovery service: Biološka potreba po kisiku. Copenhagen, EEA - European Environment Agency: 1 str.  
[http://glossary.sl.eea.europa.eu/terminology/concept\\_html?term=biolo%C5%A1ka%20potreba%20po%20kisiku](http://glossary.sl.eea.europa.eu/terminology/concept_html?term=biolo%C5%A1ka%20potreba%20po%20kisiku) (1. 10. 2009).
- Egli K., Langer C., Siegrist H.-R., Zehnder A. J. B., Wagner M., van der Meer J.R. 2003. Community analysis of ammonia and nitrite oxidizers during start-up of nitrification reactors. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 6: 3213–3222.
- Eikelboom D. H. 2000. Process control of activated sludge plants by microscopic investigation. London, IWA Publishing: 156 str.
- Gikas P., Livingston A. G. 1998. Use of specific ATP concentration and specific oxygen uptake rate to determine parameters of a structured model of biomass growth. *Enzyme and Microbial Technology*, 22: 500–510.
- Gray N.F. 2004. Biology of wastewater treatment. 2<sup>nd</sup> ed. London, Imperial College Press: 1421 str.
- Gruden D. 2004. Poslovník za obratovanje Centralne čistilne naprave Mežica: interni dokument. Mežica, Centralna čistilna naprava Mežica: 26 str.
- He B., Liu X., Yue W., Zhou A., Luo J., Cai X. 2009. Rapid detection of bacteria without cultivation with a portable bioluminescence sensor system. *African Journal of Microbiology Research*, 3, 9: 575–580.
- Henze M., Harremöes P., Arvin E., la Cour Jansen J. 2002. Wastewater treatment: Biological and chemical processes. 3<sup>rd</sup> ed. Berlin, Springer: 430 str.
- Heylen K., Vanparys B., Wittebolle L., Verstraete W. Boon N., De Vos P. 2006. Cultivation of denitrifying bacteria: Optimization of isolation conditions and diversity study. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 4: 2637–2643.
- Holman J.B., Wareham D.G. 2005. COD, ammonia and dissolved oxygen time profiles in the simultaneous nitrification/denitrification process. *Biochemical Engineering Journal*, 22: 125–133.
- Hong Y., Brown D.G. 2009. Variation in bacterial ATP level and proton motive force due to adhesion to a solid surface. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 8: 2346–2353.

- Hwang S., Jang K., Jang H., Song J., Bae W. 2006. Factors affecting nitrous oxide production: a comparison of biological nitrogen removal processes with partial and complete nitrification. *Biodegradation*, 17: 19–29.
- Hu Z., Chandran K., Grasso D., Smets B.F. 2002. Effect of nickel and cadmium speciation on nitrification inhibition. *Environmental Science & Technology*, 36, 14: 3074–3078.
- Jenkins D., Richard M.G., Daigger G.T. 2004. Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming and other solids separations problems. 3<sup>rd</sup> ed. London, CRC Press LLC: 190 str.
- Jianlong W., Ning Y. 2004. Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions. *Process Biochemistry*, 39: 1223–1229.
- Juliastuti S.R., Baeyens J., Creemers C., Bixio D., Lodewyckx E. 2003. The inhibitory effects of heavy metals and organic compounds on the net maximum specific growth rate of the autotrophic biomass in activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*, B100: 271–283.
- Kavčič I. 2007. Ugotavljanje genotoksičnosti jezerskih voda v Šaleški dolini s testom ames in toksičnosti s testom Protox. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije: 44 str.
- Kim J., Lee C., Shin S.G., Hwang S. 2008. Correlation of microbial mass with ATP and DNA concentrations in acidogenesis of whey permeate. *Biodegradation*, 19: 187–195.
- Komorowska-Kaufman M., Majcherek H., Klaczynski E. 2006. Factors affecting the biological nitrogen removal from wastewater. *Process Biochemistry*, 41: 1015–1021.
- Kulikowska D., Klimiuk E., Drzewicki A. 2007. BOD5 and COD removal and sludge production in SBR working with or without anoxic phase. *Bioresource Technology*, 98: 1426–1432.
- Layton A. C., Dionisi H., Kuo H.-W., Robinson K. G., Garrett V. M., Meyers A., Sayler G. S. 2005. Emergence of competitive dominant ammonia-oxidizing bacterial populations in a full-scale industrial wastewater treatment plant. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 2: 1105–1108.
- Lee D., Kim M., Chung J. 2007. Relationship between solid retention time and phosphorous removal in anaerobic - intermittent aeration process. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 103, 4: 338–344.
- Lemaire R., Meyer R., Taske A., Crocetti G.R., Keller J., Yuan Z. 2006. Identifying causes for N<sub>2</sub>O accumulation in a lab-scale sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorous removal. *Journal of Biotechnology*, 122: 62–72.

- Levin G. V., Schrot J. R., Hess W. C. 1975. Methodology for application of adenosine triphosphate determination in wastewater treatment. *Environmental Science & Technology*, 9, 10: 961-965.
- Liang P., Huang X., Qian Y., Wei Y., Ding G. 2006. Determination and comparison of sludge reduction rates caused by microfauna's predation. *Bioresource Technology*, 97: 854-861.
- Lim J., Lee S., Kim S.-D. Hwang S. 2008. Biochemical indication of microbial mass changes using ATP and DNA measurement in biological treatment of thiocyanate. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80:525-530.
- Madigan M. T., Martinko J.M., Parker J. 2000. Brock biology of microorganisms. 9<sup>th</sup> ed. New Jersey, Prentice-Hall Inc.: 991 str.
- Madoni P., Davoli D., Gorbi G., Vescovi F. 1996. Toxic effect of heavy metals on the activated sludge protozoan community. *Water Research*, 30, 1: 135-141.
- Meinhold J., Arnold E., Isaacs S. 1999. Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorous removal activated sludge. *Water Research*, 33, 8: 1871-1883.
- Moussa M.S., Hooijmans C.M., Lubberding H.J, Gijzen H.J., van Loosdrecht M.C.M. 2005. Modelling nitrification, heterotrophic growth and predation in activated sludge. *Water Research*, 39: 5080-5098.
- Nemergut D. R., Schmidt S. K. 2002. Disruption of *narH*, *narJ*, and *moaE* inhibits heterotrophic nitrification in *Pseudomonas* strain M19. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 12: 6462-6465.
- Občina Mežica. 2010. O kraju. Mežica, Občina Mežica: 1 str.  
[http://www.mezica.si/?page\\_id=4](http://www.mezica.si/?page_id=4) (30.10.2010)
- Park S., Bae W., Chung J., Seung-Cheon Baek S.-C. 2007. Empirical model of the pH dependence of the maximum specific nitrification rate. *Process Biochemistry*, 42: 1671-1676.
- Pauli W., Berger S. 2000. A new Toxkit microbiotest with the protozoan ciliate *Tetrahymena*. V: New microbiotests for routine screening and biomonitoring. Proceedings of the International Symposium on New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring, June 1-3, 1998, Brno, Czech Republic. Peersone G., Janssen C., De Coen D. (eds.). New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers: 169-176.
- Philips S., Laanbroek H.J., Verstraete W. 2002. Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, 1: 115-141.

- Pokorny B., Zaluberšek M., Kugonič N., Mavsar R., Šešerko M., Al Sayegh Petkovšek S. 2002. Primerjalna študija onesnaženosti okolja v Zgornji Mežiški dolini med stanji v letih 1989 in 2001: Segment - živali, tla in rastline. Velenje, Erico d.o.o.: 139 str.
- Prinčič A. 2001. Obnašanje nitrifikacijskih združb pri selektivnih dejavnikih okolja. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 107 str.
- Prosser J. I. 2007. The ecology of nitrifying bacteria. V: Biology of nitrogen cycle. 1<sup>st</sup> ed. Bothe H., Ferguson S.J., Newton W.E. (eds.). Amsterdam, Elsevier: 223-243.
- ProtoxkitF<sup>TM</sup>. 2006. Standard operational procedure: Freshwater toxicity test with a ciliate protozoan. Nazareth, Microbiotests Inc.: 18 str.
- Roe P. C., Bhagat S. K. 1982. Adenosine triphosphate as a control parameter to activated sludge process. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 54: 244–254.
- Rosso D., Stenstrom M.K. 2005. Comparative economic analysis of the impacts of mean cell retention time and denitrification on aeration systems. *Water Research*, 39: 3773–3780.
- Roš M. 2001. Biološko čiščenje odpadne vode. Ljubljana, GV Založba d.o.o: 243 str.
- Ruiz G., Jeison D., Chamy R. 2003. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*, 37: 1371–1377.
- Ruiz G., Jeison D., Rubilar O., Ciudad G., Chamy R. 2006. Nitrification-denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters. *Bioresource Tehnology*, 97: 330–335.
- Schramm A., Santegoeds C.M., Nielsen H.K., Ploug H., Wagner M., Pribyl M., Wanner J., Amann R., de Beer D. 1999. On the occurrence of anoxic microniches, denitrification, and sulfate reduction in aerated activated sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 9: 4189–4196.
- Sears K., Oleszkiewicz J.A., Lagasse P. 2003. Nitrification in pure oxygen activated sludge systems. *Journal of Environmental Engineering*, 129, 2: 130–135.
- Siripong S., Rittmann B.E. 2007. Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Water Research*, 41: 1110–1120.
- Standard methods for examination of water and wastewater. On-line edition. 2710 Tests on sludges: 2710 C – settled sludge volume. 2005. Alexandria, Water Environment Federation: 2-2  
<http://www.standardmethods.org/> (11.11.2009)

- Stein L. Y., Arp D. J. 1998. Loss of ammonia monooxygenase activity in *Nitrosomonas europaea* upon exposure to nitrite. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 10: 4098–4102.
- Takaya N., Catalan-Sakairi M.A.B., Sakaguchi Y., Kato I., Zhou Z., Shoun H. 2003. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 6: 3152–3157.
- Uredba o emisiji snovi pri odvajanju odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav. 2007. Uradni list Republike Slovenije, 17, 45: 6170-6181.
- Uredba o spremembah in dopolnitvah Uredbe o emisiji snovi pri odvajanju odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav. 2009. Uradni list Republike Slovenije, 19, 63: 9044-9045
- Vadivelu V.M., Keller J., Yuan Z. 2006. Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Water Research*, 41: 826–834.
- Vadivelu V.M., Keller J., Yuan Z. 2007. Stoichiometric and kinetic characterisation of *Nitrosomonas sp.* in mixed culture by decoupling growth and energy generation processes. *Journal of Biotechnology*, 126: 342–356.
- Van den Broeck R.M.R., Van Impe J.F.M., Smets I.Y.M. 2009. Assessment of activated sludge stability in lab-scale experiments. *Journal of Biotechnology*, 141:147–154.
- Wagner M., Loy A. 2002. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 218–227.
- Whalen P. A., Whalen P. J., Tracey D. R. 2006. Cellular ATP: A superior measure of active biomass for biological wastewater treatment processes. Alexandria, Water Environment Foundation: 3025-3037.  
<http://www.environmental-expert.com/> (29.10.2010)
- Wilén B.M., Keiding K., Nielsen P. H. 2000. Anaerobic deflocculation and aerobic reflocculation of activated sludge. *Water Research*, 34: 3933–3942.
- Wilén B.M., Nielsen J.L., Keiding K., Nielsen P. H. 2000b. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 18: 145–156.
- Winter J., Jördening H.J. 2005. *Environmental biotechnology: Concepts and application*. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 463 str.
- Zakon o varstvu okolja. 2004. Uradni List Republike Slovenije, 14, 41: 4818-4853



- ZZV – Celje. 2005. Parametri v pitni vodi: nitrati in nitrit. Celje, Zavod za zdravstveno varstvo - Celje: 1 str.  
<http://www.zzv-ce.si/unlimitpages.asp?id=481> (29.10.2010)
- Zeng R.J., Yuan Z., Keller J. 2004. Improved understanding of the interactions and complexities of biological nitrogen and phosphorus removal processes. *Reviews in Environmental Science & Bio/Technology*, 3: 265–272.
- Zeng W., Zhang Y., Li L., Peng Y. Z., Wang S.-Y. 2009. Control and optimization of nitrifying communities for nitritation from domestic wastewater at room temperatures. *Enzyme and Microbial Technology*, 45: 226–232
- Zrimec A. 2001. Uporaba modela elektrokonformacijske sklopitve pri študiju vpliva spremenljivega električnega polja na delovanje membranskih proteinov. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 152 str.
- Zupančič G.D., Roš M. 2008. Aerobic and two-stage anaerobic–aerobic sludge digestion with pure oxygen and air aeration. *Bioresource Technology*, 99: 100–109.

## ZAHVALA

Zahvale, vsekakor gredo številnim ljudem. Vsak izmed njih mi je omogočil, da sem položil zadnje temelje študija mikrobiologije, za kar sem jim izredno hvaležen. Zahvaljujem se:

- Staršem in bratu za izdatno finančno in moralno podporo tekom celotnega študija.
- Mentorici prof. dr. Romani MARINŠEK–LOGAR za čas in strokovno pomoč pri pripravi diplomske naloge.
- Recenzentki prof. dr. Ines MANDIĆ–MULEC.
- Vsem predavateljem in asistentom tekom študija mikrobiologije.
- Družbi Petrol Energetika Ravne d.o.o., njenemu vodstvu ter zaposlenim, da so mi omogočili opravljanje diplomske naloge na čistilni napravi v Mežici.
- Vsem prijateljem ter ostalim, ki so mi stali ob strani.

Hvala

## PRILOGE

### Priloga A: Kemijske analize odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM, izvedene s strani zaposlenih pred začetkom diplomske naloge

Datum	Vzorec	KPK [mg O <sub>2</sub> /l]	NH <sub>4</sub> -N [mg N/l]	NO <sub>2</sub> -N [mg N/l]	NO <sub>3</sub> -N [mg N/l]	tN [mg P/l]	tP [mg P/l]
08.03.2005	Iztok	<100	23	0,05	<0,5		
	Dotok	198	40				
15.03.2005	Iztok	<100	23				
	Dotok						
04.04.2005	Iztok	<100	9				
	Dotok	<100	36				
12.04.2005	Iztok	<100	<1	0,08	3,6	<0,5	2,6
	Dotok	<100	12			<0,5	2,6
21.04.2005	Iztok	<100	2	0,06	2,7		
	Dotok	<100	7				
05.05.2005	Iztok	<100	<0,2	0,08	6,1		
	Dotok	146	6				
12.05.2005	Iztok	15	<0,2	0,05	9,4		
	Dotok	288	12				
20.05.2005	Iztok	42	<0,2	>0,45	6,8		
	Dotok	163	16				
30.05.2005	Iztok	49	<0,2	0,42	8,6	7	21,4
	Dotok	156	29				7,5
07.06.2005	Iztok	48	0,7				
13.06.2005	Iztok	<15	<0,2	0,24	>16		
20.06.2005	Iztok	48					
	Dotok	196					
28.06.2005	Iztok	52					
	Dotok	1076					

**Priloga B:** Kemijske analize odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med diplomsko nalogo; med 07.07.2005 – 25.08.2005

Datum	Vzorec	KPK [mg O <sub>2</sub> /l]	NH <sub>4</sub> -N [mg N/l]	NO <sub>2</sub> -N [mg N/l]	NO <sub>3</sub> -N [mg N/l]	tN [mgN/l]	tP [mg P/l]
07.07.2005	Iztok	18	<0,2	0,14	11,6		
	Dotok	<100	13				
12.07.2005	Iztok	<15	<0,2	0,04	7,4	<0,5	3,1
	Dotok	<100	5			<0,5	1,7
15.07.2005	Iztok	<15	<0,2	0,03	10		
	Dotok	196	9				
19.07.2005	Iztok	<15	<0,2	0,07	11,1		
	Dotok	220	6				
21.07.2005	Iztok	20	<0,2	0,07	13,6		
	Dotok	234	8				
25.07.2005	Iztok	23	<0,2	0,01	13,6		
	Dotok	225					
27.07.2005	Iztok	<15	<0,2	0,1	9,8	<0,5	2,4
	Dotok	360	11			1,2	4,2
01.08.2005	Iztok	<15	<0,2	0,04	>16		
	Dotok	255	11				
04.08.2005	Iztok	<15	<0,2	0,02	14,8		
	Dotok	840	9				
05.08.2005	Iztok	20	<0,2	0,03	14,5	<0,5	3,9
	Dotok	390	11			1,4	2,7
11.08.2005	Iztok	16	<0,2	0,02	15		
	Dotok	353	9				
18.08.2005	Iztok	28	<0,2	0,04	15,8		
	Dotok	159	9	0,38			
25.08.2005	Iztok	<15	<0,2	0,03	8,4	<0,5	0,9
	Dotok	242	7	0,15	0,7	<0,5	2,7

**Priloga C1:** Rezultati kemijskih analiz odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med 15.09.2005 - 24.10.2005

Datum	Oznaka vzorca	Vzorec	KPK [mg O <sub>2</sub> /l]	NH <sub>4</sub> -N [mg N/ml]	NO <sub>2</sub> -N [mg N/ml]	NO <sub>3</sub> -N [mg N/ml]	tN [mg N/l]	tP [mg P/l]
15.09.2005	A	Iztok	<15	<0,2	0,01	0,05	<0,5	5
		Dotok	135	19			<0,5	4,5
15.09.2005	B	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		
		Dotok	186	22				
15.09.2005	C	Iztok	<15	<0,2	0,02	5,7		
		Dotok	338	18				
15.09.2005	D	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		
		Dotok	207	13				
15.09.2005	E	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		
		Dotok	266	8				
15.09.2005	F	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		
		Dotok	351	9				
15.09.2005	G	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		
		Dotok	423	8				
15.09.2005	H	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		
		Dotok	349	9				
15.09.2005	I	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16		3,4
		Dotok	510	11				3,4
19.09.2005	J	Iztok	<15	<0,2	0,01	6,4		0,9
		Dotok	126	11				0,4
03.10.2005	K	Iztok	<15	<0,2	0,02	9,5	4,5	3,8
		Dotok	161	6			4,6	21,6
05.10.2005	L	Iztok	15	<0,2	0,02	5,7		1,5
		Dotok	127	<1				3,2
07.10.2005	M	Iztok	<15	<0,2	0,01	4,8		0,7
		Dotok	109	5				2,3
12.10.2005	N	Iztok	<15	<0,2	0,01	10,2		1,5
		Dotok	142	7				3,2
13.10.2005	O	Iztok	<15	<0,2	0,01	11,4		1,3
		Dotok	220	9				3,3
15.10.2005	P	Iztok	<15	<0,2	0,02	12,1		1,4
		Dotok	528	16				4,5
17.10.2005	R	Iztok	<15	<0,2	0,02	13,5		1,9
		Dotok	231	9				3,4
20.10.2006	S	Iztok	<15	<0,2	0,02	13,1		1,6
		Dotok	153	10				0,7
24.10.2005	T	Iztok	<15	<0,2	>0,45	8,8		1,7
		Dotok	238	14				3,4

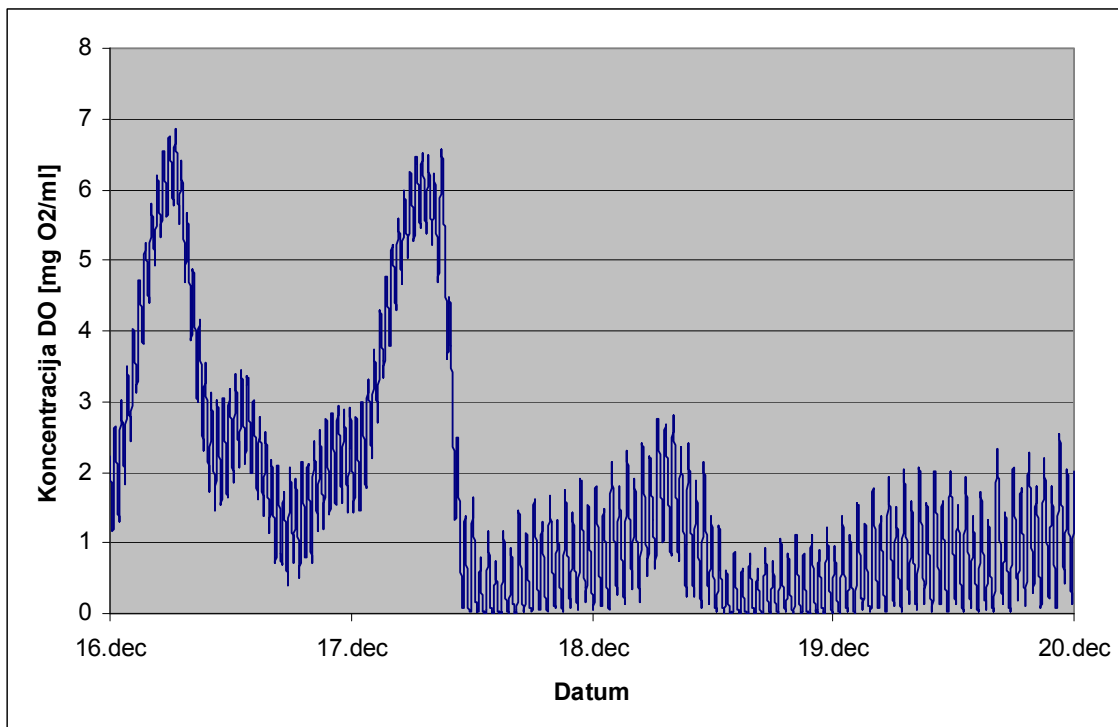
**Priloga C2:** Rezultati kemijskih analiz odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med 02.11.2005 - 09.01.2006

Datum	Oznaka vzorca	Vzorec	KPK [mg O <sub>2</sub> /l]	NH <sub>4</sub> -N [mg N/ml]	NO <sub>2</sub> -N [mg N/ml]	NO <sub>3</sub> -N [mg N/ml]	tN [mg N/l]	tP [mg P/l]
02.11.2005	U	Iztok	<15	<0,2	0,05	11,4		1,8
		Dotok	338	18				5,5
03.11.2005	V	Iztok	<15	<0,2	0,11	11,4		1,9
		Dotok	258	16				4
08.11.2005	Z	Iztok	<15	<0,2	0,02	13,2		2
		Dotok	295	15				4,4
09.11.2005	I	Iztok	<15	<0,2	0,24	12,3		3
		Dotok	<100	13				8,4
17.11.2005	II	Iztok	<15	<0,2	0,03	15,5		2,4
		Dotok	175	12				3,2
18.11.2005	III	Iztok	<15	<0,2	0,02	14,6		1,7
		Dotok	216	18				4,7
22.11.2005	IV	Iztok	<15	<0,2	0,23	10,5		2,2
		Dotok	386	13				3,3
23.11.2005	V	Iztok	<15	<0,2	0,02	12,7		1,9
		Dotok	349	12				3,7
29.11.2005	VI	Iztok	<15	<0,2	0,03	9,7		1,6
		Dotok	216	9				3,2
01.12.2005	VII	Iztok	<15	<0,2	0,02	10		1,2
		Dotok	277	10				3,5
03.12.2005	VIII	Iztok	<15	<0,2	0,32	10,5		1,3
		Dotok	290	3				1,8
07.12.2005	IX	Iztok	<15	<0,2	0,02	4,1		0,6
		Dotok	216	2				1,3
10.12.2005	X	Iztok	<15	<0,2	0,03	8,1	8,7	1,1
		Dotok	495	6			15	3,5
14.12.2005	XI	Iztok	<15	<0,2	0,03	10,8	11,5	1,6
		Dotok	312	10			///////	3
19.12.2005	XII	Iztok	40	0,4	>0,45	1,2	8	2,8
		Dotok	358	11	0,14	<0,5	///////	4,3
21.12.2005	XIII	Iztok	<15	<0,2	0,02	9	10,3	2,1
		Dotok	246	10	0,11	<0,5	///////	3,7
24.12.2005	XIV	Iztok	<15	<0,2	0,37	9,6	10,7	2,1
		Dotok	439	14	0,16	<0,5	///////	5,4
31.12.2005	XV	Iztok	<15	<0,2	0,05	>16	>16	2,4
		Dotok	445	14	0,14	<0,5	>16	7
06.01.2006	XVI	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16	>16	2,2
		Dotok	281	14	0,11	<0,5	>16	4,5
09.01.2006	XVII	Iztok	<15	<0,2	>0,45	8,5	11,25	2,8
		Dotok	258	10	0,1	<0,5	18	3

**Priloga C3:** Rezultati kemijskih analiz odpadne vode na dotoku ter iztoku iz ČNM med 16.01.2006 - 15.02.2006

Datum	Oznaka vzorca	Vzorec	KPK [mg O <sub>2</sub> /l]	NH <sub>4</sub> -N [mg N/ml]	NO <sub>2</sub> -N [mg N/ml]	NO <sub>3</sub> -N [mg N/ml]	tN [mg N/l]	tP [mg P/l]
16.01.2006	XVIII	Iztok	<15	<0,2	0,36	13,1	12,5	2,4
		Dotok	233	16	0,11	<0,5	24	3,6
19.01.2006	XIX	Iztok	<15	<0,2	0,06	15,3	13	2,3
		Dotok	275	15	0,05		21,5	5,1
25.01.2006	XX	Iztok	<15	<0,2	0,03	15,3	13,5	2,3
		Dotok	268	11	0,11		19	3,4
29.01.2006	1	Iztok	<15	<0,2	0,15	15,3	14,75	2,4
		Dotok	870	12	0,19	<0,5	21,75	5,1
30.01.2006	2	Iztok	<15	<0,2	0,02	15,3	14,8	2,3
		Dotok	268	12	0,1	<0,5	21,75	3,4
04.02.2006	3	Iztok	16	<0,2	0,03	>16	15,75	2,3
		Dotok	393	12	0,14		23,4	4,2
07.02.2006	4	Iztok	<15	<0,2	0,02	>16	17	2,5
		Dotok	351	12	0,09		20,5	3,5
15.02.2006	5	Iztok	16	<0,2	0,04	14,9	14,5	2,5
		Dotok	271	11	0,1		19	4

**Priloga D:** Koncentracija kisika v aeracijskem bazenu med 16.12.2005 – 20.12.2005





**Priloga E:** Sezonsko gibanje temperature odpadne vode na iztoku in v aeracijskemu bazenu na ČNM

