

# Učinkovitost uklanjanja P u anoksičnom uvjetu uz $\text{NO}_3\text{-N}$ kao akceptor elektrona

---

Grgas, Dijana; Andrašec, Fran; Radman, Sanja; Habuda-Stanić, Mirna; Štefanac, Tea; Landeka Dragičević, Tibela

Source / Izvornik: Ružičkini dani : Međunarodni znanstveno-stručni skup 18. Ružičkini dani „Danas znanost - sutra industrija“ : zbornik radova, 2021, 197 - 206

Conference paper / Rad u zborniku

Publication status / Verzija rada: **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:535016>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-02**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



međunarodni znanstveno-stručni skup  
**18 RUŽIČKINI DANI**  
DANAS ZNANOST – SUTRA INDUSTRIJA  
16. – 18. rujna 2020. | Vukovar, Hrvatska

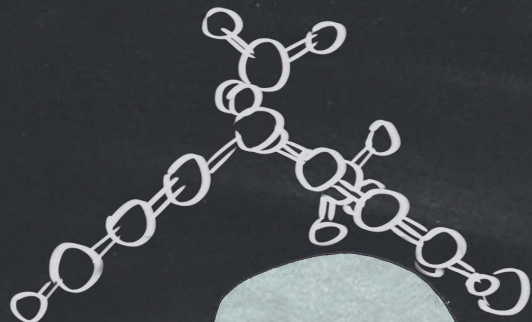


**ZBORNİK RADOVA**

ISSN 2671-0668 (Online)

# 7. SUSRET MLADIH KEMIČARA

16. rujna 2020., VUKOVAR, HRVATSKA



$$Re = \frac{vdp}{\eta}$$

ZNAŠ ŠTO  
BI SE DOGODILO DA  
SE SILVER SURFER  
I IRON MAN  
UJEDINE?

ZNAM....  
POSTALI BI  
LEGURA!



<b>PROCEEDINGS  </b>	<i>18<sup>th</sup> Ružička Days “Today Science – Tomorrow Industry”</i>
<b>ZBORNIK RADOVA</b>	18. Ružičkine dani “Danas znanost – sutra industrija” <i>Croatian Society of Chemical Engineers (CSCE) Faculty of Food Technology Osijek University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek</i>
<b>Published by   Izdavači</b>	Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
<b>Editors   Urednici</b>	Ante Jukić, Vesna Očelić Bulatović, Dajana Kučić Grgić
<b>Executive and Technical Editors   Izvršne i tehničke urednice</b>	Vesna Očelić Bulatović Dajana Kučić Grgić
<b>Text prepared by   Tekst pripremili</b>	AUTORI, koji su odgovorni za tekst rada i slike <i>AUTHORS, who are fully responsible for the papers and figures</i>
<b>Cover sheet and layout design   Dizajn naslovnice i prijeloma</b>	Zdenko Blažeković
<b>Scientific and Organizing Committee and Reviewers   Znanstveno-organizacijski odbor i recenzenti</b>	Ante Jukić (predsjednik/chairman), Jurislav Babić (dopredsjednik/vice-chairman), Vesna Očelić Bulatović (dopredsjednica/vice- chairman), Dajana Kučić Grgić (tajnica), Ivana Lauš (tajnica), Đurđica Ačkar, Ivan Hubalek, Ljubica Glavaš-Obrovac, Ivanka Miličić, Senka Vidović (Srbija), Marjana Simonič (Slovenija), Miroslav Šlouf (Češka Republika), Zora Pilić (Bosna i Hercegovina)
<b>Honorary Committee   Počasni odbor</b>	Damir Boras, Božo Galić, Vlado Guberac, Marin Hraste, Zvonimir Janović, Vesna Jurić Bulatović, Leo Klasinc, Filip Kljajić, Ruža Marić, Ivan Penava, Vlasta Piližota, Drago Šubarić, Vitomir Šunjić, Srećko Tomas, Nenad Trinajstić

Zagreb i Osijek, 2021.

## Učinkovitost uklanjanja P u anoksičnom uvjetu uz NO<sub>3</sub>-N kao akceptor elektrona

Dijana Grgas<sup>1</sup>, Fran Andrašec<sup>1</sup>, Sanja Radman<sup>2</sup>, Mirna Habuda-Stanić<sup>3</sup>, Tea Štefanac<sup>1</sup>,  
Tibela Landeka Dragičević<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
Pierottijeva 6, HR - 10 000 Zagreb

<sup>2</sup>Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Ruđera Boškovića 35, HR – 21 000 Split

<sup>3</sup>Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek,  
Franje Kuhača 18, HR - 31 000 Osijek

\*Dopisni autor: tlandekadragicevic@pbf.hr

### Sažetak

Uklanjanje fosfata (PO<sub>4</sub>-P) istraženo je uz nitrat (NO<sub>3</sub>-N) kao akceptor elektrona u anoksičnim uvjetima, uz natrijev acetat kao izvor ugljika. Pokusi su provedeni pri omjeru NO<sub>3</sub>-N/PO<sub>4</sub>-P 3 i C/N 3 za početnih 20 mg NO<sub>3</sub>-N/L i 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L, kao i pri NO<sub>3</sub>-N/PO<sub>4</sub>-P 8,5 za početnih 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L, pri C/N 2. Postignuto je uklanjanje 74-75 % PO<sub>4</sub>-P, potpuna denitrifikacija u pokusima pri C/N 3, te denitrifikacija od 66 % pri C/N 2.

*Ključne riječi:* DPAOs, nitrat

### Uvod

Napredno biološko uklanjanje fosfora (EBPR, engl. *Enhanced Biological Phosphorus Removal*) je proces uklanjanja fosfora iz otpadne vode pomoću fosfat akumulirajućih organizama (PAOs, engl. *Phosphate Accumulating Organisms*). Iako se većina uklanjanja fosfora iz EBPR procesa postiže anaerobno/aerobnim cirkuliranjem aktivnog mulja, anaerobno/anoksični režim također omogućuje uklanjanje fosfora zahvaljujući sposobnosti skupine PAOs, denitrificirajući PAOs ili DPAOs, koji koriste nitrat (NO<sub>3</sub>-N) i/ili nitrit (NO<sub>2</sub>-N) umjesto kisika kao elektron akceptor i provode istovremeno unos fosfora i denitrifikaciju. Denitrificirajuća defosfatacija se temelji na metabolizmu, brojnosti i aktivnosti DPAOs, koji anaerobno unose hlapljive mase kiseline (VFA, engl., *Volatile Fatty Acids*) i pohranjuju ih kao polihidroksi alkanoate (PHA), a potrebnu energiju za taj proces dobivaju iz hidrolize polifosfata (poliP), čime se fosfati ispuštaju iz mikrobnih stanica u miješanu tekućinu. Također, u anaerobnoj fazi se troše zalihe glikogena. Zatim, u anoksičnoj fazi DPAOs koriste nitrate i/ili nitrite kao akceptore elektrone za unos fosfata u stanice. U ovoj fazi se nadopunjavaju zalihe glikogena, troše rezerve PHA, te se odvija rast stanica. U anoksičnoj fazi DPAOs asimiliraju više fosfora nego što ga ispuste iz stanica tijekom anaerobne faze, a konačno uklanjanje fosfora iz otpadne vode se postiže uklanjanjem viška aktivnog mulja iz bioreaktora, koji je bogat s polifosfatima. Budući da se u anaerobno/anoksičnoj konfiguraciji procesa tijekom anoksične faze istovremeno uklanjaju dušik i fosfor, postiže se ušteda 50 % na kemijskoj potrošnji kisika (KPK), 30 % potrošnji energije te 50 % manja proizvodnja mulja, denitrificirajuća defosfatacija ima prednost pred konvencionalnim procesom aktivnog mulja, posebno pri obradi otpadnih voda koje karakterizira nizak omjer C/N (ugljik prema

dušiku) jer je KPK često limitirajući čimbenik za denitrifikaciju i uklanjanje fosfora (Kuba i sur., 1993; Kuba i sur., 1996a; Kern-Jespersen i Henze, 1993; Flowers i sur., 2009; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Bunce i sur., 2018; Wang i sur., 2019; Gnida i sur., 2020).

Iako je većina istraživanja denitrificirajuće defosfatacije usmjerena na anaerobno/anoksičnu konfiguraciju u kojoj su elektron donor – ugljik i elektron akceptor – nitrat i/ili nitrit fizički odijeljeni jer upravo sposobnost DPAOs da unose i pohranjuju organske sastojke u anaerobnim uvjetima im omogućava selektivnu prednost nad običnim heterotrofnim organizmima (OHOs, engl., *Ordinary Heterotrophic Organisms*) (Kuba i sur., 1993; Kuba i sur., 1996a; Kuba i sur., 1996b; Smolders i sur., 1994; Flowers i sur., 2009; Oehmen i sur., 2007; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Bunce i sur., 2018; Wang i sur., 2019; Gnida i sur., 2020), provedena su istraživanja denitrificirajuće defosfatacije kada su elektron donor i elektron akceptor istovremeno prisutni u biorektoru (Jena i sur., 2016; Casey i sur., 1994). Jena i sur. (2016) smatraju da prisutnost elektron akceptora u obje faze dovodi do eliminacije faze feasting/starvation (engl., feasting/starvation, hrv., obilje/gladovanje) (anaerobna faza), čime se mijenja cjelokupni mehanizam procesa. Casey i sur. (1994) nisu zabilježili inhibiciju unosa fosfata u prisutnosti nitrata u anoksično/aerobnoj konfiguraciji. Kuba i sur. (1996b) u kinetičkom modelu neizravno podupiru unos fosfata u prisutnosti nitrata izvještavajući o tome da iscrpljenje nitrata u anoksičnom uvjetima inhibira rast stanica, unos polifosfata i sintezu glikogena. Jena i sur. (2016) su proveli dugotrajne pokuse (180 dana) u anoksično/aerobnoj konfiguraciji u kojoj su obrađivali sintetsku otpadnu vodu s acetatom kao izvorom ugljika, 4000 mg KPK/L, 1000 mg nitrata/L i omjerom KPK/fosfat 137. Postigli su tijekom anoksične faze istovremeno uklanjanje KPK (72 %), nitrata (98 %) i fosfata (86 %), u narednoj aerobnoj fazi uklanjanje još 26 % od preostalog KPK ali uz otpuštanje P što je rezultiralo u konačnici uklanjanjem P od 76 %.

Cilj ovog rada bio je istražiti uklanjanje fosfora u anoksičnim uvjetima, izostavljanjem anaerobne faze procesa, uz  $\text{NO}_3\text{-N}$  kao akceptor elektrona.

## Materijali i metode

### *Otpadna voda i aktivni mulj*

U pokusima je korištena sintetska otpadna voda priređena otapanjem soli u destiliranoj vodi sastava: 2 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 1 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,4/L g  $\text{FeSO}_4$ , 0,5 g/L  $\text{MgSO}_4$ , 0,4 g/L  $\text{NaCl}$ , 1 g/L  $\text{MgCO}_3$ , 1 g/L  $\text{CaCO}_3$ . Sintetskoj otpadnoj vodi je dodano 0,3 mL/L otopine elemenata u tragovima sastava: 1,5 g/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,15 g/L  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0,03 g/L  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,18 g/LKI, 0,12 g/L  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,06 g/L  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,12 g/L  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,15 g/L  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 10 g/L EDTA (Smolders i sur., 1994). Kao izvor ugljika je korišten natrijev acetat, te je dodan u odgovarajućoj količini za željene početne C/N omjere. Početna količina nitrata i fosfata je postignuta dodavanjem odgovarajuće količine otopine 1 g/L  $\text{KNO}_3$  i 1 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Aktivni mulj je dobiven iz lokalnog postrojenja za biološku obradu otpadne vode grada Zagreba, Hrvatska. Aktivni mulj je prije provedbe pokusa radio 3 mjeseca u ustaljenom stanju u roditeljskom SBR (engl., *Sequencing Batch Reactor*, hrv., šaržni reaktor koji radi po fazama).

### *Dizajn pokusa*

Pokusi su vođeni kao šaržni pokusi u laboratorijskim čašama volumena 0,6 L, radnog volumena 0,5 L, postavljenim na magnetsku miješalicu pri 100 o/min. Aktivnom mulju, 2 g MLSS/L (engl., *Mixed Liquor Suspended Solids*, hrv., suspendirane čestice miješane tekućine), je dodana sintetska otpadna voda, natrijev acetat za postizanje C/N omjera 2 i 3, te otopine nitrata i fosfata. Vođeni su pokusi uz omjer  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{PO}_4\text{-P}$  3 i C/N 3, uz početnih 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$  i 20 mg  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$ , kao i pokus pri omjeru  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{PO}_4\text{-P}$  8,5 i C/N 2 uz početnih 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$ . Koncentracija otopljenog kisika tijekom svih pokusa je bila niža od 0,2 mg/L. Pokusi su vođeni pri  $22 \pm 1$  °C. Vrijednost pH je motrena bez korekcije. Pokusi su provedeni u 3 ponavljanja, a rezultati predstavljaju srednju vrijednost.

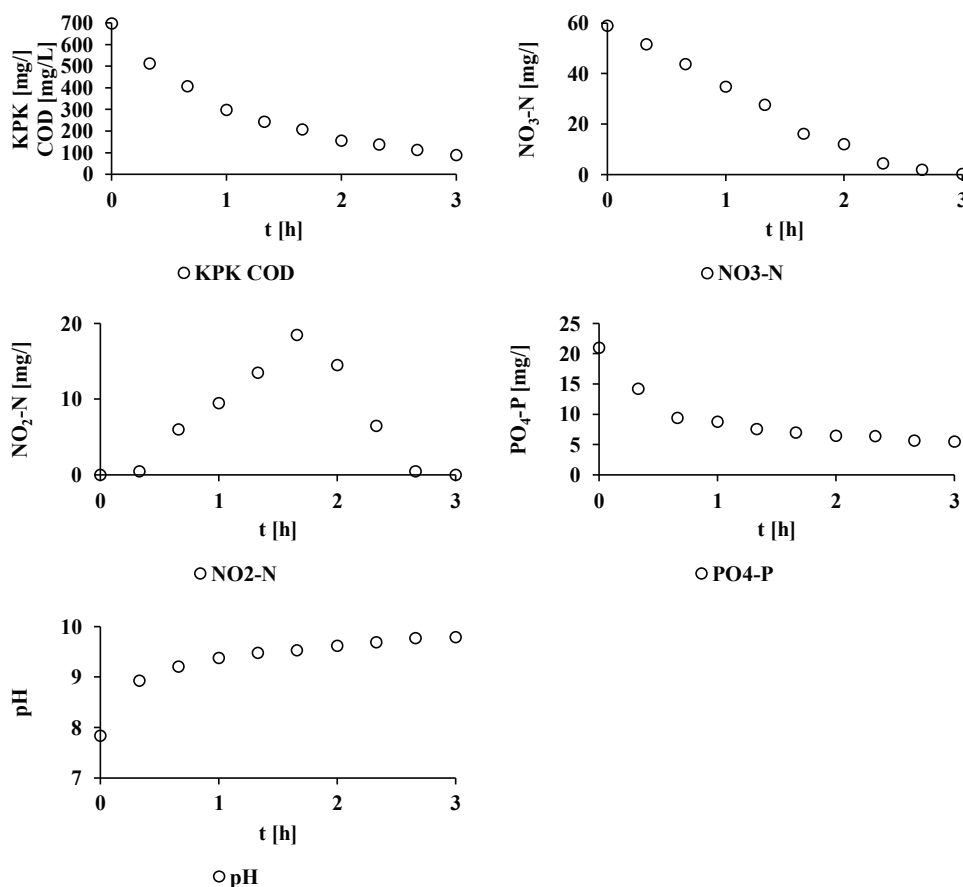
### *Analitika*

U odgovarajućim vremenskim razmacima uzimani su uzorci miješane tekućine, filtrirani kroz 0,45  $\mu\text{m}$  filter papir i analizirani. Određivane su vrijednosti KPK,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$  i MLSS prema Standardnim metodama (APHA, 2005), te su motrene vrijednosti otopljenog kiska, pH vrijednosti i temperature pomoću WTW Multi 3420 SET KS1, Njemačka.

## **Rezultati i rasprava**

Rezultati uklanjanja C, N i P pri omjeru C/N 3 prikazani su slikama 1 i 2. Postignuto je potpuno uklanjanje N, uz uklanjanje KPK od 87 % u pokusu sa početnih 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$  i 75 % uklanjanje KPK u pokusu sa početnih 20 mg  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$ . U tim pokusima, pri omjeru  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{PO}_4\text{-P}$  3, ostvareno je uklanjanje P od 74-75 %. U pokusu pri C/N 2 i omjeru  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{PO}_4\text{-P}$  8,5 KPK je limitirajući čimbenik denitrifikacije koja je iznosila 66 %, a uklanjanje P iznosilo je 74 %. U većini sustava za obradu otpadne vode biološko uklanjanje dušika i fosfata su najčešće integrirani u jedan sustav s aktivnim muljem. Kombinacija EBPR i konvencionalnih bioloških metoda uklanjanja dušika (nitrifikacija i denitrifikacija) može naići na probleme jer je KPK često ograničavajući faktor za uklanjanje fosfata i denitrifikaciju. To ograničenje se može nadvladati kada su u sustavu za obradu otpadne vode prisutni organizmi sposobni provoditi simultanu denitrifikaciju i asimilaciju fosfora pri anoksičnim uvjetima (DPAOs) (van Loosdrechti sur., 1998; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Bunce i sur., 2018; Wang i sur., 2019; Gnida i sur., 2020).

Uklanjanje C, N i P u pokusima pri omjeru C/N 3 (slike 1 i 2) se zbivalo istovremeno, uz denitrifikaciju i prevođenje  $\text{NO}_3\text{-N}$  u  $\text{NO}_2\text{-N}$  te daljnju redukciju do  $\text{N}_2$ , smanjenje KPK do vrijednosti za ispušt u okoliš, kao i istovremeni unos  $\text{PO}_4\text{-P}$  u stanice uz ostvareno smanjenje od 74-75 %  $\text{PO}_4\text{-P}$  (Slike 1 i 2). U pokusu pri C/N 2 uklanjanje  $\text{NO}_3\text{-N}$  zbivalo se dok je bilo raspoloživog KPK koji je bio dostatan za 66 % uklanjanje N. Također je postignuto uklanjanje  $\text{PO}_4\text{-P}$  od 74 %.

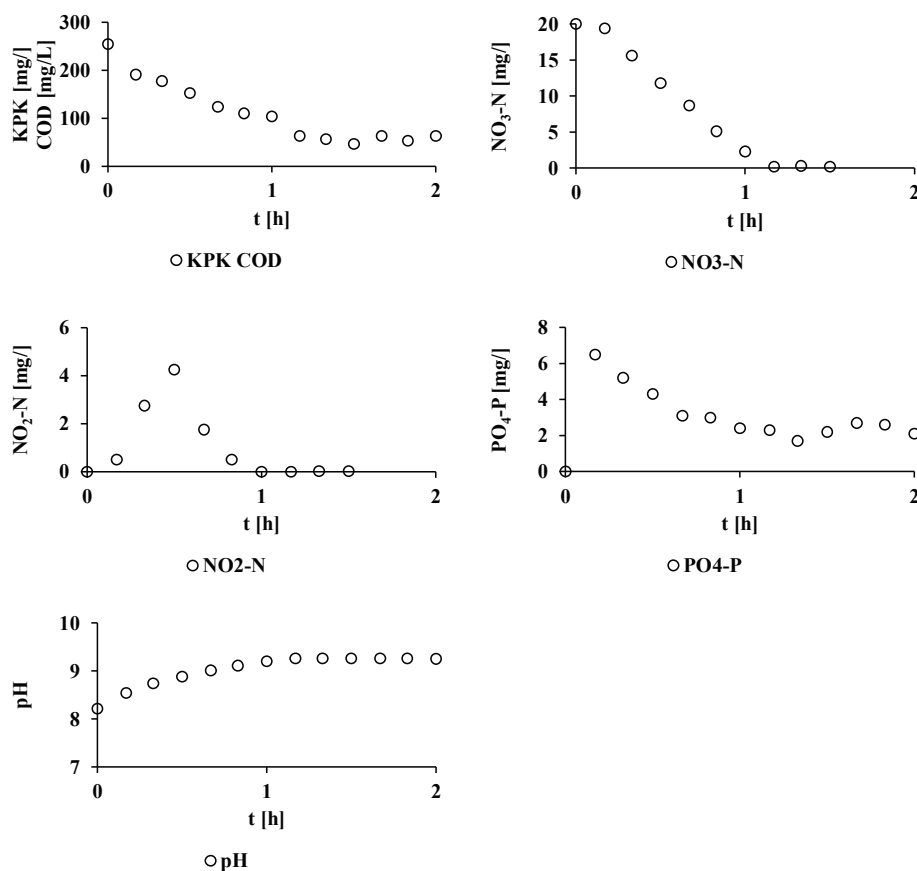


**Slika 1.** C, N i P uklanjanje pri anoksičnim uvjetima, pri  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{PO}_4\text{-P}$  3 i C/N 3, uz početnih 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$   
**Figure 1.** C, N and P removal at anoxic condition, at ratio  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{PO}_4\text{-P}$  3 and C/N 3, with initial 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$

Izvor organskog ugljika je neophodan za postizanje denitrifikacije i EBPR (Oehmen i sur., 2007; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Bunce i sur., 2018; Wang i sur., 2019; Gnida i sur., 2020). Oehmen i sur. (2007) ističu omjer KPK/P 10-20 povoljan za dominaciju PAOs u EBPR sustavu, a pri omjeru KPK/P >50 GAOs (GAOs, *Glikogen Akumulirajući Organizmi*) dominiraju u EBPR sustavu (Mino i sur., 1998).

U ovom radu pokusi su provedeni pri omjeru KPK/P 34,9 odnosno 36, uz početnih 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  odnosno 20 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (slike 1 i 2), i nisu imali negativan učinak na uklanjanje  $\text{PO}_4\text{-P}$ , što je u suglasju sa Mino i sur. (1998). DPAOs koriste acetat i pohranjuju ga kao PHA u anaerobnim uvjetima, te ga koriste kao elektron donore u anoksičnim uvjetima (Kuba i sur., 1993; Kuba i sur., 1996a; Kerrn-Jespersen i Henze, 1993; Flowers i sur., 2009; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Bunce i sur., 2018; Wang i sur., 2019; Gnida i sur., 2020). U pokusima u ovom radu, elektron donor i elektron akceptor su bili istovremeno prisutni i odvijalo se istovremeno uklanjanje KPK, N i P (slike 1 i 2), a slično ponašanje su zabilježili Jena i sur. (2016) i Grgas i sur. (2019).





**Slika 2.** C, N i P uklanjanje pri anoksičnim uvjetima, pri NO<sub>3</sub>-N/PO<sub>4</sub>-P 3 i C/N 3, uz početnih 20 mg NO<sub>3</sub>-N/L  
**Figure 2.** C, N and P removal at anoxic condition, at ratio NO<sub>3</sub>-N/PO<sub>4</sub>-P 3 and C/N 3, with initial 20 mg NO<sub>3</sub>-N/L

Prisutnost nitrata u anaerobnoj fazi EBPR sustava je poguban za uklanjanje fosfora zbog kompeticije za VFA između PAOs i običnih denitrifikanata (Barker i Dold, 1996). Ipak, kada su istovremeno prisutni nitrati i mulj bogat sa PHA, primjerice kada nakon anaerobne faze slijedi anoksična faza, postižu se istovremena denitrifikacija i uklanjanje fosfora. Denitrifirajuće uklanjanje fosfora se javlja zbog sposobnosti barem jedne frakcije PAOs da koriste nitrat i/ili nitrit kao elektron akceptor za uklanjanje fosfora umjesto kisika (Kern-Jespersen i Henze, 1993; Kuba i sur., 1993).

Denitrifikacija je proces redukcije NO<sub>3</sub>-N do plinovitog dušika, kroz slijed reakcija NO<sub>3</sub>-N → NO<sub>2</sub>-N → NO → N<sub>2</sub>O → N<sub>2</sub>. U pokusima sa početnih 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L tijekom denitrifikacije zabilježeno je prevođenje NO<sub>3</sub>-N do maksimalne koncentracije od 18,5 mg NO<sub>2</sub>-N/L (Slika 1), te potpuna denitrifikacija do kraja pokusa. Biokemijski put denitrifikacije uključuje stupnjevitu pretvorbu NO<sub>3</sub>-N do plinovitog N<sub>2</sub>, preko intermedijera NO<sub>2</sub>-N, NO i N<sub>2</sub>O (della Rocca i sur., 2007). Većina istraživanja na metabolizmu DPAOs je provedena koristeći nitrat kao elektron akceptor. Istraživanja sa nitritom su se uglavnom usmjeravala na njegovo

inhibitorno djelovanje te su pokazala da može biti jako toksičan već pri niskim koncentracijama (Bortone i sur., 1996; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Wang i sur., 2019). Nitrit djeluje inhibirajuće i na aerobni i na anoksični unos fosfora (Kuba i van Loosdrecht, 1996; Saito i sur., 2004; Li i sur., 2017; Zeng i sur., 2017; Wang i sur., 2019). Saito i sur. (2004) su istaknuli da je i brzina rasta PAOs također inhibirana tijekom perioda kada je bio prisutan nitrit. Kuba i sur. (1996a) su otkrili smanjenje u unosu fosfora zbog akumulacije nitrita. Meinhold i sur. (1999) su pokazali da nitrit pri niskim koncentracijama (4-5 mg NO<sub>2</sub>-N/L) ne utječe negativno na asimilaciju fosfora pri anoksičnim uvjetima i može se koristiti kao elektron akceptor, dok >8 mg NO<sub>2</sub>-N/L može potpuno inhibirati asimilaciju fosfora. Ahn i sur. (2001) su ispitali korištenje kisika, nitrata i nitrita kao elektron akceptore u EBPR procesu i rezultati su pokazali da se svo troje može uspješno koristiti. Lee i sur. (2001) su pokazali da se nitrit (do 10 mg NO<sub>2</sub>-N/L) može koristiti kao elektron akceptor te da je brzina asimilacije fosfora čak i brža nego kada se kao elektron akceptor koristi nitrat. Korištenje nitrita kao elektron akceptora je moguće ukoliko se on dodaje polukontinuirano u malim obrocima te koncentracija održava ispod 15 mg/L (Ma i sur., 2013). U ovom istraživanju (Slika 1) NO<sub>2</sub>-N nije imao inhibicijski učinak na unos P. Rezultati ovih pokusa (Slike 1 i 2) sugeriraju da uklanjanje P nije limitirano raspoloživom količinom elektron akceptora pri istraženim N/P omjerima 3 i 8,5. Grgas i sur. (2019) su istraživali denitrificirajuću defosfataciju preko nitrita pri N/P omjeru 2,1, pri početnih 24,5±1,3 mg NO<sub>2</sub>-N/L, pri C/N omjerima 1, 2, 3, 4 i 7. Potpunu denitrifikaciju su postigli pri C/N 4, pri čemu je zabilježeno 72,1% uklanjanje P. Povećanje omjera C/N 7 je smanjilo učinkovitost uklanjanja P, nije narušilo uklanjanje N, te je KPK preostao u obrađenoj vodi. Istaknuli su da pri omjerima C/N 4 i 7 DPAOs nisu bili limitirani s raspoloživom količinom ugljika, međutim, autori sugeriraju moguću limitaciju s raspoloživom količinom elektron akceptora. Oehmen i sur. (2007) sugeriraju da je moguće da *Accumulibacter* skupina sadrži brojne podskupine različitih fenotipskih karakteristika (Carvalho i sur., 2006; He i sur., 2006), poput sposobnosti za denitrifikaciju. Malo je poznato o raznolikosti organizama koji asimiliraju fosfor, no studije pokazuju da je *Candidatus Accumulibacter phosphatis*, organizam koji pripada redu *Rhodocyclales*, jedan od glavnih PAOs povezanih s uklanjanjem fosfora (Oehmen i sur., 2007). Denitrificirajuća sposobnost *Accumulibacter* organizma nije još potpuno razjašnjena. Pokazano je da PAOs kulture mogu potpuno denitrificirati koristeći nitrat (Zeng i sur., 2003), dok su drugi autori predložili postojanje dvije različite populacije, jedna koja ima denitrificirajuće sposobnosti te druge koja nema sposobnost denitrifikacije (Freitas i sur., 2005; Ahn i sur., 2002; Meinhold i sur., 1999; Kern-Jespersen i Henze, 1993). Na temelju diferencijacije polifosfat kinaza gena (ppk1) pokazano je da postoje dva tipa *Accumulibacter* organizma. Tip I ima sposobnost denitrifikacije koristeći nitrat, dok tip II nema (He i sur., 2007). Ta činjenica pokazuje da postoje dvije različite populacije *Accumulibacter* organizma s različitim afinitetima za nitrat ovisno o morfotipovima i afinitetima za ugljik i dušik. Tip I *Accumulibacter* ima sposobnost denitrifikacije koristeći nitrat, dok tip II nema. To je u korelaciji s prijašnjim studijama koje su pokazale da neke zajednice *Accumulibacter* mogu koristiti nitrat za uklanjanje fosfora dok druge mogu samo nitrit (Carvalho i sur., 2007). Wang i sur. (2007) su ispitali utjecaj temperature na asimilaciju fosfora denitrificirajućih fosfor akumulirajućih organizama. Ispitana je brzina asimilacije pri 8-10 °C te 25-26 °C i pokazano je da brzina asimilacije raste s temperaturom, no ne značajno s obzirom na ukupnu količinu asimiliranog fosfora. Pokusi u ovom radu su vođeni pri 22±1 °C, temperaturi koja je povoljna za asimilaciju fosfora, te temperatura nije bila ograničavajući čimbenik u uklanjanju fosfora. U ovom radu pokusi su vođeni bez korekcije pH. Tijekom denitrifikacije vrijednost pH je

rasla. S utroškom KPK, vrijednost pH je postala konstantna. U svim pokusima je pH vrijednost porasla s početnih pH  $7,7 \pm 0,5$  na maksimalnih pH  $9,5 \pm 0,2$  (Slike 1 i 2).

Profili pH su bili tipični za denitrifikaciju i uklanjanje fosfora. Kuba i sur. (1997) su pokazali da denitrificirajući fosfor akumulirajući organizmi otpuštaju fosfor s porastom pH. Inicijalni pH između 7,0 i 8,0 je pogodan za akumulaciju DPAOs u sustavu koji koristi acetat kao izvor ugljika. Filipe i sur. (2001) ističu vrijednost pH 7,5-8,5 pogodnu za denitrificirajuću defosfataciju, a pri pH većem od 8 dolazi do kemijskog taloženja P (Wang i sur., 2007; Vargas i sur., 2009). U našim pokusima nije zabilježeno kemijsko taloženje P jer je tijekom trajanja cijelog pokusa prisutan P (slike 1 i 2), tako da se u ovom slučaju uklanjanje P može pripisati aktivnosti DPAOs.

## Zaključci

Uklanjanje  $PO_4\text{-P}$  od 74-75 % i potpuna denitrifikacija postignuto je pri anoksičnim uvjetima uz  $NO_3\text{-N}$  kao akceptor elektrona uz početnu koncentraciju 20 mg  $NO_3\text{-N/L}$  i 60 mg  $NO_3\text{-N/L}$ , i omjer  $NO_3\text{-N}/PO_4\text{-P}$  3, pri omjeru C/N 3. Pri omjeru  $NO_3\text{-N}/PO_4\text{-P}$  8,5 uz početnih 60 mg  $NO_3\text{-N/L}$  i C/N 2 postignuto je uklanjanje  $NO_3\text{-N}$  od 66 % i 74 % uklanjanje  $PO_4\text{-P}$ .

## Literatura

- Ahn, J., Daidou, T., Tsuneda, S., Hirata, A. (2001): Metabolic behavior of denitrifying phosphate-accumulating organisms under nitrate and nitrite electron acceptor conditions, *J. Biosci. Bioeng.* 92, 442-446.
- Ahn, J., Daidou, T., Tsuneda, S., Hirata, A. (2002): Characterization of denitrifying phosphate-accumulating organisms cultivated under different electron acceptor conditions using polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis assay, *Water Res.* 36, 403-412.
- APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, 2005.
- Barker, P. S., Dold, P. L. (1996): Denitrification behaviour in biological excess phosphorus removal activated sludge systems, *Water Res.* 30, 769-780.
- Bortone, G., Saltarelli, R., Alonso, V., Sorm, R., Wanner, J., Tilche, A. (1996): Biological anoxic phosphorus removal - the dephanox process, *Water Sci. Technol.* 34, 119-128.
- Bunce, J. T., Ndam, E., Ofiteru, I.D., Moore, A., Graham, D. W. (2018): A review of phosphorus removal technologies and their applicability to small-scale domestic wastewater treatment systems, *Front. Environ. Sci.* 6, 8.
- Carvalho, G., Lemos, P.C., Oehmen, A., Crespo, M. T. B., Reis, M. A. M. (2006): Microbial diversity of the *Candidatus Accumulibacter phosphatis* clade in denitrifying phosphorus removal systems. In: Proceedings of the 11th International Symposium on Microbial Ecology-ISME 11, Vienna, Austria, August 20-25, 2006.
- Carvalho, G., Lemos, P.C., Oehmen, A., Reis, M. A. M. (2007): Denitrifying phosphorus removal: Linking the process performance with the microbial community structure, *Water Res.* 41, 4383-4396.

- Casey, T. G., Wentzel, M. C., Ekama, G. A., Loewenthal, R. E., Marais, G. R. (1994): Hypothesis for the causes and control of anoxic–aerobic (AA) filament bulking in nutrient removal activated sludge systems, *Water Sci. Technol.* 29, 203-212.
- della Rocca, C., Belgiorno, V., Meriç, S. (2007): Overview of *in-situ* applicable nitrate removal processes, *Desalination* 204, 46-62.
- Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., Grady, C. P. L. (2001): pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms, *Water Environ. Res.* 73, 223-232.
- Flowers, J. J., He, S., Yilmaz, S., Noguera, D. R., McMahon, K. D. (2009): Denitrification capabilities of two biological phosphorus removal sludges dominated by different „*Candidatus Accumulibacter*“ clades, *Environ. Microbiol. Rep.* 1, 583-588.
- Freitas, F., Temudo, M., Reis, M. A. M. (2005): Microbial population response to changes of the operating conditions in a dynamic nutrient-removal sequencing batch reactor, *Bioprocess Biosyst. Eng.* 28, 199-209.
- Gnida, A., Żubrowska-Sudoł, M., Sytek-Szmeichel, K., Podedworna, J., Surmacz-Górska, J., Marciocha, D. (2020): Effect of anaerobic phases length on denitrifying dephosphatation biocenosis—a case study of IFAS-MBSBBR, *BMC Microbiology* 20, 222.
- Grgas, D., Štefanac, T., Marković, N., Šipalo, T., Radman, S., Landeka Dragičević, T. (2019): Denitrificirajuća defosfatacija preko nitrita, International Conference 17th Ružička days „Today science – tomorrow industry“, September 19-21, 2018, Vukovar, Croatia, 155-164.
- He, S., Gall, D. L., McMahon, K. D. (2007): „*Candidatus Accumulibacter*“ population structure in enhanced biological phosphorus removal sludges as revealed by polyphosphate kinase genes, *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5865-5874.
- He, S., Gu, A. Z., McMahon, K. D. (2006): Fine-scale differences between *Accumulibacter*-like bacteria in enhanced biological phosphorus removal activated sludge, *Water Sci. Technol.* 54, 111-117.
- Jena, J., Kumar, R., Saifuddin, M., Dixit, A., Das, T. (2016): Anoxic–aerobic SBR system for nitrate, phosphate and COD removal from high-strength wastewater and diversity study of microbial communities, *Biochem. Eng. J.* 105, 80-89.
- Kern-Jespersen, J. P., Henze, M. (1993): Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions, *Water Res.* 27, 617-624.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M. C. M. (1996): Effect of cyclic oxygen exposure on the activity of denitrifying phosphorus removing bacteria, *Water Sci. Technol.* 34, 33-40.
- Kuba, T., Smolders, G., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1993): Biological Phosphorus Removal from Wastewater by Anaerobic-Anoxic Sequencing Batch Reactor, *Water Sci. Technol.* 27, 241-252.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1996a): Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system, *Water Res.* 30, 1702-1710.
- Kuba, T., Murnleitner, E., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1996b): A metabolic model for biological phosphorus removal by denitrifying organisms, *Biotechnol. Bioeng.* 52, 685-695.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M. C. M., Brandse, F. A., Heijnen, J. J. (1997): Occurrence of denitrifying phosphorus removing bacteria in modified UCT-type wastewater treatment plants, *Water Res.* 31, 777-786.

- Lee, D. S., Jeon, C. O., Park, J. M. (2001): Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system, *Water Res.* 35, 3968-3976.
- Li, W., Sun, H. Z., Wei, W., Liu, J., Fu, J. X., Wang, J. (2017): Study on denitrifying dephosphatation process, influence factors and mechanism, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ.Sci.* 82, 012090.
- Ma, B., Wang, S., Zhu, G., Ge, S., Wang, J., Ren, N., Peng, Y. (2013): Denitrification and phosphorus uptake by DPAOs using nitrite as an electron acceptor by step-feed strategies, *Front. Environ. Sci. Eng.* 7, 267-272.
- Meinhold, J., Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., Isaacs, S. (1999): Characterization of the denitrifying fraction of phosphate accumulating organisms in biological phosphate removal, *Water Sci. Technol.* 39, 31-42.
- Mino, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1998): Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process, *Water Res.* 32, 3193-3207.
- Oehmen, A., Lemos, P. C., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Blackall, L. L., Reis, M. A. M. (2007): Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale, *Water Res.* 41, 2271-2300.
- Saito, T., Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M. (2004): Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms, *Water Res.* 38, 3760-3768.
- Smolders, G. J., van der Meij, J., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. (1994): Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence, *Biotechnol. Bioeng.* 43, 461-470.
- Van Loosdrecht, M. C. M., Brandse, F. A., de Vries, A. C. (1998): Upgrading of waste water treatment processes for integrated nutrient removal — The BCFS® process, *Water Sci. Technol.* 37, 209-217.
- Vargas, M., Cassas, C., Baeza, J. A. (2009): Maintenance of phosphorus removal in an EBPR system under permanent aerobic conditions using propionate, *Biochem. Eng. J.* 43, 288-296.
- Wang, X., Zhao, J., Yu, D., Chen, G., Du, S., Zhen, J., Yuan, M. (2019): Stable nitrite accumulation and phosphorous removal from nitrate and municipal wastewaters in a combined process of endogenous partial denitrification and denitrifying phosphorus removal (EPDPR), *Chem. Eng. J.* 355, 560-571.
- Wang, Y., Pan, M., Yan, M., Peng, Y., Wang, S. (2007): Characteristics of anoxic phosphorus removal in sequence batch reactor, *J. Environ. Sci.* 19, 776-782.
- Zeng, R. J., Lemaire, R., Yuan, Z., Keller, J. (2003): Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor, *Biotechnol. Bioeng.* 84, 170-178.
- Zeng, W., Bai, X., Guo, Y., Li, N., Peng, Y. (2017): Interaction of “*Candidatus Accumulibacter*” and nitrifying bacteria to achieve energy-efficient denitrifying phosphorus removal via nitrite pathway from sewage, *Enzyme Microb. Technol.* 105, 1-8.