

# Aerobni granulirani mulj uklanjanje organskih i anorganskih sastojaka iz otpadne vode

---

Ljubić, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:908958>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-07**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Sara Ljubić**

7362/PT

**AEROBNI GRANULIRANI MULJ: UKLANJANJE ORGANSKIH  
I ANORGANSKIH SASTOJAKA IZ OTPADNE VODE**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biotehnologija u zaštiti okoliša

**Mentorica:** prof. dr. sc. *Tibela Landeka Dragičević*

**Zagreb, 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija**

**Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo**  
**Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**  
**Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija**

**Aerobni granulirani mulj: uklanjanje organskih i anorganskih sastojaka iz  
otpadne vode**

***Sara Ljubić, 0058210226***

**Sažetak:** Aerobni granulirani mulj (AGS) predstavlja guste kompaktne agregate sastavljene od samoimobilizirajućih bakterija, izvrsne taloživosti. Biološka obrada otpadnih voda primjenom aerobnog granuliranog mulja najčešće se provodi korištenjem SBR tehnologije. Kompaktna mikrobna struktura i snižena vrijednost indeksa mulja omogućuju samostalnu separaciju biomase od obrađene vode unutar jednog bioreaktora. Postojanje različitih redoks zona unutar pojedinačnih granula omogućava istovremeno uklanjanje organskih spojeva i provođenje nitrifikacije i denitrifikacije. Brojni okolišni i procesni čimbenici odgovorni su za nastanak i stabilnost aerobnih granula, poput: hidrodinamičkih sila smicanja, odgovarajućeg vremena taloženja, organskog opterećenja, temperature i sastava otpadne vode. Primjena AGS smatra se poželjnom biološkom metodom obrade otpadnih voda zbog smanjene potrebe za prostornom površinom, nižih troškova procesa i učinkovitog pročišćavanja različitih vrsta otpadnih voda. Zbog brojnih prednosti u usporedbi s aktivnim muljem, privlači interese mnogih znanstvenika.

**Ključne riječi:** aerobne granule, izvedba procesa, mehanizam formiranja granula, mikrobna zajednica, stabilnost granula

**Rad sadrži:** 30 stranica, 6 slika, 1 tablica, 73 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici  
Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, 10000 Zagreb**

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

**Datum obrane:** 01. srpnja 2020.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Bachelor thesis**

**University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Food technology**

**Department of Food-technology engineering  
Laboratory for biological wastewater treatment**

**Scientific area: Biotechnical Science  
Scientific field: Food Technology**

**Aerobic granular sludge: removal of organic and inorganic compounds  
from wastewater**

***Sara Ljubić, 0058210226***

**Abstract:** Aerobic granular sludge (AGS) is a spherical dense biomass formed by self-immobilization with enhanced settling properties. The AGS process uses SBR technology. Compact microbial structure with lower SVI values allows separation of biomass and treated wastewater in the bioreactor itself. Maintenance of different redox conditions in the granules allows simultaneous removal of organic matters or simultaneous nitrification and denitrification. Numerous operational factors influence the stability of granules, i.e. hydrodynamic shear forces, settling velocities, organic loading rate and wastewater composition. AGS technology is promising biological method for wastewater treatment plants because of smaller land footprint, lower costs and efficient wastewater treatment. Due to its advantages compared to activated sludge, aerobic granular sludge has gained enormous interest among scientist.

**Keywords:** aerobic granular sludge, granulation mechanisms, granule stability, microbial community, process performance

**Thesis contains:** 30 pages, 6 figures, 1 tables, 73 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10000 Zagreb**

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

**Defence date:** July 1<sup>st</sup> 2020

## **SADRŽAJ:**

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. Aerobni granulirani mulj – definicija.....	2
2.2. Prednosti primjene AGS.....	4
2.3. Postupak formiranja aerobnih granula – mehanizam granulacije .....	5
2.4. Mikrobni sastav granula.....	7
2.5. Čimbenici stabilnosti granula.....	9
2.5.1. Veličina i struktura granula .....	9
2.5.2. Hidrodinamičke sile smicanja .....	11
2.5.3. Svojstva taloženja aerobno granuliranog mulja.....	12
2.5.4. Koncentracija organskih sastojaka .....	13
2.5.5. Uloga EPS u formiranju granula .....	13
2.5.6. Sastav otpadne vode.....	14
2.6. Primjena AGS u uklanjanju organskih i anorganskih sastojaka iz otpadne vode .....	15
2.6.1. Uklanjanje dušika primjenom AGS.....	15
2.6.2. Uklanjanje fosfata primjenom AGS .....	16
2.6.3. Istovremeno uklanjanje organskih i anorganskih sastojaka .....	17
2.7. Čimbenici procesa uklanjanja C, N i P iz otpadne vode .....	17
2.7.1. Strategija hranjenja .....	17
2.7.2. Učinak temperature na aktivnost AGS.....	18
2.7.3. Koncentracija otopljenog kisika .....	18
2.8. Biotehnoška primjena aerobnog granuliranog mulja u uklanjanju C, N i P iz otpadne vode.....	19
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	23
<b>4. LITERATURA</b> .....	24

## 1. UVOD

Aerobni granulirani mulj (AGS, engl. *Aerobic granular sludge*) je vrsta biofilma kojeg čine samoimobilizirajuće bakterijske stanice bez nosača, koje tvore kompaktne guste agregate – granule – zrnati mulj, u aerobnim uvjetima, izvrsne taloživosti (de Kreuk i sur., 2005a; Gao i sur., 2011a; Yae i sur., 2019). U gustoj strukturi granule prisutne su različite funkcionalne skupine mikroorganizama (Winkler i sur., 2013), mogu koegzistirati aerobne i anaerobne metaboličke aktivnosti, poput primjerice istovremenog uklanjanja organskih spojeva, dušika i fosfora (de Kreuk i sur., 2005a; de Kreuk i sur., 2005b; Li i sur., 2014) i istovremene nitrifikacije i denitrifikacije (Yilmaz i sur., 2008). Morfologija, gustoća i veličina granula mulja je, kao u biofilm sustavima, izravno povezana sa silama smicanja i odgovarajućim odvajanjem brzotaložive biomase u reaktoru (Liu i Tay, 2002; van Loosdrecht i sur., 1995). AGS istovremeno može ukloniti fosfat i dušik zahvaljujući gradijentu kisika unutar granule (de Bruin i sur., 2004). Brojni su čimbenici odgovorni za nastanak i stabilnost aerobnog granuliranog mulja, poput uporabe samoimobilizirajućih mikrobnih kultura, odabira brzine taloženja, primjene sile smicanja, brzina rasta organizama, gradijent supstrata unutar granule, formiranje ekstracelularne polimerne tvari (EPS, engl. *Extracellular polymeric substances*). U laboratorijskim uvjetima stvaranje aerobnog granuliranog mulja se uglavnom događa strogim režimom odabira istaloženog mulja i primjenom kratkog vremena taloženja, pri čemu se u reaktoru zadržavaju organizmi koji formiraju agregate dok se ostali ispiru iz sustava. Produkcija EPS sa spororastućim organizmima poboljšava formiranje granula (Liu i sur., 2004). Veličina granula, ovisno o radu reaktora, može biti u rasponu od nekoliko stotina mikrometara do nekoliko milimetara (Liu i Tay, 2002).

Cilj ovog rada je dati pregled dosadašnjih spoznaja u području primjene aerobnog granuliranog mulja u obradi otpadnih voda s ciljem uklanjanja organskog i anorganskog onečišćenja, kao i mehanizam formiranja granula, sastav mikrobne zajednice i istaknuti čimbenike stabilnosti granula.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Aerobni granulirani mulj – definicija

Definicija aerobnog granuliranog mulja određena je tijekom prve radionice o aerobnom granuliranom mulju, održane 2004. godine (de Kreuk i sur., 2005c): «Granule koje čine aerobni granulirani mulj su agregati mikrobnog podrijetla koji se ne združuju-povezuju pri smanjenom hidrodinamičkom smicanju i talože se znatno brže od aktivnog mulja».

Tijekom radionice o granuliranom mulju, 2006. godine, delegati su se dogovorili o izjavi dajući sljedeće objašnjenje aerobnog granuliranog mulja:

- (1) agregati mikrobnog podrijetla: govoreći o granuliranom (zrnatom) aktivnom mulju podrazumijeva se da aerobne granule moraju sadržavati aktivne mikroorganizme i ne mogu se sastojati samo od komponenata mikrobnog podrijetla (poput bjelančevina, EPS itd.). Očekuje se da će populacija mikroba u aerobnom granuliranom mulju biti manje ili više slična onima u aktivnom mulju i/ili biofilmu, tako da u definiciji ne treba opisivati određene skupine mikroorganizama. Nadalje, granule se formiraju bez dodavanja nosača.
- (2) pri smanjenom hidrodinamičkom smicanju nema povezivanja mikroorganizama: ovo opisuje razliku u ponašanju između aktivnog mulja i aerobnog granuliranog mulja. Flokule aktivnog mulja se povezuju u veće nakupine kad se talože (kada se miješana tekućina mulja ne prozračuje ili ne miješa), dok se granule ne povezuju i talože se kao zasebne jedinice.
- (3) granule se talože znatno brže od aktivnog mulja: to znači da  $SVI_{10}$  ( $SVI$  nakon 10 minuta taloženja) u kombinaciji sa  $SVI_{30}$  treba koristiti za karakterizaciju taloživosti granuliranog aktivnog mulja, kako su predložili Schwarzenbeck i sur. (2004). Razlika između vrijednosti  $SVI_{10}$  i  $SVI_{30}$  je izvrstan pokazatelj formiranja granula i ukazuje na stupanj zadebljanja nakon taloženja.
- (4) minimalna veličina granula trebala bi biti takva da biomasa i dalje ispunjava navode točke 3. Minimalna veličina postavljena je na 0,2 mm, što je odlučeno na temelju mjerenja u prošlosti. Ova se granica može prilagoditi prema vrsti granule, sve dok su ispunjeni ostali zahtjevi definicije.
- (5) prosijavanje se smatra ispravnom metodom za skupljanje granula iz spremnika aktivnog mulja ili iz reaktora aerobnih granula, što također određuje određenu čvrstoću potrebne matrice za biomasu.

Kad agregat ispuni sve prethodno opisane karakteristike može se nazvati aerobnim granuliranim (zrnastim) muljem.

To pojednostavljuje tumačenje eksperimentalnih rezultata i pojašnjava kada treba govoriti o aerobnom granuliranom (zrnastom) mulju, aktivnom mulju ili biofilmu.

U obradi otpadnih voda dvije su osnovne značajke biološke obrade: uklanjanje onečišćenja iz otpadne vode i razdvajanje obrađene vode od mikrobne biomase (Gao i sur., 2016; Sarma i sur., 2017; Xia i sur., 2018).

Primjena AGS smatra se poželjnom metodom u obradi otpadnih voda zbog smanjene potrebe za prostornom površinom, nižih troškova procesa i učinkovitog pročišćavanja otpadnih voda. AGS karakterizira kompaktna mikrobna struktura, veličina čestica, te velika brzina taloženja (de Bruin i sur., 2004; Nancharaiah i sur., 2019). Granulirani mulj se koristi u pročišćavanju različitih vrsta otpadnih voda i privlači interese mnogih znanstvenika. Kompaktna mikrobna zajednica AGS osigurava učinkovitu obradu oksidirajućih i reducirajućih onečišćenja u otpadnoj vodi (de Kreuk i sur., 2005a; Nancharaiah i Reddy, 2018; Wilén i sur., 2018).

Granule se formiraju iz aktivnog mulja pri određenim uvjetima okoliša (Wilén i sur., 2018):

- (i) šaržni rad sustava s periodima obilnog hranjenja/gladovanja,
- (ii) velikim hidrodinamičkim silama smicanja,
- (iii) velikim omjerom visine i promjera reaktora, i
- (iv) kratkim vremenom taloženja,

koji doprinose stvaranju gustih mikrobnih agregata.

Za uzgoj AGS koriste se SBR reaktori (SBR, engl. *Sequencing Batch Reactor*), a dvije glavne prednosti njihove primjene su (Liu i sur., 2004):

- (i) odabir spororastućih mikroorganizama ključnih za uzgoj stabilnog AGS, i
- (ii) istovremeno uklanjanje ugljika, dušika i fosfora iz otpadne vode.

Primjenom aerobnog SBR reaktora osigurava se razvoj i odabir poželjnih agregata mulja koji će se sedimentacijom unutar istog reaktora odvojiti od obrađene vode. Pokretačke sile za formiranje granula unutar SBR reaktora su hidrodinamičke sile smicanja i sustavi s gladovanjem i hranjenjem. Sile smicanja utječu na strukturne i funkcionalne karakteristike AGS; jače sile smicanja stvaraju guste biofilme i provode selekciju prisutnih mikrobnih sojeva (Nancharaiah i Reddy, 2018).



## 2.2. Prednosti primjene AGS

Brojne su prednosti primjene aerobnog granuliranog mulja pred flokuliranim muljem (Nancharaiah i Reddy, 2018; Wilén i sur., 2018), poput:

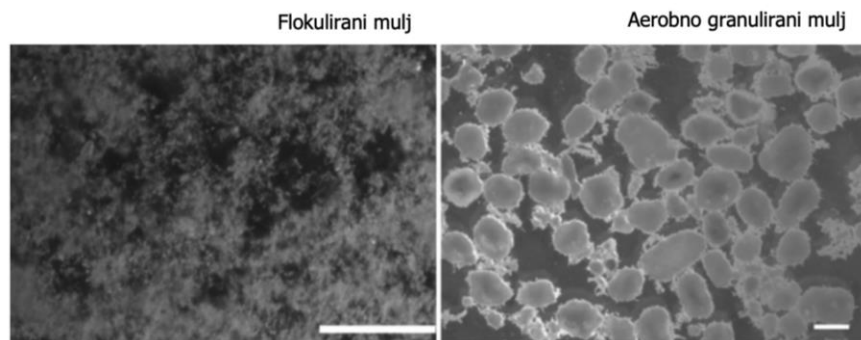
- (i) izvrsna svojstva taloženja,
- (ii) velika koncentracija suspendiranih čestica u aeracijskim spremnicima,
- (iii) vođenje sustava pri manjem hidrauličkom vremenu zadržavanja (HRT, engl. *Hydraulic Retention Times*),
- (iv) mogućnost održavanja različitih redoks okruženja; postojanje oksičnih, anoksičnih i anaerobnih zona u granulama, i
- (v) gustoća i makroveličina čestica.

Značajna su smanjenja površine potrebne za izgradnju postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda koji koriste AGS; primjenom AGS može se reducirati volumen bioreaktora smanjujući vrijeme taloženja i istovremenom provedbom nitrifikacije i denitrifikacije i uklanjanja fosfora. Dodatni pročišćivači vode, miješalice te sustavi za recirkulaciju biomase i vode (recirkulacijske pumpe) nisu potrebni što dovodi do značajnih smanjenja u potrošnji električne energije (Bengtsson i sur., 2018; de Kreuk i sur., 2005b; Pronk i sur., 2015; Yae i sur., 2019).

Karakteristike aerobnih granula su veće brzine taloženja i snižena vrijednost indeksa mulja (SVI, engl. *Sludge Volume Index*) koje uz kompaktnu strukturu omogućavaju samostalnu separaciju biomase od obrađene vode unutar reaktora. AGS omogućava obradu organskog onečišćenja, dušika ili fosfora unutar jednog reaktora bez potrebe za dodatnim pročišćivačima ili posebnim aerobnim i anoksičnim odjeljcima (Nancharaiah i sur., 2019).

Studije su pokazale kako se unutar granula mogu istovremeno odvijati procesi nitrifikacije i denitrifikacije; odnosno procesi uklanjanja organskih sastojaka, dušika i fosfora te da aerobna i anaerobna metabolička aktivnost koegzistiraju (Gonzalez-Gil i Holliger, 2011; Li i sur., 2014). Kompaktna struktura i visoka gustoća omogućavaju dobru separaciju obrađene vode od krutih čestica i zadržavanje biomase u reaktoru (Gao i sur., 2011a).

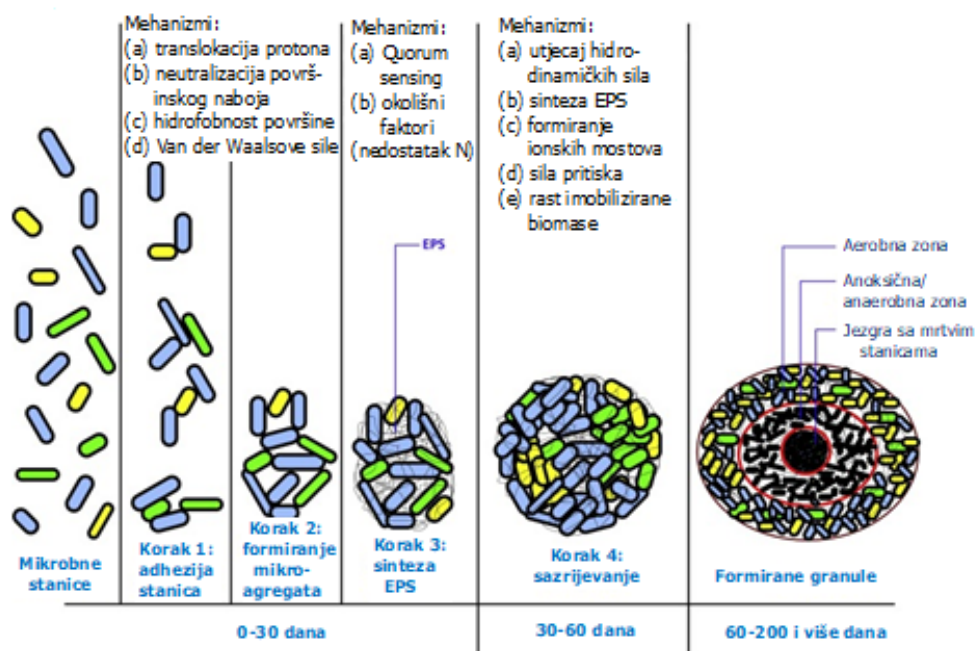
Morfološke karakteristike flokuliranog i granuliranog mulja date su slikom 1.



Slika 1. Morfološki prikaz flokuliranog i granuliranog mulja (Nancharaiah i sur., 2019).

### 2.3. Postupak formiranja aerobnih granula – mehanizam granulacije

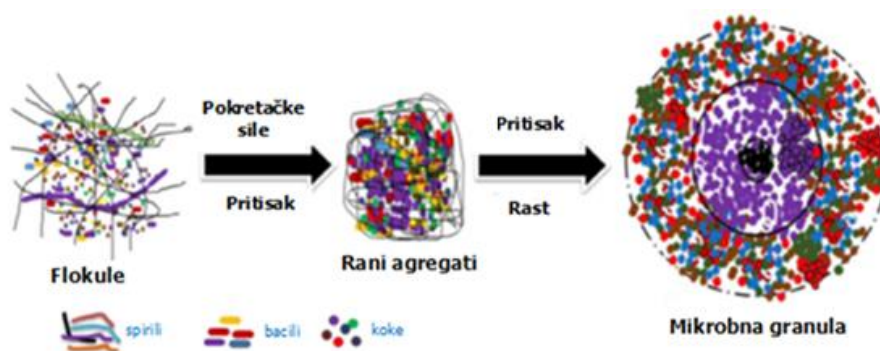
Mehanizam granulacije rezultat je biotičkih i abiotičkih interakcija između mikroorganizama i čestica mulja opisanih kroz nekoliko različitih mehanizama koji djeluju istovremeno. Rezultat granulacije su kompaktne nakupine sferičnog oblika, samoimobilizirane u matriksu ekstracelularne polimerne tvari (EPS, engl. *Extracellular polymeric substances*) promjera 1-3 mm (Slika 2) (Nancharaiah i Reddy, 2018; Wilén i sur., 2018).



Slika 2. Mehanizam formiranja aerobnih granula u SBR (Lv i sur., 2014; Sarma i sur., 2017).

Mehanizam aerobne granulacije odvija se kroz nekoliko koraka (Liu i Tay, 2002; Sarma i sur., 2017), detaljnije prikazanih na slici 3:

- (1) Fizički kontakt između bakterija. Faktori koji uvjetuju ostvarivanje kontakta su: hidrodinamičke sile, prijenos mase, gravitacija, pokretljivost stanica i termodinamički učinak.
- (2) Stabilizacija višestaničnih kontakata nastalih djelovanjem privlačnih sila. Sile privlačenja se dijele na fizikalne (primjerice hidrofobnost, Van der Waalove sile, napetost površine), kemijske i biokemijske sile.
- (3) Sazrijevanje agregacije stanica formiranjem EPS na kojeg se stanice mogu vezati i razmnožavati.
- (4) Formiranje trodimenzionalne strukture oblikovane hidrodinamičkim silama smicanja.



Slika 3. Mehanizam granulacije aerobnih granula u SBR reaktorima (Sarma i sur., 2017).

Početni stadij granulacije određen je različitim silama i svojstvima biomase, poput: hidrodinamičkih sila, difuzije, pokretljivosti stanica i svojstvima staničnih površina (Liu i sur., 2009; Liu i Tay, 2002). Kada su razvijeni prvi mikrobnii agregati, uvjeti u reaktorima omogućavaju njihov daljnji rast i formiranje gustih kompaktnih nakupina. Unutar njih moguća je prisutnost različitih mikrobnih zajednica u ekološkim nišama, različitih specifičnih funkcija (Liu i Tay, 2004; Winkler i sur., 2013). Svaka faza u formiranju granula je kompleksna i na nju utječu različiti fizikalni, kemijski i stanični mehanizmi. Pravilno proveden proces granulacije važan je zbog uspješnog uklanjanja nutrijenata iz vode i postizanja niskih koncentracija suspendiranih čestica u obrađenoj vodi (Wilén i sur., 2018).

Usprkos mnogim predloženim mehanizmima granulacije, nije u potpunosti objašnjena kompleksna pretvorba flokuliranog mulja u aerobni granulirani mulj. Granule se iz

aktivnog mulja formiraju djelovanjem hidrodinamičkih sila smicanja, primjenom različitih sistema hranjenja unutar šaržnih reaktora te ispiranjem negranulirane biomase. Utjecaj hidrodinamičkih sila i izmjena gladovanja/obilnog hranjenja povećava hidrofobnost površine stanica i ubrzava agregaciju biomase. Važan faktor u procesu formiranja granula iz flokuliranog mulja je ispiranje negranulirane biomase. Dokazano je kako su vrste mikroorganizama u granuliranom mulju također prisutne i u ispranoj biomasi. Jednom kada su granule oblikovane, kao posljedica erozije dolazi do ispiranja manje zastupljenih mikrobnih vrsta, dok se one zastupljene u većoj mjeri unutar granula nastavljaju razvijati (Szabó i sur., 2017a).

#### **2.4. Mikrobni sastav granula**

Osnovni rodovi mikroorganizama pronađeni u aktivnom mulju su: *Zooglea*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Comomonas*, *Brevibacterium* i *Acinetobacter* (Bitton, 2005).

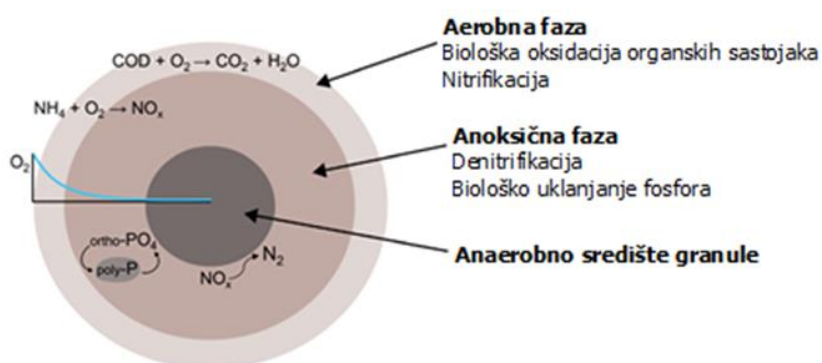
Mikrobna zajednica AGS može sadržavati čiste kulture mikroorganizama, svega nekoliko specifičnih vrsta ili imati razvijenu iznimno raznoliku mikrobiološku strukturu; sve zavisno od sastava otpadne vode i inokuluma te procesnih i okolišnih čimbenika, kao što su: vrijeme taloženja, koncentracija otopljenog kisika (DO, engl. *Dissolved Oxygen*), organsko opterećenje (OLR, engl. *Organic Loading Rate*) i različiti redoks uvjeti (Wilén i sur., 2018).

U istraživanju učinkovitosti uklanjanja nutrijenata iz komunalne otpadne vode te određivanja specifičnih karakteristika granulirane biomase Cydzik-Kwiatkowska i sur. (2018) su pokazali dominantnost bakterija rodova *Proteobacteria* i *Actinobacteria*, dok je značajna prisutnost rodova *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* i *Actinobacteria* dokazala kako su nužni za formiranje stabilnih granula i razgradnju organskih komponenti influenta. Granuliranu biomasu čine mikroorganizmi sposobni transformirati komponente s ugljikom i dušikom i provesti procese nitrifikacije i denitrifikacije. Bakterija *Tetrasphaera* je visoko zastupljena tijekom cijelog procesa, bez obzira na vrstu biomase prisutne unutar bioreaktora, dok je bakterija *Microthrix* u značajnijoj mjeri prisutna samo u početnim fazama granulacije (Cydzik-Kwiatkowska i sur., 2018).

Analizom mikrobne zajednice mogu se uočiti karakteristike AGS, razlike sa flokuliranim aktivnim muljem, te prisutnost dominantnih vrsta mikroorganizama odgovornih za učinkovito pročišćavanje otpadnih voda. Smatralo se kako AGS ima raznovrsniju mikrobnu strukturu od flokuliranog mulja zbog gradijenta supstrata unutar granula koji

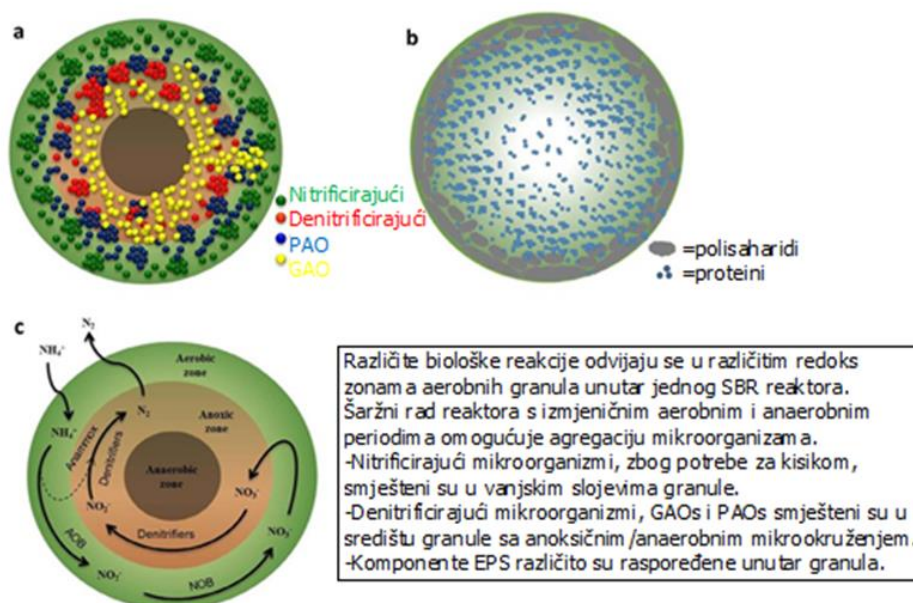
osigurava nastanak različitih ekoloških niša. Međutim, iste skupine mikroorganizama prisutne su u granuliranom i flokuliranom mulju, a razlika je u njihovom omjeru na razini reda ili razreda (Guo i sur., 2011; Winkler i sur., 2013). Vrlo slična mikrobna struktura granuliranog i flokuliranog mulja ukazuje na to da ne postoji jaka selekcija mikrobioloških vrsta; većina bakterija prisutnih u granuliranom i flokuliranom mulju pripada sljedećim rodovima: *β-Proteobacteria*, *Sphingobacteria* i *Flavobacteria* (Zhou i sur., 2014). Primjenom mikrobiološke analize pokazano je kako je količina *β-proteobacteria*, *δ-proteobacteria*, *Flavobacteria* i *Cytophagia* znatno povećana prilikom pretvorbe flokuliranog mulja u aerobni granulirani mulj (Świątczak i Cydzik-Kwiatkowska, 2018). Tijekom sazrijevanja biomase dolazi do promjene prisutnih vrsta mikroorganizama u mulju. Prisutnost nitastih gljivica i protozoa u početnom stadiju granulacije je bitna za konformaciju granula, jer povećavaju dodirnu površinu na koju se bakterije mogu pričvrstiti formirajući pritom gustu trodimenzionalnu strukturu biomase (Beun i sur., 1999; Weber i sur., 2007). Postupak ispiranja biomase tijekom postupka granuliranja utječe na mikrobnu raznolikost. Analizom je utvrđeno kako su rodovi bakterija zastupljeni u ispranoj biomasi vrlo slični bakterijama prisutnim u granuliranom mulju. Primjerice, bakterije *Flavobacterium* i *Bdellovibrio* su u većoj mjeri zastupljene u granulama, dok su bakterije *Meganema* i *Zoogloea* prevladavale u ispranoj biomasi (Szabó i sur., 2017a).

Raspored bakterija u aerobnoj granuli (Slika 4): heterotrofne aerobne bakterije u vanjskom sloju, amonijak-oksidirajuće vrste u unutrašnjosti, te fakultativne i anaerobne bakterije u središtu granule (Gao i sur., 2011a).



Slika 4. Shematski prikaz aerobne granule s istaknutim redoks zonama (Wilén i sur., 2018).

Raspodjela mikroorganizama, ugljikohidrata i EPS u granuli prikazana je slikom 5.



Slika 5. Grafički prikaz raspodjele: a) mikroorganizama; b) ugljikohidrata i proteina matriksa ekstracelularnih polimernih tvari; i c) puta uklanjanja dušika (Winkler i sur., 2013, 2015), u granuli.

## 2.5. Čimbenici stabilnosti granula

Značajan učinak na formiranje i stabilnost granula aerobnog mulja imaju procesni i okolišni faktori, kao što su:

- hidrodinamičke sile smicanja,
- vrijeme taloženja,
- temperatura,
- sastav otpadne vode.

Stabilnost granula se smatra velikim ograničenjem za rasprostranjenu primjenu AGS procesa u obradi otpadnih voda, a problemi koji pritom nastaju su gubitak AGS iz sustava, visoka koncentracija suspendiranih čestica u obrađenoj vodi, pogoršanje učinkovitosti uklanjanja nutrijenata ili općeniti neuspjeh u provedbi cjelokupnog biološkog postupka obrade otpadne vode (Wilén i sur., 2018).

### 2.5.1. Veličina i struktura granula

Veličina aerobnih granula i njihova struktura su presudni čimbenici učinkovite provedbe AGS procesa jer su izravno povezani s funkcijom i mikrobiološkom aktivnošću. Razlike u veličini i strukturi granula pojavljuju se zbog različitog rasta mikroorganizama u

unutrašnjosti i na površini granula, neke bakterije su zastupljenije u vanjskim slojevima, a neke u središtu granule (de Kreuk i sur., 2005a).

Primjenom matematičkih modela pokazano je kako su granule višeslojne nakupine u kojima dolazi do smanjenja gradijenta kisika idući od površine prema središtu granule (Slika 4). Prema toj teoriji u vanjskim slojevima bogatim kisikom dominiraju nitrificirajući mikroorganizmi koju su u izravnom kontaktu s otpadnom vodom, dok su denitrificirajući i fosfor-akumulirajući mikroorganizmi (PAOs, engl. *Phosphate accumulating organisms*) smješteni u unutrašnjim slojevima (Winkler i sur., 2013; Xavier i sur., 2007). Szabo i sur. (2017b) navode kako nitrificirajući mikroorganizmi rastu na vanjskim površinama bogatim kisikom, ali također u šupljinama i kanalima u unutrašnjosti granula. Prisutnost amonijak-oksidirajućih bakterija u unutrašnjim slojevima granula ukazuje na to da se kisik i amonijak prenose kroz granule duž kanala. To je dokaz kako biofilmovi i granule posjeduju heterogene strukture koje sadrže pore, kanale, te udubine ispunjene vodom (Flemming i Wingender, 2010; Wimpenny i sur., 2000).

Unutar granula, zbog velikog difuznog gradijenta elektron donora i akceptora, stvaraju se različiti redoks uvjeti koji omogućavaju istovremeno odvijanje aerobnih i anoksičnih procesa, odnosno procesa nitrifikacije, denitrifikacije i uklanjanja fosfora. Uravnoteženost aerobne i anoksične faze unutar granula ovisi o njenim karakteristikama kao što su poroznost, gustoća ili veličina, ali i o čimbenicima procesa (DO, omjer C/N, OLR). Djelovanje ovih čimbenika uzajamno je povezano te promjena jednog od njih utječe na ostale parametre (de Kreuk i sur., 2007; Isanta i sur., 2013; Wilén i sur., 2018).

Prisutnost anaerobnih zona u granulama omogućava uklanjanje dušika i fosfora bez osiguravanja anaerobnih uvjeta u reaktorima (Sławiński, 2015).

Granule imaju kompaktnu i gustu strukturu koja omogućava dobra svojstva taloženja i poboljšane kapacitete zadržavanja biomase u sustavu (Adav i sur., 2008; Liu i sur., 2004). Ovakva struktura granula mulja omogućava razdvajanje biomase od obrađene vode djelovanjem sile gravitacije te doprinosi značajnom smanjenju potrebne površine postrojenja, a time i ukupnih troškova (Nancharaiyah i sur., 2019).

Važan fizički čimbenik granula je njihova veličina, koja može biti u rasponu od nekoliko stotina mikrometara do nekoliko milimetara (Liu i Tay, 2002). Procesni uvjeti imaju veliki utjecaj na veličinu granula; pri visokom organskom opterećenju formiraju se granule većih veličina dok snižene vrijednosti organskog opterećenja daju manje i kompaktnije granule (Li i sur., 2008). Ukoliko je veličina čestica manja od 4 mm,

granulirani mulj će imati bolju sposobnost taloženja, gustoću i jačinu. S druge strane, veći promjer od 4 mm dovodi do pogoršanja svojstava taloženja i gustoće mikrobne strukture (Toh i sur., 2003).

Za granule veće od 0,5 mm ograničavajući faktor za njihovu aktivnost bila je koncentracija otopljenog kisika; brzina uklanjanja supstrata bila je gotovo tri puta veća kod čestica veličine 0,5 mm nego u granulama od 1 mm. Smatra se kako je optimalna veličina aerobnih granula ispod 0,5 mm (Li i sur., 2008; Lin i sur., 2005).

Prema istraživanju Liu i Tay (2015) veličina granula od 0,6 do 1,2 mm je bila pogodna za rast amonijak-oksidirajućih bakterija, dok su nitrit-oksidirajuće bakterije preferirale veće granule od 1,2 do 1,8 mm. Nije poželjan razvitak većih granula jer dolazi do nestabilnosti i manjih površina koje dovode do smanjenja rasta biomase i uklanjanja nutrijenata (de Kreuk i sur., 2007; Liu i Tay., 2015). Fizička čvrstoća granula održava njihovu stabilnost i strukturu tijekom procesa provedbe pročišćavanja otpadnih voda i daje im sposobnost da izdrže velike sile abrazije i sile smicanja (Gao i sur., 2011a).

### **2.5.2. Hidrodinamičke sile smicanja**

Hidrodinamičke sile smicanja smatraju se bitnim pokretačkim silama za formiranje stabilnih granula mulja unutar aerobnog SBR reaktora. Skupa sa posebnim sistemom hranjenja koji uključuje faze gladovanja, značajno utječu na provedbu formiranja granula i održavanja njihove stabilne strukture.

Hidrodinamičke sile smicanja, prouzrokovane prozračivanjem reaktora, potiču stvaranje ekstracelularnih polimernih tvari (EPS) s većim udjelom polisaharida, povećavajući hidrofobnost na površini stanica koja potiče formiranje granula. Sile smicanja utječu na oblik i strukturu aerobnih granula. Djelovanjem ovih sila uklanjanju se nepravilni i slabo pričvršćeni agregati s površine granula oblikujući pritom kompaktnu, gustu biomasu (Nancharaiah i Reddy, 2018; Tay i sur., 2001).

Hidrodinamičke sile smicanja najčešće su u rasponu od 1 do 2  $\text{cm s}^{-1}$ . Istraživanja su pokazala kako su visoke vrijednosti površinskih brzina strujanja zraka ključne za nastanak AGS, odnosno brzine iznad 1,2  $\text{cm s}^{-1}$  bile su nužne za razvoj stabilnih granula (Beun i sur., 1999; Tay i sur., 2001).

Devlin i sur. (2017) su dokazali da se kod otpadnih voda niske vrijednosti onečišćenja (300  $\text{mg KPK L}^{-1}$ ), proces formiranja granula može provesti pri brzinama od 0,42  $\text{cm s}^{-1}$ . Međutim kod otpadnih voda s većim organskim opterećenjem (600 do 1200  $\text{mg KPK L}^{-1}$ ), taj postupak se ne može provesti. Prema tom istraživanju, mehanizam granulacije ovisi o interakciji različitih parametara koji poboljšavaju rast spororastućih



mikroorganizama: pri višim vrijednostima koncentracije organskih sastojaka (OLR, engl. *Organic Loading Rate*) potrebne su jače sile smicanja koje će ukloniti brzorastuće mikroorganizme s površine, dok niže vrijednosti OLR zahtijevaju slabije sile.

Prema istraživanju Chen i Lee (2015) i Zhou i sur. (2014) veće sile smicanja potrebne su za provedbu procesa granulacije ukoliko je primijenjeno duže vrijeme taloženja. Ranije studije su naglašavale vrijednost visokih površinskih brzina za inicijaciju procesa formiranja stabilnih granula. Ipak, očigledno je kako se i pri niskim vrijednostima može pravilno provesti proces formiranja granula uz kontroliranje drugih podjednako bitnih čimbenika.

### **2.5.3. Svojstva taloženja aerobno granuliranog mulja**

U biološkoj obradi otpadnih voda ključnu ulogu ima svojstvo taloženja biomase koje je izravno povezano s kapacitetom zadržavanja biomase i procesom separacije krutih tvari od tekućine unutar reaktora. Svojstva taloženja se najčešće izražavaju kao indeks mulja, odnosno SVI vrijednost. Indeks mulja je standardna mjera fizikalnih svojstava aktivnog mulja koja služi za procjenu sposobnosti taloženja mulja, a određuje se kao volumen (mL) koji ima 1 g biomase nakon 30 min taloženja. Općenito je vrijednost SVI ispod 80 mL g<sup>-1</sup> pa čak i ispod 20 mL g<sup>-1</sup> (Gao i sur., 2011a; Lin i sur., 2005; Zheng i sur., 2006).

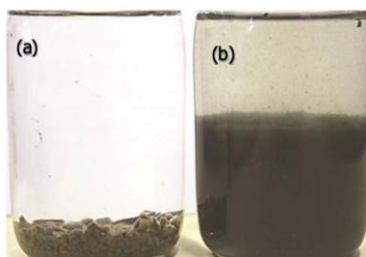
Liu i sur. (2005) su istaknuli kako je brzina taloženja funkcija SVI, prosječne veličine čestica mulja i koncentracije biomase. Na formiranje granula aerobnog mulja velik utjecaj ima vrijeme taloženja. Kratki period taloženja će dovesti do nakupljanja brzo-taložnih agregata, dok će se sporo-taložne granule isprati. U šaržnim reaktorima taloženje se najčešće provodi tijekom 2 do 10 min. Provedena istraživanja navode kako nastaju poteškoće prilikom nastanka granula ako je vrijeme taloženja dulje od 15 min (Adav i sur., 2008; Gao i sur., 2011a).

De Bruin i sur. (2004) navode kako zbog visoke brzine taloženja dodatni taložnik nije potreban i kako se potrebe za površinom sustava obrade mogu smanjiti do 80%.

Granule aerobnog mulja okarakterizirane su nižom SVI vrijednosti i povećanom brzinom taloženja koje omogućavaju samostalnu separaciju biomase od pročišćene vode unutar bioreaktora (Nancharaiyah i sur., 2019).

Na koncentraciju, veličinu i oblik AGS značajniji utjecaj ima vrijeme taloženja nego koncentracija organskih tvari i dušika u influentu (Yae i sur., 2019).

Usporedba volumena jednake količine istaloženog granuliranog i flokuliranog mulja dana je slikom 6.



Slika 6. Usporedba volumena kojeg zauzima jednaka količina granuliranog (a) i flokuliranog mulja (b), nakon provedenog taloženja (Nancharaiah i sur., 2019).

#### **2.5.4. Koncentracija organskih sastojaka**

Povećanjem koncentracije organskih sastojaka povećava se gustoća i količina aerobnog mulja, te se ubrzava rast mikroorganizama što dovodi do nastanka labavije strukture mulja. Istovremeno se smanjuje raznovrsnost prisutnih mikroorganizama. Prekomjerno organsko opterećenje potiče rast nitastih vrsta mikroorganizama, koji u povećanoj koncentraciji mogu dovesti do pogoršanja taloživosti AGS (Adav i sur., 2009; Zheng i sur., 2006).

Istraživanje provedeno od strane Li i sur. (2008) pokazalo je kako su granule aerobnog mulja, pri različitim vrijednostima organskog opterećenja (OLR), sadržavale različite vrste mikroorganizama. Veća vrijednost OLR ( $4,5 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) rezultirala je bržim procesom granulacije i dovela do nastanka većih i poroznijih granula. Niže koncentracije organskog opterećenja ( $1,5 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) proizvele su manje, kompaktnije granule za razliku od većih koncentracija ( $3\text{-}4,5 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ).

Szabó i sur., (2017b) proučavali su utjecaj različite koncentracije organskih sastojaka ( $0,9, 1,9$  i  $3,7 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) na obradu sintetske otpadne vode unutar AGS reaktora. U sva tri slučaja ostvareno je gotovo 100% uklanjanje ugljika i amonijaka, dok je maksimalno uklanjanje dušika bilo moguće jedino primjenom najveće vrijednosti OLR, te je iznosilo 66%. Kako bi granule zadržale svoju funkcionalnost i stabilnost pri većim vrijednostima OLR, predloženo je povećanje sila smicanja i površinskih brzina strujanja zraka djelovanjem kojih bi površinski rast granula bio smanjen dajući time stabilniju granulaciju (Devlin i sur., 2017).

#### **2.5.5. Uloga EPS u formiranju granula**

Za stabilnost strukture granula povoljna je prisutnost mikroorganizama koji mogu proizvoditi ekstracelularne polimerne tvari (EPS). To su organski makromolekularni polimeri proizvedeni djelovanjem mikroorganizama (uglavnom bakterija) u određenim

okolišnim uvjetima koji tvore trodimenzionalni matriks u kojeg se bakterije mogu ugraditi.

Glavne komponente EPS su: proteini, polisaharidi, nukleinske kiseline, lipidi i druge supstance. Izvanstanični polimeri imaju značajan doprinos u stvaranju trodimenzionalne, heterogene mikrobne strukture i brze prilagodbe mikroorganizama na različite okolišne uvjete. Sadržaj EPS u granulama aerobnog mulja je veći nego u flokuliranom mulju ili biofilmu, a jezgre aerobnih granula imaju gotovo pet puta veći udio nego vanjski dijelovi granula (Adav i sur., 2007; Cydzik-Kwiatkowska i sur., 2018; Gao i sur., 2011a).

Neke od karakteristika aerobnih granula i flokuliranog mulja istaknute su u tablici 1.

Tablica 1. Karakteristike granula i flokula (Nancharaiah i Reddy, 2018).

Parametar	Flokulirani mulj	Granulirani mulj	Opažanja
<b>Oblik i prosječna veličina</b>	Nepravilan, manji oblik; < 0.2 mm	Milimetarske granule sa sferičnim oblikom, > 0.2 mm	Veći promjer granula uz gustoću, omogućava brzu sedimentaciju u uvjetima mirovanja.
<b>Specifična težina</b>	0.997-1.01	1.010.-1.017	Aerobne granule sa većom specifičnom težinom omogućava bržu separaciju od obrađene vode.
<b>Brzina taloženja</b>	Niža brzina taloženja, < 10 m h <sup>-1</sup>	Veće brzine taloženja, > 10 m h <sup>-1</sup>	Aerobne granule se samostalno talože, bez obzira na vanjske utjecaje.
<b>Indeks mulja (SVI)</b>	SVI <sub>5</sub> ≠ SVI <sub>30</sub>	SVI <sub>5</sub> = SVI <sub>30</sub>	Izvrсна svojstva taloženja, omogućavaju mjerenje SVI <sub>5</sub> .
<b>Slojevita struktura; prisutnost aerobne, anoksične i anaerobne faze</b>	Minimalna mogućnost za postojanje anaerobne faze	Postojanje aerobne, anoksične i anaerobne faze u milimetarskim granulama aerobnog mulja	Prisutnost različitih redoks uvjeta u granulama omogućava provedbu oksidacijskih i redukcijских reakcija.
<b>EPS</b>	Niži udio EPS	Veći udio EPS	EPS ima važnu ulogu u razvitku, stabilnosti i funkcionalnosti granula.
<b>Tolerancija prema toksičnim tvarima</b>	Manja tolerancija prema toksičnim tvarima	Veća tolerancija prema toksičnim tvarima	AGS je vrsta biofilma koji ima veću toleranciju prema toksičnim tvarima.

### 2.5.6. Sastav otpadne vode

Prisutnost dvovalentnih iona (osobito iona kalcija, Ca<sup>2+</sup> i iona magnezija, Mg<sup>2+</sup>) u otpadnim vodama olakšava povezivanje ekstracelularnih molekula koje doprinose boljoj stabilnosti molekula. Kationi metala utječu na mehanizam granulacije tako što (i) neutraliziraju negativni naboj na površini mikroorganizama čime olakšavaju međusobno povezivanje mikroorganizama, (ii) unaprjeđuju proizvodnju EPS i (iii) formiraju okosnicu na koju se bakterije mogu pričvrstiti. Osim što ubrzava odvijanje procesa formiranja granula, prisutnost iona utječe na nastanak kompaktne i guste mikrobne strukture (Sarma i sur., 2017).

## **2.6. Primjena AGS u uklanjanju organskih i anorganskih sastojaka iz otpadne vode**

### **2.6.1. Uklanjanje dušika primjenom AGS**

Konvencionalno uklanjanje dušika zahtijeva primjenu aerobnih i anaerobnih/anoksičnih uvjeta za provedbu procesa nitrifikacije i denitrifikacije. Stoga je za postizanje uklanjanja dušika potrebna integracija faza s niskim i visokim DO (Nancharaiah i Reddy, 2018).

Aerobni granulirani mulj ima izvrstan potencijal za uklanjanje dušika. Unutar granula redoks profil se može podijeliti u tri zone: aerobnu, anoksičnu ili anaerobnu zonu sa širokim rasponom mikro-okruženja. Prisutnost različitih okruženja omogućava rast raznovrsnih bakterija s različitim metaboličkim funkcijama kao što su nitrificirajuće, denitrificirajuće i anaerobne bakterije (Gao i sur., 2011a).

Također, zbog prisutnosti različitih redoks uvjeta unutar pojedine granule moguće je istovremeno odvijanje nitrifikacije i denitrifikacije (SND, engl. *Simultaneous nitrification and denitrification*). Na njihovu provedbu utječe DO u supstratu, veličina granula, dostupnost elektron donora i mikrobna aktivnost (Coma i sur., 2012; Nancharaiah i sur., 2016). Međutim, provedba SND nije efikasna kod malih granula i visokog DO zbog ograničene provedbe denitrifikacije.

U svrhu unaprjeđenja uklanjanja dušika, razvijen je mehanizam naizmjenične provedbe nitrifikacije i denitrifikacije (AND, engl. *Alternating nitrification and denitrification*) čijom je primjenom dokazano bolje uklanjanje amonijaka. Izmjenjivanje anoksičnih i oksičnih uvjeta zajedno sa postupnim hranjenjem pokazalo se pogodnim za rješavanje nedostataka AND i potpuno uklanjanje dušika (Adav i sur., 2009; Lochmatter i Holliger, 2014).

Biološko uklanjanje dušika u SBR pod utjecajem je uvjeta procesa, poput DO, omjer C/N u otpadnoj vodi, OLR. Djelovanje ovih čimbenika međusobno je povezano, primjerice promjenom brzine prozračivanja utječe se na promjenu koncentracije DO koja je povezana s gustoćom granula (Tay i sur., 2004).

Dva načina rada SBR su osobito pogodna za uklanjanje dušika:

- (i) SBR s potpuno aeriranom fazom s istovremenim odvijanjem nitrifikacije i denitrifikacije, i
- (ii) SBR sa anoksičnim fazama koje su pogodne za provedbu denitrifikacije (Isanta i sur., 2013).

Kompaktna mikrobnna struktura AGS omogućava provedbu biološkog uklanjanja dušika (BNR, engl. *Biological nutrient removal*) provođenjem nitritacije-denitritacije, smanjujući potrebu na kisiku za 25% i potrebu na organskom ugljiku za 40% u usporedbi sa potpunom nitrifikacijom-denitrifikacijom. Nitritacija zahtijeva 3,43 mg O<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> N dok je za potpunu nitrifikaciju potrebno osigurati 4,57 mg O<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> N. Ostali benefiti nitritacije-denitritacije su: brža denitrifikacija (1,5-2 puta) i manja produkcija mulja. Naizmjenični anaerobno/anoksični i aerobni uvjeti, niski DO, temperatura (>25 °C) i naizmjenična aeracija su uvjeti povoljni za proces nitritacije (prvi korak nitrifikacije, prevođenje NH<sub>4</sub>-N u NO<sub>2</sub>-N) (Nancharaiah i sur., 2019).

### 2.6.2. Uklanjanje fosfata primjenom AGS

Napredno biološko uklanjanje fosfora (EBPR, engl. *Enhanced Biological Phosphorus Removal*) postiže se primjenom AGS. Ključni fosfat-akumulirajući mikroorganizam (PAOs, engl. *Phosphate Accumulating Organisms*) za provedbu naprednog biološkog uklanjanja fosfora je *Accumulibacter phosphatis*. Posebno je važno omogućiti uvjete za razvoj PAOs koji omogućavaju nastanak stabilnijih granula pri nižim koncentracijama DO (de Kreuk i sur., 2005a).

Dominacija glikogen-akumulirajućih mikroorganizama (GAOs, engl. *Glycogen accumulating organisms*) povezana je sa smanjenjem učinkovitosti uklanjanja fosfora. Konkurencija između GAOs i PAOs nastaje zbog dostupnih organskih sastojaka i javlja se pri određenim okolnostima, poput visokih temperatura (Gonzalez-Gil i Holliger, 2011; Weissbrodt i sur., 2013).

Winkler i sur. (2011) dokazali su kako se selektivnim uklanjanjem biomase s površine AGS nakon taloženja, može provesti uspješno uklanjanje fosfora pri višim temperaturama (30°C). Provedenom analizom s FISH (engl. *Fluorescence in situ hybridization*) pokazano je kako na dnu gušćih granula prevladavaju PAOs, dok se na gornjim, lakšim frakcijama nalazi obilje GAOs. Izvor ugljika je utjecao na stabilnu provedbu uklanjanja fosfora.

Također, dokazan je utjecaj temperature, pH, koncentracije soli, organskog opterećenja, vrste otpadne vode i prozračivanja na proces biološkog uklanjanja fosfora (Bassin i sur., 2011). Dokazali su kako povećanje koncentracije soli direktno utječe na postupno nestajanje PAOs. Visoke koncentracije soli (33 g NaCl L<sup>-1</sup>) pogoduju boljem razvoju i dominaciji GAOs (Bassin i sur., 2011).

Ograničavajući faktor za provedbu efikasnog uklanjanja dušika i fosfora je kemijska potražnja za kisikom (COD, engl. *Chemical Oxygen Demand*). Međutim, ako se

istovremeno provodi obogaćivanje i zadržavanje organizama sposobnih za provedbu denitrifikacije i anoksičnog uklanjanja fosfata, ograničavajući utjecaj COD se može savladati (Nancharaiah i Reddy, 2018).

### **2.6.3. Istovremeno uklanjanje organskih i anorganskih sastojaka**

Istovremeno biološko uklanjanje nutrijenata moguće je provesti zahvaljujući specifičnoj strukturi granula. Kompaktna struktura i veća veličina granula omogućavaju održavanje aerobne, anoksične i anaerobne mikrookoline unutar granula tijekom provedbe aeracije. Održavanje različitih redoks stanja u granulama olakšava izvođenje oksidacijsko-redukcijskih reakcija koje doprinose istovremenom uklanjanju ugljika, dušika i fosfora iz otpadnih voda (Coma i sur., 2012; Lotito i sur., 2014; Winkler i sur., 2015). Dodatno se poboljšanje uklanjanja fosfora može postići produženjem anaerobne faze tijekom koje se PAOs obogaćuju hlapljivim masnim kiselinama (de Kreuk i sur., 2010; de Kreuk i sur., 2005a).

## **2.7. Čimbenici procesa uklanjanja C, N i P iz otpadne vode**

Biološka obrada otpadnih voda primjenom aerobnog granuliranog mulja najčešće se provodi primjenom SBR tehnologije (SBR, engl. *Sequencing Batch Reactor*).

SBR radi po principu „napuni i isprazni“ (engl. *fill and draw*), odnosno obrada otpadne vode provodi se šaržno unutar jednog bioreaktora, bez sekundarnog taložnika. SBR radi u ciklusima, a jedan ciklus obuhvaća faze: punjenje, reakcija, taloženje, dekantiranje i odmaranje tijekom kojeg se odvodi višak mulja.

SBR bioreaktori omogućavaju izmjenu redoks uvjeta (aerobni, anaerobni i anoksični) kako bi se zadovoljile potrebe mikroorganizama za rast i aktivnost te omogućilo provođenje biološkog uklanjanja spojeva s C, N i P iz otpadnih voda (Roh i sur., 2008).

### **2.7.1. Strategija hranjenja**

Gao i sur. (2011b) i Liu i Tay (2002) navode kako primjena sustava s obilnim hranjenjem ili gladovanjem i anaerobno hranjenje povećava hidrofobnost bakterija, ubrzava proces granulacije mikrobnih agregata i stvara odgovarajuće gradijente supstrata i kisika unutar granula. Ovakva strategija hranjenja omogućava skladištenje organskih sastojaka čime je smanjen rast bakterija, a omogućen nastanak kompaktnih granula (de Kreuk i sur., 2007).

Da bi se osigurala potrebna stabilnost granula i izbjegao prekomjerni rast nitastih mikroorganizama, potrebno je provesti dovoljno dugo razdoblje gladovanja, sve u ovisnosti o sastavu supstrata (Franca i sur., 2018).

### **2.7.2. Učinak temperature na aktivnost AGS**

U istraživanju de Kreuk i sur. (2005b) navedeno je kako se AGS može uspješno koristiti pri različitim temperaturama (8-30°C). Primjenom nižih temperatura granule su poprimale nepravilne i nestabilne oblike, male učinkovitosti uklanjanja nutrijenata.

Niže temperature pogodovale su prodiranju kisika do unutrašnjih anoksičnih dijelova granula što je moglo dovesti do otežavanja provedbe denitrifikacije. Usprkos tome, primjena temperature od 10-12°C pokazala se dobrom za uklanjanje spojeva s ugljikom, dušikom i fosforom (Bao i sur., 2009; de Kreuk i sur., 2005a; Jiang i sur., 2016). Pri većim temperaturama (20-30°C) u istraživanju Lopez-Vazqueza i sur. (2009), došlo je do smetnji prilikom uklanjanja fosfora zbog pogodnih uvjeta za rast GAOs koji su premašili koncentraciju PAOs. Međutim Ab Halim i sur. (2015) su uspjeli s visokom učinkovitošću provesti uklanjanje dušika i fosfora pri temperaturi od 40 do 50°C.

U istraživanju Cydzik-Kwiatkowska i sur. (2018) uočene razlike u veličini granula bile su posljedica promjene temperature. U analizi granuliranog mulja, pri temperaturi influenta od oko 15°C prevladavale su čestice manjeg promjera (60% granula imalo je promjer od 125-500 µm; svega 25% granula imalo je promjer iznad 1 mm); pri temperaturi influenta od 8°C udio granula s promjerom većim od 1 mm bio je znatno manji. Početak procesa obrade voda pri temperaturi 8°C rezultirao je nestabilnim granulama nepravilnog oblika koje su uzrokovale ispiranje biomase. Započinjanje procesa pročišćavanja voda pri višim temperaturama (20°C) osiguralo je stabilnost granula i zadržavanje biomase u reaktoru (de Kreuk i sur., 2005c).

### **2.7.3. Koncentracija otopljenog kisika**

Široki raspon koncentracije otopljenog kisika (DO) pogoduje nastanku aerobnog granuliranog mulja: od niskih koncentracija od 0,7-1 mg L<sup>-1</sup> sve do visokih koncentracija od 2-7 mg L<sup>-1</sup> (Winkler i sur., 2018). Kontroliranjem DO može se postići visoka kvaliteta izlazne obrađene vode, odnosno visok postotak uklanjanja dušika. Za svaku veličinu granula postojala je optimalna vrijednost DO (DO<sub>opt</sub>) pri kojoj je učinak uklanjanja dušika bio maksimalan. Ukoliko je koncentracija DO bila viša od optimalne vrijednosti, efikasnost uklanjanja dušika se smanjivala, a amonijak se do kraja ciklusa u potpunosti oksidirao. Pri koncentraciji DO manjoj do optimalne vrijednosti, amonijak se nije u potpunosti oksidirao što je rezultiralo njegovom akumulacijom (Isanta i sur., 2013; Wilén i sur., 2018). Visoke koncentracije otopljenog kisika vode do razvoja većih

agregata i povećanja učinkovitosti nitrifikacije; niske koncentracije DO uzrokuju povećano provođenje denitrifikacije (Pronk i sur., 2015).

Za uspješno istovremeno provođenje nitrifikacije i denitrifikacije potrebno je kontrolirati DO, trebao bi biti dovoljno visok da se može provoditi nitrifikacija na vanjskim slojevima i dovoljno nizak da spriječi prodiranje kisika u unutrašnje, anoksične dijelove granule gdje se može odvijati denitrifikacija.

## **2.8. Biotehnološka primjena aerobnog granuliranog mulja u uklanjanju C, N i P iz otpadne vode**

Aerobne granule su agregati biomase narasle pri aerobnim uvjetima bez nosača. U laboratorijskim uvjetima je pokazan potencijal rasta aerobnih granula pri uvjetima obilje/glad i pri visokoj koncentraciji otopljenog kisika, što zahtijeva veliku potrošnju energije.

U procesu istovremene nitrifikacije i denitrifikacije kontroliranjem koncentracije otopljenog kisika u tekućini osigurava se kontrolirani prijenos kisika kroz flokulu ili biofilm, a time i anoksični uvjeti za redukciju nitrata/nitrita. Istovremena nitrifikacija/denitrifikacija zahtijeva aerobne zone u biofilmu ili flokuli za nitrifikaciju i anoksične zone za denitrifikaciju.

AGS pruža mogućnost dizajniranja kompaktnih uređaja za pročišćavanje otpadnih voda na temelju istovremenog uklanjanja ugljika, dušika i fosfora u jednom SBR reaktoru (de Kreuk i sur., 2005a). Aerobne granule uzgajane aerobnim pulsним hranjenjem nisu stabilne pri niskim koncentracijama otopljenog kisika, ali stabilnost granula poboljšava se odabirom spororastućih organizama, poput PAOs, osobito pri niskim koncentracijama kisika. Istaknuto je da to omogućava duge periode hranjenja koji su potrebni za ekonomski izvedivu primjenu u punoj veličini. de Kreuk i sur. (2005a) su istaknuli da je istovremeno uklanjanje hranjivih sastojaka bilo moguće zbog razvoja denitrificirajućih PAOs (heterotrofnog rasta unutar granula). Postignute su visoke učinkovitosti uklanjanja organskih sastojaka (100% uklanjanje KPK), 94% P i 94% ukupnog dušika sa 100% uklanjanjem amonijaka, pri niskoj zasićenosti kisikom (20%). U tim pokusima, dugoročnim praćenjem u laboratorijskom mjerilu, pokazano je da učinkovitost uklanjanja N ovisi o promjeru granula, kao i da se uklanjanje P dijelom odvija taloženjem (biološki izazvano) (de Kreuk i sur., 2005a).



Yae i sur. (2019) istražili su učinkovitost primjene aerobnog granuliranog mulja u obradi otpadne vode grada s niskim sadržajem ugljika i dušika. Volumen SBR reaktora iznosio je 75 m<sup>3</sup>, koncentracija kisika (DO) bila je u rasponu 0,2-4,12 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Početna koncentracija ukupnih suspendiranih tvari (MLSS) iznosila je 2000 mg L<sup>-1</sup>, a indeks mulja SVI<sub>30</sub> je bio 50 mL g<sup>-1</sup>. Prosječne koncentracije BPK<sub>5</sub>, N, P i SS iznosile su 105,4 mg L<sup>-1</sup>, 23,4 mg L<sup>-1</sup>, 1,37 mg L<sup>-1</sup> i 49,4 mg L<sup>-1</sup>. Omjer C/N izražen kao omjer BPK i ukupnog dušika iznosio je 4,5. Povećanjem temperature okoliša došlo je do porasta koncentracije organskih spojeva i dušika. Koncentracija BPK<sub>5</sub> u efluentu bila je 4,2-10,4 mg L<sup>-1</sup> (prosječno 6,5 mg L<sup>-1</sup>), odnosno učinkovitost uklanjanja organskih sastojaka iznosila je 92,6%. Krajnja koncentracija N u efluentu iznosila je 2,1-13,1 mg L<sup>-1</sup> (prosječno 8,3 mg L<sup>-1</sup>) s postotkom uklanjanja od 64,3%. Prosječna koncentracija P i SS u efluentu iznosila je 0,14 mg L<sup>-1</sup> i 5,94 mg L<sup>-1</sup>, a učinkovitost uklanjanja je iznosila 90,1% i 88,0%. Zbog izvrsnih taložnih svojstava AGS, moguće je održati niske koncentracije suspendiranih čvrstih tvari i zadovoljiti standard kvalitete efluenta.

Veličina i koncentracija AGS mijenjala se ovisno o koncentraciji organskih tvari i dušika u influentu, a postupnim smanjenjem vremena taloženja s početnih 60 min na 10 min došlo je do promjene veličine i koncentracije AGS, od 0,5-1,0 mm i 1700-3000 mg L<sup>-1</sup> uz MLSS 2000-3000 mg L<sup>-1</sup> i uz vrijeme taloženja 15 minuta, do koncentracije AGS od 3500 mg L<sup>-1</sup>, MLSS 4000 mg L<sup>-1</sup> uz 10 min taloženja. Na koncentraciju, veličinu i oblik AGS veći učinak je imalo vrijeme taloženja u reaktoru nego ulazne koncentracije organske tvari i dušika. Primjenom kraćeg vremena taloženja moguće je postići zadovoljavajuće postotke uklanjanja C, N i P u otpadnim vodama nižeg organskog onečišćenja.

Li i sur. (2014) istražili su uklanjanje C, N i P iz miješane otpadne vode kanalizacije i industrije (30% kanalizacijskih otpadnih voda i 70% otpadnih voda industrije) u SBR. SBR je radio u 4 ciklusa po 6 sati: 40 min punjenje, 240 min aerobno, 60-50 min taloženja i 30 min dekantiranja. Trajanje ciklusa aerobne reakcije ovisilo je o razlikama u koncentraciji DO. Vrijeme taloženja je s početnih 60 min sniženo na 40 min nakon 25. radnog dana. Nakon 180 dana faza taloženja je povećana na 50 min.

Karakteristike influenta su bile: 200-600 mg L<sup>-1</sup> KPK, 28-40 mg L<sup>-1</sup> amonij-N i 2-4 mg L<sup>-1</sup> ukupnog fosfora.

Kompaktna gusta struktura aerobnog granuliranog mulja imala je karakteristike: SVI<sub>30</sub> 47,1 mL g<sup>-1</sup>, promjer granula 0,5 mm i brzina taloženja 42 mL h<sup>-1</sup> postignuto nakon 337 dana vođenja procesa. Formirane granule imale su visok udio proteina sadržanog

u matriksu EPS. Za obradu komunalnih i industrijskih otpadnih voda bio je potreban duži period za formiranje granula od oko 400 dana, a uspješnost uklanjanja KPK i  $\text{NH}_4\text{-N}$  iznosila je 85%, odnosno 95,8%.

Guimarães i sur. (2017) su istraživali uklanjanje C, N i P iz kanalizacijske otpadne vode u SBR reaktorima koji su radili 4 sata. Faza taloženja je postupno snižena s 35 min na 13 min. Početne vrijednosti KPK bile su u rasponu  $150\text{-}450\text{ mg L}^{-1}$  te  $\text{NH}_4\text{-N}$   $36\text{-}68\text{ mg L}^{-1}$ . Postignuta učinkovitost uklanjanja KPK i  $\text{NH}_4\text{-N}$  iznosila je 75%, odnosno 73%. Tijekom 126 dana postignuta je stabilnost granula s promjerom od 0,29 mm i  $\text{SVI}_{30}$  od  $67\text{ mL g}^{-1}$ . Zbog manje veličine čestica, provedba istovremene nitrifikacije i denitrifikacije (SND) nije bila moguća.

Pronk i sur. (2015) proveli su obradu kanalizacijske vode u dva aerobna SBR reaktora s ugrađenim sustavom za recirkulaciju biomase unutar kojih se provodilo istovremeno punjenje i odvođenje otpadne vode u svrhu održavanja konstantnog volumena. Koncentracija kisika (DO) održavana je u rasponu od  $1,8\text{-}2,5\text{ mg L}^{-1}$ . Postignuto je 88% uklanjanje KPK, 86% uklanjanje N, skoro 100% uklanjanje  $\text{NH}_4\text{-N}$ , te 87% uklanjanje ukupnog P, od početnih  $506\text{ mg KPK L}^{-1}$ ,  $49,4\text{ mg N L}^{-1}$ ,  $39\text{ mg NH}_4\text{-N L}^{-1}$  i  $6,7\text{ mg P L}^{-1}$ . Nakon 5 mjeseci, više od 20% formiranih granula imalo je promjer od 1,0 mm, a vrijednost  $\text{SVI}_5$  iznosila je  $45\text{ mL g}^{-1}$ . Veći promjer granula pogodovao je efikasnom uklanjanju N, zbog mogućnosti provedbe SND. Strategija anoksičnog hranjenja olakšala je uklanjanje P. Primjenom AGS reaktora ostvaren je 58-63% manji utrošak energije u usporedbi s aktivnim muljem što predstavlja ekonomsku isplativost ovog procesa.

Obradu otpadnih voda niskog organskog onečišćenja od  $95\text{-}200\text{ mg KPK L}^{-1}$  proveli su Ni i sur. (2009) u aerobnom SBR reaktoru, s ciklusima od 3-4 sata. Koncentracija dušika iznosila je  $12\text{-}50\text{ mg N L}^{-1}$ . Nakon 300 dana, koncentracija biomase je iznosila  $9,5\text{ g L}^{-1}$ , odnosno 85% biomase činio je aerobni granulirani mulj. Osim visokog postotka uklanjanja organskih sastojaka, zabilježen je i vrlo visok postotak uklanjanja dušika (95%). Prosječni promjer granula iznosio je  $0,2\text{-}0,8\text{ mm}$ , a  $\text{SVI}_{10}$   $35\text{ mL g}^{-1}$ . Promjer formiranih granula nije bio dovoljno velik kako bi se osiguralo postojanje anoksičnih i anaerobnih redoks faza unutar granula potrebnih za istovremeno odvijanje nitrifikacije i denitrifikacije. Koncentracija fosfora nije određivana.

U istraživanju Giesen i sur. (2013) dokazano je kako su granule AGS osobito pogodne za uklanjanje P iz jako onečišćenih kanalizacijskih otpadnih voda. U tri SBR reaktora, kapaciteta  $5000 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ , provodila se obrada otpadne vode s  $971 \text{ mg KPK L}^{-1}$ , ukupnom koncentracijom dušika od  $80 \text{ mg N L}^{-1}$ , ukupnim fosforom  $19 \text{ mg P L}^{-1}$  i koncentracijom ukupnih suspendiranih tvari (SS, engl. *Suspended solids*)  $670 \text{ mg L}^{-1}$ . Postignuta je učinkovitost uklanjanja od 94% KPK, gotovo 100% uklanjanje N, 83,5% uklanjanje P te 98% uklanjanje SS. Vrijednost  $\text{SVI}_{30}$  aerobnih granula je bila  $59 \text{ mL g}^{-1}$ .

### 3. ZAKLJUČAK

Na temelju činjenica istaknutih u ovom radu proizlaze sljedeći zaključci:

1. Aerobni granulirani mulj (AGS) je vrsta biofilma sastavljenog od samoimobilizirajućih bakterijskih stanica koje tvore kompaktne granule izvrsne taloživosti.
2. Postojanje različitih redoks zona unutar pojedinačnih granula omogućava istovremeno uklanjanje organskih spojeva i provođenje nitrifikacije i denitrifikacije.
3. Kompaktna struktura i snižena vrijednost indeksa mulja (SVI) omogućava samostalnu separaciju biomase od obrađene vode unutar bioreaktora.
4. Brojni čimbenici imaju utjecaj na formiranje i stabilnost aerobnog granuliranog mulja, poput: hidrodinamičke sile smicanja, samoimobilizirajuće mikrobne kulture, gradijent supstrata unutar granule, odabira brzine taloženja i temperature.
5. Primjena SBR tehnologije omogućuje odabir spororastućih mikroorganizama ključnih za uzgoj stabilnog AGS i istovremeno uklanjanje ugljika, dušika i fosfora unutar jednog bioreaktora, bez potrebe za sekundarnim taložnicima.

## 4. LITERATURA

1. Ab Halim M. H., Nor Anuar A., Azmi S. I., Jamal N. S. A., Wahab N. A., Ujang Z., Shraim A., Bob M. M. (2015) Aerobic sludge granulation at high temperatures for domestic wastewater treatment. *Bioresource Technology* **185**: 445 – 449.
2. Adav S. S., Lee D. J., Lai J. Y. (2007) Effects of aeration intensity on formation of phenol-fed aerobic granules and extracellular polymeric substances. *Applied Microbiology and Biotechnology* **77**: 175 – 182.
3. Adav S. S., Lee D. J., Lai J. Y. (2009) Treating chemical industries in fluent using aerobic granular sludge: Recent development. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **40**: 333 – 336.
4. Adav S. S., Lee D. J., Show K. Y., Tay J. H. (2008) Aerobic granular sludge: recent advances. *Biotechnology Advances* **26**: 411 – 423.
5. Bao R., Yu S., Shi W., Zhang X., Wang Y. (2009) Aerobic granules formation and nutrients removal characteristics in sequencing batch airlift reactor (SBAR) at low temperature. *Journal of Hazardous Materials* **168**: 1334 – 1340.
6. Bassin J. P., Pronk M., Muyzer G., Kleerebezem R., Dezotti M., van Loosdrecht M. C. M. (2011) Effect of elevated salt concentrations on the aerobic granular sludge process: linking microbial activity with microbial community structure. *Applied and Environmental Microbiology* **77**: 7942 – 7953.
7. Bengtsson S., de Blois M., Wilén B. M., Gustavsson D. (2018) A comparison of aerobic granular sludge with conventional and compact biological treatment technologies. *Environmental Technology* **13**: 1479 – 1487.
8. Beun J. J., Hendriks A., van Loosdrecht M. C. M., Morgenroth E., Wilderer P. A., Heijnen J. J. (1999) Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Research* **33**: 2283 – 2290.
9. Bitton G. (2005) Wastewater Microbiology. A John Wiley&Sons, Inc. str. 225 – 235.
10. Chen Y. Y., Lee D. J. (2015) Effective aerobic granulation: role of seed sludge. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **52**: 118 – 119.
11. Coma M., Verawaty M., Pijuan M., Yuan Z., Bond P. L. (2012) Enhancing aerobic granulation for biological nutrient removal from domestic wastewater. *Bioresource Technology* **103**(1): 101 – 108.
12. Cydzik-Kwiatkowska A., Podlasek M., Nosek D., Jaskulska B. (2018) Treatment Efficiency and Characteristics of Biomass in a Full-Scale Wastewater Treatment Plant with Aerobic Granular Sludge. *Journal of Ecological Engineering* **19**(4): 95 – 102.

13. de Bruin L. M. M., de Kreuk M. K., van der Roest H. F. R., Uijterlinde C., van Loosdrecht M. C. M. (2004) Aerobic granular sludge technology: an alternative to activated sludge? *Water Science and Technology* **49**: 1 – 7.
14. de Kreuk M. K., Heijnen J. J., van Loosdrecht M. C. M. (2005a) Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering* **90**: 761 – 769.
15. de Kreuk M. K., Kishida N., Tsuneda S., van Loosdrecht M. C. M. (2010) Behavior of polymeric substrates in an aerobic granular sludge system. *Water Research* **44**: 5929 – 5938.
16. de Kreuk M. K., McSwain B. S., Bathe S., Tay J., Schwarzenbeck S. T. L., Wilderer P. A. (2005b) Aerobic granular sludge, water and environmental management series. *Munich: IWA Publishing*: 165 – 169.
17. de Kreuk M. K., Picioreanu C., Hosseini M., Xavier J. B., van Loosdrecht M. C. M. (2007) Kinetic model of a granular sludge SBR: influences on nutrient removal. *Biotechnology and Bioengineering* **97**: 801 – 805.
18. de Kreuk M. K., Pronk M., van Loosdrecht M. C. M. (2005c) Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. *Water Research* **39**(18): 4476 – 4484.
19. Devlin T. R., di Biase A., Kowalski M., Oleszkiewicz J. A. (2017) Granulation of activated sludge under low hydrodynamic shear and different wastewater characteristics. *Bioresource Technology* **224**: 229 – 235.
20. Flemming H. C., Wingender J. (2010) The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* **8**: 623 – 633.
21. Franca R. D. G., Pinheiro H. M., van Loosdrecht M. C. M., Lourenço N. D. (2018) Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation. *Biotechnology Advances* **36**: 228 – 246.
22. Gao D., Liu L., Liang H., Wu W. M. (2011a) Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. *Critical Reviews in Biotechnology* **31**(2): 137 – 152.
23. Gao D., Liu L., Liang H., Wu W. M. (2011b) Comparison of four enhancement strategies for aerobic granulation in sequencing batch reactors. *Journal of Hazardous Materials* **186**: 320 – 327.
24. Gao P., Xu W., Sontag P., Li X., Xue G., Liu T., Sun W. (2016) Correlating microbial community compositions with environmental factors in activated sludge from four

- full-scale municipal wastewater treatment plants in Shanghai, China. *Applied Microbiology and Biotechnology* **100**: 4663 – 4673.
25. Giesen A., de Bruin L., Niermans R., van der Roest H. (2013) Advancements in the application of aerobic granular biomass technology for sustainable treatment of wastewater. *Water Practice and Technology* **8**(1): 47 – 54.
  26. Gonzalez-Gil G., Holliger C. (2011) Dynamics of microbial community structure of and enhanced biological phosphorus removal by aerobic granules cultivated on propionate or acetate. *Applied and Environmental Microbiology* **77**: 8041 – 8051.
  27. Guimarães L. B., Mezzari M. P., Daudt G. C., da Costa R. H. R. (2017) Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **92**: 1756 – 1765.
  28. Guo F., Zhang S. H., Yu X., Wei B. (2011) Variations of both bacterial community and extracellular polymers: the inducements of increase of cell hydrophobicity from biofloc to aerobic granule sludge. *Bioresource Technology* **102**: 6421 – 6428.
  29. Isanta E., Figueroa M., Mosquera-Corral A., Campos L., Carrera J., Pérez J. (2013) A novel control strategy for enhancing biological N-removal in a granular sequencing batch reactor: A model-based study. *Chemical Engineering Journal* **232**: 468 – 477.
  30. Jiang Y., Shang Y., Wang H., Yang K. (2016) Rapid formation and pollutant removal ability of aerobic granules in a sequencing batch airlift reactor at low temperature. *Environmental technology* **37**: 3078 – 3085.
  31. Li A. J., Yang S. F., Li X. Y., Gu J. D. (2008) Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. *Water Research* **42**: 3552 – 3560.
  32. Li Y. M., Zou J., Zhang L., Sun J. (2014) Aerobic granular sludge for simultaneous accumulation of mineral phosphorus and removal of nitrogen via nitrite in wastewater. *Bioresource Technology* **154**: 178 – 184.
  33. Lin L. H., Jian L. W., Xiang H. W., Yi Q. (2005) The formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactor (SBR) by seeding anaerobic granules. *Process Biochemistry* **40**: 1 – 7.
  34. Liu X. W., Sheng G. P., Yu H. Q. (2009) Physicochemical characteristics of microbial granules. *Biotechnology Advances* **27**: 1061 – 1070.
  35. Liu Y. Q., Tay J. H. (2004) State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnology Advances* **22**: 533 – 563.

36. Liu Y. Q., Tay J. H. (2015) Fast formation of aerobic granules by combining strong hydraulic selection pressure with overstressed organic loading rate. *Water Research* **80**: 256 – 266.
37. Liu Y., Tay J. H. (2002) The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research* **36**: 1653 – 1665.
38. Liu Y., Wang Z. W., Liu Y. Q., Qin L., Tay J. H. (2005) A generalized model for settling velocity of aerobic granular sludge. *Biotechnology Progress* **21**: 621 – 626.
39. Liu Y., Yang S. F., Tay J. H. (2004) Improved stability of aerobic granules by selecting slow-growing nitrifying bacteria. *Journal of Biotechnology* **108**: 161 – 169.
40. Lochmatter S., Holliger C. (2014) Optimization of operation condition for the startup of aerobic granular sludge reactors biologically removing carbon, nitrogen, and phosphorus. *Water Research* **59**: 58 – 70.
41. Lopez-Vazquez C. M., Hooijmans C. M., Brdjanovic D., Gijzen H. J., van Loosdrecht M. C. M. (2009) Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *Water Research* **43**: 2852 – 2864.
42. Lotito A. M., de Sanctis M., di Iaconi C., Bergna G. (2014) Textile wastewater treatment: aerobic granular sludge versus activated sludge systems. *Water Research* **54**: 337 – 346.
43. Lv Y., Wan C., Lee D. J., Liu X., Tay J. H. (2014) Microbial communities of aerobic granules: granulation mechanisms. *Bioresource Technology* **169**: 344 – 351.
44. Nancharaiah Y. V., Reddy G. K. K. (2018) Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. *Bioresource Technology* **247**: 1128 – 1143.
45. Nancharaiah Y. V., Sarvajith M., Krishna Mohan T. V. (2019) Aerobic granular sludge: the future of wastewater treatment. *Current science* **117**(3): 395 – 404.
46. Nancharaiah Y. V., Venkata Mohan S., Lens P. N. (2016) Recent advances in nutrient removal and recovery in biological and bioelectrochemical systems. *Bioresource Technology* **215**: 173 – 185.
47. Ni B. J., Xie W. M., Liu S. G., Yu H. Q., Wang Y. Z., Wang G., Dai X. L. (2009) Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. *Water Research* **43**: 751 – 761.
48. Pronk M., de Kreuk M. K., de Bruin B., Kamminga P., Kleerebezem R., van Loosdrecht M. C. M. (2015) Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. *Water Research* **84**: 207 – 217.



49. Roh S. H., Chun Y. N., Lee S. Y., Cheong H., Lee J. W., Kim S. I. (2008) Effects of fermented leachate of food waste (FLFW) and temperature on nutrient removal in sequencing batch reactor. *Environmental Engineering Research* **13**: 155 – 161.
50. Sarma S. J., Tay J. H., Chu A. (2017) Finding knowledge gaps in aerobic granulation technology. *Trends in Biotechnology* **35**(1): 66 – 78.
51. Schwarzenbeck N., Erley R., McSwain B. S., Wilderer P. A., Irvine R. I. (2004) Treatment of malting wastewater in a granular sludge sequencing batch reactor (SBR). *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **32**: 16 – 24.
52. Sławiński J. (2015) Tlenowy granulowany osad czynny. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* **9**: 342 – 344.
53. Świątczak P., Cydzik-Kwiatkowska A. (2018) Performance and microbial characteristics of biomass in a full-scale aerobic granular sludge wastewater treatment plant. *Environmental Science and Pollution Research* **25**(2): 1655 – 1669.
54. Szabó E., Liébana R., Hermansson M., Modin O., Persson F., Wilén B. M. (2017b) Microbial population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors operated at different organic loading rates. *Frontiers in Microbiology* **8**.
55. Szabó E., Liébana R., Hermansson M., Modin O., Persson F., Wilén B. M. (2017a) Comparison of the bacterial community composition in the granular and the suspended phase of sequencing batch reactor. *AMB Express* **7**: 168.
56. Tay J. H., Liu Q. S., Liu Y. (2001) The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. *Applied Microbiology and Biotechnology* **57**: 227 – 233.
57. Tay J. H., Liu Q. S., Liu Y. (2004) The effect of upflow air velocity on the structure of aerobic granules cultivated in a sequencing batch reactor. *Water Science and Technology* **49**(11-12): 35 – 40.
58. Toh S. K., Tay J. H., Moy B. Y. P., Tay S. T. L. (2003) Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. *Applied Microbiology and Biotechnology* **60**: 687 – 695.
59. van Loosdrecht M. C. M., Eikelboom D., Gjaltema A., Mulder A., Tjihuis L., Heijnen J. J. (1995) Biofilm structures. *Water Science and Technology* **32**: 35 – 43.
60. Weber S. D., Ludwig W., Schleifer K. H., Fried J. (2007) Microbial composition and structure of aerobic granular sewage biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* **73**: 6233 – 6240.

61. Weissbrodt D. G., Schneiter G. S., Furbringer J. M., Holliger C. (2013) Identification of trigger factors selecting for polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. *Water Research* **47**: 7006 – 7018.
62. Wilén B. M., Liébana R., Persson F., Modin O., Hermansson M. (2018) The mechanisms of granulation of activated sludge in wastewater treatment, its optimization, and impact on effluent quality. *Applied Microbiology and Biotechnology* **102**: 5005 – 5020.
63. Wimpenny J., Manz W., Szewzyk U. (2000) Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiology Reviews* **24**: 661 – 671.
64. Winkler M. K. H., Bassin J. P., Kleerebezem R., de Bruin L. M. M., van den Brand T. P. H., van Loosdrecht M. C. M. (2011) Selective sludge removal in a segregated aerobic granular biomass system as a strategy to control PAO-GAO competition at high temperatures. *Water Research* **45**: 3291 – 3299.
65. Winkler M. K. H., Kleerebezem R., de Bruin L. M., Verheijen P. J., Abbas B., Habermacher J., van Loosdrecht M. C. M. (2013) Microbial diversity differences within aerobic granular sludge and activated sludge flocs. *Applied Microbiology and Biotechnology* **97**: 7447 – 7458.
66. Winkler M. K. H., Le Q. H., Volcke E. P. I. (2015) Influence of partial denitrification and mixotrophic growth of NOB on microbial distribution in aerobic granular sludge reactor. *Environmental Science & Technology* **49**: 11003 – 11010.
67. Winkler M. K. H., Meunier C., Henriot O., Mahillon J., Suárez-Ojeda M. E., DelMoro G., De Sanctis M., Di Iaconi C., Weissbrodt D. G. (2018) An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater. *Chemical Engineering Journal* **336**: 489 – 502.
68. Xavier J. B., de Kreuk M. K., Picioreanu C., van Loosdrecht M. C. M. (2007) Multi-scale individual-based model of microbial and bioconversion dynamics in aerobic granular sludge. *Environmental Science & Technology* **41**: 6410 – 6417.
69. Xia Y., Wen X., Zhang B., Yang Y. (2018) Diversity and assembly patterns of activated sludge microbial communities: a review. *Biotechnology Advances* **36**(4): 1038 – 1047.
70. Yae J., Ryu J., Van Tuyen N., Kim H., Hong S., Ahn D. (2019) An aerobic granular sludge process for treating low carbon/nitrogen ratio sewage. *Environmental Engineering Research* **24**(2): 238 – 245.

71. Yilmaz G., Lemaire R., Keller J., Yuan Z. (2008) Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal from nutrient-rich industrial wastewater using granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering* **100**: 529 – 541.
72. Zheng Y. M., Yu H. Q., Liu S. J., Liu X. Z. (2006) Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions. *Chemosphere* **63**: 1791 – 1800.
73. Zhou D., Niu S., Xiong Y., Yang Y., Dong S. (2014) Microbial selection pressure is not a prerequisite for granulation: dynamic granulation and microbial community study in a complete mixing bioreactor. *Bioresource Technology* **161**: 102 – 108.

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

Sara Fubić

ime i prezime studenta