**POVZETEK**

Onesnaženost vodnih virov z zdravju škodljivimi nitratnimi ioni je pereč problem v večini držav po svetu, večletno spremljanje stanja podzemnih voda v Sloveniji, zlasti v aluvialnih vodonosnikih, ki predstavljajo vir pitne vode, to tudi potrjuje. Z nitratnimi ioni onesnaženi vodni viri v Sloveniji se izločajo iz sistema za javno oskrbo ali pa se še vedno uporabljajo, pri čemer se onesnažen vir meša z manj onesnaženim. Biološka denitrifikacija, ki poteka s pomočjo heterotrofnih bakterijskih združb, predstavlja dobro alternativo nebiološkim metodam za odstranjevanje nitratnih ionov, saj velja za destruktivni način čiščenja, kjer se nitratni ioni reducirajo do plinastega dušika.

Namen doktorskega dela je bil preučiti možnost uporabe dvostopenjske tehnologije membranskih bioreaktorjev s pritrjenimi mikroorganizmi za odstranjevanje nitratnih ionov iz podtalnice. Preizkušali smo različne nosilne elemente za imobilizacijo biomase. S pomočjo različnih laboratorijskih reaktorskih sistemov smo ob kontinuirnem in šaržnem obratovanju spremljali učinkovitost posameznih nosilnih elementov in vpliv različnih parametrov na potek denitrifikacije. Uporabili smo tri nosilne elemente (BioContact-N, Biochip in Kaldnes), njihovo učinkovitost pa smo spremljali v 60-dnevnem časovnem obdobju. Najbolj učinkovito odstranjevanje nitratnih ionov v anoksični stopnji reaktorskega sistema smo pri enaki obremenitvi (0,198 g NO3-N/LNOS⋅dan) in polnitvi (45 %) reaktorja dosegli v primeru nosilnega materiala BioContact-N. Učinkovitost denitrifikacije je bila za 5,4 % višja kot pri uporabi nosilnih elementov Biochip oz. 17,6 % višja kot v primeru nosilnih elementov Kaldnes in je znašala 98,1 %. Za nadaljnje šaržne poizkuse smo uporabili nov nosilni material BioContact-N, za katerega v strokovni literaturi nismo našli podrobnejših podatkov. Izkazalo se je, da je nosilni material BioContact-N ustrezen nadomestek tradicionalnim komercialno dostopnim nosilnim elementom in s svojimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi zagotavlja razrast učinkovitega denitrifikacijskega biofilma, hkrati pa je uporaben tako v anoksični kot aerobni fazi. V šaržnem reaktorskem sistemu R2 smo z nosilnimi elementi BioContact-N izvajali poskuse pri različnih začetnih koncentracijah organskega ogljika in nitratnih ionov, različnih začetnih koncentracijah raztopljenega kisika in začetne temperature napajalne vode. S šaržnimi in semišaržnimi poiskusi smo ugotovili, da bi lahko predlagan reaktorski sistem R2 pri obremenitvi 0,56 oz. 0,83 g/LREAKT⋅dan obratoval pri zadrževalnem času 0,66 oz. 1 h in dosegal 100 % učinkovitost. Količino prisotne biomase na nosilnih elementih BioContact-N smo določili s pomočjo merjenja ATP, saj določitev z običajnimi gravimetričnimi metodami ni bila možna. Dobljena koncentracija je relativno nizka (0,119 mg/LNOS), vendar tako poraščeni nosilni elementi izkazujejo visoko aktivnost v procesu denitrifikacije, saj je pri obremenitvi 15,19 g NO3-N/gBIOM⋅dan reaktor obratoval z 100 % učinkovitostjo. V primerih, ko organski ogljik ni bil omejujoč dejavnik, je bila reakcija denitrifikacije odvisna od hitrosti denitratacije in kasnejše denitritacije. Slednja ni potekla, dokler se v reaktorju koncentracija nitratnih ionov ni približala vrednosti nič. Uporaba poenostavljene Monodove kinetike in predpostavka, da lahko posamezne faze denitrifikacije opišemo s kinetiko ničelnega reda, omogočata enostavnejše predvidevanje potrebnih zadrževalnih časov v predlaganem sistemu z imobilizirano biomaso. Zadrževalni časi, ki smo jih v opisanih obratovalnih pogojih dosegli v primeru šaržnega (40 – 60 min) in semišaržnega obratovanja (60 – 90 min), kažejo na visoko aktivnost uporabljene denitrifikacijske biomase ter ustreznost uporabljenih nosilnih elementov BioContact-N za zagotavljanje ustreznega pomešanja in zmanjšanja vpliva snovnih prenosov. Prikazali smo, da je vpliv snovnega prenosa ob uporabi nosilnih elementov BioContact-N zanemarljiv. Izračunane vrednosti Ks' so nizke (0,06 – 0,9 mg NO3-N/L), medtem ko so določene konstante specifične hitrosti denitrifikacije (k') za velikostni razred višje od literaturnih podatkov za druge sisteme z biofilmom ali aktivnim blatom in znašajo med 8,71 in 24,89 dan-1. Hitrost denitrifikacije je bolj kot od snovnega prenosa, odvisna od hitrosti posameznih reakcij in vpliva t.i. Helmheltzovega sloja, ki v primeru biološke denitrifikacije favorizira delovanje nitratne pred nitritno reduktazo. Z uporabo nosilnih elementov BioContact-N v aerobni stopnji smo pokazali, da je le-te mogoče uspešno uporabiti kot sredstvo za mehansko čiščenje membran, kar zagotavlja daljše obratovanje membranskih modulov brez potrebe po čiščenju oz. spiranju membran. V začetni fazi smo za inokulacijo nosilnih elementov uporabili zgolj biomaso pridobljeno iz denitrifikacijskih bazenov dveh komunalnih čistilnih naprav, kar dokazuje, da uporaba dodatnih mikrohranil v fazi inokulacije ni potrebna. Tudi v nadaljnjih kontinuirnih in šaržnih poskusih mikrohranil, kot jih navajajo različnih raziskovalci, nismo uporabljali.

Biološka denitrifikacija je sicer glede na najboljše razpoložljive tehnologije (BAT) na tretjem mestu, vendar prednost biološke denitrifikacije predstavlja dejanska pretvorba nitratnih ionov v inertni dušik. Glede na izvedene poskuse izkazuje predlagan sistem velik potencial za denitrifikacijo višjih koncentracij nitratnih ionov v slani vodi. Nadaljnje raziskave bo potrebno usmeriti v razvoj procesa za čiščenje koncentriranih odpadnih vod iz procesa ionske izmenjave oz. elektrodialize. Menimo, da bi takšen sistem, ki temelji na biološki denitrifikaciji, lahko predvsem iz stališča dejanske eliminacije nitratnih ionov učinkovito dopolnjeval obstoječe procese ionske izmenjave.

KLJUČNE BESEDE: biološka denitrifikacije, membranski bioreaktor, MBR, biofilm, kinetika denitrifikacije, Bio-Contact-N

**ABSTRACT**

Contamination of underground water sources with harmful nitrates is a pressing problem in most of the countries worldwide. Yearly monitoring of underground water supplies especially in alluvial aquifers which represent the drinking water source in Slovenia confirms this. Nitrate polluted water sources in Slovenia are eliminated from the public water supply systems or are still used by mixing the contaminated water sources with the less polluted ones. Biological denitrification, known as a destructive process for reduction of nitrate ions to inert gaseous nitrogen, is a process performed by heterotrophic denitrifying bacteria and represents a good alternative to non-biological nitrate removal methods.

The purpose of our work was to study the feasibility of two-stage membrane bireactor technology with immobilized microorganisms for elimination of nitrates from underground water. We have tested different carriers for biomass immobilization. By using different labscale bioreactors working in continuous or batch mode we have been following the efficiency of used biocarriers and their influence on overall denitrification process. We have used three types of carriers (BioContact-N, Biochip and Kaldnes) and their efficiency in a 60-day period. The most effective nitrate removal rate in anoxic step with the same loading rate (0,198 g NO3-N/LCARR⋅day) and filling ration (45 %) was achieved by using BioContact-N carrier (98,1 %). The nitrate removal efficiency of Biochip and Kaldnes carriers was lower for 5,4 % and 17,6 % respectively. For further batch experiments we have used BioContact-N carrier for which no scientific information was found in the research libraries. It turned out that BioContact-N carrier is an appropriate substitute to traditionally available commercial biocarriers providing contact surface for efficient growth of bacterial biofilm in anoxic and aerobic bioreactors. Using the reactor system R2 working in batch mode we have observed the influence of different initial C:N ratio, dissolved oxygen concentrations and temperatures of synthetic water samples on denitrification process. Performing semibatch experiments we have evaluated that the used R2 reactor configuration could operate at loading rate of 0,56 to 0,83 g NO3-N/LREAKT⋅dan with hydraulic retention time of 0,66 and 1 h respectively, while achieving 100 % efficiency. The concentration of immobilized biomass on the surface of BioContact-N carriers was determined with measuring ATP since the use of conventional gravimetric methods was not possible. The determined concentration of immobilized biomass is relatively low (0,119 g/LCARR) but still the biofilm shows high denitrification activity achieving 100 % removal with 15,19 g NO3-N/gBIOM⋅dan loading rate. In situations where organic carbon is not the limiting parameter the denitrification rate dependent on denitratation and denitritation step. The latter was not initiated until nitrate levels were not reduced to minimum. Using simplified Monods' kinetics and assumption that different denitrification steps can be described with zero-order kinetics offers easier prediction of HRT as one of the basic engineering parameters in the evaluated bioreactor system with immobilized biomass. We have shown that the use of BioContact-N carriers in aerobic stage can significantly improve the membrane fouling problems as less mechanical and chemical cleaning of the membranes was needed using flat sheet membrane module. We have shown that an efficient biofilm growth during inoculation period can be established by using only water from denitrification tanks of the local municipal wastewater treatment plant. No microelements were used during the inoculation period or during continuous or batch experiments, showing that the microelements proposed by other authors were not necessary.

KEYWORDS: biological denitrification, membrane bioreactor, MBR, biofilm, denitrification kinetics, Bio-Contact-N