

Proučevanje biokemijske potrebe po kisiku (BPK) paralelno z
vplivajočimi faktorji

KEMIJA

raziskovalna naloga

Avtorji:

Olga Chuzhinova

Aleksej Malevanov

Matic Krušec

Mentor:

Nataša Junež

univerzitetna diplomirana inženirka kemijskega inženirstva in prof. kemije

Somentorici:

Petra Medja

tehnologinja v kemijskem laboratoriju

Pia Dolinar

tehnologinja v kemijskem laboratoriju

KAZALO

1. SEZNAM UPORABLJENIH KRATIC IN SIMBOLOV.....	1
2. ZAHVALA	2
3.1. POVZETEK.....	3
3.2. ABSTRACT.....	4
4. UVOD	5
5. TEORETIČNI DEL	6
5.1. KONCENTRACIJA KISIKA V REČNIH VODAH	6
5.2. VPLIVI FIZIKALNO-KEMIJSKIH DEJAVNIKOV NA KONCENTRACIJO KISIKA	6
5.2.1. TRDOTA VODE	6
5.2.2. VREDNOST pH	7
5.2.3. TEMPERATURA	7
5.3. MERJENJE KONCENTRACIJ V VODI RAZTOPLJENEGA KISIKA	7
5.3.1. KEMIJSKO PO WINKLERJU	7
5.3.2. ELEKTROMETRIČNO S KISIKOVIM ELEKTRODO	7
5.4. ONESNAŽEVANJE REČNIH VODA	9
5.5. INDIKATORJI ONESNAŽENosti REK.....	10
5.5.1. DUŠIK	10
5.5.2. BIOINDIKATORJI	10
5.5.3. MOTNOST	10
5.5.4. BPK ₅	11
5.5.5. KPK	11
5.6. ZAKONODAJA IN STATISTIKA	11
5.6.1. STATISTIKA BPK5	11
5.7. BPK₅	15
5.7.1. IZRAČUN BPK5.....	16
5.8. MOTEČI FAKTORJI IN PROCESI:	19
5.8.1. DUŠIK V NITRIFIKACIJSKIH IN DENITRIFIKACIJSKIH PROCESIH	19
5.8.2. ANORGANSKE SUBSTANCE	21
5.9. POMEN MIKROORGANIZMOV	21
5.9.1. STIK BAKTERIJ Z NOVIM MEDIJEM	21
5.9.2. MIKROORGANIZMI KOT MOTEČI DEJAVNIKI.....	22
5.10. POGOJI ZA USPEŠNO RAST IN CEPITEV BAKTERIJ.....	22
5.10.1. pH	22
5.10.2. HRANILA OZIROMA NUTRIENTI.....	23
5.10.3. TEMPERATURA	23
6. PRAKTIČNI DEL.....	24
6.1. PRINCIP IN KRATEK OPIS.....	24
6.2. UPORABLJEN PRIBOR IN KEMIKALIJE	24
6.2.1. REAGENTI IN KEMIKALIJE	24
6.2.2. APARATURE IN PRIBOR.....	25
6.3. PREDPRIPRAVA	25

6.4. PRIPRAVA VZORCEV	26
6.5. IZVAJANJE MERITEV IN ODČITAVANJE REZULTATOV	28
7. REZULTATI, SKLEPI IN UGOTOVITVE	31
7.1. PRVE MERITVE	31
7.2. DRUGE MERITVE	31
7.3. POVPREČEN BPK₅	32
7.4. SKLEPI IN UGOTOVITVE	33
8. ZAKLJUČEK	34
9. VIRI, LITERATURA	34

1. SEZNAM UPORABLJENIH KRATIC IN SIMBOLOV

BPK.....biokemijska potreba po kisiku

KPK.....kemijska potreba po kisiku

SRR.....standardna referenčna raztopina

ATU.....alilitiourea

RK.....raztopljeni kisik

2. ZAHVALA

Raziskovalno naložo smo opravljali pod mentorstvom prof. Nataše Junež, ge. Petre Medja in ge. Pie Dolinar. Vsem trem se zahvaljujemo za strokovne nasvete in napotke ter pripravljenost pomagati pri vseh naših vprašanjih in praktični izvedbi tega dela.

3.1. POVZETEK

S povečanim vplivom podnebnih sprememb in okoljskih katastrof se je človek začel zavedati pomembnosti trajnostnega razvoja ter zmanjševanja onesnaževanja. Posledično so se začeli v družbi uzakonjevati in uveljavljati številni ukrepi, eden od katerih je nadzorovanje kvalitete voda z meritvami. Pomen tega je še zlasti poudarjen v industrijskih obratih, kjer se morajo njihove kontaminirane, odpadne vode temeljito prečistiti.

V sledeči raziskovalni nalogi je bila proučena ena izmed metod merjenja onesnaženja, in sicer BPK ozziroma biokemijska potreba po kisiku, ki prikaže onesnaženje z razgradljivimi organskimi snovmi. Le-ta je večkrat pokazatelj čistosti vode, toda obstaja množica dejavnikov, ki lahko vplivajo na rezultate te metode, s čimer povzročijo velike netočnosti pri odčitavanju rezultatov in napačno predstavo o dejanskem stanju vode. Iz tega razloga so bili najprej teoretično raziskani vplivajoči kemijski in biološki faktorji, čemur je sledilo praktično delo v laboratoriju podjetja SIJ Acroni d. o. o. na podlagi vzorcev na vtoku in iztoku iz njihove čistilne naprave. Pod vodstvom somentoric se je ugotovljalo, kako se zavira moteče dejavnike. Na podlagi poskusov, izvedenih z elektrometrično metodo, in predvidene onesnaženosti vode so bile vzpostavljene najprimernejše vrednosti alikvota.

Ključne besede: odpadne vode, onesnaževanje, BPK, elektrometrična metoda, vplivajoči faktorji, moteči faktorji

3.2. ABSTRACT

Only after realizing the horrible impact of climate change on us did mankind realize the importance of sustainability and the reduction of pollution. As a result, society implemented certain measurements to improve the quality of our environment, one of which is the control of river systems' quality. The significance of that is especially highlighted in heavy industrial production, where its contaminated and polluted wastewater must be thoroughly treated.

In the following research the methods of measuring pollution with BOD or biochemical oxygen demand were studied due to its ability to reveal the pollution with degradable organic substances. BOD often presents an indicator of water quality, nevertheless, there're many factors that can influence the result of this method, causing a great number of inaccuracies and false data about the actual quality of the water. Firstly, the influencing biological and chemical factors were theoretically researched. Then the practical work was done in the laboratory owned by SIJ Acroni d.o.o. based on samples at the inflow and outflow from nearby river treatment plant. Under the guidance of co-mentors, it was determined how to inhibit before mentioned disturbing factors. Moreover, based on experiments conducted in electrometric method and predicted water pollution, the most suitable aliquot values were established.

Key words: wastewater, pollution, BOD, electrometric method, influencing factors, disturbing factors

4. UVOD

S trenutnim svetovnim onesnaževanjem kvaliteta okolja drastično pada, kar za sabo nosi že dobro vidne posledice. Kako se bodo te izkazale dolgoročno v primeru neukrepanja, je težko predstavljivo, a lahko z gotovostjo rečemo, da ne bodo prinesle nič dobrega.

Tako so vlade pod vplivom pritiskajočih množic, številnih raziskav in potrjenih dejstev začele ukrepati na področju onesnaževanja. Dajale so se zaobljube, podpisovale so se pogodbe, preurejala se je infrastruktura in uvedeni so bili zakoni o sprotнем spremeljanju in nadziranju nekaterih področij onesnaževanja.

Vendar dejstvo je, da uspešnost določenega ukrepa pade, če ni ustrezno nadzorovan. To velja tudi za obvezno izvajanje meritev kakovosti vode, s katerimi se nadzira uspešnost čistilnih naprav pri prečiščevanju kontaminirane vode. Ena od metod, s katero je lahko preizkušeno organsko onesnaževanje na podlagi razlik v koncentracijah raztopljenega kisika ob določenih pogojih, je BPK oziroma biokemijska potreba po kisiku. Slednja sicer da dober vpogled v primernost vode za biokemijske reakcije mikroorganizmov, a je lahko prav tako vplivana s strani množice dejavnikov, ki povzročijo precej popačene rezultate (Zajc, 1996).

Zato smo se v naši raziskovalni nalogi osredotočili na proučevanje teh vplivajočih (večinoma motečih) faktorjev in nato preizkusili, kako zaviranje le-teh deluje na praktičnem nivoju. Omeniti pa je treba, da se BPK meri ponavadi na že očiščeni vodi, in sicer, kot je bilo že prej omenjeno, z namenom nadzora kvalitete vodotoka (European Environmental Agency, 2015). Hoteli smo raziskati, kako se ta metoda aplicira na odpadno vodo, še preden ta pride skozi dolgotrajni proces čiščenja, da bi videli, kako veliko razliko naredi čistilna naprava. Tu smo naleteli na težavo, saj nismo vedeli, kako velike razredčitve in alikvote moramo uporabljati, da bi bile meritve sploh uspešne, zato smo s preizkusi določevali tudi to.

Med raziskovanjem smo se opirali na sledeče tri hipoteze:

H1 Med praktičnim delom bodo upoštevani vsi moteči dejavniki, ki bi lahko povzročali precejšnja odstopanja.

H2 BPK₅ na iztoku iz čistilne naprave bo blizu vrednosti BPK₅ Save iz tega območja.

H3 Rezultate za vzorce iz vtoka v čistilno napravo bodo lahko pridobljeni brez uporabe faktorja predhodne razredčitve, temveč pa z alikvotom v območju med 100 ml in 300 ml

5. TEORETIČNI DEL

5.1. KONCENTRACIJA KISIKA V REČNIH VODAH

Koncentracija kisika v reki je odvisna od dveh osnovnih, vzporednopotekajočih procesov, in sicer porabe kisika (deoksigenacije) in vnosa kisika (reoksigenacije). Slednji temelji na dveh procesih - fotosintezi v fotoavtotrofnih rečnih organizmih (biogeno prezračevanje) – in reareaciji, ki predstavlja fizikalno-kemijski prenos kisika iz zraka preko fazne meje v vodno maso (Zajc, 1996, str. 12). Po drugi strani je poraba predvsem odvisna od potreb vodnih organizmov po kisiku, kemijskih procesov, pri katerih je med reaktanti nujna prisotnost kisika, ter od potreb kisika za razgradnjo organskega onesnaževanja (H₂O Water Research Center).

Zadnji našteti faktor je za nas ključnega pomena, kajti predstavlja osnovo pri razumevanju BPK₅ kot pokazatelja, kako močno je onesnaženje glede na to, kolikšne količine kisika se porabijo za njegovo razgradnjo. Če je organska snov razgradljiva, potem služi mikroorganizmom kot hranilo za nadaljnji proces oksidacije organskih snovi in nihovega razpada na ogljikov dioksid in vodo (Visatros).

5.2. VPLIVI FIZIKALNO-KEMIJSKIH DEJAVNIKOV NA KONCENTRACIJO KISIKA

5.2.1. TRDOTA VODE

Trdota vode je naravna lastnost pitne vode. Povzročajo jo raztopljene mineralne snovi, ki vodi dajejo okus, predvsem kalcijevi in magnezijevi hidrogenkarbonati iz apnenca in dolomita ter kalcijev sulfat (sadra), ki jih voda raztaplja na poti do vodnih zajetij (Vodovod kanalizacija Snaga). Ko govorimo o merjenju trdote vode, pravimo, da je sestavljena iz *začasne trdote* (karbonatne trdote) in *trajne trdote* (nekarbonatne trdote). Začasno trdoto vode lahko odstranimo s prekuhavanjem, pri segrevanju vode se namreč kalcijevi in magnezijevi hidrogenkarbonati pretvorijo v netopne karbonate. Izloženi karbonati so tako imenovani vodni kamen. Vse ostale mineralne snovi, ki se pri prekuhavanju ne oborijo, sodijo v trajno trdoto (sulfati, kloridi, natrijev karbonat itd.). Skupna trdota predstavlja vsoto karbonatne in nekarbonatne trdote. Vsota vseh spojin kalcija in magnezija je skupna trdota vode, ki jo izražamo kot vsoto množin kalcijevih in magnezijevih ionov in jo predstavimo kot vsebnost kalcijevega oksida – CaO (Hydrovod). Trdota vode je lastnost vode, ki se nekoliko spreminja, a ne do take mere, da bi uporabniki to opazili (Vodovod kanalizacija Snaga). Pričakovano območje trdote vode v nemških trdotnih stopinjah [°N] ali [°d] ali [dH], ena nemška stopinja pa predstavlja 10 mg CaO/L. Trdoto vode v Sloveniji opredeljujemo od mehke vode (do 7 °d) pa do zelo trde vode (nad 21 °d). Ker se naša raziskovalna naloga navezuje na območje okoli Jesenic, je vredno omembe, da izviri okoli Jesenic vsebujejo vodo s

trdoto od 5,5 °d (mehka) do 16 °d (precej trda) (Ministrstvo Republike Slovenije za okolje in prostor, 2010).

5.2.2. VREDNOST pH

pH vrednost je tudi ena ključnih lastnosti vode, ki se jo meri s pH lestvico od 0 do 14, pri čemer 0 predstavlja najbolj kislo, 14 pa najbolj bazično. Rečna voda je bolj ali manj nevtralna, saj znaša njena pH vrednost okoli 7. Spremembe tega stanja so vezane na ravnoteže CO_2 , HCO_3 in CO_3 ter na prej opisano trdoto vode (mehke vode imajo nižjo pH vrednost, trde pa višjo) (Atlas.Scientific, 2021).

5.2.3. TEMPERATURA

Temperatura rek niha čez leto glede na letni čas in podnebje. Človek lahko na to lastnost vpliva tudi z onesnaževanjem, pri čemer že najmanjše amplitude pri temperaturi vode v rekah lahko vplivajo na biološko in kemijsko sestavo rek, posledično tudi na mikroorganizme in na biološko potrebo po kisiku (Talut', Zhebt'aev in Zhernosek, 2015).

5.3. MERJENJE KONCENTRACIJ V VODI RAZTOPLJENEGA KISIKA

Za našo raziskovalno naloge je poleg razumevanja koncentracij kisika v vodi in vplivov na to, pomembno še poznavanje metod določanja raztopljenega kisika.

Dve najpogostejši sta kemijska metoda po Winklerju ter elektrometrična metoda s kisikovo elektrodo. Prva metoda zahteva veliko časa pri praktični izvedbi, zato je tudi redkeje uporabljena (Habulin in Primožič, 2008).

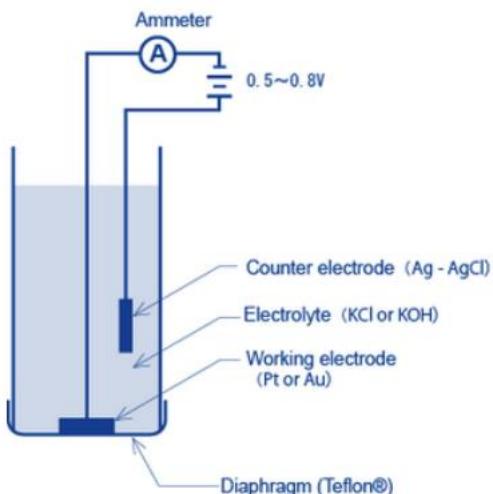
5.3.1. KEMIJSKO PO WINKLERJU

Čeprav je bila Winklerjeva metoda kot določevalec koncentracije raztopljenega kisika v vodi v uporabi več kot 120 let, se dandanes uporablja vse redkeje. Razlogi za to so težavnost in časovno potratni postopki titracije, zato se tudi mi nismo odločili za to metodo (Entz, 2008).

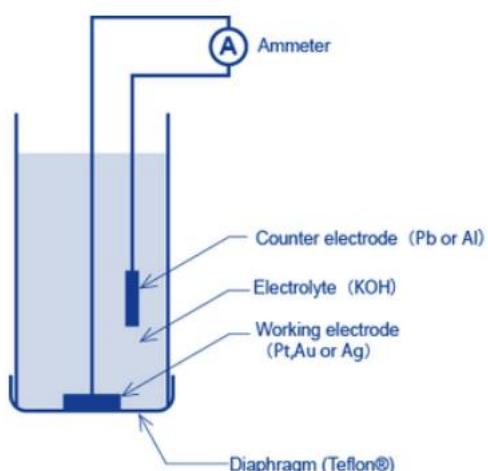
5.3.2. ELEKTROMETRIČNO S KISIKOVO ELEKTRODO

Pri tej metodi se uporabljajo elektrode, da se zazna količina kisika, ki prehaja skozi zanj prepustno (oz. permeabilno) prepono. Ta je skupaj z dvema različnima kovinama in dvema elektrodami nameščena v elektrolitsko raztopino. Odčitavanje rezultatov na pridobljeni aparaturi omogoča predvsem membrana prepone, ki zaznava redoks reakcije med kisikom in kovinami.

Pri elektrometrični metodi ločimo še dve dodatni, in sicer metodo z galvansko elektrodo ter polarografično metodo. Princip je pri obeh skorajda enak, razlikujeta se pa namreč le po dejstvu, da se pri drugi dodaja električna napetost za neprenesen električni tok, pri prvi pa ne (TOADKK, 2021).



Sl. I: Shematski prikaz elektrometrične metode z galvansko elektrodo – LAQUA. *Diaphragm Electrode Method*. [na spletu]. Pridobljeno [21.1.2023] s: <https://www.horiba.com/deu/water-quality/support/electrochemistry/the-story-of-dissolved-oxygen/methods-for-measuring-dissolved-oxygen-levels/diaphragm-electrode-method/>



Sl. II: Shematski prikaz elektrometrične polarografične metode – LAQUA. *Diaphragm Electrode Method*. Pridobljeno [21.1.2023] s: <https://www.horiba.com/deu/water-quality/support/electrochemistry/the-story-of-dissolved-oxygen/methods-for-measuring-dissolved-oxygen-levels/diaphragm-electrode-method/>

Pri odčitavanju koncentracije raztopljenega kisika pri naši raziskovalni nalogi smo se glede na vse prej navedeno odločili za elektometrično polarografsko metodo. Uporabili smo elektrokemijsko celico z dvema elektrodoma – srebrovo anodo in katodo iz žlahtne kovine. Elektrodi sta med sabo električno povezani v raztopini ter ločeni od vzorca s plinsko membrano, skozi katero gre kisik in se zaradi električne napetosti reducira. Ta električni proces povzroči pretok toka, kar aparat zazna in lahko tako izmeri koncentracijo kisika (P. Dolinar in P. Medja, osebna komunikacija, 18.1.2023).

5.4. ONESNAŽEVANJE REČNIH VODA

Kot smo že prej omenili smo se za to raziskovalno nalogu odločili, da bi preverili učinkovitost ukrepov, ki naj bi pripomogli k boljši kvaliteti našega okolja, predvsem pa k boljši kvaliteti rečnih voda.

Reke imajo izjemno velik pomen v našem okolju. So eden glavnih virov pitne vode za ljudi in živali, poleg tega pa so dom za ogromno število organizmov (od rib in manjših polžkov pa do alg in ostalih mikroorganizmov). Zato je njihova čistoča zelo pomemben dejavnik za vse nas.

Glavni vzrok za onesnaževanje rečnih voda pa je zagotovo antropogeni pritisk, torej vpliv človeške vrste na stanje rek. Intenzivni razvoj industrije, rast prebivalstva in povečanje iztokov odpadnih voda povzročajo povečanje koncentracij škodljivih snovi v rekah, kar vpliva ne le na floro in favno, temveč tudi na kakovost življenja prebivalstva (Talut' idr., 2015).

Rast industrije zaradi vse večjih potreb prebivalstva vodi tudi v neizogibno povečanje količine odpadkov. Odpadne vode iz tovarn so pogosto, zaradi varčevanja s stroški, neustrezno očiščene in vsebujejo težke kovine, fenole, formaldehyde, tanine, netopne spojine, rafinerijske proizvode itd. Te snovi spreminjajo kemično sestavo vode, povzročajo bolezni, smrt in mutacije rib, negativno vplivajo na rastlinstvo ter škodijo vretenčarjem v vodnem okolju: motijo njihovo presnovo beljakovin in uravnavo notranjega okolja (Danilov, 2022).

Reke imajo sicer samočistilno sposobnost, saj lahko same razkrojijo in nevtralizirajo nekatere fekalije, onesnaženja in toksine. Po drugi strani pa so žrtev prevelikega onesnaženja, čemur sledi, da njihova samočistilnost ne more delovati v polnem obsegu.

Zaradi vsega prej naštetege moramo reke prečistiti preko čistilnih naprav, da se lahko voda zopet uporablja za svoje prvotne namene.

Pomemben dejavnik čistoče vode je tudi že prej omenjena koncentracija kisika, ki se lahko spreminja glede na okoliške dejavnike. Kisik v vodah je namreč nujen pri uravnanem življenjskem ciklu vodnih organizmov, saj igra ključno vlogo v njihovih

biokemičnih in bioloških procesih. Po eni strani nenormalno visoka raven kisika povzroča velike težave pri ohranjanju življenja in prekomerno evtrofikacijo (=prevelike količine hraničnih snovi v vodnem telesu). Po drugi strani pa lahko ima tudi prenizka raven kisika negativne posledice, kot so: izumiranje aerobnih organizmov (rib, školjk, planktona...), rast koncentracije lahko oksidiranih organskih primesi...

Sledi, da je merjenje količine raztopljenega kisika v rečnih vodah pomemben kazalnik ekološkega in sanitarnega stanja rek (Greenologia, 2020).

5.5. INDIKATORJI ONESNAŽENOSTI REK

Metode določanja onesnaženosti rek se razlikujejo od čisto osnovnih (vonj, barva in okus) pa do nekih bolj kompleksnih analiz, kot so biokemijska potreba po kisiku (BPK₅), raztopljeni organski ogljik (DOC), dušikove in fosforjeve spojine, kemijska potreba po kisiku (KPK), analiza neraztopljenih oz. suspendiranih snovi, pH, totalni organski ogljik (TOC), in druge ... (Komatar, 2017)

5.5.1. DUŠIK

Dušik je na splošno pokazatelj onesnaženosti. Vir onesnaženja z dušikovimi spojinami sta ravno amonijski in nitratni ion. Nitratni ion je produkt aerobne reakcije, nastane pa iz amonijskega iona ali amonijaka. Ta dva iona prideta v rečne sisteme preko kmetijskih obratov in izpustov iz čistilnih naprav. Preisočne količine nitritov lahko sprožijo prekomerno rast alg, ki zmanjšujejo količino raztopljenega kisika v vodi, s čimer tako rekoč pobijejo ribe in ostale vodne organizme (Gošnjak in Jakovljevič, 2013).

5.5.2. BIOINDIKATORJI

Bioindikatorji so organizmi, ki se uporabljajo za spremljanje zdravja ekosistema, na primer količine mikroalg, prisotnih v vodi. So organski in naravni indikatorji onesnaženosti okolja – živi organizmi, kot so rastline, planktoni, živali in mikrobi – zagotavljajo dragocene informacije za ocenjevanje kakovosti vode (Greenologia, 2020).

5.5.3. MOTNOST

Motnost je merilo, kako čista in bistra je voda. Merjenje stopenj motnosti je odvisno od koncentracije skupnih suspendiranih trdnih snovi. To so delci, večji od 2 mikronov, ki jih najdemo v vodi. Primeri teh so prod, pesek, mulj, glina in alge. Ko organska snov razpade – na primer iz živali, rastlin in alg – postane lebdeča trdna snov. Problem pri teh lebdečih sedimentih pa je, da lahko vsebujejo tudi velike količine onesnaževal, vključno s fosforjem, pesticidi ali težkimi kovinami. Lažje trdne snovi se bodo usedle na dno vodnega telesa; če pa je prisotnih veliko trdnih delcev, postane površinska voda motna oz. manj bistra (Kraški vodovod, 2005).

5.5.4. BPK₅

V naši raziskovalni nalogi smo se predvsem opirali na vrednotenje onesnaženja z BPK₅ analizo, ki bo tudi v nadaljevanju podrobneje opisana.

5.5.5. KPK

Kemijska potreba po kisiku (KPK) predstavlja še enega od parametrov onesnaženosti odpadnih voda, ki se velikokrat podaja skupaj z BPK₅. Sicer imata oba isto enoto (mg O₂/L), a KPK za razliko od BPK₅ podaja celotno vsebnost snovi, ki jih lahko oksidiramo pri agresivnih pogojih in ne standardnih. To pomeni, da poteka postopek ob visoki temperaturi od 100 do 150 °C ter ob prisotnosti katalizatorja (ioni Ag⁺) (Dular, 2021, str. 7). Po drugi strani s to metodo ne moremo točno določati množine kisika, potrebne za oksidacijo organskih snovi (kot to lahko pri BPK₅), saj poleg te vrednosti KPK zajema še oksidacijo nekaterih anorganskih zvrsti v nižjem oksidacijskem stanju, kot sta NO²⁻ in Fe²⁺. To je tudi razlog za to, da je kemijska potreba po kisiku ponavadi kar dvakratnik biokemijske potrebe po kisiku (Pediaa, 2017).

5.6. ZAKONODAJA IN STATISTIKA

Zakonodaja določa normative koncentracij določenih komponent v vodi pri izpustu v vodotok ter ob previsokih vrednostih le-teh obvezuje pooblaščeno osebo, da jih odstrani z enim od znanih postopkov čiščenja (ARSO okolje, 2022).

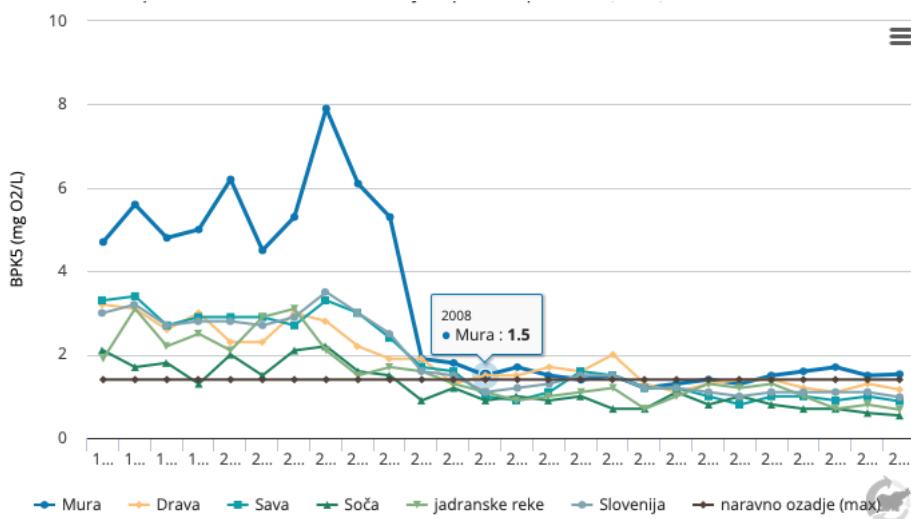
5.6.1. STATISTIKA BPK₅

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Biokemijska potreba po kisiku v rekah (mg O ₂ /L)	2,8	2,7	2,9	3,5	3,0	2,5	1,6	1,5	1,1	1,2	1,3

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Biokemijska potreba po kisiku v rekah (mg O ₂ /L)	1,5	1,5	1,2	1,2	1,1	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0

Tab. I: STATISTIČNI URAD REPUBLIKE SLOVENIJE. SiStat. Kazalnik 06. cilja trajnostnega razvoja (SDG): Čista voda in sanitarna ureidtev, 1. del, Slovenija, letno [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <https://pxweb.stat.si/SiStatData/pxweb/sl/Data-/3283810S.px/table/tableViewLayout2/>

BPK₅ se je v slovenskih rekah od leta 2003 zmanjševala (od 3,5 pa do 1,0 (2021)). Tem nižja je ta vrednost, bolj je voda kakovostna. Gledano s tega vidika se je kakovost voda v zadnjih 15 letih izboljšala, kar se da razbrati tudi iz naslednjih podatkov:



Viri: Enotna zbirka podatkov monitoringa kakovosti voda, Agencija Republike Slovenije za okolje, 2022

SI. III: AGENCIJA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA OKOLJE. (2022). *Slika VD10-3.* [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <http://kazalci.ars.si/sl/content/hranila-biokemijska-potreba-po-kisiku-v-rekah-6>

	Mura [mg O ₂ /L]	Drava [mg O ₂ /L]	Sava [mg O ₂ /L]	Soča [mg O ₂ /L]	jadranske reke [mg O ₂ /L]	Slovenija [mg O ₂ /L]	naravno ozadje (max) [mg O ₂ /L]
1996	4,70	3,20	3,30	2,10	1,90	3	1,40
1997	5,60	3,10	3,40	1,70	3,10	3,20	1,40
1998	4,80	2,60	2,70	1,80	2,20	2,70	1,40
1999	5	3	2,90	1,30	2,50	2,80	1,40
2000	6,20	2,30	2,90	2	2,10	2,80	1,40
2001	4,50	2,30	2,90	1,50	2,90	2,70	1,40
2002	5,30	3	2,70	2,10	3,10	2,90	1,40
2003	7,90	2,80	3,30	2,20	2,10	3,50	1,40
2004	6,10	2,20	3	1,60	1,50	3	1,40
2005	5,30	1,90	2,40	1,50	1,70	2,50	1,40
2006	1,90	1,90	1,70	0,90	1,60	1,60	1,40
2007	1,80	1,30	1,60	1,20	1,30	1,50	1,40
2008	1,50	1,50	1	0,90	1,10	1,10	1,40
2009	1,70	1,50	0,90	1	0,90	1,20	1,40
2010	1,50	1,70	1,10	0,90	1	1,30	1,40
2011	1,40	1,60	1,60	1	1,10	1,50	1,40
2012	1,50	2	1,50	0,70	1,20	1,50	1,40
2013	1,20	1,30	1,20	0,70	0,70	1,20	1,40
2014	1,30	1,10	1,20	1,10	1	1,20	1,40
2015	1,40	1,30	1	0,80	1,30	1,10	1,40
2016	1,30	1,40	0,80	1	1,20	1	1,40
2017	1,50	1,40	1	0,80	1,30	1,10	1,40
2018	1,60	1,20	1	0,70	1	1,10	1,40
2019	1,70	1,10	0,90	0,70	0,70	1,10	1,40
2020	1,50	1,30	1	0,60	0,80	1,10	1,40
2021	1,53	1,16	0,88	0,54	0,68	0,98	1,40

Sl. IV: AGENCIJA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA OKOLJE. Tabela s podatki za graf, slika VD10-3 [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <http://kazalci.ars.si/sl/content/hranila-biokemijska-potreba-po-kisiku-v-rekah-6>

Kot se vidi na sliki 5, je ekološko stanje glede na BPK₅ na območju od Sava HE Moste do Sava Podbrezje bilo dobro že v letih 2007 in 2008. Glede na zgoraj navedeno statistiko, ki prikazuje, kako z leti vrednost BPK₅ na vseh območjih pada, lahko z zagotovostjo trdimo, da se je kvaliteta vode na območju Sava HE Moste do Sava Podbrezje le izboljšala.

Tabela 22: Razvrščenost vodnih teles v razred ekološkega stanja in pripadajoča raven zaupanja po elementih kakovosti po prehodni določbi

Šifra	Ime vodnega telesa	ekološko stanje / raven zaupanja	Biološki elementi kakovosti						Sporšni FI-KE elementi			NRS	Ekološko stanje in raven zaupanja		
			Filobentos in makrofiti			Bentoški nevretenčarji			Skupaj biološki elementi	BPK5	Nitrat	Skupaj sporšni FI-KE elementi			
			Saprobnost	Trofičnost	Skupaj	Saprobnost	HMS	Skupaj							
SI186VT5	VT Temenica II	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	ZD	-	ZD	ZD	ZD	D	D	D	D ^a	
SI186VT7	VT Prečna	ekološko stanje raven zaupanja	D	D	D	ZD	-	ZD	D	Z	D	Z	D	Z ^b	
SI188VT5	VT Radulja povirje – Klevevž	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	ZD	-	ZD	ZD	ZD	D	D	D	D ^a	
SI188VT7	VT Radulja Klevevž – Dobrava pri Škocjanu	ekološko stanje raven zaupanja	SREDNJA	SREDNJA	NIZKA	NIZKA	SREDNJA	NIZKA	NIZKA	NIZKA	NIZKA	VISOKA	NIZKA	VISOKA	
SI187VT1	VT Krka povirje – Soteska	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	ZD	-	ZD	ZD	ZD	D	D	D	D ^a	
SI187VT7	VT Krka Soteska – Otočec	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	ZD	-	ZD	ZD	ZD	ZD	D	D	ZD ^c	
SI187VT9	VT Krka Otočec – Brežice	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	D	D	ZD	-	ZD	D	D	D	D	D	D ^a	
SI192VT2	VT Mestniščica	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	D	ZD	D	D	ZD	D	D	D	D ^a	
SI192VT1	VT Bistrica povirje – Lesično	ekološko stanje raven zaupanja	D	ZD	D	D	-	D	D	ZD	D	D	D	D ^a	
SI192VT2	VT Bistrica Lesično – Polje	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	ZD	-	ZD	ZD	ZD	D	D	D	D ^a	
SI192VT1	VT Sotla Dobovec – Podčetrtek	ekološko stanje raven zaupanja	NIZKA	NIZKA	NIZKA	NIZKA	SREDNJA	NIZKA	NIZKA	NIZKA	NIZKA	VISOKA	NIZKA	VISOKA	
SI192VT5	VT Sotla Podčetrtek – Kluž	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	D	D	D	D	ZD	D	D	D	D ^a	
SI1VT137	VT Sava HE Moste – Podbrezje	ekološko stanje raven zaupanja	ZD	ZD	ZD	ZD	Z	Z	Z	Z	ZD	D	D	Z	
SI1VT150	VT Sava Podbrezje – Kranj	ekološko stanje raven zaupanja	D	ZD	D	ZD	ZD	ZD	D	ZD	D	D	D	D ^a	
SI1VT310	VT Sava Medvede – Podgrad	ekološko stanje raven zaupanja	D	D	D	D	Z	Z	Z	ZD	D	D	D	Z	
SI1VT519	VT Sava Podgrad – Litija	ekološko stanje raven zaupanja	Z	Z	Z	D	-	D	Z	ZD	D	D	D	Z ^b	

Sl. V: CVETANIČ I. in ROTAR B. Ocena ekološkega in kemijskega stanja rek v Sloveniji v letih 2007 in 2008. tabela 22 na str. 83. [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023]

s: https://www.arso.gov.si/vode/reke/publikacije%20in%20poro%C4%8Dila/POROCILO_REKE_2007_2008.pdf

Ko govorimo o BPK₅ na območju naše raziskovalne naloge, govorimo o sledečih mejnih vrednostih (glede na referenčno vrednost [$<1,0 ; 1,2$]):

- zelo dobro/ dobro [1,6 ; 1,9]
- dobro / zmerno [2,1 ; 4,4] (Ministrstvo RS za okolje in prostor).

Zdelo se nam je vredno omembe tudi to, da je Slovenija v Evropi glede na BPK₅ med boljšimi državami, kar tudi potrjuje slika 6.



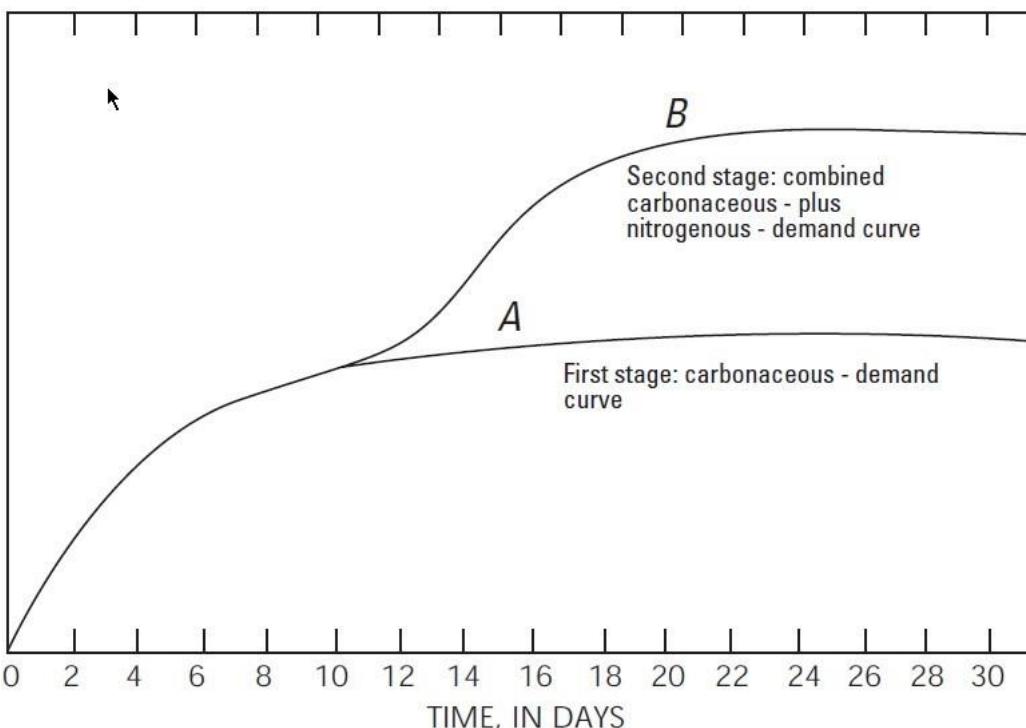
SI. VI: EUROPEAN ENVIRONMENTAL AGENCY. (2015). *Biological Oxygen Demand (BOD) in rivers*. [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/explore-interactive-maps/wise-soe-bod-in-rivers>

5.7. BPK₅

Biokemijska potreba po kisiku (BPK) je množina kisika, ki je potrebna za oksidacijo razgradljivih organskih snovi s pomočjo mikroorganizmov. Služi kot merilo za onesnaževanje voda z razgradljivimi snovmi in se navaja v mg molekularnega kisika na liter opazovanega vzorca. Je biokemijska metoda, zato je pomembno, da so pogoji v času poskusa primerni za življenje in nemoteno delovanje mikroorganizmov. Natančneje povedano, odstranjene morajo biti vse strupene snovi ozziroma toksini (bakteriocidi, strupene, težke kovine, prosti klor...), po drugi strani pa morajo biti prisotne hranilne snovi potrebne za rast in razmnoževanje (dušik, fosfor, mikroelementi...) (Mlakar, 1997).

BPK vključuje dve fazi, in sicer ogljikovo (oz. s tujko karbonacijsko) in dušikovo (oz. s tujko nitrogensko). Pri prvi fazi organizmi v prvih 5 dneh s porabo kisika razgradijo 65–70 % organskih snovi (Vanrolleghem in Young, 2021). V obdobju 5–10 dni se razgradi večina preostalih organskih snovi, še zlasti pa ostanki organskega ogljika, ki ga v tem času že precej primanjkuje. Zaradi tega se nekaj organizmov preklopi na nitrifikacijske procese, za katere je prisotnost kisika tudi nujna. Tako zdaj dva vira uporabljata kisik, kar je razlog zato, da se njegova poraba podvoji in začne eksponentno naraščati. Po 10 dneh se znova ustali, saj ostanejo kot porabniki kisika samo še nitrifikacijski procesi, čez 21–30 dni pa naj bi kisika zmanjkalo (Elliot, Khmelyuk, Redfield, 2021).

Predvideno tendenco naraščanja vrednosti BPK ter njihovo povprečje se da razbrati tudi iz grafa, dostopnega na Caltestu, ki predstavlja priznan ameriški analitski laboratorij, izvajajoč okoljske analize (Caltest, 2006).



Sl. VII: CALTEST. *Biochemical Oxygen Demand (BOD) And Chemical Oxygen Demand (COD)*. [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <https://caltestlabs.com/analytical-services/priority-pollutants/inorganic-methods/bodandcod/>

Meritev BPK se izvaja v inkubacijskih pogojih (tema, 20 ± 1 °C, brez dovoda kisika), na koliko dni je pa odvisno od tega, kaj točno hočemo pri izmerjenih vrednostih upoštevati. Tako je kot merilo onesnaževanja uporabljena inkubacijska doba petih dni, saj prikaže celotno karbonacijsko fazo in predstavi dober vpogled v kvaliteto in karakteristike vode glede na biokemijsko potrebo. (Delzer in McKenzie, 2003). Za druge namene se sicer uporablja tudi BPK_7 (inkubacijska doba 7 dni) in BPK_{21} (inkubacijska doba 21 dni), a za določevanje onesnaženosti vode nista nujno potrebni (Elliott, Khemlyuk, Redfield idr., 2021).

Sledi torej, da je v širši rabi BPK_5 (5 kot število inkubacijskih dni vzorcev pred končnimi meritvami) (Zajc 1996), zato smo se zanj odločili tudi mi.

V uporabi je več različnih metod določanja BPK. Dve najpogosteješi sta razredčevalna metoda (z razredčenjem ali brez) in manometrična metoda, pri kateri se meri sprememba pritiska (Warburg, Sapromat, Baromat) (Vistaros).

5.7.1. IZRAČUN BPK5

Preden izračunamo BPK_5 , moramo med testnimi raztopinami, ki so slepi vzorec in standardna referenčna raztopina, določiti tisto, ki izpolnjuje naslednji pogoj:

$$\frac{C_1}{3} \leq (C_1 - C_2) \leq \frac{2C_1}{3}$$

C_1 → koncentracija raztopljenega kisika v mg/l v eni od testnih raztopin v času nič

C_2 → koncentracija raztopljenega kisika v isti raztopini po petih dneh v mg/l
(Košir, 1999)

Po drugi strani se lahko namesto preizkušanja najprimernejšega razredčitvenega faktorja, poslužujemo tabele, napravljene na podlagi več takšnih preizkusov. Iz te lahko namreč na podlagi predvidene vrednosti BPK_5 odčitamo, kako velik faktor razredčevanja bo potreben za naš vzorec. S tem si zagotovimo, da bodo naše meritve uspešne (Košir, 1999)

Tab. II: KOŠIR, N. *Navodilo za določanje BPK_5 z OxiTop.* (1999). Posredovano s strani mentorice [20.12.2022] v papirnatem formatu.

BPK_5 v mg/l	Faktor razredčevanja	Podajanje rezultatov odstop: v mg/l
3-6 (Rv)	0,1,2	+0,5
4-12 (Rv, Bčv)	2	+0,5
10-30 (Rv, Bčv)	5	+0,5
20-60 (Bčv)	10	+0,5

40-120 (LKlv)	20	+0,5
100-300 (LKlv, TOv)	50	+0,5
200-600 (LKlv, TOv)	100	+0,5
400-1200 (MKIE, TOv)	200	+0,5
1000-3000 (MKIE)	500	+0,5
2000-6000 (MKIE)	1000	+0,5

Legenda:

Rv – rečna voda

Bčv – voda iz bioloških čistilnih naprav

LKlv – lažje kontaminirana industrijska voda

MKIE – močno kontaminirani industrijski efluenti

TOv – tehnološko odpadne vode

BPK₅ pa izračunamo po naslednji formuli:

$$BPK_5 = [(C_1 - C_2) - \left(\frac{V_t - V_a}{V_t}\right)(C_3 - C_4)] \cdot \frac{V_t}{V_a} \cdot f_r$$

V_t → skupni volumen testne raztopine [ml]

V_a → volumen vzorca, ki smo ga porabili za pripravo testne raztopine [ml]

C₁ → koncentracija raztopljenega kisika v [mg/l] v eni od testnih raztopin v času nič

C₂ → koncentracija raztopljenega kisika v [mg/l] v isti raztopini po petih dneh

C₃ → koncentracija RK v slepem vzorcu v času nič v [mg/l]

C₄ → koncentracija RK v slepem vzorcu po petih dneh v [mg/l]

f_r → faktor eventuelne predhodne razredčitve z ultra-čisto vodo

(Zagorc, 1996)

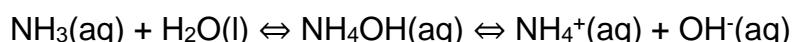
5.8. MOTEČI FAKTORJI IN PROCESI:

5.8.1. DUŠIK V NITRIFIKACIJSKIH IN DENITRIFIKACIJSKIH PROCESIH

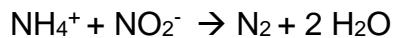
Da bi razumeli, kako točno lahko biokemijske reakcije, vsebujoče dušik, vplivajo na naše rezultate, se moramo najprej poglobiti v kroženje tega elementa v naravi.

Najprej rastline vežejo oz. fiksirajo atmosferski dušik (N₂), kajti ga potrebujejo za sintezo organskih spojin, natančneje povedano aminokislin in nukleinskih kislin. Podoben proces fiksacije poteka tudi v prostoživečih bakterijah, nahajajočih se v prsti (Wikipedia 2007).

Od tu naprej se organska oblika dušika (N₂) pretvori v anorgansko s procesom mineralizacije. Ker pa ta anorganski produkt večinoma predstavlja amonijak, temu procesu večkrat pravimo kar amonifikacija. Od tu naprej gre amonijak po treh različnih poteh: ali volatizira (Thpanorama, 2017) in se nato kot plin sprosti v ozračje ali ohrani obliko ali pa stopi v reakcijo z vodo, pri kateri dobimo amonijeve ione (Frontiers, 2019).



Amonijevi ioni se lahko nato preko anaerobne amonijeve oksidacije ter ob prisotnosti nitritnih ionov pretvorijo nazaj v organski atmosferski dušik.

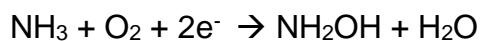


Amonijak, ki je svojo obliko in lastnosti ohranil, se pretvori naprej v procesu nitrifikacije.

(TheNatureEducation.Knowledge project, 2010)

Nitrifikacijo sestavlja dva koraka.

V prvem poteče oksidacija amonijaka v nitritne (NO_2^-) ione pri aerobnih pogojih. Poteka zgolj v prokariontskih organizmih (TheNatureEducation.Knowledge project, 2010), še zlasti v slednjih vrstah Gram-negativnih nitrifikacijskih bakterij: *Nitrosomonas*, *Nitrosospira* in *Nitrosococcus* (Wikipedia, 2018). Poteče v dveh delih: V prvem se amonijak ob prisotnosti encima amonijeve monooksigenaze in kisika pretvori v hidroksilamin:



V drugem delu pa se hidroksilamin ob prisotnosti encima hidroksilaminske oksireduktaze pretvori v nitritne ione (TheNatureEducation.Knowledge project, 2010):



Drugi korak nitrifikacije poteka v aerobnih pogojih in predstavlja oksidacijo nitritnih v nitratne (NO_3^-) ione. To izvajajo sledeče Gram-negativne nitrifikacijske bakterije: *Nitrospira*, *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, and *Nitrospina* (Wikipedia, 2018).



(Zajc, 1996)

Denitrifikacija je mikrobeni anaerobni proces redukcije nitratnih ionov v nitritne. Lahko se nadaljuje naprej, torej dobimo iz nitritnih ionov molekularni dušik (N_2) in dušikov oksid (N_2O), lahko se nitriti porabijo pri oksidaciji amonijevih ionov ali pa jih posrkajo rastline s procesom asimilacije. Celotni proces denitrifikacije tako poteka sledeče:



(Frontiers, 2019).

S tem procesom se širok spekter organizmov odziva na spremembe koncentracij kisika v njihovem neposrednem okolju. Ko denitrifikatorji zaznajo njegov primanjkljaj, se preklopijo z aerobnega dihanja na anaerobno z uporabo nitrita (NO_2^-) oz. nitrata

(III) kot akceptorja elektronov. To je sicer koristen proces pri odstranjevanju nitrata (NO_3^-) oz. nitrata (V) iz odpadne vode, vendar ima tudi negativen učinek, saj se odstranjuje dragoceno dušikovo gnojilo iz tal, sprošča se toplogredni plin N_2O in troposferski onesnaževalec NO (UniversityofWaterloo, 2015).

Mi vemo, da so v naših vzorcih nitrifikacijske bakterije zagotovo prisotne, zato je pri vsem tem kroženju dušika za nas najbolj ključna poraba kisika in sproščanje toksičnega nitrata (V) pri nitrifikaciji. Posledično vemo, da moramo delovanje nitrifikacijskih bakterij v svojih vzorcih inhibirati.

5.8.2. ANORGANSKE SUBSTANCE

5.8.2.1. IONI

Naši vzorci prav tako ne smejo vsebovati prekomernih koncentracij ionov, kot so Ag^+ , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{6+} , Zn^{2+} . Če je le-teh preveč, moramo vzorec primerno razredčiti (Košir, 1999).

5.8.2.2. KLOR

Iz vzorcev odstranjujemo tudi klor, ki se v njih znajde zaradi njegove uporabnosti pri metodah dezinfekcije s kemičnimi sredstvi. Klor bodisi v tekočem bodisi v plinastem agregatnem stanju oziroma klorov dioksid (ClO_2) je namreč dober uničevalec vegetativnih celic od patogenih mikroorganizmov, ki so za človeka škodljivi (Nanoten). Uničuje jim celično membrano, kasneje pa tudi interferira z zaporedji nukleinskih kislin v njihovem genskem zapisu, kar vodi v hude mutacije in posledično smrt organizma (SDWF, 2017). Poleg tega se pa pitni vodi dodaja za kontrolo okusa in vonja (MAKCMC).

5.9. POMEN MIKROORGANIZMOV

Mikroorganizmi združeni v aktivno biomaso so za našo raziskovalno nalogu ključnega pomena zaradi sposobnosti razgradnje organskega onesnaževanja. Večinoma so to bakterije, ki na rezultate še zlasti vplivajo s svojo številčnostjo in hitrostjo metabolizma, zato moramo ta dva dejavnika nadzorovati. V primeru številčnosti, če je mikroorganizmov premalo, jih dodajo z inokulacijo oziroma nacepljanjem. Hitrost in uspešnost metabolizma po drugi strani pa lahko zagotavljamo z upoštevanjem pogojev, potrebnih za bakterijsko rast in cepitev (P. Dolinar in P. Medja, osebna komunikacija, 18.1.2023).

5.9.1. STIK BAKTERIJ Z NOVIM MEDIJEM

Bakterije imajo lastnost, da pričnejo ob stiku z novim medijem (v danem primeru je to naš vzorec, na katerem izvajamo poskuse) s prilagajanjem na novo okolje, torej vstopijo v tako imenovano fazo mirovanja. Izpostavljene so namreč spremenjenim razmeram, kot so druga hranila, okoliški pH, vir ogljika itd., ki ne sovpadajo z

okoljem, na katero so bile navajene prej, zaradi česar so ovirani njihovi znotrajcelični procesi (LibretextsBiology, 2022). Bakterije posledično aktivirajo svoje mehanizme homeostaze, da bi si ponovno omogočile vzdrževanje stabilnega notranjega okolja, ter začnejo z regulacijo degradacije mRNA – molekule, ki je za njih ključnega pomena v stopnji med sintezo proteinov in izražanjem genov. S tem mehanizmom prilagoditve si omogočijo precejšnjo kontrolo nad tem, koliko genov se bo izrazilo in posledično tudi, katere lastnosti bodo na ta način pridobile. To lahko izkoristijo za uravnavanje celičnih procesov glede na njihovo bodisi novo bodisi staro okolje, s čimer dosežejo uspešno rast in cepitev (Cocaign-Bousquet in Ropers, 2020).

5.9.2. MIKROORGANIZMI KOT MOTEČI DEJAVNIKI

Po drugi strani pa so lahko nekateri mikroorganizmi eni največjih motečih dejavnikov, ki lahko povzročajo precejšnja odstopanja od zaželenih vrednosti.

5.9.2.1. FOTOAVTROTROFNI MIKROORGANIZMI

Ene takih so alge in drugi fotoavtotrofni mikroorganizmi, ki so zmožni v svojih kloroplastih izvajati proces fotosinteze. S tem v svojo oklico sproščajo kisik, ki bi lahko kasneje zelo dvignil vrednosti naših rezultatov.



(Bailey, 2020)

Da bi onemogočili proizvajanje kisika, smo vzorce inkubirali v temi. Tako v odsotnosti svetlobe fotosinteza ni mogla več potekati, posledično pa se ni sproščal odvečen kisik.

5.9.2.2. HETEROTROFNI MIKROORGANIZMI

Po drugi strani pa v cepivu niso samo bakterije, ki so zmožne same sintetizirati vir energije (kot to delajo fotoavtotrofi ob prisotnosti sončne svetlobe), temveč tudi tiste, ki nujno potrebujete organske molekule (npr. monosaharid glukozo) za pridobivanje energije. Čeprav so naši rezultati močno odvisni od njihovega celičnega dihanja, pri katerem porabljajo kisik, med produkti te reakcije sočasno nastaja ogljikov dioksid, ki pa lahko pri reakciji z vodo povzroči odstopanja od zaželenega pH območja (razloženo pri vplivu pH na bakterije).



(Baron, 1996)

5.10. POGOJI ZA USPEŠNO RAST IN CEPITEV BAKTERIJ

5.10.1. pH

Bakterije so zelo občutljive tudi na kislost oziroma bazičnost svoje okolice. Na podlagi njihovega preferenčnega razpona pH jih uvrščamo v tri skupine:

- Nevtrofilne bakterije (pH okolja 5-8)
- Acidofilne bakterije (pH okolja pod 5)
- Alkalofilne bakterije (pH okolja nad 8)

Glede na to, da imamo vzorce rečne vode, vemo, da delamo večinoma z nevtrofilnimi bakterijami, saj je voda v rekah večinoma nevtralna (pH je približno 6,8-7,2). Lahko se le malo bolj nagne h kislosti ob naraščanju temperature ali ko pride do prekomernih koncentracij CO₂ v ozračju. Ta se posledično raztavlja v vodi in jo dela bolj kislo s tem, da pri reakciji z vodo tvori ogljikovo (IV) kislino.



(AtlasScientific, 2021)

Zaradi vsega naštetega je pomembno, da pred inkubacijo vzorcev ustalimo pH. To dosežemo s pufri (Mlakar, 1997), ki predstavljajo zmesi ali šibkih baz in soli njihovih konjugiranih kislih (primer NH₄OH in NH₄Cl) ali šibkih kislin in soli njihovih konjugiranih baz (primer H₂CO₃ in Na₂CO₃) (Dijaski.net, 2018). Tako delujejo kot stabilizatorji pH s povratnim sproščanjem ali vezavo H⁺ ali OH⁻ ionov (OpenProf, 2020).

5.10.2. HRANILA OZIROMA NUTRIENTI

Da je omogočena uspešna rast in cepitev bakterij, morajo biti izpolnjeni tudi pogoji, nanašajoči se na potrebe bakterij po hranilih (BiologyEase, 2020). Med te spadajo elementi, ki so bistveni pri sintezi organskih molekul, kot so H, C in N. Vir ogljika je lahko organski (glukoza, piruvat, acetat ...) ali anorganski (CO₂, HCO₃). Enako se delijo tudi viri dušika, ki so lahko prav tako organski (aminokisline, ekstrakti) ali anorganski (KNO₃, N₂, NH₄Cl ...). Ali bakterije uporabljajo enega ali drugega, je odvisno od njihove razvrstitev glede na vire energije in ogljika (Orožen Adamič in Sernek, 2015).

Prav tako k bakterijski rasti pripomoreta tudi fosfor in žveplo (LibretextsBiology, 2022).

Za nemotene bakterijske fiziološke procese so dodatno potrebne različne mineralne soli, in sicer kalij, kalcij, magnezij ter atomi nekaterih prehodnih kovin v manjših količinah, in sicer železo, cink, baker pa mangan, saj jih potrebujejo nekateri bakterijski encimi (Orožen Adamič in Sernek, 2015).

Iz vsega tega lahko sklepamo, da odpadna rečna voda ne more vsebovati vseh potrebnih hranil, zato jih moramo v vzorec v določenih količinah dodati.

5.10.3. TEMPERATURA

Poznamo delitev mikroorganizmov glede na razpon temperatur okolja, v katerem so. Nujno morajo biti vzdržane, saj je v nasprotnem primeru obstoj določenih bakterij onemogočen. Poznamo:

- Psihofilne bakterije (-15 - 0 °C)
- Kriofilne bakterije (0 - 10 °C)
- Mezofilne bakterije (10 - 40 °C)
- Termofilne bakterije (40 - 70 °C)
- Hipertermofilne bakterije (70 - 110 °C)

(Orožen Adamič in Ser nec, 2015)

V naših vzorcih v veliki večini nastopajo mezofilne bakterije, kar je razlog za vzdrževanje temperature pri 20°C v obdobju inkubacije. Predstavlja namreč ugodno temperaturo za potek vseh življenjskih procesov in je hkrati tudi energijsko manj potratna.

6. PRAKTIČNI DEL

6.1. PRINCIP IN KRATEK OPIS

Praktični del smo v celoti izvajali v laboratoriju podjetja SIJ Acroni d. o. o. pod nadzorom zunanjih mentoric – Petre Medja in Pie Dolinar. Določili smo BPK₅ vzorcev, pobranih iz vtoka in iztoka čistilne naprave ter referenčnih raztopin, ki sta ju predstavljala vzorca standardne referenčne raztopine (SRR) in slepi vzorec. Za vodo iz iztoka smo pripravili tri vzorce s predpisanim alikvotom (= prostornina vzorca, kateremu določamo BPK₅) v višini 750 ml, da bi lahko podali čim točnejši rezultat, izračunan kot povprečje. Tudi pri vodi iz vtoka smo pripravili tri vzorce, a smo za vsakega uporabili različne alikvote (100 ml, 200 ml in 300 ml), saj nismo niti vedeli za stopnjo onesnaženosti pri vtoku niti nismo imeli nobenih predhodnih rezultatov, s katerimi bi lahko naše vzorce primerjali in posledično določili primeren alikvot. Po petih dneh inkubacije in odčitavanju rezultatov se je izkazalo, da smo onesnaženje podcenjevali, zato smo pripravili dva nova vzorca iz vtoka, le da tokrat z alikvotom v višini 30 ml. Tukaj je pomembno omeniti, da za nas sprememba alikvota ni pomenila le spremembo razredčenosti vzorca, temveč tudi spremembo količine cepiva. Namreč izbrani alikvot se je kasneje redčil do vrednosti 1000 mL, a ne z razredčevalno vodo, marveč pa z razredčevalno vodo z dodatkom cepiva. Tako, npr. ko smo znižali vrednost alikvota na 30 mL, smo morali dodati več razredčevalne vode z dodatkom cepiva kot prej. Iz tega sledi, da smo poskušali dobiti rezultate BPK₅ s tem, da smo namesto obilnega predhodnega redčenja redčili manj, a smo to nadomestili z dodatkom večje količine cepiva. Ta postopek nam je omogočil, da smo preverili našo tretjo hipotezo, ki je temeljila na nadomestljivosti predhodnega faktorja razredčevanja s spremembo alikvota.

6.2. UPORABLJEN PRIBOR IN KEMIKALIJE

6.2.1. REAGENTI IN KEMIKALIJE

- ultra-čista voda, pridobljena z ultra-filtriranjem in sevanjem

- fosfatna pufer raztopina s pH = 7,2
- raztopina MgSO₄ z masno koncentracijo 22,5 g/L
- raztopina CaCl₂ z masno koncentracijo 27,5 g/L
- raztopina FeCl₃, pridobljena iz raztopine kristalohidrata FeCl₃ x 6 H₂O z masno koncentracijo 0,25 g/L
- raztopina HCl z molarnostjo 0,5 mol/L
- raztopina NaOH z masno koncentracijo 20 g/L
- raztopina vodikovega peroksida (H₂O₂)
- Na₂SO₃ z masno koncentracijo 1,00 g/L
- d-glukoza (C₆H₁₂O₆)
- L-glutaminska kislina
- raztopina alitiouree (ATU – C₄H₈N₂S) z masno koncentracijo 1,0 g/L
- tablete "zero oxygen standard"
- voda iz vtoka v čistilno napravo
- voda iz iztoka iz čistilne naprave
- cepivo z mikroorganizmi, vzetimi iz biološkega dela čistilne naprave

6.2.2. APARATURE IN PRIBOR

- Oksimeter z elektrodo
- Winklerjeve steklenice
- bireta s prostornino 25 ml
- termostatska omara
- termometer ločljivosti 0,5 °C
- laboratorijski pribor: pipete, čaše, bučke
- gumijasta sesalka
- pribor za prepihovanje z zrakom
- zamrzovalnik
- rotameter z magnetskim mešalom

6.3. PREDPRIPRAVA

Tu smo morali doseči primerne koncentracije navedenih raztopin, pripraviti SRR, slepi vzorec, fosfatno pufer raztopino, razredčevalno vodo in razredčevalno vodo z dodatkom cepiva.

Pri pripravi pufra smo odtehtali 8,5 g kalijevega dihidrogen fosfata (KH₂PO₄), 21,75 g dikalijevega hidrogen fosfata (K₂HPO₄), 44,8 g dinatrijevega hidrogen fosfata (Na₂HPO₄ x 7 H₂O) ter 1,7 g amonijevega klorida (NH₄Cl). Vse skupaj smo raztoplili v 500 ml ultra-čiste vode. Nato smo razredčili na 1000 ml in zmerili pH, saj je moral biti le-ta v območju med 7 in 8. V nasprotnem primeru bi morali raztopino pripraviti še enkrat.

Razredčevalno vodo smo pripravili tako, da smo v 2,5 l ultra-čiste vode dodali po 5 ml raztopin HCl, CaCl₂, MgSO₄, FeCl₃ in fosfatne pufer raztopine. Poleg tega smo dodali

2,5 g Na₂SO₃ in 50 g NaOH. Dobljeno zmes smo razredčili na 5 l ter vse skupaj dobro premešali. Nato smo to raztopino stermostatirali na 20 ± 0,5 °C in eno uro prepihovali z zrakom pri konstantnem pretoku, ki smo ga nadzirali z rotometrom. Sledila je še ena ura v termostatu, po čemer smo lahko razredčevalno vodo uporabljali naprej.

Razredčevalno vodo z dodatkom cepiva smo pripravili sledeče: na vsak 1 l prej pripravljeni razredčevalne vode smo dodali 5 ml cepiva in dobljeno raztopino do uporabe hranili pri 20 ± 0,5°C. Pomembno je bilo, da je razredčevalna voda imela primerne vrednosti KPK in TOC, kar pa nam je bilo zagotovljeno s strani somentoric.

Slepi vzorec je bil pripravljen tako, da smo v 1000 ml bučko dodali 2 ml raztopine ATU in z razredčevalno vodo z dodatkom cepiva zalili do oznake. Ta raztopina nam je pri merjenju služila kot kontrola, saj če bi bile prisotne kakšne pomote pri cepivu ali razredčevalni vodi, bi se to takoj pokazalo pri meritvah s tem, da bi izmerjen BPK₅ slepega vzorca odstopal od območja med 0,2 in 1,5 mg O₂/L.

Za SRR smo si izbrali raztopino glukozo-glutaminske kislinske, pri kateri smo najprej morali d-glukozo in L-glutaminsko kislino sušiti eno uro pri 105 ± 5 °C ter nato ohladiti. Potem je bilo potrebno stehtati po 150 ± 1 mg vsake in ju dati v bučko. Sledilo je le zalivanje z ultra-čisto vodo do oznake 1000 ml in mešanje. Nato smo v drugo 1000 ml bučko odpipetirali 20,00 ml dobljene raztopine ter dodali 2 ml raztopine ATU. S predhodno, na 20 °C ohlajeno razredčevalno vodo z dodatkom cepiva smo zalili do oznake in SRR je bila pripravljena za merjenje.

Tudi aparaturo je bilo potrebno pred merjenjem naših vzorcev ustrezno kalibrirati. To smo storili tako, da smo Oksimeter umerili v prezračeni vodi, pridobljeni z dodatkom tablete »zero oxygen standard« in prezračevanjem s kisikom. Z O₂ nasičeno vodo smo prelili v Winklerjevo steklenico in noter dali magnetno mešalo. Oksimeter smo umerili na 100 % O₂, tako da smo njegovo elektrodo potopili v našo Winklerjevo steklenico, spodnji del te elektrode pa naravnali na višino 2–3 cm od dna steklenice. Prepričali smo se, da na spodnjem delu elektrode ni zračnih mehurčkov, če pa so bili, smo jih lahko z rahlim tresenjem odstranili. Vzorec smo mešali, naprava pa se je z odčitavanjem rezultatov na naravnani funkciji kalibrirala. Ta proces je bil za nas izrednega pomena, saj smo lahko kasneje dobili točnejše rezultate, naprava pa je med kalibracijo prav tako lahko določila stanje zračnega tlaka in temperature prostora, v katerem so se izvajale meritve. Pridobljene podatke je lahko tako upoštevala pri vseh nadaljnjih meritvah, kar nam je zagotovilo izničenje vpliva temperature in tlaka na naše rezultate.

6.4. PRIPRAVA VZORCEV

Dve kanti z volumnom 5 litrov, ki sta bili napolnjeni z vodo iz vtoka in iztoka čistilne naprave, smo skrbno prinesli v laboratorij. Pri tem smo pazili, da bo temperatura vode okoli 20 °C. Pri pripravljanju vzorcev smo uporabljali različne volumne alikvotov vzorcev.

Za vzorce iz iztoka iz čistilne naprave smo predvidevali nizke vrednosti, zato tudi nismo izvajali nobenega predhodnega razredčevanja. Za vzorce iz vtoka nismo imeli niti približne predstave o pričakovani BPK₅ vrednosti, zato se tabele s predhodnimi faktorji razredčevanja nismo mogli posluževati. Tako smo se odločili, da bomo variirali z alikvoti, pri čemer smo pri prvih meritvah izbrali alikvote po 100 ml, 200 ml in 300 ml.

Vzorce iz vtoka smo pripravljali sledeče: Iz kante z vodo iz vtoka smo v merilni valj, katerega smo prej pomili z vodo iz vtoka, nalili 100 ml vzorca. Nato smo iz merilnega valja vzorec prelili v 1000 ml bučko ter do oznake na bučki zalili z razredčevalno vodo z dodatkom cepiva. Drugo in tretjo 1000 ml bučko smo pripravili na podoben način, samo da smo namesto 100 ml vzorca pri drugi bučki uporabljali 200 ml, pri tretji pa 300 ml vzorca. Po petih dneh se je izkazalo, da nismo izbrali ustrezan alikvot, saj so bili rezultati neveljavni. Meritve je bilo treba zato ponoviti. Tokrat smo za volumen alikvota vzeli manjšo vrednost, in sicer 30 ml, nato pa na isti način spet pripravili dve 1000 ml bučki. Tokrat nam je uspelo izvesti uspešne meritve.



Sl. VIII: Priprava vzorcev

Pri iztoku iz čistilne naprave smo se odločili za večji volumen alikvota (750 ml), saj smo predvidevali, da bo BPK_5 iztoka po standardu rečne vode. Iz kante z vodo iz iztoka smo v merilni valj, katerega smo prej pomili z vodo iz iztoka, nalili 750 ml vzorca. Nato smo iz merilnega valja prelili vzorec v 1000 ml bučko ter do oznake na bučki zalili z razredčevalno vodo z dodatkom cepiva. Postopek smo ponovili še na ostalih dveh bučkah.

Na koncu je bilo treba zmesi iz bučk preliti v Winklerjeve steklenice. Vzeli smo osemajst Winklerjevih steklenic in jih oštevilčili, tako da so bile steklenice št. 1–9 vzorci iz vtoka, steklenice št. 10–18 pa iz iztoka. V prve 3 steklenice smo prelili tekočino iz bučke z volumnom alikvota 100 ml, v steklenice št. 4, 5, 6 iz bučke z volumnom alikvota 200 ml in v steklenice št. 7, 8, 9 iz bučke z volumnom alikvota 300 ml. V Winklerjeve steklenice št. 10–18 smo prelili tekočine iz bučk za iztok z volumnom alikvota 750 ml.

6.5. IZVAJANJE MERITEV IN ODČITAVANJE REZULTATOV

Meritve smo vzporedno izvajali na naših vzorcih, slepem vzorcu in standardni referenčni raztopini oz. SRR, saj so vsi ti podatki ključni pri končnem izračunu BPK_5 . Vzorcem smo izmerili koncentracijo raztopljenega kisika takoj po pripravi, nato smo jih inkubirali v termostatu, v temi pri stalni temperaturi $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ v obdobju 5 dni v popolnoma napolnjenih in zaprtih Winklerjevih steklenicah. Koncentracijo raztopljenega kisika smo ponovno določili po inkubacijskem obdobju.

Da ne bi prihajalo do odstopanj, smo vsako od pripravljenih raztopin slepega vzorca, SRR ter vzorcev iz vtoka in iztoka čistilne naprave razdelili v tri Winklerjeve steklenice, s čimer smo preprečili, da bi s ponovnim odpiranjem/zapiranjem prišel dodaten kisik. Pri vzorcih vtoka in iztoka iz čistilne naprave smo to ponovili trikrat, da bi lahko podali natančnejši rezultat pred in po inkubacijskem obdobju, ki bi ga izračunali kot povprečje izmerjenih vrednosti BPK_5 .



SI. IX: Priprava vzorcev na meritve

Same meritve smo izvajali s pomočjo prej kalibriranega Oksimetra. Njegovo elektrodo smo potopili v Winklerjevo steklenico s predhodno dodanim magnetnim mešalom. Spodnji del elektrode smo naravnali na višino 2–3 cm nad dnem steklenice. Prepičali smo se, da na spodnjem delu elektrode ni zračnih mehurčkov. Če so bili, smo jih lahko odstranili z rahlim stresanjem elektrode. Vzorec smo začeli mešati z magnetnim mešalom in počakali, da Oksimeter doseže ravnotežje, zaključi meritve in odčita koncentracijo raztopljenega kisika.



Sl. X: Izvajanje meritev in odčitavanje rezultatov

Po končanih meritvah smo elektrodo, mešalo in steklovino sprali s pitno vodo iz pipe, nato pa še z ultra-čisto vodo.

7. REZULTATI, SKLEPI IN UGOTOVITVE

7.1. PRVE MERITVE

Legenda:

- C_1 – koncentracija O_2 v vzorcu, izmerjena takoj po pripravi
- C_2 – koncentracija O_2 v vzorcu po petih dneh
- V_t – celotni volumen vzorca
- V_a – volumen alikvota
- končni rezultat – BPK_5 , izračunan kot povprečje dveh meritev

Tab. III: Prve meritve, izvedene med datummi 18. 1. in 29. 1. 2023 z elektrometrično metodo

Vzorec	Datum C_1	Datum C_2	Faktor dodatn. Razredč.	V_t (ml)	V_a (ml)	C_1 Elektrom. (mg/l)	C_2 Elektrom. (mg/l)	$C_1 - C_2$	$\overline{C_1 - C_2}$	Končni Rezultat (mg/l)
SLEPA	18.1.23	29.1.23		1000	/	8,28				1,16
							7,13	1,15	1,15	
							7,11	1,17	1,17	
G-G	18.1.23	29.1.23		1000	20	8,26				237
							2,88	5,38	212,16	
							3,02	5,24	262,00	
VTOK	18.1.23	29.1.23		1000	100	8,06				NEVELJAVNO
							0,00	/	/	
							0,00	/	/	
VTOK	18.1.23	29.1.23		1000	200	7,8				NEVELJAVNO
							0,00	/	/	
							0,00	/	/	
VTOK	18.1.23	29.1.23		1000	300	7,52				NEVELJAVNO
							0,00	/	/	
							0,00	/	/	
IZTOK	18.1.23	29.1.23		1000	750	7,47				5,0
							3,57	3,90	4,81	
							3,36	4,11	5,09	
IZTOK	18.1.23	29.1.23		1000	750	6,42				4,8
							2,46	3,96	4,89	
							2,56	3,86	4,76	
IZTOK	18.1.23	29.1.23		1000	750	6,43				5,3
							2,44	3,99	4,93	
							1,92	4,50	5,61	

7.2. DRUGE MERITVE

Legenda:

- C_1 – koncentracija O_2 v vzorcu, izmerjena takoj po pripravi
- C_2 – koncentracija O_2 v vzorcu po petih dneh
- V_t – celotni volumen vzorca
- V_a – volumen alikvota

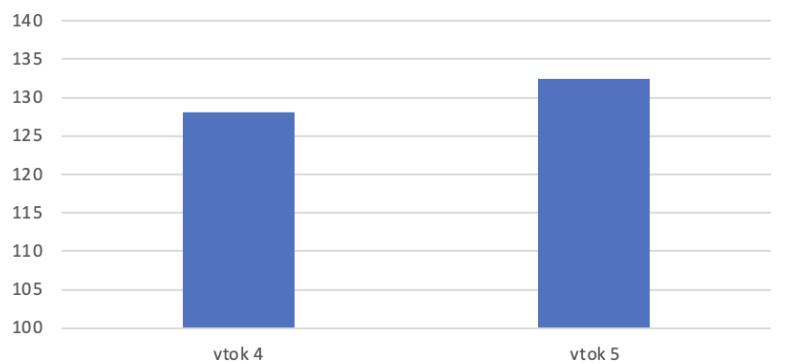
- končni rezultat – BPK_5 , izračunan kot povprečje dveh meritve

Tab. IV: Druge meritve, izvedene med datumi 27. 1. in 1. 2. 2023 z elektrometrično metodo

Vzorec	Datum C ₁	Datum C ₂	Faktor dodatn. Razredč.	V _t (ml)	V _a (ml)	C ₁ Elektrom. (mg/l)	C ₂ Elektrom. (mg/l)	C ₁ – C ₂	$\overline{C_1 - C_2}$	Končni Rezultat (mg/l)	Podpis	Opombe
SLEPA	27. 1. 2023	1. 2. 2023	/	1000	/	8,29					0,28	Medja
							8,00	0,29	0,29			
							8,01	0,28	0,28			
G-G	27. 1. 2023	1. 2. 2023	20	1000	20	8,41					183	Medja
							4,46	3,95	183,54			
							4,76	3,65	182,50			
VTOK	27. 1. 2023	1. 2. 2023	30	1000	30	8,16					128,1	Medja
							4,09	4,07	126,45			
							3,99	4,17	129,79			
VTOK	27. 1. 2023	1. 2. 2023	30	1000	30	8,21					132,5	Medja
							3,99	4,22	131,45			
							3,93	4,28	133,45			

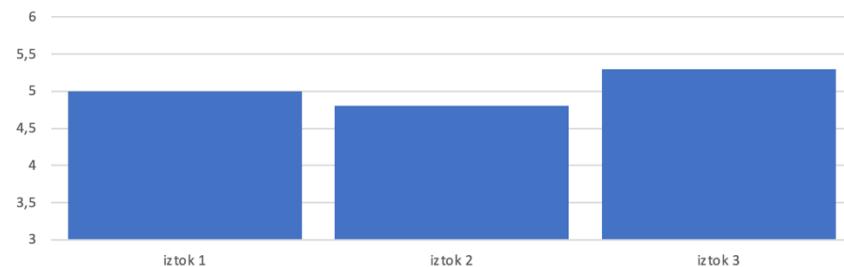
7.3. POVPREČEN BPK_5

BPK_5 na vtoku [mg O₂/l]



Graf I: Povprečen BPK_5 na vtoku: 130,3 mg O₂/l

BPK_5 na iztoku [mg O₂/l]



Graf II: Povprečen BPK_5 na iztoku: 5,0 mg O₂/l

Povprečen BPK_5 slepega vzorca: 0,72 mg O₂/l

Povprečen BPK_5 SRR: 210 mg O₂/l

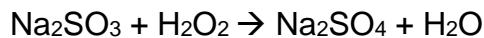
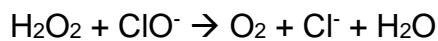
7.4. SKLEPI IN UGOTOVITVE

Prvo, na kar smo bili pozorni, so bile vrednosti BPK_5 slepega vzorca, kajti smo lahko bili le tako prepričani, da so naši rezultati veljavni. Ugotovili smo, da vrednost ne izstopa iz zahtevanega območja, zato smo jih lahko uporabljali za svoje hipoteze.

Prvo hipotezo lahko potrdimo in celo za vsak dejavnik opredelimo, kaj točno smo naredili, da bi zaustavili njegov vpliv.

Za moteče nitrifikacijske procese smo uporabili preverjeno raztopino ATU, ki je sočasno zaustavlja delovanje nitrifikacijskih bakterij in predstavlja hranila za potrebne mikroorganizme.

Da so bile koncentracije ionov pod mejnimi dovoljenimi vrednostmi, je bilo zagotovljeno s strani somentoric. Voda prav tako ni vsebovala klora in kloraminov, saj je bila prej tretirana z vodikovim peroksidom. Preostanki le-tega so se v reakciji z natrijevim sulfatom (IV) vezali v nevtralno sol – natrijev sulfat (VI) in vodo.



(P. Dolinar in P. Medja, osebna komunikacija, 18.1.2023)

Čas prilagoditve mikroorganizmov na nov medij za nas ni igral pretirane vloge, saj nismo BPK_5 opazovali vsako uro, temveč smo določili le začetni in končni rezultat. Delovanje fotosintetskih bakterij smo preprosto zaustavili s tem, da smo inkubacijo izvajali v temi. Po drugi strani smo vzpostavili ugodne pogoje, v katerih sta bila omogočena uspešen obstoj in delovanje za nas pomembnih mikroorganizmov. pH je bil stalno uravnan s pufri, določeni mikroorganizmi so imeli vsa potrebna hranila in tudi temperatura je bila stalno $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Upoštevanje motečih temperature zraka in zračnega tlaka ob opravljanju meritev smo zagotovili s predhodno kalibracijo aparata.

Druga hipoteza se nam je po celotnem raziskovanju zdela kar naivna. Bilo bi skorajda nemogoče, da bi čistilna naprava očistila mešanico odpadnih vod iz industrijskih obratov in hkrati celotnih Jesenic na idealno vrednost. Že to, da je prešla voda z vrednostjo BPK_5 130,3 mg O₂/l na vrednost 5,0 mg O₂/l, je ogromno. Pri mešanju z rečno vodo ta številka še dodatno pada in posledično ne ogroža dobrobiti rečnega ekosistema in kvalitete tamkajšnje vode.

Tretjo hipotezo smo lahko takoj ovrgli po prvih meritvah, saj so nam prišli neveljavni rezultati. Vendar smo poskusili ponovno, da bi preverili nadomestljivost predhodnega faktorja razredčevanja, ki se sicer uporablja v takih primerih, z alikvotom. Uspelo nam je to doseči z alikvotom v višini 30 ml, s čimer smo potrdili prej omenjeno nadomestljivost.

8. ZAKLJUČEK

Meritve BPK₅, ki smo jih dobili za dotok v napravo, znašajo več kot 120 mg kisika na liter vzorca. Tako vodo že obravnavamo kot lažje kontaminirano industrijsko vodo. Sprva smo podcenjevali onesnaženost vtoka v čistilno napravo, zato smo se zmotili pri uporabi ustreznih alikvotov prostornin.

Predstavljajte si, kako hudo onesnažene so bile vode v prvi polovici in sredini prejšnjega stoletja, ko težki industrijski obrati še niso imeli čistilnih naprav. Na podlagi naših rezultatov si lahko predstavljamo, kako onesnaženi bi bili lahko naši rečni sistemi brez uporabe čistilnih naprav. Z našo raziskovalno nalogo smo tako potrdili in poudarili pomen čistilnih naprav.

Onesnaženost rek je bila v preteklosti večja, saj dandanes bolj skrbimo za zmanjšanje le-te. Onesnaženje rek ogroža rečne ekosisteme, ki vključujejo enoceličarje, rastline in živali, dodatno pa negativno vpliva tudi na druge aspekte, povezane s človekom. Z uporabo čistilnih naprav izboljšujemo življenje rečnih rib, pri čemer skrbimo za dobro stanje ribiškega ekosistema, ki posledično vpliva tudi na nas ljudi, na primer gospodarsko panogo ribištvo. Rečni sistemi so prav tako sestavljeni iz neštetega števila vrst rastlin, ki skrbijo za biodiverziteto našega celotnega planeta. Brez uporabe čistilnih naprav bi bili naši rečni sistemi mrtvi, brez kakršnihkoli živih bitij.

V Sloveniji imajo reke tudi druge pomembne vloge, kjer je čistost izjemnega pomena. Na primer rekreacijo, ki vključuje kopanje, veslanje ipd.

Poleg tega ljudje po celotnem svetu uporabljajo reke kot vir pitne vode, v čemer lahko vidimo še en pomemben razlog, zakaj moramo odstranjevati onesnaževanje.

Kot smo torej videli iz rezultatov, čistilna naprava prečisti vodo do tolikšne mere, da je vrednost BPK₅ tudi pod 5 mg kisika na liter vzorca. Glede na podatke svetovne zdravstvene organizacije je mejna vrednost BPK₅ vode, da je prav ta zmerno čista, 5 mg O₂ na liter vzorca, kar zopet poudarja dejstvo, koliko so zmožne čistilne naprave.

9. VIRI, LITERATURA

ARSO, DOLINAR N. in PETERNEL A. (2021). *Hranila in biokemijska potreba po kisiku v rekah, VD 10.* [na spletu]. Pridobljeno [27.1.2023] s:
<http://kazalci.ars.si/sl/content/hranila-biokemijska-potreba-po-kisiku-v-rekah-5>

AtlasScientific. 2021. *How Does CO₂ Affect PH In Water?* [na spletu]. Pridobljeno [16.1.2023] s: <https://atlas-scientific.com/blog/how-does-co2-affect-ph-in-water/>

BAILEY Regina. (2020). *The Photosynthesis Formula: Turning Sunlight into Energy*. [na spletu]. Pridobljeno [27.1.2023] s: thoughtco.com/photosynthesis-373604.

BARON S. (1996). *Medical Microbiology*. 4. izd. Galveston (TX), University of Texas, Medical Branch at Galveston. ISBN 0-9631172-1-1

BiologyEase. (2020). *Nutritional Requirements in Bacteria*. [na spletu]. Pridobljeno [16.1.2023] s: <https://biolyogetease.com/nutritional-requirements-in-bacteria/#more-2876>

CALTEST. *Biochemical Oxygen Demand (BOD) And Chemical Oxygen Demand (COD)*. [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <https://caltestlabs.com/analytical-services/priority-pollutants/inorganic-methods/bodandcod/>

COCAIGN-BOUSQUET M. in ROPERS D. (2020). *Competitive effects in bacterial mRNA decay*. [na spletu]. Pridobljeno [17.1.2023] s: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2020.110333>

DANILOV, S. A. (2022). *Oxygen Content In the Iva River and Its Effect On Organisms*. [spletni članek]. Univerza v Kurganu. Pridobljeno [23.1.2023] s: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=20791>

DELZER G. C. in MCKENZIE S. W. (2003). *Five-Day Biochemical Oxygen Demand*. [na spletu]. Pridobljeno [23.1.2023] s: https://pubs.usgs.gov/twri/twri9a7/twri9a7_nfmchap7_2_bod.pdf

Dijaski.net. 2018. *Pufri*. [na spletu]. Pridobljeno [17.1.2023] s: https://dijaski.net/gradivo/kem_sno_pufri_01

DULAR, J. 2021. *Določanje kemijske potrebe po kisiku v odpadni vodi*. [na spletu]. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani. Pridobljeno [10.1.2023] s: <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=128246>

ELLIOTT T. KHAMELYUK I., REDFIELD J. idr. (2021). *Biochemical Oxygen Demand (BOD): Explained details (Animation)*. [videoposnetek]. Pridobljeno [24.12.2022] s: <https://www.youtube.com/watch?v=jjcAH4X1eB4>

ENTZ, B. (2008). *The dissolved oxygen determination method is 120 years old in memoriam Lajos Winkler (1863-1939) and Rezsö Maucha (1882-1964)*. Acta zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae. [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: https://www.researchgate.net/publication/279560913_The_dissolved_oxygen_determination_method_is_120_years_old_in_memoriam_Lajos_Winkler_1863-1939_and_Rezso_Maucha_1882-1964

European Environmental Agency. (2015). *Biological Oxygen Demand (BOD) in rivers*. [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s: <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/explore-interactive-maps/wise-soe-bod-in-rivers>

Frontiers. 2019. *What Is the Nitrogen Cycle and Why Is It Key to Life?* [na spletu].

Pridobljeno [22.1.2023] s:

<https://kids.frontiersin.org/articles/10.3389/frym.2019.00041>

GOŠNJAČ A. in JAKOVLJEVIČ N. (2013). *Onesnaževanje voda*. Raziskovalna naloga komisije Mladi za Celje. [na spletu]. Pridobljeno [10.1.2023] s: <https://www.knjiznica-celje.si/raziskovalne/4201303624.pdf>

Greenologia. (2020). *Загрязнение озер и рек, как проблема планетарного масштаба.*

Влияние на качество жизни населения, флору и фауну. [na spletu]. Pridobljeno [10.1.2023] s: <https://greenologia.ru/eko-problemy/gidrosfera/zagryaznenie-ozer-rek.html>

H₂O Water Research Center. *Water Terms Glossary – BOD*. [na spletu]. Pridobljeno [17.1.2023] s: <https://www.knowyourh2o.com/indoor-3/glossary>

HABULIN M. in PRIMOŽIČ M. (2008). *Biokemijska tehnika, Navodila za laboratorijske vaje (zbrano gradivo)*. Laboratorijske vaje. Univerza v Mariboru. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo. [na spletu]. Pridobljeno [24.12.2022] s: https://www.fkkt.um.si/egradiva/fajli/Biokemijska_tehnika_navodila.pdf

Hydrovod. *Trdota vode* [na spletu]. Pridobljeno [26.2.2023] s:

<https://www.hydrovod.si/trdota-vode.html>

KOMATAR Silvo. (2017). *Nanodelci v odpadnih vodah in njihov vpliv na biološko čistilno napravo*. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.

KOŠIR, N. *Navodilo za določanje BPK₅ z OxiTop*. (1999). Posredovano s strani mentorice [20.12.2022] v papirnatem formatu.

Kraški vodovod Sežana v sodelovanju z območnimi zavodi za zdravstveno varstvo. (2005). *Opis indikatorskih elementov, ki jih najdemo v pitni vodi*. [na spletu]. Pridobljeno [23.1.2023] s: <https://www.kraski-vodovod.si/?stran=voda-indikatorski-parametri>

LibretextsBiology. 2022. *Factors that influence Bacterial Growth*. [na spletu]. Pridobljeno [17.1.2023] s: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_\(Kaiser\)/Unit_7%3A_Microbial_Genetics_and_Microbial_Metabolism/17%3A_Bacterial_Growth_and_Energy_Production/17.2%3A_Factors_that_Influence_Bacterial_Growth](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_(Kaiser)/Unit_7%3A_Microbial_Genetics_and_Microbial_Metabolism/17%3A_Bacterial_Growth_and_Energy_Production/17.2%3A_Factors_that_Influence_Bacterial_Growth)

MAKCMC. *Dezinfekcija, UV, klordioskid, klor*. [na spletu]. Pridobljeno [13.1.2023] s: <https://www.mak-cmc.si/Postopek/10/DEZINFEKCIJA-UV-KLORDIOKSID-KLOR>

Ministrstvo Republike Slovenije za okolje in prostor. *Ocena ekološkega in kemijskega stanja rek v Sloveniji v letih 2007 in 2008*. [na spletu]. Pridobljeno [9.1.2023] s: https://www.arso.gov.si/vode/reke/publikacije%20in%20poročila/POROCILO_REKE_2007_2008.pdf

Ministrstvo Republike Slovenije za okolje in prostor. *Tipi površinskih voda za vrednotenje ekološkega stanja (ekološki tipi površinskih voda)*. [na spletu]. Pridobljeno [9.1.2023] s: https://www.gov.si/assets/ministrstva/MOP/Dokumenti/Voda/Ekolosko_stanje/tipi_po_vrsinskih_voda_vrednotenje_ekoloskega_stanja.pdf

MLAKAR Andreja. (1997). *Študij onesnaženja porečja z dušikovimi in fosforjevimi spojinami*. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.

Nanoten. *Klorov dioksid*. [na spletu]. Pridobljeno [13.1.2023] s: <http://www.nanoten.si/en/tretma-vode-2/dezinfekcija-vode/klor-dioksid/>

OpenProf. 2020. *Hidroliza soli in pufri*. [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: https://si.openprof.com/wb/hidroliza_soli_in_pufri?ch=645

OROŽEN ADAMIČ, A. in SERNEC, K. (2015). *Mikrobiologija. Učbenik za farmacevtske in kozmetične tehnike*. 1. izdaja, 3. natis. Ljubljana: DZS. ISBN 9788634139853.

PEDIAA. (2017). *Difference between BOD and COD*. [na spletu]. Pridobljeno [13.1.2023] s: https://www.researchgate.net/profile/Lakna-Panawala/publication/318305894_Difference_Between_BOD_and_COD/links/5b08d33c4585157f87167337/Difference-Between-BOD-and-COD.pdf

SDWF. (2017). *What is Chlorination?* [na spletu]. Pridobljeno [13.1.2023] s: <https://www.safewater.org/fact-sheets-1/2017/1/23/what-is-chlorination>

TALUT' I. E., ZHEBENT'AEV A. I. in ZHERNOSEK A. K. (2015). *Electrochemical analytic methods*. Univerza v Vitebsku. Fakulteta za framcijo. [na spletu]. Pridobljeno [16.1.2023] s: <https://core.ac.uk/download/80150455.pdf>

TheNatureEducation.Knowledge project. 2010. *The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact*. [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632/>

Thpanorama. 2017. *Kaj je volatilizacija?* [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: <https://sl.thpanorama.com/articles/qumica/qu-es-la-volatilizacin.html>

TOADKK. 2021. *About dissolved oxygen (DO): Dissolved oxygen sensor (Diaphragm electrode method)*. [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: <https://www.toadkk.com/english/support/useful/useful19-1.html>

UniversityofWaterloo.Chem13NewsMagazine. (2015). *The solubility and alkalinity of ammonia*. [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: <https://uwaterloo.ca/chem13-news-magazine/november-2015/feature/sharing-chemistry-community-solubility-and-alkalinity>

VANROLLEGHEM P. A. in YOUNG J. C. (2021). *Carbonaceous vs. total biochemical oxygen demand as a basis for WRRF design and performance monitoring.* [na spletu]. Pridobljeno [10.1.2023] s: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33609294/>

Vistaros. *Растворенный в воде кислород: источники присутствия, методы определения в сточных и поверхностных водах.* [na spletu]. Pridobljeno [10.1.2023] s: <https://vistaros.ru/stati/analizatory/rastvorennyyj-kislorod-v-stochnyh-vodah.html>

Vodna agencija. *Čista voda je brez barve, vonja in okusa.* [na spletu]. Pridobljeno [16.1.2023] s: <https://vodnaagencija.org/voda/>

Vodovod kanalizacija Snaga. *Trdota vode* [na spletu]. Pridobljeno [20.1.2023] s: <https://www.vokasnaga.si/informacije/kaksno-vodo-pijemo/trdota-vode>

Wikipedia. 2007. *Kroženje dušika.* [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: https://sl.wikipedia.org/wiki/Kro%C5%BEenje_du%C5%A1ika

Wikipedia. 2018. *Nitrifying bacteria.* [na spletu]. Pridobljeno [22.1.2023] s: https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrifying_bacteria

ZAGORC KONČAN, J. (1996). *Vaje iz ekološke tehnologije.* 4. izd. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

ZAJC Nataša. (1996). *Ocena kvalitete biološkega čiščenja usnjarskih odpadnih vod z vrednotenjem bilance raztopljenega kisika v reki.* Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.

