

OBDELAVA MLEKARSKIH ODPADNIH VOD Z ALGAMI

RAZISKOVALNA NALOGA IZ
BIOTEHNOLOGIJE



Avtorica: Klara Žos, 4.M

Mentor: prof. Borut Lazar

Strahinj, 2020

Zahvala

Zahvaljujem se svojemu mentorju, profesorju Borutu Lazarju, za strokovno pomoč in vodstvo skozi moje raziskovalno delo. Zahvala gre tudi šolski laborantki, gospe Ivani Grošelj, za njeno pomoč.

KAZALO TABEL

Tabela 1: Meritve fotobioreaktorja FBR1	16
Tabela 2: : Meritve fotobioreaktorja FBR2	17
Tabela 3: Meritve fotobioreaktorja FBR3	18

KAZALO SLIK

Slika 1: Cvetenje alg v jezeru Eire, 2011 (vir: Nasa)	6
Slika 2: Algna kultura imobilizirana v alginatnih kroglicah	10
Slika 3: Barvna skala za določevanje koncentracij anorganskih ionov	12
Slika 4: Standard amonij.....	13
Slika 5: Fotobioreaktorji FBR 1, FBR 2 in FBR 3	13
Slika 6: Biokultura: <i>Ankistrodesmus sp.</i> , <i>Scendesmus sp.</i> , <i>Monorpahidium sp.</i> in <i>Dictyosphaerium sp.</i> , v ozadju drobne bakterije	14
Slika 7: Časovna ura	14
Slika 8: dnevno nihanje nitratov	15
Slika 9: absorbance anorganskih onesnažil v FBR1 Vir: lasten	16
Slika 10: koncentracija anorganskih onesnažil v FBR 1 Vir: lasten	16
Slika 11: pH vrednost in električna prevodnost v FBR1 Vir: lasten.....	16
Slika 12: Absorbanca anorganskih onesnažil v FBR 2 Vir: lasten	17
Slika 13:Koncentracija anorganskih onesnažil v FBR 2 Vir: lasten	17
Slika 14: pH vrednost in električna prevodnost v FBR2	17
Slika 15:Absorbanca anorganskih onesnažil v FBR 3 Vir:lasten	18
Slika 16: Koncentracija anorganskih onesnažil v FBR 2 Vir: lasten	18
Slika 17: pH vrednost in električna prevodnost FBR 3 Vir: lasten	18
Slika 18: Fotometrične meritve prvi dan.....	19
Slika 19: Fotometrične meritve zadnji dan	19

Povzetek

Zaradi pospešenega gospodarskega razvoja v zadnjih letih vedno več materialov in surovin pristane v okolju v obliki odpadnih snovi. Med slednje spadajo tudi odpadne vode. Mlekarske odpadne vode vsebujejo visoke koncentracije organskih in anorganskih snovi, ki lahko ob izpustu v naravni ekosistem porušijo njegovo ravnovesje.

V raziskavi sem preučevala, kako lahko z uporabo algnih tehnologij razbremenimo mlekarne odpadne vode. Ugotovila sem, da alge učinkovito znižajo količino fosfatov, amonij pa v procesu nitrifikacije pretvorijo v nitrate in nitrite.

Tehnike čiščenja mlekarne in drugih odpadnih vod bi lahko tako z izboljšanjem njihove učinkovitosti uporabljali širše. Na ta način bi manj obremenjevali okolje, alge pa so tudi uporabna izhodna surovina za industrijske ali druge procese, tudi za proizvodnjo biogoriv.

Summary

With accelerated economic development, more and more materials end up as waste. This also applies to wastewater. In particular, wastewater in the dairy industry has high concentrations of organic and inorganic substances, which can cause environmental degradation.

I researched how algae technologies can handle dairy wastewater. The results show that algae can reduce phosphate concentrations and convert ammonium to nitrates and nitrites through the process of nitrification and denitrification.

Such technology could be used on a larger scale. This would cause minor environmental damage and further algae biomass could be used for industrial use or even biofuels.

Kazalo

1. UVOD.....	3
1.1. NAMEN DELA.....	3
1.2. HIPOTEZE:	3
2. TEORETIČNI DEL.....	4
2.1. Značilnosti odpadnih vod.....	4
2.2. Obdelava odpadnih voda.....	4
2.3. Mlekarske odpadne vode in njihova obdelava	4
2.3.1. Značilnosti anorganskih onesnažil v mlekerskih odpadnih vodah	5
2.4. Biološki procesi obdelave mlekerskih odpadnih vod	6
2.4.1. Biološko odstranjevanje dušika	6
2.4.2. Biološko odstranjevanje fosforja	7
2.5. Značilnosti biokulture.....	7
2.5.1. Samostojni sistemi čiščenja odpadnih vod z algami	8
2.5.2. Sistemi kombinacij z bakterijami.....	8
2.5.3. Dejavniki, ki vplivajo na sistem	8
2.5.4. Odstranjevanje algne biomase	9
3. EKSPERIMENTALNI DEL.....	11
3.1. Metode dela	11
3.1.1. Opis vzorca raziskave	11
3.2. Opis merskega instrumenta.....	11
3.3. Opis postopka zbiranja podatkov.....	12
3.3.1. Priprava standardov	12
3.4. Postavitev poskusa	13
4. REZULTATI.....	16
5. RAZPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČEK	20
7. VIRI IN LITERATURA.....	22
8. PRILOGE	25

1. UVOD

Nagel razvoj industrije, povezan z razvojem potrošniške družbe, pomeni ustvarjanje velikih količin materialov in surovin, ki jih uporabniki zavržemo ali spustimo v okolje v obliki odpadnih vod. Med največje onesnaževalce okolja spada živilska industrija, znotraj te pa mlekarška industrija. Mlekarške odpadne vode so obremenjene tako z organskimi kot anorganskimi snovmi, največkrat z dušikom in fosforjem.

Alge so zelo preprosto zgrajena skupina fotosinteznih mikroorganizmov, ki svojo biomaso lahko podvojijo vsakih 24 ur. Kot avtotrofni organizmi za svojo rast potrebujejo anorganske snovi, svetlobo in ogljikov dioksid. Ker so sposobne privzema dušikovih in fosforjevih snovi, bi jih lahko uporabili za razbremenjevanje mlekarških odpadnih vod.

V čistilnih napravah lahko z nadzorovanjem procesov in z rednim odstranjevanjem (žetvijo) alge uporabimo za učinkovito razbremenjevanje odpadnih vod in proizvodnjo koristne algne biomase. Ker je ločevanje biomase od substrata po končanem procesu težavno, smo alge v tej raziskavi imobilizirali v kroglice iz natrijevega alginata (Cervantes, Pavlostathisa in Van Haandel, 2006; Jia in Yuan, 2016).

1.1. NAMEN DELA

Z raziskovalno nalogo smo želeli ugotoviti ali alga biokultura lahko privzame dušikove in fosforjeve snovi iz mlekarških odpadnih vod.

1.2. HIPOTEZE:

1. Koncentracije anorganskih ionov v substratu se bodo zmanjšale, ker jih bodo privzele alge.
2. Zaradi zmanjšanja količine anorganskih onesnažil bo električna prevodnost padala.
3. pH vrednost bo zaradi fotosintezne aktivnosti alg naraščala.

2. TEORETIČNI DEL

Potrošnja in gospodarski razvoj sta se vzporedno s kvaliteto življenja v zadnjih desetletjih povečala. Tako nastaja vse večje število odpadnih snovi, ki mnogokrat pristanejo v naravnem okolju. Lahko se kopičijo v ekosistemih in rušijo ravnovesje, lahko povzročajo pomor nekaterih organizmov ali pretirano razmnoževanje drugih. Z zahtevami po trajnostnem razvoju se pojavljajo nove in učinkovitejše tehnike čiščenja odpadnih snovi. Čiščenje lahko izvajamo še preden odpadne snovi pridejo v okolje, ali pa jih iz njega odstranijo, ko je škoda že storjena. V razvoju so tudi tehnike, ki spremenijo obstoječe industrijske procese tako, da škodljive snovi sploh ne nastajajo.

Biosfera danes podpira skoraj sedem milijard ljudi in pomanjkanje vode na mnogih območjih postaja vse večja težava. V zadnjih 70 letih se je svetovna populacija potrojila, tako okoli 2,2 milijardi ljudi v več kot 62 državah trpi zaradi pomanjkanja vode. Razpoložljive pitne vode je le okrog 1 % vode na planetu. Velik del razpoložljive vode se porabi v kmetijstvu in industriji, zato je pomemben razvoj tehnologij za zmanjšanje porabe in razbremenjevanje vode (Cervantes idr., 2006).

2.1. Značilnosti odpadnih vod

Odpadne vode so vode, ki imajo antropogen izvor in z rušenjem ravnovesja v ekosistemih negativno vplivajo na okolje. Mesta, industrija in kmetijstvo vsako leto ustvarijo velike količine odpadnih vod, iz katerih vodna telesa prejmejo veliko količino onesnažil.

Na povečano onesnaženost vod sta močno vplivali industrializacija in urbanizacija. Voda ima tako lahko v sebi raztopljene snovi, ki po uporabi v industrijskih procesih zaidejo v okolje. Odpadne vode se med seboj razlikujejo, smiselno pa je njihovo čiščenje oziroma razbremenitev, preden jih vrnemo v okolje (Cervantes idr., 2006).

2.2. Obdelava odpadnih voda

Skrb za okolje se je v ospredju znova pojavila v zadnjih letih prejšnjega stoletja, ko se je začela množična izgradnja čistilnih naprav ter kanalizacijskih omrežij.

Pri obdelavi odpadnih vod uporabljamo vrsto kemijskih, fizikalnih ter bioloških postopkov, ki se med seboj dopolnjujejo. Izbiramo jih glede na vrsto odpadne vode oziroma snovi, ki jih želimo iz nje odstraniti. V večini primerov uporabljamo postopke predčiščenja (odstranjevanje večjih delcev), primarnega čiščenja (odstranjevanje usedljivih snovi), biološkega oziroma sekundarnega čiščenja (odstranjevanje biorazgradljivih snovi) in postopke terciarnega čiščenja (odstranjevanje predvsem dušikovih in fosforjevih spojin).

V stopnji predčiščenja iz odpadne vode odstranjujemo večinoma trdne, večje delce. Primarno čiščenje je čiščenje na mehanski ali kemični način. Z njim odstranjujemo tako plovne kakor trdne snovi, lahko odstranimo tudi organske snovi. Sekundarno čiščenje poteka z uporabo mikroorganizmov; to imenujemo biološka razgradnja. Terciarno čiščenje, h kateremu lahko prištevamo tudi algne tehnologije, je postopek čiščenja, s katerim dosežemo odstranitev anorganskih snovi, večinoma dušika in fosforja. Razbremenitev vode je odvisna od doseganja zakonsko predpisanih mejnih vrednosti (Cervantes idr., 2006).

2.3. Mlekarske odpadne vode in njihova obdelava

V mlekarški industriji nastajajo pri predelavi mleka velike količine obremenjenih odpadnih voda. Razlog za to je osnovna surovina, mleko, ki že sama po sebi povzroča veliko obremenitev vod (Choi, Dombrowski in Wiesmann, 2007). Obremenjevanje vod je različno glede na tehnološko fazo in vrsto tehnologije.

Odpadne vode nastajajo tudi kot posledica čiščenja cistern, posod in tehnološke opreme, odpadnih produktov mleka pri predelavi, odpadnih snovi pri čiščenju polnilnih linij (CIP) in hlajenja surovega mleka, polproizvodov in proizvodov (Drev in Panjan, 2012).

Tehnologija čiščenja zaprtih sistemov (CIP, angl. cleaning-in-place) je proces, ki ga uporabljajo za čiščenje polnilnih linij. Konvencionalni CIP sistemi imajo štiri rezervoarje: hladno vodo, kislino, bazo in vodno paro. Vse informacije zbira in nadzira centralni kontrolni sistem (Christian in Fryer, 2006). Poraba vode v takem sistemu je premo sorazmerna njegovi velikosti, temu primerni so tudi stroški. Zaradi čistil na osnovi anorganskih kislin in baz je visoka obremenitev tudi z anorganskimi hranili, največkrat s fosfati, nitrati in amonijem. Taka odpadna voda ni primerna za izpust v okolje ali uporabo v standardnih industrijskih čistilnih napravah (Cervantes idr., 2006).

2.3.1. Značilnosti anorganskih onesnažil v mlekarских odpadnih vodah

Nitriti (NO_2^-) so soli dušikove (III) kisline. Vnos majhnih količin nitritov je normalen del dušikovega kroga pri ljudeh. Nitrit je prisoten v vseh organizmih od bakterij do ljudi in je potencialno nevarna snov, vendar manj od amonija in nitratov.

Nitratni ioni (NO_3^-) so anioni, ki nastanejo, ko dušikova kislina izgubi proton. Za rastline so nujno potrebno hranilo, v velikih koncentracijah pa so lahko toksični za ljudi. Vnos majhne količine je normalen del dušikovega kroga v ljudeh. Vendar v večjih koncentracijah nitrati oksidirajo železove atome v hemoglobin in tako onemogočijo prenos kisika po telesu. Pride do poškodb dihal, ledvic in vranice. Nevarni so predvsem za dojenčke. Do hujše zastrupitve pride zaradi presnove nitratov do amonija. Prekomerne količine nitratov v tleh lahko povzročijo zakisanje prsti.

Amonij (NH_4^+) nastane iz amonijaka v vodni raztopini. Amonij je za rastline pomemben vir dušika, vendar je za mnoge vrste toksičen. Koncentracija v podtalnici je naravno pod 0,2 mg amonija na liter. Višje koncentracije je mogoče najti v gozdovih ali v plasteh, bogatih s humusom ali železom. V primeru, da je voda klorirana in je koncentracija amonija višja od 0,2 mg na liter, lahko nastopijo težave z nezadostno dezinfekcijo, okusom in vonjem vode. Ko voda vsebuje amonij, lahko zaradi bakterijske pretvorbe (nitrifikacije – oksidacije amonija do nitratov in nitritov) ali zaradi katalitične reakcije vsebuje tudi nitrate in nitrite. Amonij je za ljudi strupen, ko njegova koncentracija preseže zmožnost organizma za razstrupljanje.

Fosfati (PO_4^{3-}) so soli fosforjeve kisline. Prisotni so v gnojilih, organskih odpadkih (gnoj) in v industrijskih odpadkih. Fosfat je esencialno hranilo za rastline, ki ga vgrajujejo v DNK, proteine in ATP.

V naravnih vodnih ekosistemih, kadar so ti bogati z mineralnimi hranili, še posebej s fosforjem ali dušikovimi ioni (evtrofni ekosistemi), nastopi pospešeno razmnoževanje (cvetenje) alg. Zaradi bakterijskega razkroja velikih količin algne biomase se intenzivno porablja kisik, kar povzroči pogin ostalih organizmov, npr. žuželk in rib. Njihovo odmiranje še dodatno poveča evtrofikacijo. Vodno telo je evtrofično, ko je koncentracija dušika višja od 1,9 mg/L (Brown in Simpson, 2001; Jia, Yuan, 2016).



Slika 1: Cvetenje alg v jezeru Eire, 2011 (vir: Nasa)

2.4. Biološki procesi obdelave mlekarških odpadnih vod

Pomembno vlogo pri čiščenju odpadnih vod imajo biološki procesi. V primerjavi s fizikalnimi in kemijskimi procesi so cenejši in preprostejši. Za razgradnjo anorganskih onesnažil ne potrebujejo velikega dviga temperature ali drugih ekstremnih sprememb. Zaradi njihove uporabnosti pri odstranjevanju organskih in anorganskih snovi, so biološki procesi lahko integrirani tudi v večje industrijske čistilne naprave.

V bioloških procesih obdelave odpadnih vod sodelujejo eno ali večcelični mikroorganizmi, ki so lahko prokariotski ali evkariotski. Strukturna in funkcionalna raznovrstnost mikroorganizmov v odpadnih vodah sta posledici selektivnega pritiska okoljskih dejavnikov, ki so v odpadnih vodah mnogokrat ekstremni.

Za potrebe metabolizma mikroorganizmi iz okolja neprestano sprejemajo hranila (nutriente), ki jih uporabijo za gradnjo svojih struktur ali kot energijski vir, v okolje pa vračajo odvečne snovi. Pri tem so kot odprti sistemi neprestano izpostavljeni spremembam.

Kot biokulturo pri obdelavi odpadnih voda lahko uporabimo mešanice različnih mikroorganizmov bakterij, arhej, gliv, praživali in alg. Z izrazom biokultura označujemo žive celice mikroorganizmov ali višjih organizmov, ki sodelujejo v biološkem procesu (Raspor, 1992; Jia in Yuan, 2016).

Uveljavljeni biološki procesi obdelave v čistilnih napravah temeljijo na aerobni bakterijski razgradnji organskih snovi. Zagotavljanje velikih količin kisika z mehničnim prezračevanjem (aeracijo) je drago in spodbuja izločanje lahko hlapnih snovi, kar lahko z neprijetnimi vonjavami moti okoliško prebivalstvo. Zato je smiselna obdelava odpadnih vod tudi z uporabo alg. Preden odpadne vode spustimo v okolje, jih spustimo skozi algne sisteme in jih tako razbremenimo onesnažil (terciarno čiščenje). Alge ob tem začasno vežejo ogljikov dioksid (CO_2) v uporabno biomaso in pomembno znižajo stroške aeracije (Cervantes idr., 2006).

2.4.1. Biološko odstranjevanje dušika

V odpadnih vodah je dušik lahko prisoten v obliki organskega dušika (sečnine, proteinov...) in v anorganski obliki kot amonij (NH_4^+) ali pa redkeje kot nitrat (NO_3^-). Ko je dušik v organski obliki, se prek različnih procesov (hidroliza, amonifikacija) hitro pretvori v amonij. Biološka obdelava z dušikovimi snovmi obremenjenih odpadnih voda vključuje dva procesa, nitrifikacijo in denitrifikacijo. Nitrifikacija je proces, v katerem organizmi, imenovani nitrifikatorji, ob prisotnosti kisika pretvorijo amonij v nitrat. Denitrifikacija pa proces, v katerem denitrifikatorji v okolju brez kisika reducirajo nitrate v nitrite, lahko pa tudi nazaj v amonij ali celo v atmosferski dušik (N_2). Pri bioloških čistilnih napravah predstavljata največjo težavo

velika površina in visoka poraba energije, potrebni za potek procesov (Devetak, Devetak, Tome, Vrezec, Belušič in Žinko, 2011).

Dušik je esencialen za grajenje osnovnih komponent algnih celic, na primer genetskega materiala, encimov, proteinov, hormonov, vitaminov, alkaloidov, amidov in energijsko bogatih molekul. Večina vrst alg lahko privzema tako organski kot anorganski dušik. Ker asimilacija amonija ne zahteva redoks reakcije, potrebuje manj energije kot asimilacija nitritov in nitratov (Cai, 2013; Zhou, 2014).

2.4.2. Biološko odstranjevanje fosforja

Fosfor v odpadnih vodah je običajno prisoten v obliki anorganskih fosfatov in v manjših količinah kot organski fosfat, večinoma v obliki proteinov. Pomemben vir fosforjevih onesnažil sta lahko tudi milo in pralni praški. Oblika, v kateri se fosfor nahaja je odvisna od izvora odpadnih vod. Fosfati so za žive organizme pomembni, saj jih vgrajujejo v DNK, proteine in ATP. V nekaterih procesih je za odstranjevanje fosforja potrebno dodati druge anorganske ione oziroma snovi, lahko celo fosfor sam. V bioloških procesih pa to ni potrebno. Mikroorganizmi lahko fosfor privzamejo kot izhodno surovino za svoje metabolične procese (Huijun in Quiyan 2016; Cervantes idr., 2006).

2.5. Značilnosti biokulture

Alge so fotosintezni vodni organizmi. Po zgradbi in obliki so si zelo raznolike, lahko so čisto preprosti prokarioti (modrozeleni ceppljivke) ali pa mnogocelični evkarioti. Eno ali nekajcelične mikroalge so del planktonskih organizmov. Svojo biomaso lahko podvojijo vsakih 24 ur. Večje makroalge ne razvijejo rastlinskih organov, kot so korenine, listi in steblo, zato njihovo preprosto telo imenujemo steljka. Predstavljajo pomemben evolucijski korak v razvoju rastlin, saj so zaradi izločanja kisika spremenile ozračje. Zaradi njihove raznolikosti jih v sisteme razvrščamo na več načinov. Eden od načinov razvrščanja alg temelji na njihovih biokemijskih lastnostih, npr. zgradba celične stene in sestava fotosinteznih barvil (rdeče, rjave in zelene). Glede na obliko jih delimo na bičkaste, kroglaste, nitaste, cevaste in tkivno-steljčne (Jia in Yuan, 2016).

Spolno se razmnožujejo z gametami, nespolno pa z mitotsko delitvijo ali s sporami. Potrebno energijo za delovanje pridobijo s fotosintezo, zato vsebujejo veliko barvila klorofila. Nekatere vrste alg niso odvisne od fotosinteze, zato lahko rastejo na heterotrofen način v temi in imajo za vir energije in ogljika glukozo.

Nekatere vrste alg tvorijo toksine. Rast alg v vsakem primeru povzroči spremembe v pH vrednosti, barvi in vrednosti hranil v sistemu.

Alge najdemo v vseh vodnih ekosistemih celinskih voda in v morju. Zaradi enostavne zgradbe, hitre rasti in različnih spolnih in nespolnih načinov razmnoževanja in s tem sposobnosti prilagajanja najdemo alge tudi v bolj ekstremnih okoljih. Dolgo lahko preživijo brez vode, zato so prisotne tudi v prsti, na drevesnem lubju, skalah ali v simbiotskem odnosu z drugimi organizmi, na primer z glivami v lišajih (Belušič idr., 2011).

V čistilnih napravah in procesih alge uporabljamo za odstranjevanje nitratnih in fosfatnih ionov, ki algam predstavljajo hranila. Alge kot avtotrofni mikroorganizmi v anaboličnih procesih uporabljajo preproste anorganske snovi, ki so prisotne tudi v odpadnih vodah, na primer dušik in fosfor, da iz preprostih hranil izdelajo kompleksnejše celične strukture.

Nadalje se lahko biomasa uporablja za pridobivanje energije ali obdelavo voda obremenjenih s snovmi, katerih bakterije ne razgrajujejo uspešno. Lahko jih z bakterijami tudi kombiniramo, pri čimer slednje porabljajo kisik od alg, alge pa CO₂ iz bakterij. Vendar mešanice ne smemo uporabljati v vodah, ki so onesnažene s težkimi kovinami in zelo strupenimi kemikalijami, saj se le te potem lahko sproščajo v zrak ali pa drugače vplivajo na učinkovitost sistema (Andersen, 2016; Cervantes idr., 2006).

Alge lahko izdelajo pester nabor uporabnih metabolitov, med katere spadajo maščobe, sladkorji in druge bioaktivne substance. Po ekstrakciji lipidov lahko z beljakovinami bogato biomaso uporabimo kot krmo. Alge uporabljajo v industriji za različne namene, na primer za sintezo dodatkov, prehranskih dopolnil in drugih bioaktivnih snovi za kozmetično in farmacevtsko industrijo (Priyadarshani in Rath, 2012; Andersen, 2013; Cai, Park in Li, 2013).

Poleg izmenjave kisika in ogljikovega dioksida, sodelovanje med algami in bakterijami v naravnih sistemih pomeni potencial za uporabo v sistemih za čiščenje odpadnih vod. V takem sistemu mikroalge asimilirajo dušik in fosfor, bakterije pa odstranijo organske snovi. Biomasa se lahko po končanem procesu uporabi kot živalska krma, gnojilo ali starter produkt za biogoriva (Oilgae, 2010).

2.5.1. Samostojni sistemi čiščenja odpadnih vod z algami

V naravnih ekosistemih alge med rastno sezono absorbirajo velike količine hranil in kovin v sledih (Gangstad, 1979). Mikroalge tako lahko privzamejo anorganski dušik, npr. nitrat, nitrit in amonij, pa tudi anorganski fosfor. Med oblikami dušika imajo najraje amonij, saj ga lahko asimilirajo z porabo manj energije kot za drugi obliki. Največkrat tako poteče nitrifikacija amonija v nitrate in denitrifikacija nitratov v nitrite.

Alge kažejo potencial v mnogih pogledih: hitro rastejo, proizvajajo lahko mnogo uporabnih stranskih produktov, ostala biomasa se lahko uporabi kot substrat za nadaljnje procese. Te prednosti kažejo na velik potencial uporabe tega sistema za čiščenje odpadnih vod. Možna pa je tudi uporaba sistema z drugimi organizmi denimo z bakterijami (Jia in Yuan, 2016).

2.5.2. Sistemi kombinacij z bakterijami

Alge so kot fotosintezni mikroorganizmi v procesu čiščenja odpadnih vod lahko dober vir kisika. Alge proizvajajo kisik za bakterije, bakterije pa s svojim celičnim dihanjem za alge zagotavljajo ogljikov dioksid, prav tako privzemajo onesnažujoče anorganske ione skozi njihov cikel rasti. Več dejavnikov vpliva na njihovo delovanje, med drugim osvetlitev, pH in vrste uporabljenih mikroorganizmov. Ker so tako alge kot bakterije suspendirane in razporejene po gojišču, je način njihovega odstranjevanja (žetve), tako kot v samostojnih algnih sistemih, ključen za doseganje visoke učinkovitosti sistema (Jia in Yuan, 2016).

2.5.3. Dejavniki, ki vplivajo na sistem

Tako alge kot bakterije in drugi mikroorganizmi so občutljivi na okoljske dejavnike: temperaturo, pH, intenziteto osvetlitve, koncentracije hranil, raztopljeni kisik in druge. Posebej za samostojne algne sisteme so intenziteta osvetlitve, pH vrednost, gostota biomase in vrsta uporabljenega mikroorganizma pomembni dejavniki. Podobno je pri kombiniranih sistemih, saj se bakterije zanašajo na alge kot vir kisika (Jia in Yuan, 2016).

Osvetlitev

Svetloba je pomembna za rast in aktivnost fotosinteznih organizmov. Alge lahko svetlobo učinkovito zajamejo s klorofilom in jo pretvorijo v kemično energijo v organskih molekulah. Med tem procesom kisik in reducenti pretvorijo anorganski ogljikov dioksid v večje organske molekule. Fotosintezni procesi, ki se dogajajo znotraj algnih celic zagotavljajo energijo za rast in razmnoževanje celice. Razmnoževanje alg tako povečuje tudi koncentracijo kisika. Dodatni kisik je potreben za uspešno odstranjevanje dušika (Masojidek, Koblizek in Torzillo, 2004).

Če je gostota alg prevelika, fotoni ne morejo prodreti dovolj globoko v kulturo, tako ni zadostne osvetlitve. Da bi se temu izognili, morajo biti fotobioreaktorji pravilno zasnovani. Imeti morajo dovolj veliko površino za zajem svetlobe, primerno mešanje za enakomerno razporeditev biomase (Muñoz in Guieysse, 2006; Park in Lee, 2001).

Tudi valovna dolžina in intenziteta svetlobe vplivata na privzem dušika. Premočna svetloba ga namreč lahko zavira (Ward, 2011).

PH vrednost

PH vrednost igra pomembno vlogo v mnogih celičnih procesih. Za večino alg je optimalna pH vrednost od 7 do 9 v primernem mediju. Ob preveč ekstremni pH vrednosti se ravnovesje procesa zruši. Med različnimi vrstami alg je pH toleranca različna. *Chlorella ellipsoidea* npr. uspeva med pH vrednostjo med 4 in 10. Najboljša rast *C. vulgaris* pa je pH 10 (Gong, Feng, Kang, Luo in Yang, 2014; Moss, 1973; Cautteau, 1996).

PH vrednost vpliva na privzem anorganskih hranil. Po eni od študij je optimalna pH vrednost za privzemanje dušika med 7 in 8. Drugi rezultati so pokazali da je bila optimalna pH vrednost 7 za privzem dušika, medtem ko na privzem fosforja pH ni imel posebnega vpliva. Visok pH vpliva na zvišanje prostih amonijevih in fosforjevih snovi. Veliko prostega amonija vpliva na fotosintezo in zavre rast (Abeliovich in Azov, 1976; Zhou, Wu, Zhao in Wang, 2015; Liang, 2013; Zhou, 2015; Cai, 2013).

Na drugi strani aktivnosti algnih celic, kot je privzemanje CO₂, prav tako povzroči spreminjanje pH vrednosti. To lahko vpliva na sistem, če so v njem prisotni tudi drugi mikroorganizmi ali če je biokultura alg posebej občutljiva na pH vrednost (Ward, 2011).

2.5.4. Odstranjevanje algne biomase

Tako samostojni mikroalgni sistemi in kombinirani sistemi z bakterijami pri obdelavi odpadnih vod kažejo znaten potencial, toda cena odstranjevanja biomase od substrata bi lahko bila ovira za praktično uporabo (Karya, 2013).

Ob koncu procesa se namreč pojavi vprašanje, kako ločiti biomaso alg od razbremenjenih voda. V samostojnih algnih sistemih je učinkovitost odstranjevanja odvisna od dejavnikov kot so: vrsta algne biokulture, gostota celic in pogoji kultiviranja. Alge so majhen organizem (1–30 µm), so negativno nabite in imajo gostoto, ki je blizu mediju. Tako so enakomerno razporejene po njem. Da bi zajeli vse alge, bi bil potreben kompleksen in dolg proces z več koraki ter tako fizičnimi, kemičnimi in biološkimi procesi. Trenutne industrijske metode, ki so na voljo, vključujejo sedimentacijo, centrifugiranje in filtracijo, vendar se nobena od njih ni izkazala kot cenovno učinkovita in primerna za odstranjevanje v večji meri (Molina Grima, Belarbi, Ación Fernández, Robles Medina in Chisti, 2003; Franchino, Comino, Bona in Riggio, 2012).

S koagulacijo in flokulacijo, ki jima sledi usedanje (sedimentacija) lahko uspešno ločimo biomaso alg. To dosežemo z dodajanjem kemičnih koagulantov in flokulantov ali z dviganjem pH nad 10. Čeprav so ti procesi učinkoviti, so dragi in lahko povečajo slanost. Tipi koagulantov, flokulantov in uporabljena vrsta alg so faktorji, ki pomembno vplivajo na odstranjevanje biomase (Muñoz in Guieysse, 2006).

Obstaja pa tudi možnost imobilizacije alg kot rešitev pri olajšanju odstranjevanja. Imobilizacija na polimerski material, na primer karagenan, hitozan ali alginat, je že bila potrjena kot uspešna. Prednosti imobilizacije vključujejo zaščito mikroalg in/ali bakterij ter recikliranje biomase na ekonomičen način, saj celicam povzročimo le majhno škodo in si lahko hitro opomorejo. Tudi ta način ima slabosti kot so: omejen dostop do kisika in omejen prenos nutrientov, težave pri izbiri pravega nosilca in pri implikaciji v večje sisteme (Eroglu, 2015; Muñoz, 2005).



Slika 2: Alga kultura imobilizirana v alginatnih kroglicah

3. EKSPERIMENTALNI DEL

3.1. Metode dela

V raziskavi sem uporabljala različne laboratorijske tehnike. Za pripravo standardnih raztopin sem uporabila kemikalije, ki vsebujejo posamezen anorganski ion (denimo KNO_3). Za merjenje absorbance sem uporabila kolorimeter, za pH in električno prevodnost za to predvideni sonde. Za odčitavanje podatkov sem uporabila LabPro vmesnik. Fotobioreaktorje so sestavljale tri erlenmajerice s trakovi led luči, navitimi okoli njih in magnetna mešala.

3.1.1. Opis vzorca raziskave

Čiščenje cevnih sistemov (CIP) v šolski mlekarni poteka po ustaljenem vrstnem redu:

- izpiranje z vodo; na ta način odstranimo večino ostankov mleka (odpadna voda, bogata z organskimi snovmi), izpustimo jo v komunalno čistilno napravo
- izpiranje s čistilom na osnovi baze, da odstranimo organske ostanke mleka (baza se vrne v rezervoar za ponovno uporabo)
- izpiranje ostankov baze z vodo (tako dobimo bazično raztopino)
- izpiranje s kislino, da odstranimo anorganske ostanke mleka (obloge kalcija)
- izpiranje ostankov kisline z vodo (tako dobimo kislo raztopino)
- nevtralizacija bazične raztopine in kisle raztopine v nevtralizacijski posodi in izpust v komunalno čistilno napravo

Ostanke čistil spirajo z vodo, jih zmešajo in nevtralizirajo. Kljub temu, da so minerali v odpadni vodi zelo razredčeni, jih je pred izpustom smiselno prestreči. Predmet raziskovalne naloge je torej prestrezanje mineralnih hranil z uporabo alno-bakterijske biokulture.

Skozi raziskavo sem spremljala pH vrednost in električno prevodnost raztopine ter koncentracije različnih anorganskih ionov: nitratov (NO_3^-), nitritov (NO_2^-), amonija (NH_4^+) in fosfatov. (PO_4^{3-}).

Iz mlekarne smo zajeli ločeno bazično in kislo raztopino, ki sem ju nato v razmerju 3:5 zmešala v nevtralno raztopino s pH vrednostjo 7. Pri tej pH vrednosti privzem dušika najboljše poteka.

3.2. Opis merskega instrumenta

Kovček za izvajanje kemične analize vode – VISOCOLOR SCHOOL omogoča analizo najpomembnejših vodnih parametrov z uporabo kolorimetričnih in titrametričnih reagentov.

Vmesnik LabQuest 2 (Vernier) omogoča zajem podatkov z uporabo različnih merilnih sond ali senzorjev. Naloga vmesnika je, da električne signale, običajno napetost v milivoltih (mV), pretvori v ustrezne vrednosti glede na tip sensorja. Nekatere sonde (npr. za pH) je potrebno redno kalibrirati, saj ne kažejo stalno enake, absolutne vrednosti.

Sonda za **električno prevodnost** omogoča oceno količine raztopljenih mineralov v raztopini, ker je prevodnost elektrolita premo sorazmerna koncentraciji raztopine.

Sonda za pH vrednost omogoča merjenje koncentracije H_3O^+ ionov v raztopini. Ker raztopljeni CO_2 tvori v vodni raztopini ogljikovo kislino, lahko prek pH vrednosti ocenimo fotosintezno aktivnost alge kulture.

S **kolorimetrom** opravimo fotometrično meritev raztopine mineralov obarvane s specifičnim reagentom. Ker je intenziteta obarvanosti vzorca premo sorazmerna s koncentracijo določenega minerala v njem, lahko z meritvijo absorbance določimo količino minerala v vzorcu. Meritev opravljamo v kiveti, majhni steklenički s krožnim ali kvadratnim presekom, zato tako testiranje imenujemo tudi kivetni test. Kivete so izdelane iz plastike, stekla ali kaljenega kremenca. Kivetni testi se v zadnjih letih vse bolj uporabljajo na področju preverjanja kvalitete odpadnih, pitnih in procesnih voda. Paziti moramo, da so kivete brez nečistoč, ki bi lahko vplivale na fotometrično meritev.

3.3. Opis postopka zbiranja podatkov

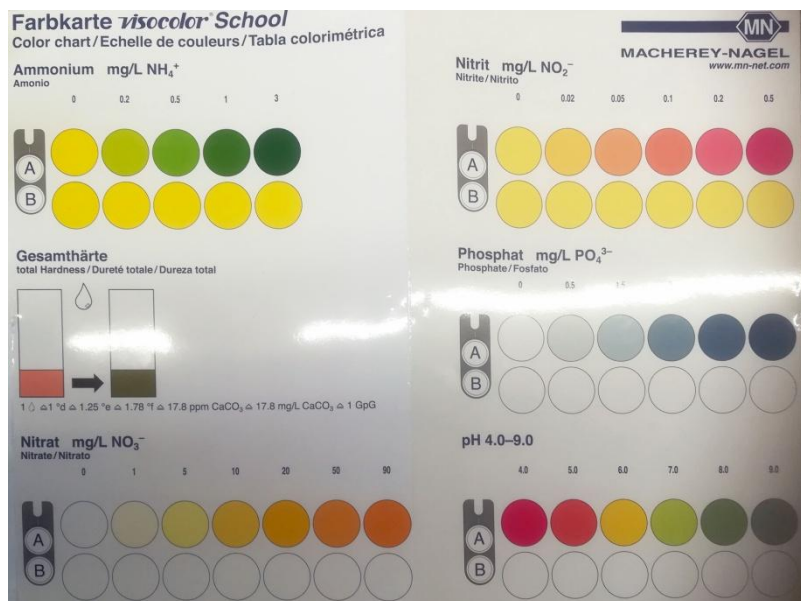
3.3.1. Priprava standardov

Pripravili smo standardne raztopine nitratov, nitritov, fosfatov in amonija 1000 ppm (mg/L). Standardne raztopine 1000 ppm smo rdečili na 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm in 0,1 ppm odvisno od standarda. Ker so merilna območja za posamezne minerale v kovčku določena, smo pripravili standarde z ustreznimi koncentracijami mineralov.

Z barvno skalo smo le približno umerili koncentracijo snovi v vzorcu. Za bolj natančno merjenje smo uporabili kolorimeter. Kolorimeter meri prepuščeno svetlobo (transmitanco), absorbanco pri določeni valovni dolžini pa preračuna vmesnik.

Če poznamo absorbance različnih koncentracij določene standardne raztopine, lahko prek umeritvene krivulje standarda in njene enačbe izračunamo koncentracijo iskane snovi.

Standardne raztopine smo pripravili iz NH_4Cl , KNO_3 , Na_2HPO_4 in KNO_3 .



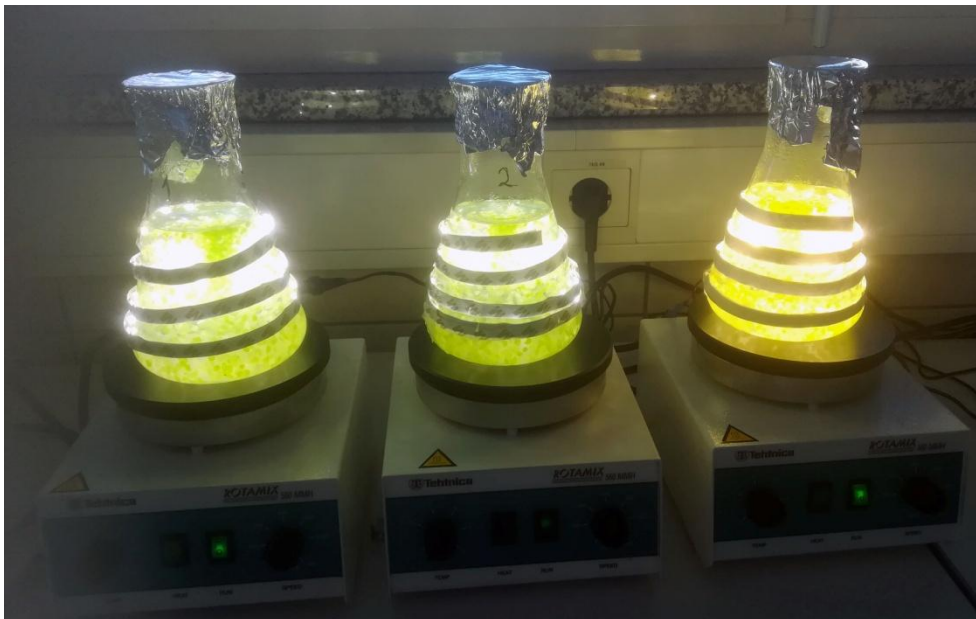
Slika 3: Barvna skala za določevanje koncentracij anorganskih ionov



Slika 4: Standard amonij

3.4. Postavitev poskusa

Poskus je potekal v treh fotobioreaktorjih (FBR), sestavljenih iz erlenmajerice s trakovi led lučmi, ki smo jih postavili na magnetna. Mešanje je potekalo neprestano, osvetljavo pa smo nadzirali s časovno stikalnimi urami.



Slika 5: Fotobioreaktorji FBR 1, FBR 2 in FBR 3

V svoji raziskavi sem uporabila mešano alno biokulturo, v kateri pa so bile poleg mikroalg: *Ankistrodesmus sp.* (na spodnji sliki vidne kot priostrene palčke), *Scendesmus sp.* (na sliki jajčaste oblike), *Monorphaidium sp.* (na sliki spiralne oblike) in *Dictyosphaerium sp.* (krogci v skupkih), prisotne tudi bakterije (na sliki drobne strukture v ozadju). Biokultura je bila imobilizirana v kroglice iz natrijevega alginata. Na ta način sem preizkušala učinkovitost alne biokulture, imobilizirane na ta način, lahko pa sem jo tudi reciklirala.



Slika 6: Biokultura: *Ankistrodesmus sp.* (priostrene palčke), *Scendesmus sp.* (jajčasti četverčki), *Monorphaidium sp.* (spiralne oblike) in *Dictyosphaerium sp.* (krogci v skupkih), v ozadju drobne bakterije

Časovne ure sem nastavila tako, da sem z avtomatičnim prižiganjem in ugašanjem luči zagotovila intervale svetlobe in teme. Čez dan, ki je trajal 16 ur, so se luči prižigale in ugašale v intervalu 30 minut, predvsem za preprečevanje pregrevanja, noč z ugasnjenimi lučmi je trajala 6 ur.



Slika 7: Časovna ura

Vsak dan sem s kolorimetrom pomerila absorbanco za vsak anorganski ion in absorbance uporabila za izračun koncentracije posameznega iona v raztopini.

Klara Žos, Obdelava mlekerskih odpadnih vod z algami – Biotehniški center Naklo

Pomerila sem tudi pH vrednost in električno prevodnost v vsakem od fotobioreaktorjev. Poskus je potekal 5 dni, od 2.3.2020 do 6.3.2020.

V enem dnevu, in sicer 4.3.2020, sem večkrat izvedla fotometrične meritve za nitrate.

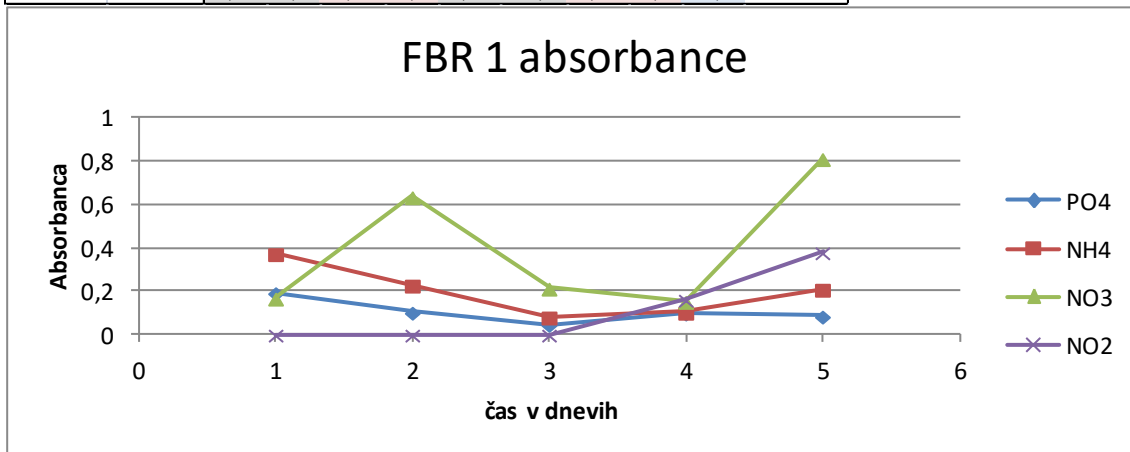


Slika 8: dnevno nihanje nitratov

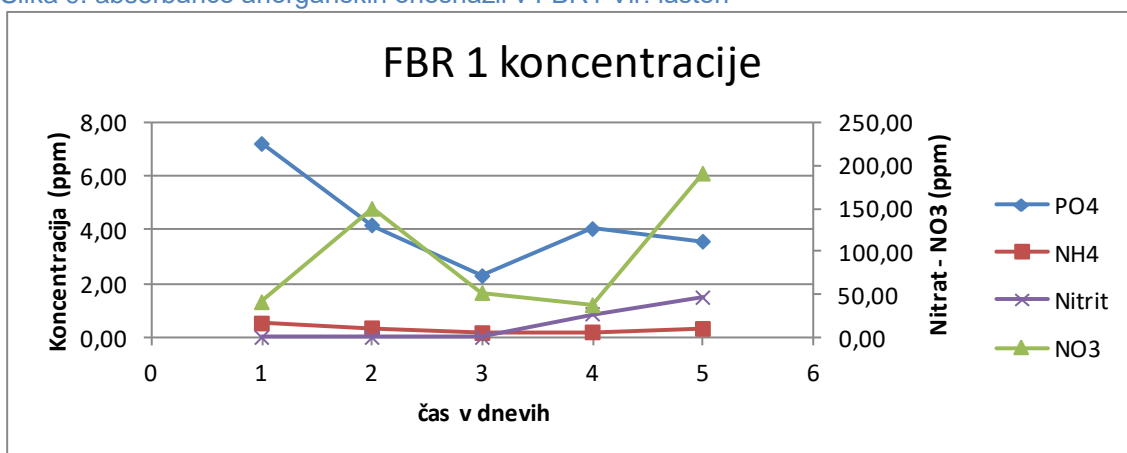
4. REZULTATI

Tabela 1: Meritve fotobioreaktorja FBR1

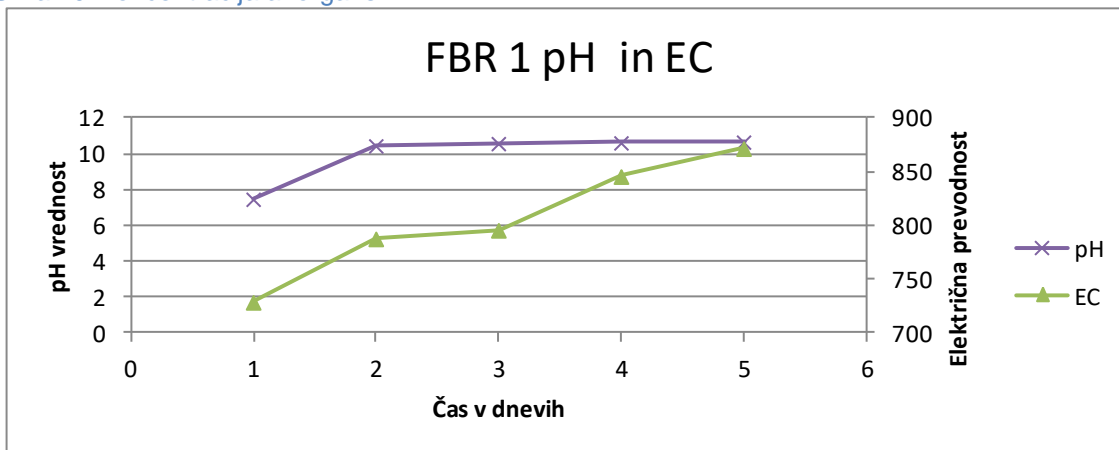
		FBR1										
datum	zaporedni dan	Fosfat		Amonij		Nitrat		Nitrit		pH	električna prevodnost EC	
		PO4 Abs	konc. ppm	NH4 Abs	konc. ppm	NO3 Abs	konc. ppm	NO2 Abs	konc. ppm			
02/03/2020	1	0,193	7,21	0,373	0,53	0,168	41,12	0	0	7,49	729	
03/03/2020	2	0,103	4,18	0,228	0,35	0,635	149,72	0	0	10,47	788	
04/03/2020	3	0,047	2,29	0,081	0,17	0,214	51,81	0	0	10,6	796	
05/03/2020	4	0,099	4,04	0,103	0,20	0,153	37,63	0,161	0,87	10,64	846	
06/03/2020	5	0,085	3,57	0,209	0,32	0,811	190,65	0,379	1,49	10,68	872	



Slika 9: absorbance anorganskih onesnažil v FBR1 Vir: lasten



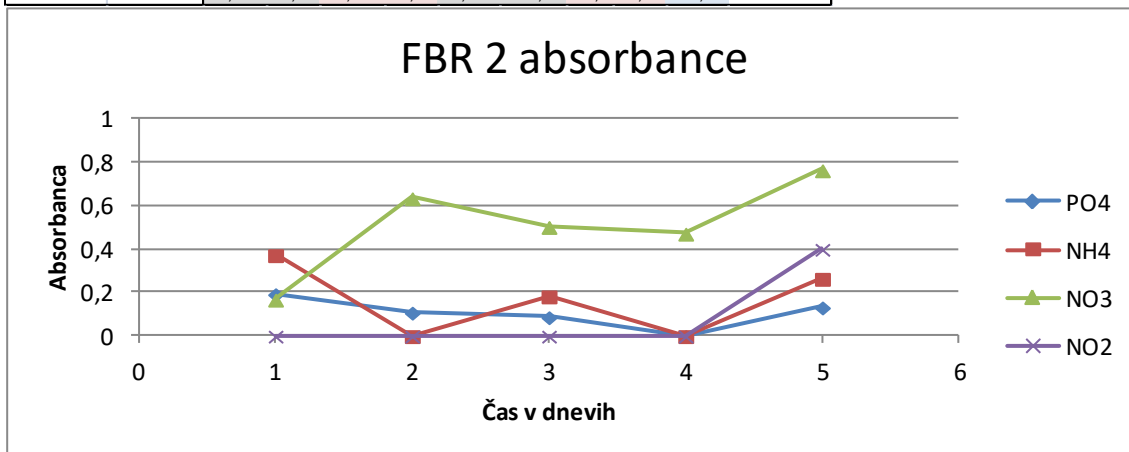
Slika 10: koncentracija anorganskih onesnažil v FBR 1 Vir: lasten



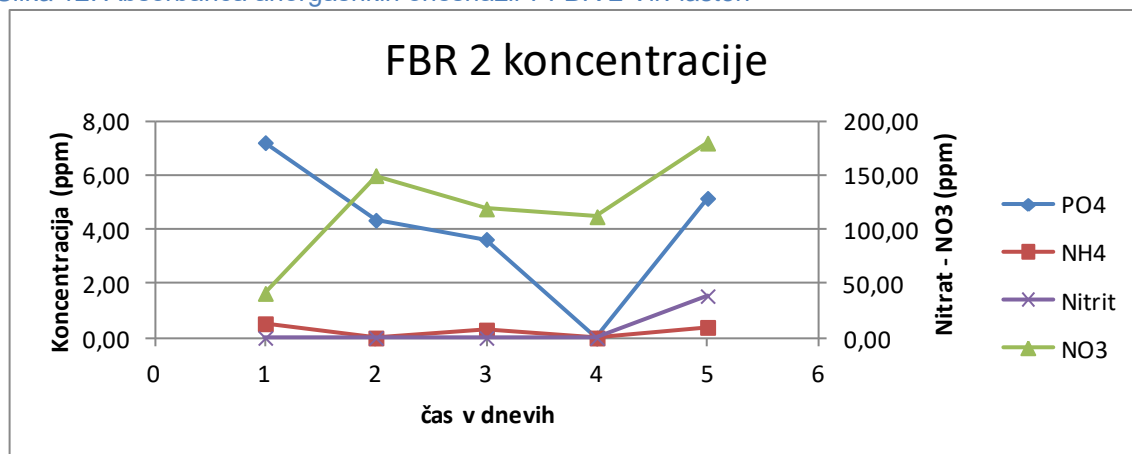
Slika 11: pH vrednost in električna prevodnost v FBR1 Vir: lasten

Tabela 2: : Meritve fotobioreaktorja FBR2

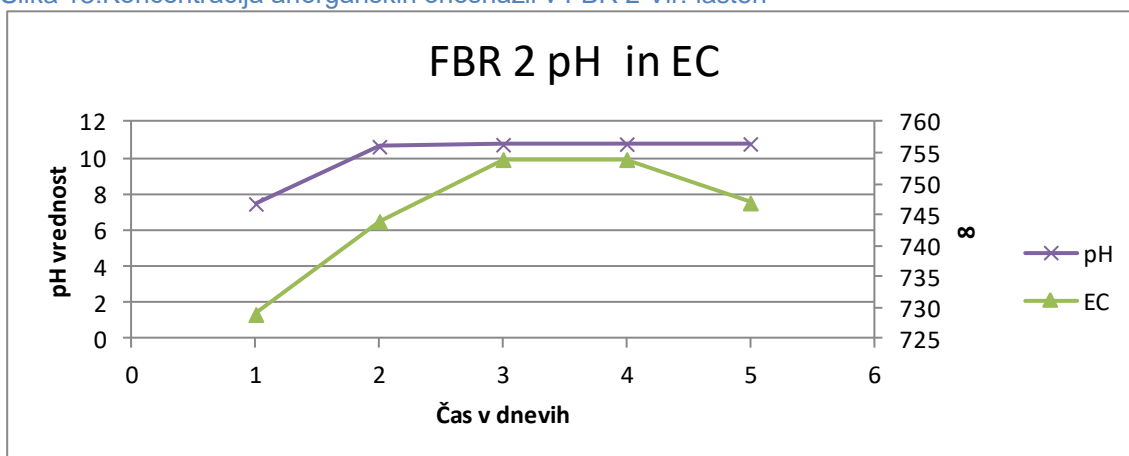
		FBR2									
datum	zaporedni dan	Fosfat		Amonij		Nitrat		Nitrit		pH	električna prevodnost EC
		PO4 Abs	konc. ppm	NH4 Abs	konc. ppm	NO3 Abs	konc. ppm	NO2 Abs	konc. ppm		
02/03/2020	1	0,193	7,21	0,373	0,53	0,168	41,12	0	0	7,49	729
03/03/2020	2	0,108	4,34	0	0,00	0,635	149,72	0	0	10,66	744
04/03/2020	3	0,087	3,64	0,183	0,29	0,503	119,02	0	0	10,77	754
05/03/2020	4	0	0	0	0	0,472	111,81	0	0	10,8	754
06/03/2020	5	0,132	5,15	0,264	0,39	0,764	179,72	0,4	1,54	10,81	747



Slika 12: Absorbanca anorganskih onesnažil v FBR 2 Vir: lasten



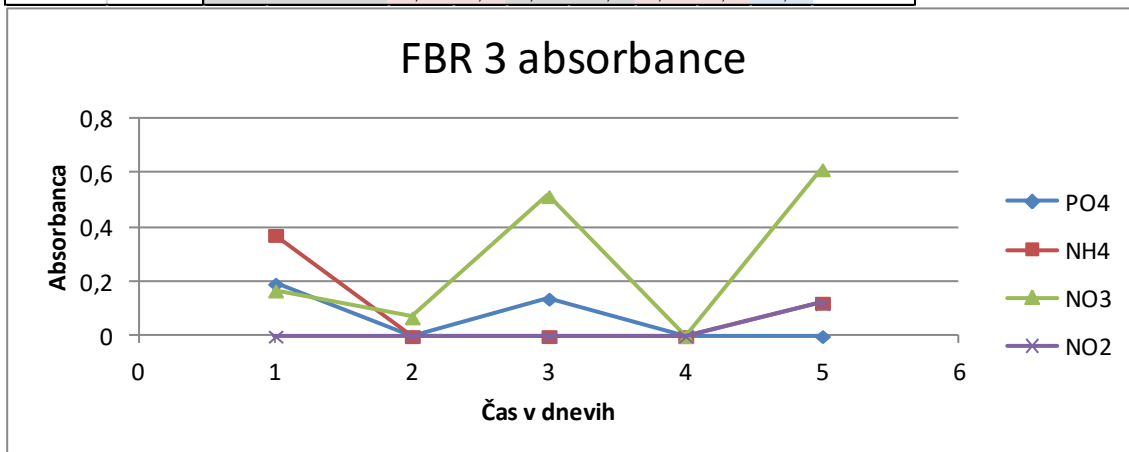
Slika 13: Koncentracija anorganskih onesnažil v FBR 2 Vir: lasten



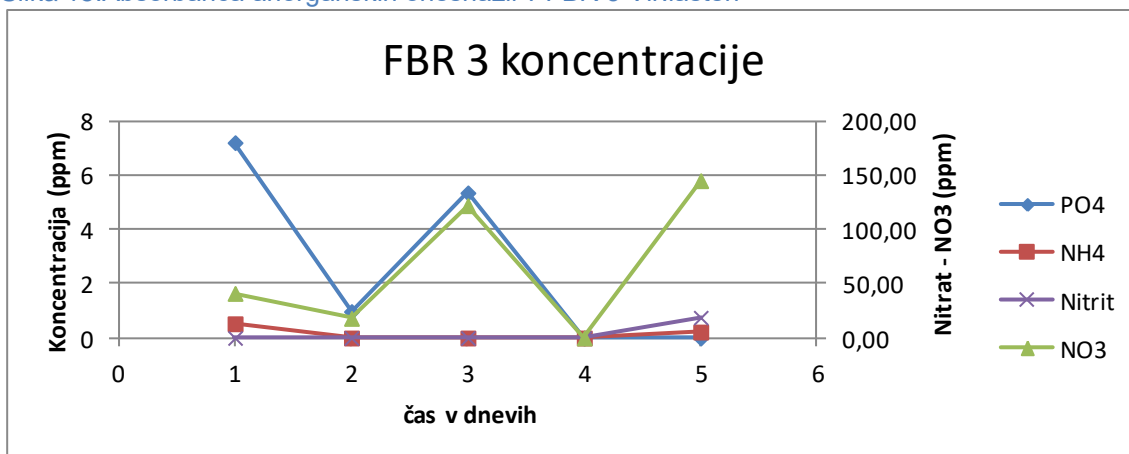
Slika 14: pH vrednost in električna prevodnost v FBR2

Tabela 3: Meritve fotobioreaktorja FBR3

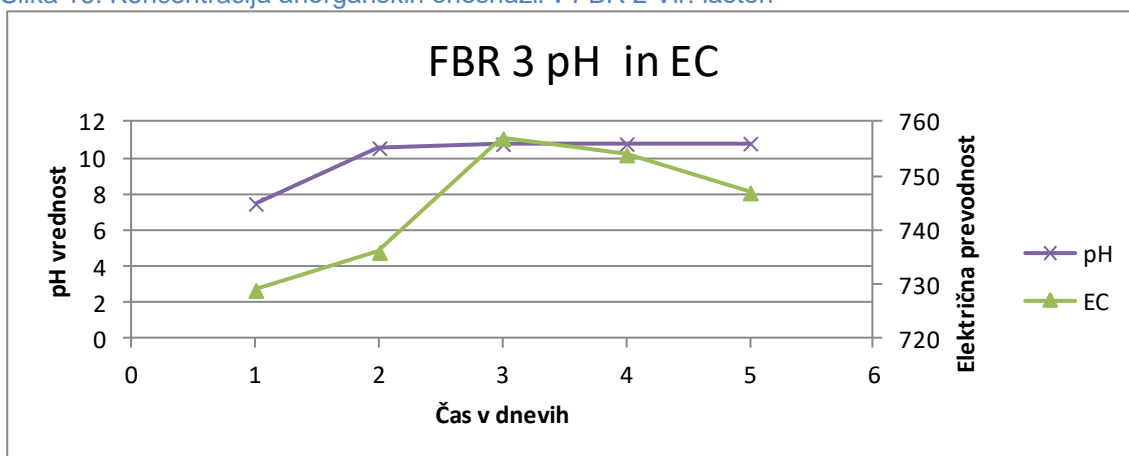
		FBR3									
datum	zaporedni dan	Fosfat		Amonij		Nitrat		Nitrit		pH	električna prevodnost EC
		PO4 Abs	konc. ppm	NH4 Abs	konc. ppm	NO3 Abs	konc. ppm	NO2 Abs	konc. ppm		
02/03/2020	1	0,193	7,205387205	0,373	0,53	0,168	41,12	0	0	7,49	729
03/03/2020	2	0,008	0,98	0	0	0,069	18,09	0	0	10,57	736
04/03/2020	3	0,138	5,35	0	0	0,516	122,05	0	0	10,79	757
05/03/2020	4	0	0	0	0	0	0	0	0	10,8	754
06/03/2020	5	0	0	0,123	0,22	0,615	145,07	0,119	0,75	10,83	747



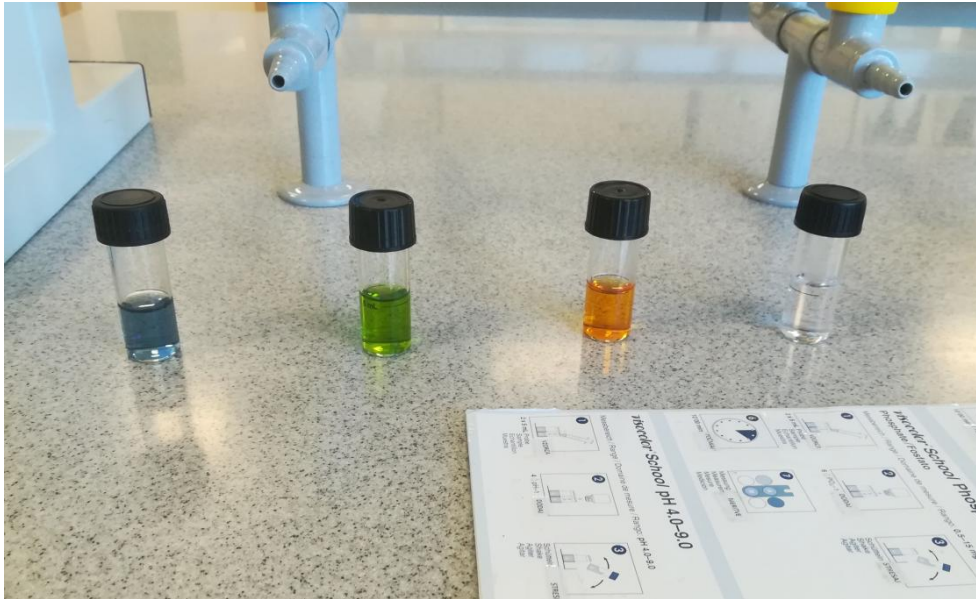
Slika 15: Absorbanca anorganskih onesnažil v FBR 3 Vir: lasten



Slika 16: Koncentracija anorganskih onesnažil v FBR 2 Vir: lasten

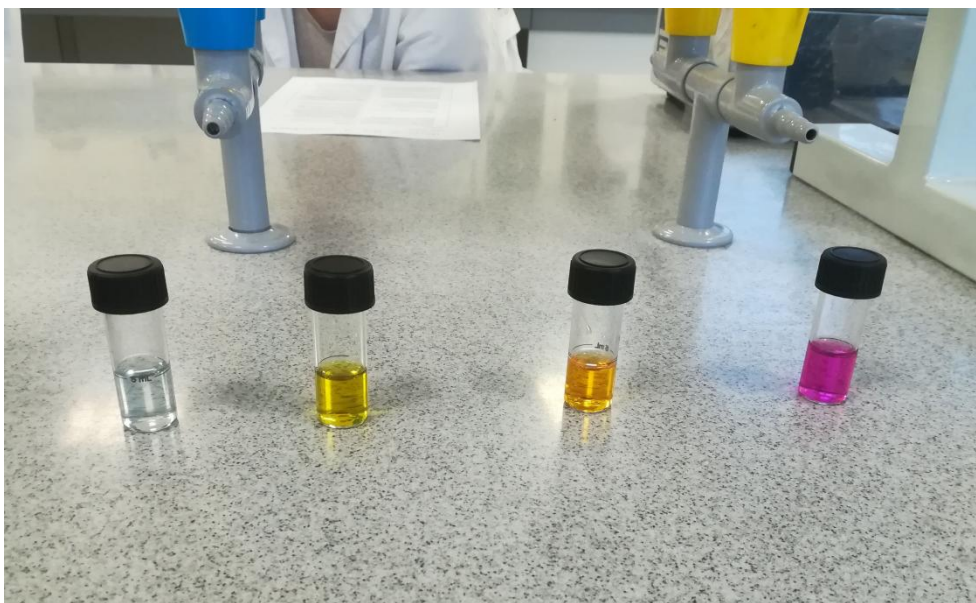


Slika 17: pH vrednost in električna prevodnost FBR 3 Vir: lasten



Slika 18: Fotometrične meritve prvi dan

Slika prikazuje vzorec obarvan z vsakim od reagentov iz kovčka za vodo. Fosfati so se obarvali temno modro, amonij zeleno, nitrati oranžno, nitriti pa se niso obarvali.



Slika 19: Fotometrične meritve zadnji dan

Po koncu poskusa se reagent za fosfat skoraj ni obarval, za amonij se je obarval rumeno, za nitrati je ostal oranžen in za nitrit se je obarval vijolično.

5. RAZPRAVA

Skozi poskus so se koncentracije anorganskih onesnažil spremenile. Spremenili sta se tudi pH vrednost in električna prevodnost.

Ob postavitvi poskusa so bile vrednosti v vseh treh fotobioreaktorjih enake. Odpadne vode so vsebovale 7,12 ppm oziroma mg/L fosfatov, 0,53 ppm amonija in 41 ppm nitratov. V njih ni bilo nitritov.

Iz rezultatov lahko sklepamo, da mešana alno bakterijska kultura v svojem metabolizmu privzema fosfate. Skozi ta proces se nekaj fosfatov izloči kot odpadni produkt, vendar jih biokultura spet privzame. Njihova koncentracija v odpadnih vodah tako postopoma pada.

V fotobioreaktorju FBR 1 je koncentracija fosfatov drugi in tretji dan padla, četrti dan nekoliko narasla in peti dan spet padla. V fotobioreaktorju FBR 2 je koncentracija fosfatov padala do četrtega dneva, peti dan pa narasla. V fotobioreaktorju FBR 3 je koncentracija fosfatov drugi dan padla, tretji dan narasla in četrti in peti dan padla na vrednost 0. Hipoteza, da bo biokultura privzela fosfate je na ta način potrjena.

Hipoteze, da bo biokultura privzela dušikove snovi, tu ne moremo tako enostavno potrditi. Iz virov lahko sklepamo, da sta potekli nitrifikacija in denitrifikacija. Presnova amonija v nitrate in nitratov v nitrite ter nazaj v amonij ni linearen proces. To lahko potrdimo tudi nihanji vrednosti nitrata, ki sem jih spremljala tekom enega dne.

Kljub temu se je koncentracija amonija zmanjšala, na račun tega se je povečala koncentracija nitratov, tako lahko sklepamo na potek nitrifikacije. Kasneje so se pojavili tudi nitriti, kar nakazuje na potek denitrifikacije. Viri navajajo, da je amonij algam najlažje dostopen, zato denitrifikacija ne poteka, kadar imajo na razpolago dovolj amonija kot vira dušika (Cai, 2013; Zhou, 2014). Tako lahko tudi hipotezo, da bo biokultura privzela dušikove snovi, delno potrdimo. V vodah je bila na koncu eksperimenta manj amonija, ki je od treh dušikovih snovi najbolj strupen, potekala pa je tudi denitrifikacija nitratov v nitrite, najmanj strupeno dušikovo snov. Za ugotavljanje nadaljnjih procesov bi bile potrebne nove raziskave. Kljub temu lahko iz krivulj napovem dolgoročno padanje koncentracij dušikovih snovi.

V fotobioreaktorju FBR 1 je drugi dan je koncentracija nitratov narasla, koncentracija amonija pa padla. Tretji dan sta obe koncentraciji padli. Četrti dan je koncentracija nitratov še vedno padala, koncentracija amonija se je povečala, pojavili pa so se nitriti, ki jih prej ni bilo. Peti dan so vse tri koncentracije narasle. Koncentracija amonija na koncu eksperimenta je bila manjša kot na začetku, koncentraciji nitratov in nitritov pa sta se povečali. V fotobioreaktorju 2 je drugi dan je koncentracija amonija padla na vrednost 0, povečala pa se je koncentracija nitratov. Tretji dan je koncentracija amonija zopet narasla, koncentracija nitratov pa se je zmanjšala. Četrti dan sta obe koncentraciji padli. Peti dan sta koncentraciji spet narasli, pojavili pa so nitriti. Koncentracija amonija je bila manjša kot na začetku, koncentraciji nitratov in nitritov pa sta se povečali. V fotobioreaktorju 3 je drugi dan je koncentracija amonija padla na vrednost 0, padla je tudi koncentracija nitratov. Tretji dan je koncentracija nitratov narasla, amonij pa je ostal nespremenjen. Četrti dan sta obe koncentraciji padli na 0. Peti dan so se pojavili nitriti, koncentraciji nitratov in amonija pa sta spet narasli. Koncentracija amonija je bila manjša kot na začetku, koncentraciji nitratov in nitritov pa sta se povečali.

Tudi hipotezo, da bo pH vrednost skozi poskus narasla zaradi fotosintezne aktivnosti alg lahko potrdimo. PH vrednost je narasla na vrednost 10,68 v FBR1, na 10,81 v FBR2 in na 10,83 v FBR3. Visoka pH vrednost kaže na dobro fotosintezno aktivnost alne biokulture.

Hipotezo, da bo električna prevodnost padla lahko delno potrdimo.

V fotobioreaktorju FBR1 je električna prevodnost narasla, v FBR 2 je električna prevodnost narasla in nato postopoma padala, tudi v FBR3 je električna prevodnost narasla in nato

postopoma padala. Sklepam lahko, da električna prevodnost ni linearno padla, ker biokultura onesnažil ni v celoti privzela. Verjetno bi morali izvajati poskus dlje časa, da bi ob nihanju dušikovih ionov opazili njihovo celokupno upadanje.

6. ZAKLJUČEK

Ugotovila sem torej, da alge v obliki alginatnih kroglic privzemajo fosfor in nitrificirajo amonij v nitrate in te denitrificirajo v nitrite v mlekarških odpadnih vodah. Sklepam lahko, da bi bila uporaba algnih sistemov za čiščenje takih vod smiselna, vendar z izboljšavami. Lahko potrdim, da je bila imobilizacija v alginatne kroglice uspešna. Vprašanje za nadaljnje raziskave je, kaj storiti z aljno biomaso, ko njena reciklaža ni več možna. Tu se pokaže vsestranska uporabnost alg za mnoge proizvode, od krme do biogoriv. Skozi svoje raziskovalno delo sem pridobila tako teoretično in praktično znanje ter se naučila interdisciplinarnega povezovanja med vedami. Pomanjkanje izkušenj in časa sta dejavnika, ki vplivata na pomanjkljivosti raziskovalne naloge. V prihodnjih raziskavah bi bilo smiselno nadaljevati z preučevanjem privzema dušika in dnevnih nihanj ter pretvorb iz ene oblike dušikovih ionov v drugo. Glede na to, da pH vrednost lahko vpliva na privzem dušika, bi se bilo v nadaljnjih raziskavah smiselno osredotočiti na ta parameter. Smiselno bi bilo skozi proces spremljati tudi druge dejavnike, denimo osvetlitev ter privzem snovi pri različni jakosti svetlobe in valovni dolžini.

7. VIRI IN LITERATURA

- Belušič, G., Devetak, B., Devetak, D., Tome, D., Vrezec, A., Žinko, B. (2011). Vedenje živali, Biotehnologija in mikrobiologija, človek in naravni viri, Biološke osnove zdravega življenja, Ljubljana: DZS
- Cervantes, F.J., Pavlostathisa, S.G., Van Haandel, A.C. (2006). Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters IWA PUBLISHING
- Choi, I. S., Dombrowski, E.M., Wiesmann, U. (2007). Fundamentals of biological wastewater treatment Berlin Wiley-VCH
- Hercog, J. (2009). Ocena možnosti izboljšave delovanja ČN mlekarške industrije, Ljubljana, DZS
- Jia, H. in Yuan, H. (2016). Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae–bacteria consortia [PDF dokument] Pridobljeno 15.3.2020 s https://www.researchgate.net/publication/312268979_Removal_of_nitrogen_from_wastewater_using_microalgae_and_microalgae-bacteria_consortia
- Dermastia, M., Komel, R. in Turk, T. (2014). Kjer se življenje začne; biologija celice in genetika za gimnazije, Ljubljana: Rokus Klett.
- Memisia, N.,* Veskovc Moracaninb, S., Milijasevicb, M., Babicb, J., Djukic D., CIP cleaning processes in the dairy industry [PDF] dokument Pridobljeno 15.3.2020 s <https://core.ac.uk/download/pdf/82406314.pdf>
- Raspor, P. (1992). Biotehnologija, Ljubljana, Bia d.o.o.
- Sarkar, B., Chakrabarti, P.P., Vijaykumar, A., Kale, V. (2006). Wastewater treatment in dairy industries —possibility of reuse. Desalination, 195, 141–152.
- Woertz, A. Feffer, Lundquist, T., Nelson, Y. (2009) Algae grown on dairy and municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock [PDF dokument] Pridobljeno 20.3.2020 z <https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%28ASCE%29EE.1943-7870.0000129>
- Pridobljeno s http://www2.arnes.si/~sopbbezn/Vernier/logger_p.htm#Senzorji (1.4.2020)
- Pridobljeno z https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/ammonia.pdf 3.4.2020
- Pridobljeno s <https://www.watereducation.org/aquapedia/nitrate-contamination>3.4.2020
- Pridobljeno s <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB00027863>.4.2020
- Pridobljeno s <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB00028783>.4.2020
- Pridobljeno s <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrate>3.4.2020
- Pridobljeno s <https://market.mikro-polo.si/vsi-izdelki/izdelek.aspx/i977658> 4.4.2020
- Pridobljeno s <https://www.vernier.com/> 4.4.2020
- Pridobljeno s <https://www.ucila.eu/znamke/vernier/> 4.4.2020
- Pridobljeno s <https://www.ucila.eu/izdelek/vmesnik-labquest-2/>4.4.2020

8. PRILOGE

	koncentracije ionov							
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
	0,1	0,2	0,5	1	2,5	5	10	100
Absorbanca								
Nitrat (v KNO ₃) 470 nm				0			0,029	0,419
Amonij (NH ₄ Cl) 635 nm		0	0,14	0,344	1,03			
Nitrit (v NaNO ₂) 470 nm	0,177	0,227	0,323					
Fosfat (NaHPO ₄) 430 nm			0	0	0,045	0,055	0,114	

