

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Wanda Plačko

**ULOGA TESTA BIORAZGRADNJE U UPRAVLJANJU
OTPADNIM VODAMA**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Dr. sc. Dajana Kučić Grgić, znan. sur.

Prof. dr. sc. Zvezdana Findrik Blažević

Zagreb, srpanj 2018.

Veliko hvala profesorici dr. sc. Mariji Vuković Domanovac na ukazanoj podršci i pomoći pri donošenju teme ovog rada.

Zahvaljujem se asistentici Moniki Šabić mag. ing. oecoing. na pristupačnosti, dragocjenim savjetima i velikom strpljenju.

Hvala djelatnicima Plive na nesebičnoj pomoći i ustupanju podataka potrebnih za izradu ovog rada. Posebno hvala Mariji Čepo koja je predložila temu ovog rada i na neizmjernom strpljenju i stručnim savjetima.

Hvala mojim roditeljima, Marleni i Krunoslavu te bratu Marku na neprekidnoj potpori i na svemu što su učinili za mene u životu.

SAŽETAK

Tvari prisutne u otpadnoj vodi iz farmaceutske industrije mogu potencijalno biti štetne za okoliš. Biološka obrada otpadnih voda jedan je od najčešćih postupaka koji se koriste u obradi otpadnih voda. Kako bi se ocijenilo je li otpadna voda pogodna za biološku obradu, provode se testovi biorazgradnje. U ovom radu proveo se Zahn-Wellensov test biorazgradnje na dvije otpadne vode iz farmaceutske industrije (OV1 i OV2) te na otpadnoj vodi iz farmaceutske industrije nakon obrade s aktivnim ugljenom (OV2A). Tijekom provedbe testa praćeni su kemijska potrošnja kisika, ukupna suspendirana tvar, ukupni organski ugljik, ukupni dušik, koncentracija otopljenog kisika i pH-vrijednost. Rezultati pokazuju da je uklonjeno ukupnog organskog ugljika (TOC) 60 %, 0 % te 92 % za OV1, OV2 i OV2A.

Ključne riječi: otpadna voda iz farmaceutske industrije, test biorazgradnje, biološka obrada

SUMMARY

Components that are present in wastewater from the pharmaceutical industry can potentially harm the environment. Biological treatment of the wastewaters is one of the most common methods used in the wastewater treatment. Biodegradability tests are conducted in order to assess whether wastewater is suitable for biological treatment. In this paper Zahn-Wellens biodegradation test was performed on two wastewaters from the pharmaceutical industry and on wastewater from the pharmaceutical industry after treatment with activated carbon. During the test procedure, monitoring of chemical oxygen demand, total organic carbon, mixed liquor suspended solids, total nitrogen, concentrations of dissolved oxygen and pH-level were performed. The results show elimination of total organic carbon (TOC) of 60 %, 0 % and 92 % for OV1, OV2 and OV2A, respectively.

Key words: pharmaceutical industry wastewater, biodegradability test, biological treatment

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. OTPADNE VODE	3
2.1.1. Vrste otpadnih voda.....	3
2.1.2. Zakonodavstvo i dokumenti	4
2.1.3. Obrada otpadnih voda iz farmaceutske industrije	5
2.1.4. Fizikalno-kemijska obrada otpadne vode iz farmaceutske industrije.....	6
2.1.5. Biološka obrada otpadne vode iz farmaceutske industrije	6
2.2. TESTOVI BIORAZGRADNJE	7
2.2.1. Zahn-Wellensov test	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	11
3.1. MATERIJALI	11
3.1.1. Aerobni aktivni mulj.....	11
3.1.2. Otpadna voda iz proizvodnje farmaceutika	11
3.1.3. Otopina za prihranu mikroorganizama	11
3.1.4. Mjerni instrumenti i oprema	11
3.2. METODE RADA.....	12
3.2.1. Zahn-Wellensov test biorazgradnje	12
3.2.2. Obrada otpadne vode s aktivnim ugljenom	13
3.2.3. Određivanje kemijske potrošnje kisika.....	13
3.2.4. Određivanje ukupne suspendirane tvari	14
3.2.5. Određivanje ukupnog organskog ugljika i ukupnog dušika	14
4. REZULTATI.....	15
4.1. KARAKTERIZACIJA OTPADNIH VODA	15
4.2. ZAHN-WELLENSOV TEST BIORAZGRADNJE	15
4.2.1. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV1	15
4.2.2. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2	17
4.2.3. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2A	19

5. RASPRAVA	22
5.1. KARAKTERIZACIJA OTPADNIH VODA	23
5.2. ZAHN-WELLENSOV TEST BIORAZGRADNJE	24
5.2.1. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV1	24
5.2.2. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2	25
5.2.3. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2A	25
6. ZAKLJUČAK	28
7. LITERATURA	29

1. UVOD

U današnje vrijeme se sve više koriste kemikalije u raznim granama proizvodnje i u svakodnevnom životu. Otpadne vode koje nastaju tijekom takvih proizvodnji kao i vode u koje uporabom različitih proizvoda dospiju razni spojevi iz tih proizvoda, sadrže velik broj tvari i kemikalija koje mogu potencijalno ugroziti okoliš. Veliki dio onečišćujućih tvari podrijetlom iz takvih proizvodnji ili uporabom takvih proizvoda se bioakumulira u okolišu te ulazi u hranidbeni lanac.

Produkti koji nastaju razgradnjom ksenobiotika u okolišu često mogu biti toksičnije nego same početne tvari. Otpadne vode mogu sadržavati veliku koncentraciju organske tvari, nisku ili visoku pH-vrijednost te se stoga ne smiju u ispustiti okoliš bez prethodne obrade.¹⁻⁴

Kako bi se emisija onečišćujućih tvari stavila pod nadzor, definirana je Uredba o okolišnoj dozvoli kojom se uređuju djelatnosti, odnosno postrojenja koja mogu prouzročiti emisije kojima se onečišćuju tlo, zrak, vode i more. U ovoj uredbi se također nalazi Popis onečišćujućih tvari za koje se u okolišnoj dozvoli definiraju granične vrijednosti. Također, u Uredbi se nalaze kriteriji za određivanje najboljih raspoloživih tehnika (NRT) čijom se primjenom mogu svesti na minimum sveukupni utjecaj emisija na okoliš.⁵

U farmaceutskoj industriji nastaju otpadne vode koje sadrže vrlo specifične onečišćujuće tvari iz sinteze farmaceutika ili se kao neizreagirani ostaci sirovina i/ili otapala ispiru iz proizvodne opreme. Neke od organskih onečišćujućih tvari su biorazgradivi spojevi, neki su djelomično razgradivi, a neki toksični i neprihvatljivi za biološku obradu. Od anorganskih onečišćujućih tvari mogu biti prisutni teški metali koji nastaju kao posljedica korištenja katalizatora, spojevi s dušikom (amonijak, nitriti i nitrati), fosfati te suspendirane tvari.⁶

Najbolje raspoložive tehnike zaštite okoliša kao smjernice za farmaceutsku industriju mogu se naći u dokumentu *Reference Document on Best Available Techniques for the Manufacture of Organic Fine Chemicals (OFC Bref)*. Jedna od bitnih smjernica u OFC Bref-u je uspostavljanje sustava upravljanja tokovima otpadnih voda (engl. *Wastewater Stream Management*), što znači sustavno identificiranje, i razdvajanje otpadnih tokova koji se mogu biološki pročistiti do razine

definirane okolišnom dozvolom ili se prije biološke obrade moraju fizikalno-kemijskim postupcima učiniti netoksičnima i biorazgradivima, ili se zbog visoke toksičnosti i potpune nerazgradivosti, moraju zbrinuti spaljivanjem.⁷

Kako bi se procijenilo da li je otpadna voda biološki obradiva provode se testovi biorazgradnje. U ovom radu proveden je test potpune biorazgradivosti odnosno Zahn-Wellensovov test u kojem se oponašaju aerobni uvjeti u okolišu ili biološkom postrojenju kako bi se odredilo da li je neka tvar u otpadnoj vodi podložna biološkoj razgradnji.

2. OPĆI DIO

2.1. OTPADNE VODE

Planet Zemlja je pretežito vodeni planet. Otprilike 71 % Zemljine površine je prekriveno vodom, točnije oceanima i morima koja čine oko 97 % Zemljine površine, dok ostalih 3 % čini slatka voda. Otprilike 68,7 % se nalazi smrznuta u glečerima i pod ledenim pokrovom, a 30,1 % slatke vode se može naći ispod tla, te su takve vode poznate kao podzemne vode. Neke podzemne vode su dostupne za ljudsku upotrebu, a neke nisu. Površinske slatkovodne vode poput jezera, rijeka, potoka i močvara, čine vrlo mali dio od 0,3 %.⁸⁻¹⁰

Razvojem industrije i povećanjem ljudske populacije povećala se potražnja za vodom, što dovodi do njenog sve većeg onečišćenja. Onečišćenje vode je prisutnost kemijskih, fizikalnih ili bioloških tvari ili faktora koji uzrokuju oštećenje određenog vodnog tijela, s obzirom na njegovo prijašnje stanje ili uporabu. Razina onečišćenja ovisi o vrsti vodnog tijela, njegovoj lokaciji i o njegovoj upotrebi. Prema Zakonu o vodama Republike Hrvatske otpadne vode su sve potencijalno onečišćene tehnološke, sanitarne, oborinske i druge vode.⁹⁻¹²

2.1.1. Vrste otpadnih voda

Prema Zakonu o vodama¹³, otpadne vode se dijele prema mjestu njihova nastanka:

- Sanitarne otpadne vode su one otpadne vode koje se nakon korištenja ispuštaju iz stambenih objekata, ugostiteljstva, ustanova, vojnih objekata i drugih neproizvodnih djelatnosti i uglavnom potječu od ljudskog metabolizma i aktivnosti kućanstava.
- Tehnološke otpadne vode su sve otpadne vode koje nastaju u tehnološkim postupcima i ispuštaju se iz industrijskih objekata za obavljanje bilo kakve gospodarske djelatnosti, osim sanitarnih otpadnih voda i oborinskih onečišćenih voda
- Oborinske onečišćene vode su otpadne vode koje nastaju ispiranjem oborina s površina prometnica, parkirališta ili drugih manipulativnih površina, postupno

otapajući onečišćenja na navedenim površinama te otječu u sustave javne odvodnje ili izravno u površinske vode.

Otpadne vode različito utječu na okoliš. Otopljene organske tvari uzrokuju smanjenje otopljenog kisika u vodotocima i utječu na okus i miris vode iz vodocrpilišta. Toksične tvari se uključuju u hranidbeni lanac vodnih organizama, te mogu štetiti zdravlju ljudi.

Otpadne vode mogu biti slabo, srednje i jako opterećene, a prema biološkoj razgradivosti dobro razgradive, slabo razgradive i toksične. Nadalje, otpadne vode mogu sadržavati teške metale, spojeve s dušikom (nitrite, nitrate), kancerogene, mutagene spojeve te patogene organizme. Također u otpadnim vodama mogu biti prisutne kiseline, lužine, soli te sitne čvrste tvari. Stoga je važno obradom otpadne vode ukloniti suspendirane tvari, patogene organizme i toksične tvari koje mogu naštetiti okolišu i ljudskom zdravlju.^{14,15}

2.1.2. Zakonodavstvo i dokumenti

Uredbom o okolišnoj dozvoli se uređuju djelatnosti i postrojenja koja mogu prouzročiti emisije kojima se onečišćuju tlo, zrak, vode i more. Unutar Uredbe se također nalazi popis onečišćujućih tvari i njihove granične vrijednosti, te kriteriji za određivanje najbolje raspoloživih tehnika.

Prema definiciji iz *OFC Brefa* najbolje raspoložive tehnike su najučinkovitije i najnaprednije metode i tehnike koje pružaju osnovna načela sprječavanja emisija ili, ukoliko to nije moguće, njihovo maksimalno smanjenje.⁷

Cilj ovog dokumenta je osiguravanje razmjene informacija za najbolje raspoložive tehnike te dati referentne podatke koje nadležno tijelo (institucija ili industrija) uzima u obzir prilikom utvrđivanja uvjeta okolišne dozvole za rad te institucije ili industrije. U ovome dokumentu su također opisani i načini provođenja smjernica IPPC Direktive (engl. *Integrated Pollution, Prevention and Control Directive*) kao i određivanje prikladnih mehanizama zaštite okoliša u procesu dobivanja okolišne dozvole za industrijsko postrojenje. IPPC Direktiva su regulativni sustavi koji primjenjuju objedinjeni pristup kontroli utjecaja industrijskih emisija u vodu, tlo i zrak.⁷

Industrijska postrojenja u Republici Hrvatskoj se moraju pridržavati Pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda. Ovim se Pravilnikom propisuju granične vrijednosti emisija u tehnološkim otpadnim vodama prije njihova ispuštanja u građevine javne odvodnje ili u septičke ili sabirne jame i u svim obrađenim ili neobrađenim otpadnim vodama koje se ispuštaju u vode, količine otpadnih voda koje se ispuštaju u okoliš ili u komunalne vode te metodologija uzorkovanja i ispitivanja sastava voda. Prilogom 15. ovoga Pravilnika utvrđene su vrijednosti emisija otpadnih voda farmaceutske industrije, a vrijednosti se razlikuju u ovisnosti u koji se prijemnik otpadne vode ispuštaju.¹⁶

2.1.3. Obrada otpadnih voda iz farmaceutske industrije

Farmaceutici su prirodne ili sintetičke aktivne tvari koje se koriste za ljudsku i veterinarsku upotrebu. U posljednje vrijeme se sve više pažnje pridodaje uklanjanju farmaceutika iz vode ili smanjenju njihovih emisija u okoliš.^{1,17-20}

Sastav otpada koji nastaje tijekom kemijske sinteze farmaceutika ovisi o polaznoj sirovini, tehnološkim postupcima i procesima te otpadnim produktima. U procesu proizvodnje farmaceutika otpadna voda koja u sebi sadrži neizreagirane reaktante, međuprodukte i ostatke produkata, tj. aktivnih farmaceutskih tvari. Premda su količine otpadnih voda koje nastaju u farmaceutskoj industriji relativno male, općenito su vrlo složenog sastava, često toksične, obojene i imaju neugodan miris. Opterećene su visokim sadržajem organskih, ali i anorganskih tvari, te ih karakteriziraju visoke vrijednosti kemijske i biokemijske potrošnje kisika, ukupnog organskog ugljika te ukupnih otopljenih tvari s pH od 3 do 11. Prednost otpadnih voda farmaceutske industrije je njihov poznati sastav, zbog čega je moguća ciljana obrada voda kako bi se zadovoljili zakonom propisani uvjeti.¹⁸

Postupci obrade otpadnih voda iz farmaceutske industrije se mogu podijeliti na četiri skupine: biološka obrada, fizikalno-kemijski postupci obrade, ozoniranje i napredni oksidacijski procesi te kombinirani postupci obrade.

2.1.4. Fizikalno-kemijska obrada otpadne vode iz farmaceutske industrije

U fizikalno-kemijske procese spadaju destilacija, adsorpcija, membranski procesi i kemijska oksidacija. Adsorpcija se koristi kada je potrebno dodatno pročititi otpadnu vodu ili ukloniti neke toksične komponente. Kao adsorbensi se najčešće koristi aktivni ugljen, ali i zeoliti, glina te sintetički polimeri. Membranski procesi su pogodni za uklanjanje velikog broja organskih i anorganskih tvari prisutnih u otpadnim vodama farmaceutske industrije. Prema separacijskom mehanizmu, membrane su mikro (nanofiltracija, NF), mezo (ultrafiltracija, UF) i makroporozni (mikrofiltracija, MF) pregradni slojevi čije je najznačajnije svojstvo polupropusnost. Naprednim oksidacijskim procesima smatraju se procesi u kojima se organska tvar oksidira hidroksilnim radikalima pri atmosferskom tlaku i sobnoj temperaturi. Glavna značajka ovih procesa je njihova izrazito destruktivna priroda koja rezultira djelomičnom ili potpunom mineralizacijom organskih tvari te uklanjanjem nekih toksičnih metala koji su prisutni u otpadnim vodama. U napredne oksidacijske procese se ubrajaju postupci s ozonom ili vodikovim peroksidom, Fentonov proces, fotokataliza i elektrokemijske metode. Kako su otpadne vode farmaceutske industrije kompleksnog sastava, potrebno je primjenjivati kombinirane postupke obrade kako bi se postigao najviši stupanj obrade i kako bi se udovoljilo zakonskim propisima.^{15,18,19}

2.1.5. Biološka obrada otpadne vode iz farmaceutske industrije

Biološka obrada je opće prihvaćen proces obrade otpadnih voda. Postoje dvije osnovne vrste procesa biološke obrade, a to su anaerobni i aerobni procesi. Anaerobni procesi se odvijaju bez prisustva kisika uz pomoć fakultativno i striktnih anaerobnih mikroorganizama. Tijekom razgradnje nastaje CO₂, metan i voda te mala količina biomase. To može biti prednost u odnosu na aerobne procese jer nastaje manje aktivnog mulja, a nastali metan se može energetski oporabiti. Nedostaci anaerobnih procesa su manja učinkovitost uklanjanja organskih tvari u odnosu na aerobne procese, nemogućnost oksidacije dušikovih spojeva i velika osjetljivost anaerobne biomase na male promjene procesnih parametara. Aerobni procesi se odvijaju u prisustvu kisika te se u tim procesima koristi aerobni aktivni mulj. Uloga aerobnog aktivnog mulja je oksidiranje otopljene organske tvari do CO₂, vode i NH₄⁺. Aerobni aktivni mulj čine mineralne tvari do 30 %, organske tvari do 90 % (od kojih

prevladavaju lipidi i ugljikohidrati). Mineralne i organske tvari te mikroorganizmi stvaraju nakupine spužvaste strukture koje se zovu pahuljice ili flokule. Na površini pahuljica aerobnog aktivnog mulja su raspoređeni aerobni mikroorganizmi, dok u unutrašnjosti pahuljica vladaju anoksični i anaerobni uvjeti. Biološka obrada otpadnih voda iz farmaceutske industrije ovisi o fizikalno-kemijskim i biološkim karakteristikama farmaceutika koji se proizvodio i o sintezi tog farmaceutika. Također, na biorazgradnju mogu utjecati i temperatura, hidrauličko vrijeme zadržavanja i starost mulja. Najčešće korišteni aerobni procesi su: konvencionalni postupak s aktivnim muljem i membransko biološki reaktor. Prednosti postupka s aktivnim muljem su niski investicijski troškovi te jednostavna izvedba uređaja. No, takav postupak zahtjeva veliku potrošnju energije na aeraciju te se takvim postupkom proizvodi velika količina aktivnog mulja. Za razliku od konvencionalnog postupka, membranski bioreaktor koristi membransku filtraciju tako da nema potrebe za taložnicima. Uporabom membranskih bioreaktora dobiva se efluent bolje kvalitete, tj. s manje suspendiranih tvari i niskom koncentracijom mikroorganizama. Nedostaci membranskih bioreaktora su visoki troškovi održavanja i čepljenje pora membrana. Unatoč nedostacima membranski bioreaktori mogu ukloniti širok raspon farmaceutika.^{15,18,20}

2.2. TESTOVI BIORAZGRADNJE

Biorazgradnja igra ključnu ulogu u uklanjanju biorazgradivih tvari koje bi inače mogle imati nepovoljan učinak na okoliš. Zbog velike raznolikosti procesa biorazgradnje u prirodi, ali i u postrojenjima za obradu voda, postoji velik broj metoda kojima se ispituje biorazgradivost. U OFC Brefu je dana jednostavna podjela testova biorazgradnje s obzirom na način biorazgradnje: 1) *readily biodegradability* testove, 2) testove simulacije i 3) *inherent biodegradability* testove.^{7,21,22}

Readily biodegradability testovi biorazgradnje se provode u aerobnim uvjetima s visokom koncentracijom onečišćujućih tvari (2 mg dm^{-3} - 100 mg dm^{-3}). Parametri koji se mjere tijekom provođenja ovog testa su otopljeni organski ugljik (DOC), biokemijska potrošnja kisika (BOD) i CO_2 koji je nastao biorazgradnjom. U ovim testovima se pretpostavlja brza i potpuna razgradnja organskog onečišćenja, a to znači razgradnju organskog onečišćenja do CO_2 i vode. Testovi se provode maksimalno 28 dana, a ako se prijeđe navedeno vrijeme, test nije valjan i

biorazgradnja onečišćujuće tvari se mora ispitati pomoću druge vrste testa biorazgradnje. Pomoću ovih testova se uglavnom ne može ispitivati biorazgradnja smjese onečišćenja, nego se može ispitivati samo jedna onečišćujuća tvar. Smjese tvari se mogu ispitivati jedino ako su pojedinačne tvari kemijski slične primarnoj tvari koja se ispituje, primjerice masne kiseline nekih sapuna. Također, u ovim testovima se ne bi smjeli koristiti mikroorganizmi koji su prilagođeni na ispitivanu tvar, jer se prilagođeni mikroorganizmi koriste u *inherent biodegradability* testovima biorazgradnje. Rezultati ovih testova se koriste u ocjenjivanju opasnosti pojedinih onečišćujućih tvari po okoliš ili ljudsko zdravlje ili prilikom projektiranja postrojenja za obradu otpadnih voda.^{7,22}

U testove simulacije spadaju aerobni i anaerobni testovi u kojima se simuliraju određeni okolišni uvjeti u kojima se odvija biorazgradnja, što znači da se testovi moraju odvijati na određenoj temperaturi koristeći autohtoni izvor mikroorganizama (npr. aktivni mulj, tlo, vodni sediment). Koncentracija onečišćujuće tvari korištena u ovim testovima mora biti dovoljno niska (do $100 \mu\text{g dm}^{-3}$) kako bi se mogla pretpostaviti kinetika prvog reda biorazgradnje onečišćujuće tvari. Ovim se testovima ispituje transformacija i ponašanje onečišćujuće tvari u okolišu.²²

Inherent biodegradability testovi biorazgradnje se koriste kako bi se odredila mogućnost biorazgradnje onečišćujuće tvari u aerobnim uvjetima. Ova vrsta testova definira biorazgradnju kao specifično svojstvo onečišćujuće tvari, tako da vrijeme biorazgradnje (ili vrijeme provođenja testa) nije strogo definirano, iako je okvirno oko 28 dana. U ovim se testovima može ispitivati primarna biorazgradnja i potpuna biorazgradnja. Prilikom primarne biorazgradnje dolazi do gubitka nekih od svojstava nekog onečišćenja, dok kod potpune biorazgradnje dolazi do razgradnje onečišćenja na CO_2 i vodu. Ako se u testovima postigne visok stupanj biorazgradnje, to znači da se tvar može biološki razgraditi u postrojenjima za obradu otpadnih voda. Suprotno tome, ukoliko se postigne nizak stupanj biorazgradnje, onda vjerojatno dolazi do nepovoljnog utjecaja produkata nastalih u procesu biorazgradnje ili je koncentracija onečišćujućih tvari previsoka pa inhibitorno djeluje na mikroorganizme u aktivnom mulju.^{7,22} Koja će se metoda koristiti ovisi o valjanosti pojedinog testa ili o karakteristikama samog onečišćenja.

Tablica 2.1. Odabrane biorazgradnje prema smjernicama Organizacije za ekonomsku suradnju i razvoj (OECD).²²

Vrsta testa	Metoda	Interpretacija pozitivnog rezultata
<i>Readily biodegradability</i>	<p>“<i>Die-Away</i>“</p> <p><i>CO₂ Evolution</i></p> <p>Modificirani MITI (I)</p> <p>Zatvorena boca</p> <p>Modificirani OECD</p> <p><i>Screening</i></p> <p>Manometrijska</p> <p>Respirometrija</p>	Potpuna biorazgradnja
<i>Inherent biodegradability</i>	<p>Modificirani SCAS</p> <p>Zahn-Wellensov test</p> <p>Modificirani MITI (II)</p> <p><i>Draft Concawe</i></p>	Potpuna biorazgradnja ili biorazgradnja uz posebnu obradu.

Biolška razgradnja je dominantan proces uklanjanja organskih spojeva u okolišu. Ipak, otpadne industrijske vode u sebi sadržavaju širok spektar onečišćenja. Otpadne vode farmaceutske industrije u sebi sadržavaju ostatke produkata sinteza, ostatke otapala i intermedijere koji mogu biti toksični i/ili teško razgradivi u okolišu. Farmaceutici su biološki aktivne i stabilne tvari kako bi ih ljudsko tijelo moglo apsorbirati. Zbog navedenih svojstava, mogu utjecati na stupanj razgradnje kako u testu biorazgradnje tako i u postrojenju za obradu otpadnih voda. Aktivni mulj koji se koristi u testovima biorazgradnje se smatra prikladnim i raznovrsnim izvorom mikroorganizama. Međutim, aktivni mulj je vrlo složen i dinamički sustav koji osim mikroorganizama u sebi sadržava i suspendirane tvari, polisaharide, organske kiseline, proteine i lipide, tako da i karakteristike samog mulja utječu stupanj biorazgradnje. Isto tako, i vremenski uvjeti i geografski položaj može imati učinak na kvalitetu aktivnog mulja, pa tako i na samu biorazgradnju. Zbog ovakvih varijacija, skoro je nemoguće naći referentnu metodu ispitivanja biorazgradnje aktivnim muljem.^{7,20,23,30}

2.2.1. Zahn-Wellensov test

Zahn-Wellensov test je *inherent biodegradability* test koji pruža dobru povratnu informaciju o biorazgradnji neke tvari tijekom 28 dana, kao i o ponašanju te tvari u uređaju za obradu otpadnih voda. Ovaj jednostavan test biorazgradnje daje informaciju o primarnoj ili potpunoj biorazgradnji onečišćujuće tvari. Iako je to test široke uporabe, ima svoja ograničenja obzirom na ispitivanu onečišćujuću tvar koja:

- mora biti topljiva u vodi
- ne smije biti hlapljiva ili mora imati zanemariv tlak para
- ne smije inhibitorno djelovati na mikroorganizme
- može se apsorbirati u sustavu samo u ograničenoj mjeri
- ne smije se gubiti pjenjenjem

Ako se ispituje biorazgradnja jedne ciljane tvari, dobra razgradnja postignuta u Zahn-Wellensovom testu ne mora značiti dobru razgradnju u pogonu za obradu otpadnih voda. Naime, može se dogoditi da se ciljana tvar „sakrije“ iza mnoštva lako razgradivih komponenata prisutnih u otpadnoj vodi, dajući tako lažni pozitivan rezultat. Unatoč ovim nedostacima, Zahn-Wellensov test je opće prihvaćen kao test biorazgradnje otpadne vode iz farmaceutske industrije. Postupak testa biorazgradnje je opisan u normi HRN EN ISO 7827, isto kao i načini izražavanja rezultata, te upućivanje na druge norme i testove biorazgradnje ukoliko se Zahn-Wellensov test ne pokaže valjanim.^{24,25}

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Aerobni aktivni mulj

Aerobni aktivni mulj je dopremljen iz uređaja za obradu otpadnih voda s lokacije Savski Marof, Pliva d.o.o. Uzeto je $0,5 \text{ dm}^3$ suspenzije aktivnog mulja iz aerobnog reaktora koji je centrifugiran 5 minuta pri 4000 min^{-1} pri sobnoj temperaturi, zatim je ispran destiliranom vodom i taj je postupak proveden dva puta. Ovako pripremljeni ugušćeni aktivni mulj je korišten kao cjepivo u Zahn-Wellensovom testu.

3.1.2. Otpadna voda iz proizvodnje farmaceutika

Otpadna voda iz proizvodnje farmaceutika s lokacije Savski Marof, Pliva d.o.o. korištena je kao supstrat za provedbu testa biorazgradnje. Korištene su dvije vrste otpadnih voda (OV1 i OV2) te otpadna voda nakon postupka tretiranja aktivnim ugljenom (OV2A).

3.1.3. Otopina za prihranu mikroorganizama

Pripremljena je mješavina otopina hranjivih soli koja se sastoji od $8,5 \text{ g dm}^{-3}$ KH_2PO_4 , $21,75 \text{ g dm}^{-3}$ K_2HPO_4 , $33,4 \text{ g dm}^{-3}$ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ i $0,5 \text{ g dm}^{-3}$ NH_4Cl . Tako pripremljena otopina je služila kao prihrana mikroorganizmima u testu.

3.1.4. Mjerni instrumenti i oprema

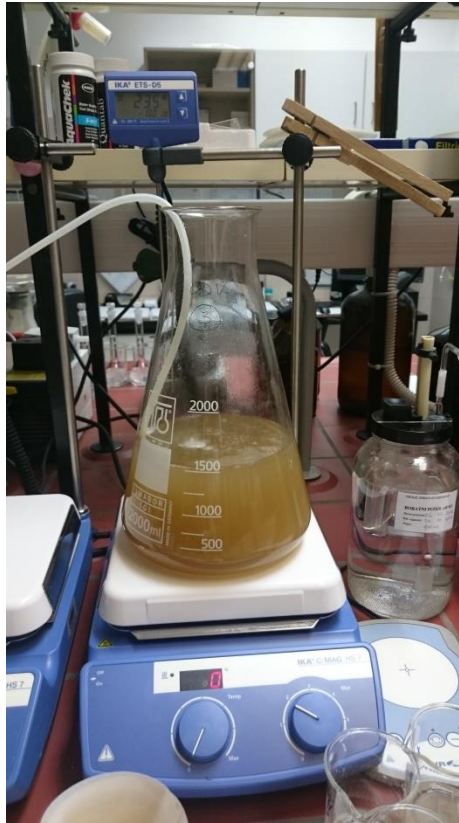
U radu je korištena centrifuga SIGMA 2–16, Njemačka, za centrifugiranje aerobnog aktivnog mulja. Za aeraciju je korištena akvarijska aeracijska pumpica protoka do 100 min^{-1} . Za miješanje suspenzije korištena je magnetska miješalica IKA i HEIDOLPH MR 3000, Njemačka. Za mjerenje pH-vrijednosti suspenzije je korištena kombinirana staklena elektroda WTW SenTix 61, Njemačka, na uređaju za mjerenje pH Radiometer, Danska. Za mjerenje koncentracije otopljenog kisika korištena je optička (lumino) elektroda HACH LDO 101, SAD, na uređaju za

mjerenje koncentracije otopljenog kisika HQD 40, HACH, SAD. Korišten je električni grijač (KPK reaktor), DBR200, HACH, SAD, a za mjerenje kemijske potrošnje kisika (KPK) je korišten spektrofotometar HACH DR 2800, SAD. Za mjerenje ukupnog organskog ugljika (TOC) i ukupnog dušika (NT) korišten je uređaj Shimadzu TNM-L, Japan. Za sušenje mulja je korištena električna sušilica Memmert, Njemačka, a za vaganje i određivanje koncentracije suspendirane tvari (MLSS) korištena je analitička vaga (4 decimale) Mettler, Švicarska.

3.2. METODE RADA

3.2.1. Zahn-Wellensov test biorazgradnje

Testovi biorazgradnje su provedeni s tri otpadne vode iz farmaceutske proizvodnje (OV1, OV2 i OV2A). Testovi su se provodili pri sobnoj temperaturi u Erlenmeyerovim tikvicama od 3 dm³ na magnetskoj miješalici pri 200 min⁻¹ (slika 3.1). Otvori tikvica su bili prekriveni tankom plastičnom folijom ispod koje je prolazila pumpica za aeraciju. Cijela masa cjepiva je nakon centrifugiranja bila resuspendirana u Erlenmeyerovoj tikvici od 3 dm³. U Zahn-Wellensovom testu za OV1 i OV2 dodano je 4 cm³ otpadne vode i 4 cm³ otopine za prihranu mikroorganizama te je dopunjeno je destiliranom vodom do 1,5 dm³. Test OV2A je pripremljen na način da je cjepivo s mikroorganizmima resuspendirano u Erlenmeyerovoj tikvici od 3 dm³, dodano je zatim 5 cm³ otpadne vode i 4 cm³ otopine za prihranu mikroorganizama te dopunjeno destiliranom vodom do 1,5 dm³. Prvi uzorak je izuzet neposredno nakon postavljanja testa. Nakon 3 sata je izuzet drugi uzorak kako bi se utvrdilo smanjenje KPK i TOC-a uslijed adsorpcije na aktivni mulj ili evaporacije u zrak. Prema normi, rezultati su izraženi preko postotka eliminacije TOC-a u ovisnosti o danima. Test OV2A se radio nakon obrade otpadne vode aktivnim ugljenom. Tijekom pokusa biorazgradnje praćena je pH-vrijednost, KPK, TOC, TN, MLSS te koncentracija otopljenog kisika. Testovi su trajali okvirno do 28 dana ili kada je postignuto smanjenje TOC-a za 80 %.



Slika 3.1. Postavljeni Zahn-Wellensov test biorazgradnje.

3.2.2. Obrada otpadne vode s aktivnim ugljenom

Obrada otpadne vode s aktivnim ugljenom se vršila ukoliko otpadna voda nije zadovoljavala uvijete preporučenog smanjenja vrijednosti KPK i TOC u određenom vremenu. Obrada otpadne vode OV2 s aktivnim ugljenom je provedena na način da je 2 g aktivnog ugljena u prahu dodano u 100 cm³ otpadne vode te se miješalo na magnetskoj miješalici 10 minuta pri 200 min⁻¹. Smjesa je profiltrirana kroz dvostruki celulozni filter papir MN 617 WE da bi se dobio potpuno bistar, bezbojan uzorak. Takva obrađena otpadna voda OV2 je u daljnjem tekstu nazvana OV2A.

3.2.3. Određivanje kemijske potrošnje kisika

Kemijska potrošnja kisika, KPK, pokazatelj je ukupnog organskog opterećenja u uzorku otpadne vode. Uzorak otpadne vode se kuhao u prisutnost kalijeva bikromata (K₂Cr₂O₇), kao oksidacijskog sredstva i srebrova sulfata (AgSO₄), kao katalizatora

otopljenog u koncentriranoj sumpornoj kiselini na 150 °C 2 sata u zatvorenim kivetama. Količina utrošenog kalijevo bikromata se mjerila spektrofotometrijski pri $\lambda = 670$ nm. Da bi se izbjegao lažno veći rezultat koji uzrokuju kloridi prisutni u vodi u medij se dodao živin (II) sulfat (HgSO_4) koji kompleksira kloride u netopljivi spoj koji se ne može oksidirati kalijevim bikromatom. Živin sulfat se dodao u uzorke neposredno prije zagrijavanja.³³

3.2.4. Određivanje ukupne suspendirane tvari

Ukupna suspendirana tvar (*Mixed liquor suspended solids*, MLSS) označava koncentraciju suspendirane čvrste tvari koja se sastoji pretežito od mikroorganizama i teško razgradivih suspendiranih tvari. Određivanje MLSS-a se provodi kako bi se odredila koncentracija biomase koja je potrebna za razgradnju biorazgradivog onečišćenja. MLSS je određivan filtriranjem 10 cm³ suspenzije iz testa biorazgradnje pomoću filter papira MN 617 WE, sušenjem u električnoj sušilici i na kraju vaganjem. Na početku je se vagan samo filter papir, a potom filter papir zajedno sa sušenim uzorkom. Razlika mase je ukupna suspendirana tvar.³³

$$m_{\text{MLSS}} = m_{\text{filter papir s muljem}} - m_{\text{suhi filter papir}}$$

$$\text{MLSS} = \frac{m_{\text{MLSS}}}{10} \cdot 1 \times 10^6 \text{ [mg dm}^{-3}\text{]}$$

3.2.5. Određivanje ukupnog organskog ugljika i ukupnog dušika

Ukupni organski ugljik (*Total organic carbon*, TOC) je ukupna koncentracija ugljika organskog onečišćenja. TOC se mjeri oksidacijom organske tvari pomoću topline i kisika ili pomoću kemijskih oksidansa, nakon čega se oslobođeni CO₂ mjeri na infracrvenom analizatoru. Mjeri se kako bi se odredio stupanj razgradnje organske tvari. Ukupni dušik (*Total nitrogen*, TN) je ukupna koncentracija dušika koja u sebi sadržava dušik organskog podrijetla, amonijeve ione, amonijak, nitrite i nitrate. Filtrat koji je dobiven filtriranjem 10 cm³ otopine kroz filter papir MN 617 WE. Filtrat je zatim analiziran je na uređaju Shimadzu TNM-L.³⁴

4. REZULTATI

4.1. KARAKTERIZACIJA OTPADNIH VODA

Postupcima opisanim u poglavljima 3.2.3.–3.2.5. provedena su određivanja karakterističnih pokazatelja u Zahn-Wellensovom testu U tablici 4.1. se nalaze početne vrijednosti pokazatelja na početku provedbe Zahn-Wellensovog testa.

Tablica 4.1. Početne vrijednosti karakterističnih pokazatelja testova biorazgradnje za otpadne vode iz farmaceutske industrije OV1, OV2 i OV2A.

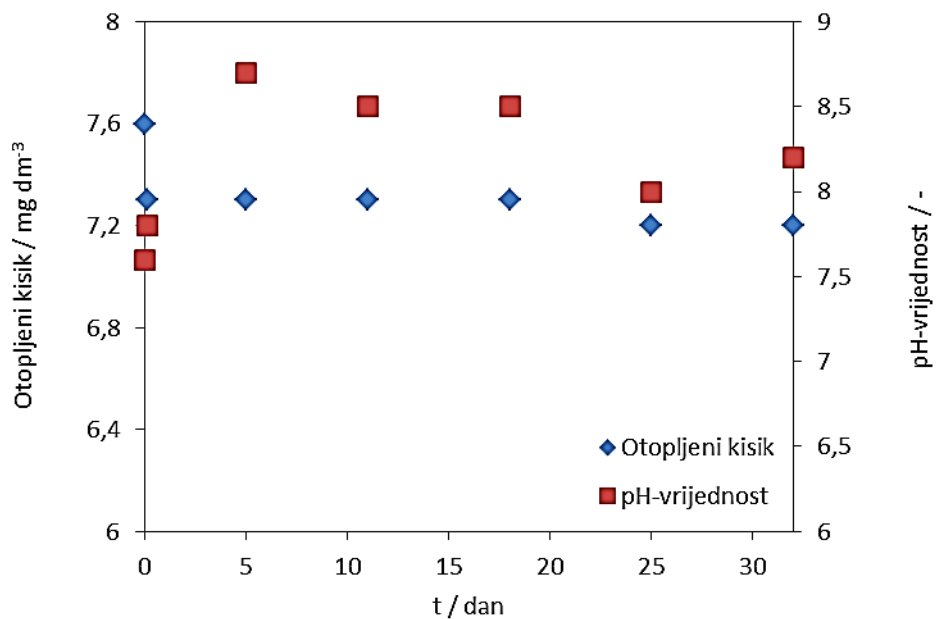
Pokazatelji	OV1	OV2	OV2A
pH-vrijednost / -	7,6	6,7	7,8
O ₂ / mg dm ⁻³	7,6	7,3	6,3
KPK / mg dm ⁻³	307	820	1230
MLSS / mg dm ⁻³	1200	1980	1560
TOC / mg dm ⁻³	181	49	307
TN / mg dm ⁻³	6,1	216,0	33,0

4.2. ZAHN-WELLENSOV TEST BIORAZGRADNJE

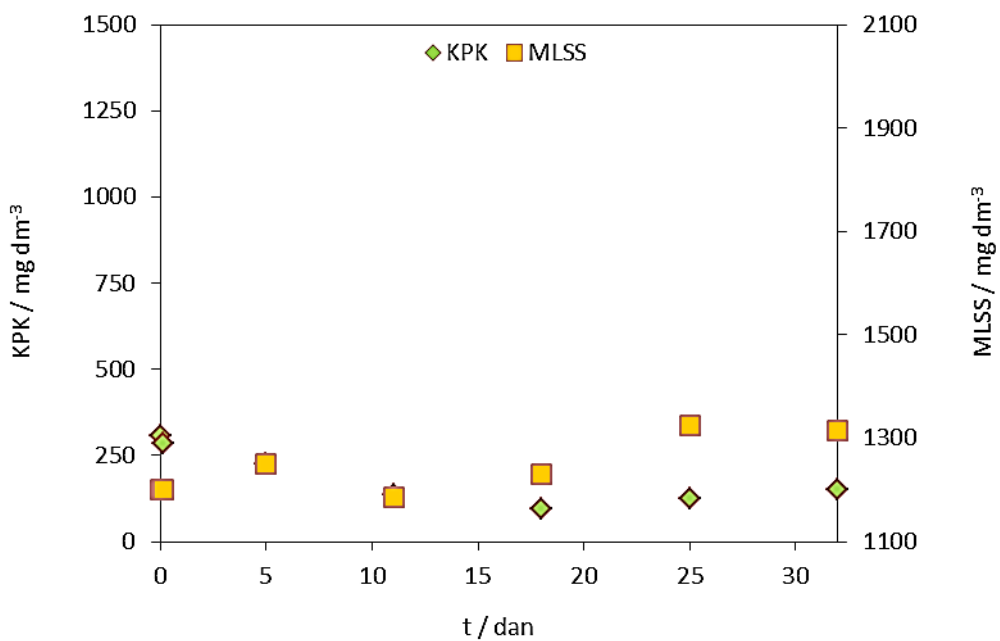
Postupkom opisanim u poglavlju 3.2.1. proveden je Zahn–Wellensov test na otpadnim vodama OV1, OV2 i OV2A pomoću aerobnog aktivnog mulja iz postrojenja za obradu otpadnih voda farmaceutske industrije.

4.2.1. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV1

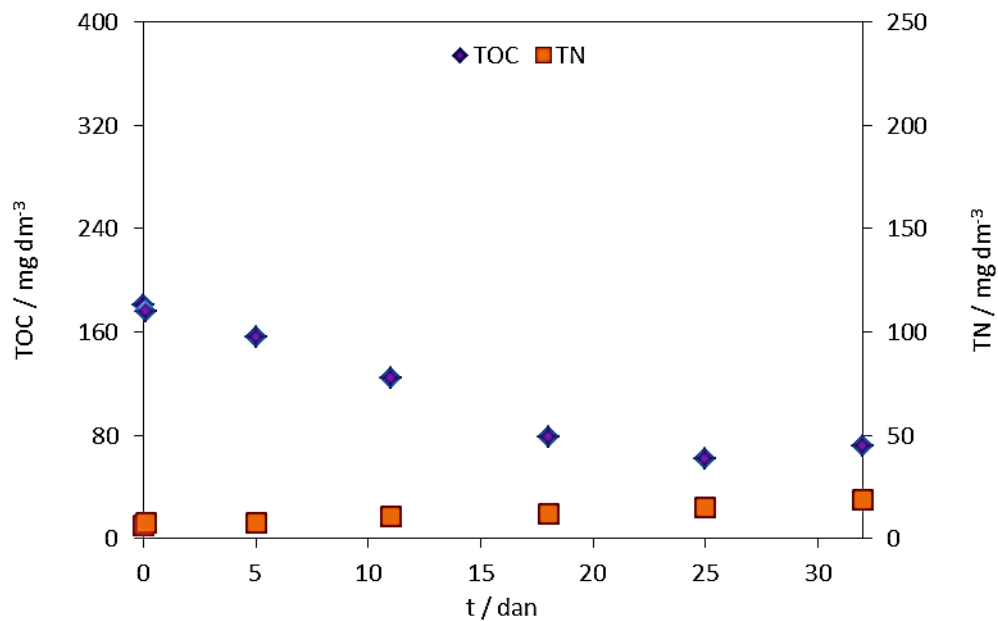
Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV1 je proveden prema postupku opisanim u poglavlju 3.2.1., pomoću aerobnog aktivnog mulja i otpadne vode OV1. Rezultati provedenog testa su prikazani na slikama 4.1. - 4.3.



Slika 4.1. Grafički prikaz promjene koncentracije otopljenog kisika i pH-vrijednosti u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV1 tijekom 32 dana.



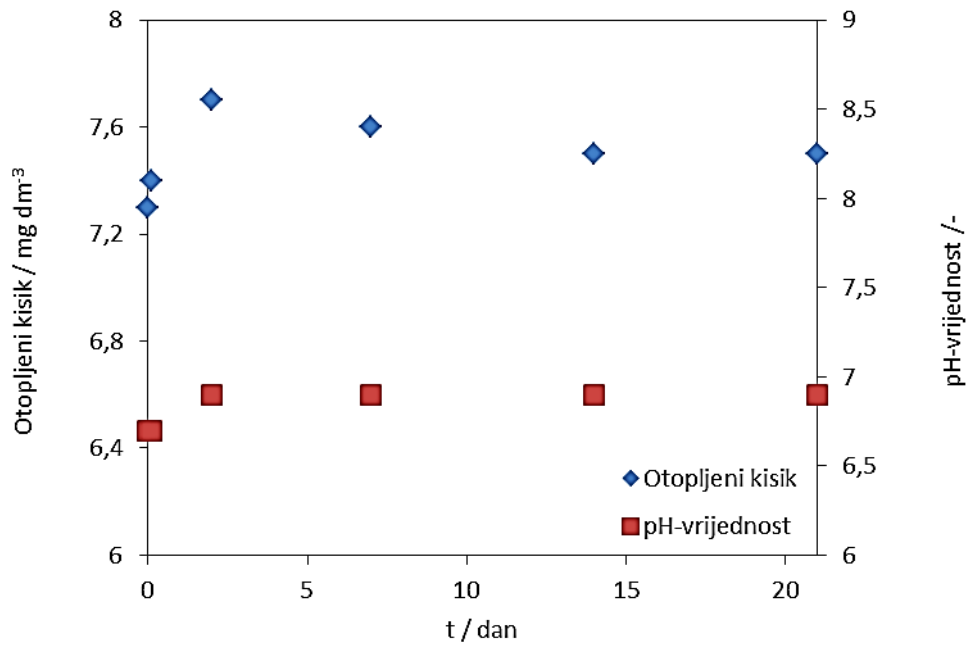
Slika 4.2. Grafički prikaz promjene koncentracija KPK i MLSS-a u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV1 tijekom 32 dana.



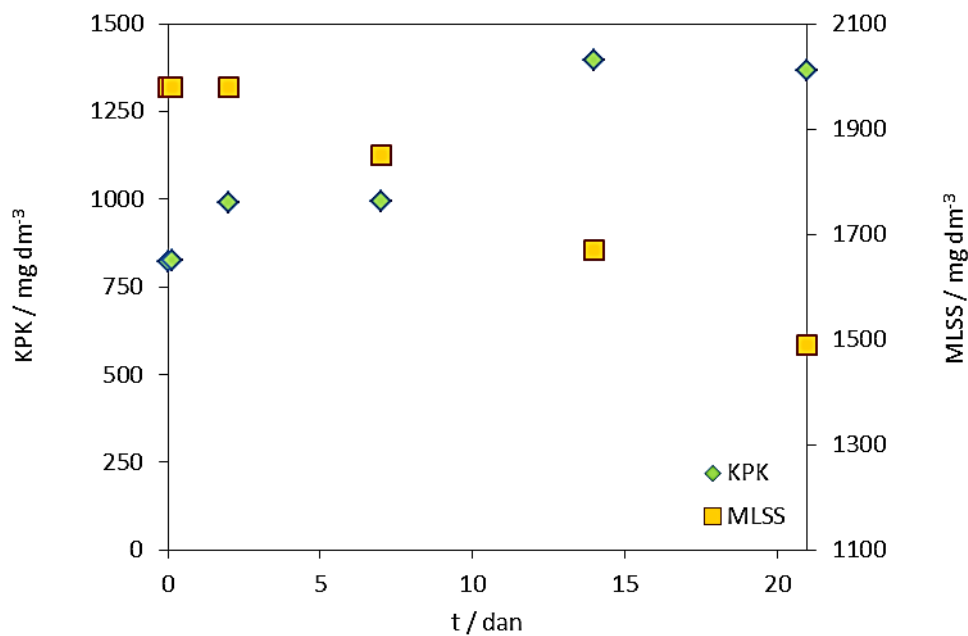
Slika 4.3. Grafički prikaz promjene koncentracija TOC-a i TN-a u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV1 tijekom 32 dana.

4.2.2. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2

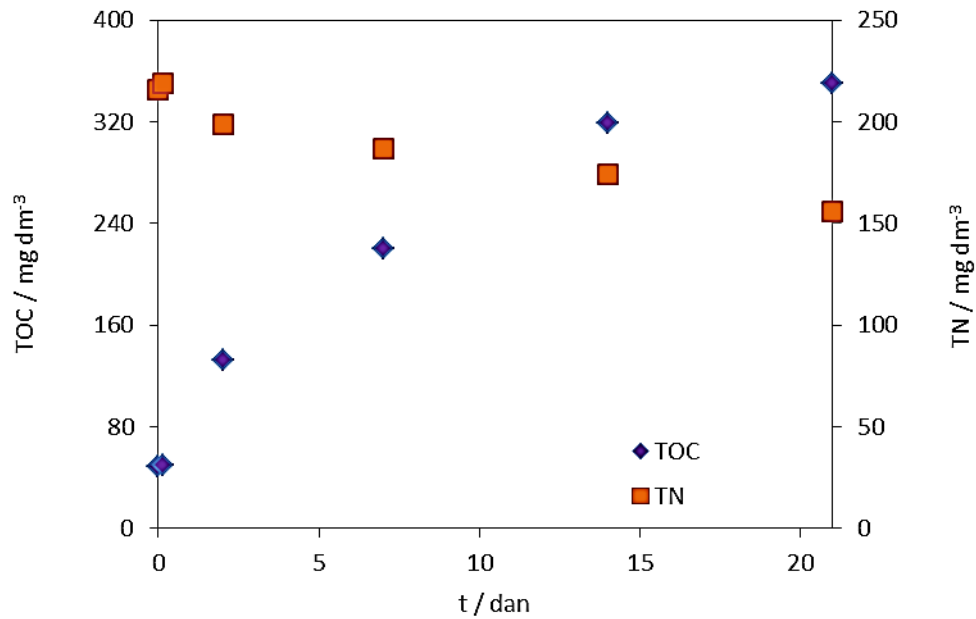
Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2 je proveden prema postupku opisanim u poglavlju 3.2.1., pomoću aerobnog aktivnog mulja i otpadne vode OV2. Rezultati testa biorazgradnje su prikazani na slikama 4.4. - 4.6.



Slika 4.4. Grafički prikaz promjene koncentracije otopljenog kisika i pH-vrijednosti Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2 tijekom 21 dana.



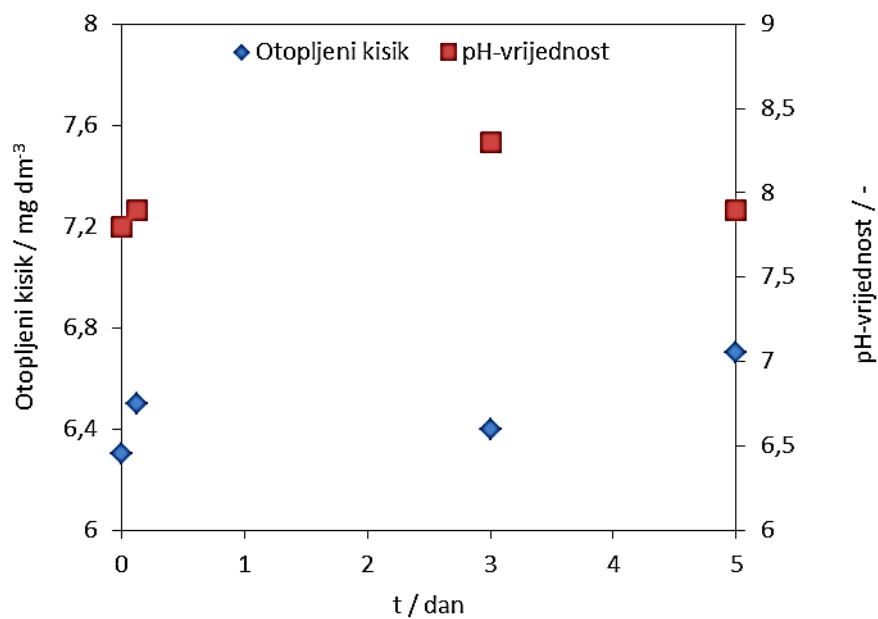
Slika 4.5. Grafički prikaz promjene koncentracija KPK i MLSS-a u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2 tijekom 21 dana.



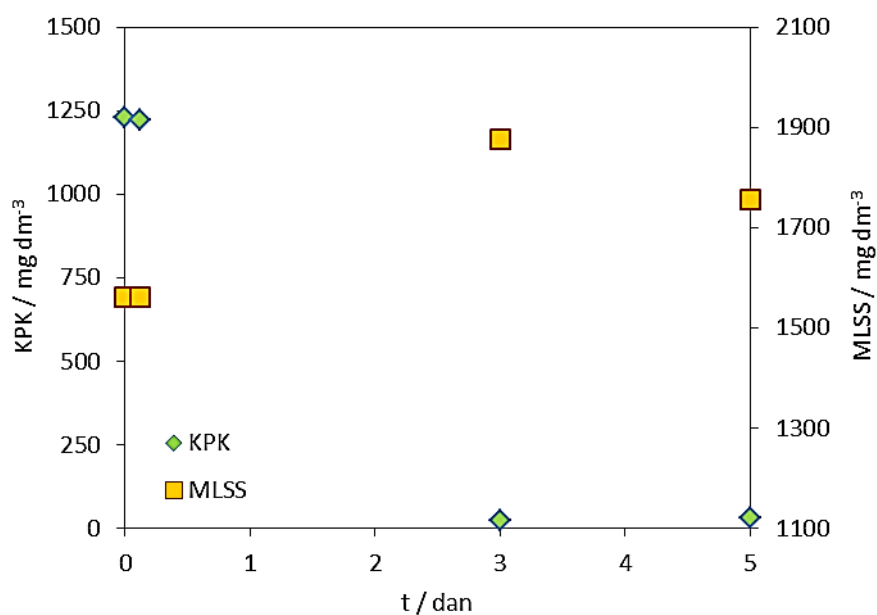
Slika 4.6. Grafički prikaz promjene koncentracija TOC-a i TN-a u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2 tijekom 21 dana.

4.2.3. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2A

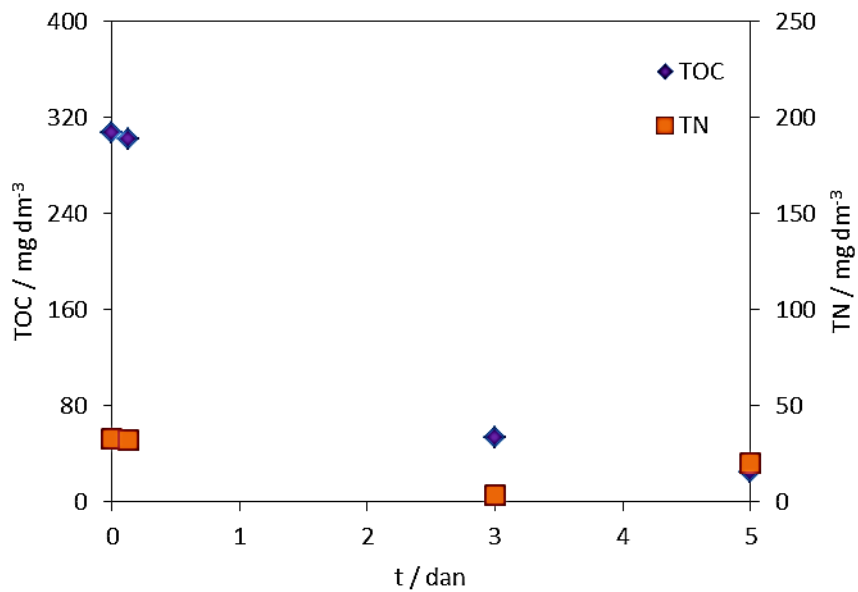
Nakon postupka obrade aktivnim ugljenom otpadne vode OV2 opisanim u poglavlju 3.2.2., proveden je Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2A prema postupku opisanim u poglavlju 3.2.1. Rezultati provedenog testa su prikazani na slikama 4.7. - 4.9.



Slika 4.7. Grafički prikaz promjene koncentracije otopljenog kisika i pH-vrijednosti u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2A tijekom 5 dana.



Slika 4.8. Grafički prikaz promjene koncentracija KPK i MLSS-a u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2A tijekom 5 dana.



Slika 4.9. Grafički prikaz promjene koncentracija TOC-a i TN-a u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2A tijekom 5 dana.

5. RASPRAVA

Pojava farmaceutika u okolišu postaje sve veći problem. Farmaceutici u okoliš dospijevaju putem otpadnih voda farmaceutske industrije, putem kanalizacijskih voda, a isto tako se mogu naći i u aktivnom mulju u postrojenjima za obradu voda. U okolišu se nalaze u kompleksnim formacijama te zbog svoje stabilnosti dugo ostaju u okolišu. Kako su farmaceutici kao onečišćujuće tvari tek nedavno otkriveni, podataka o njihovom utjecaju na okoliš ima vrlo malo. Iz tog razloga raste interes za istraživanjem njihova utjecaja na okoliš te načine njihova uklanjanja iz tokova otpadnih voda.^{9,26,27}

Otpadne vode iz farmaceutske proizvodnje sadrže specifična onečišćenja i svojstva te je zbog toga poznat njihov sastav, kojim je omogućena ciljana obrada takve vode te uklanjanje njezinih karakterističnih onečišćenja. Prije nego li se otpadna voda ispusti u okoliš, potrebno ju je obraditi na odgovarajući način kako bi se zadovoljili zakonom propisani uvjeti i granične vrijednosti emisija. Ne postoje granične vrijednosti emisija otpadnih voda farmaceutske industrije na globalnoj razini, tako da države same uvode svoje propise kojima pod kontrolu stavljaju emisije iz farmaceutskih industrija u svojoj regiji.^{26,28}

Biološka obrada je najjeftiniji te najrašireniji postupak obrade otpadnih voda jer se obrada zasniva na upotrebi mikroorganizama pomoću kojih dolazi do razgradnje organskih tvari. Mikroorganizmi, najčešće bakterije, apsorbiraju onečišćenja iz otpadnih voda te ih svojim metabolizmom i enzimatskim procesima razgrađuju. Otpadne vode i iz farmaceutske industrije sadrže farmaceutike čija obrada ovisi o njihovim fizikalnim i kemijskim svojstvima. Tako se učinkovitost uklanjanja farmaceutika biološkom obradom kreće od 20 % do 90 %.^{20,24,29}

Kako bi se odredilo može li se neka otpadna voda iz farmaceutske industrije obraditi, provode se testovi biorazgradnje navedeni u *OFC Brefu*.⁷ U ovome radu proveden je Zahn-Wellensov test biorazgradnje na otpadnim vodama iz farmaceutske industrije. Ukoliko se pokazalo da u otpadnoj vodi iz farmaceutske industrije postoji tvar koja toksično djeluje na mikroorganizme, ta voda se mora predobraditi aktivnim ugljenom.

5.1. KARAKTERIZACIJA OTPADNIH VODA

Prilikom postavljanja testa biorazgradnje provedeno je određivanje vrijednosti KPK, TOC, MLSS, pH-vrijednosti, TN i koncentracije otopljenog kisika. Rezultati početnih vrijednosti fizikalno-kemijskih karakteristika otpadnih voda iz farmaceutske industrije su vidljivi u tablici 4.1. Početna srednja pH-vrijednost za OV1, OV2 i OV2A iznosila je $7,4 \pm 0,5$, a prema literaturi pH-vrijednosti otpadnih voda iz farmaceutske industrije se kreću u rasponu od 3-11.¹⁸ KPK vrijednost je značajan pokazatelj koji ukazuje na ukupno organsko opterećenje ispitivane otpadne vode. Biokemijska potrošnja kisika (BPK_5) predstavlja količinu kisika u vodi koja je potrebna da aerobni mikroorganizmi tijekom pet dana razgrade u njoj otopljene organske tvari. Ukoliko je vrijednost omjera kemijske i biokemijske potrošnje kisika jednaka ili manja od 2, otpadna voda se može biološki obraditi.¹⁵ KPK vrijednost se prilikom biološke obrade u otpadnoj vodi se mijenja zbog mikrobiološke aktivnosti.³⁶ TOC pokazuje ukupnu koncentraciju organskog ugljika u otpadnoj vodi. Organska tvar služi kao hrana mikroorganizmima u aktivnom mulju i ona se smanjuje tijekom biološke razgradnje.^{14,37} Prema provedenim istraživanjima tipične vrijednosti TOC-a za otpadne vode iz farmaceutske industrije se kreću u opsegu od 205 – 630 $mg\ dm^{-3}$.³⁸ Početne vrijednosti TOC-a dobivene u pokusima s OV1 i OV2 su niže od navedenih u literaturi i iznose 181 $mg\ dm^{-3}$ i 49 $mg\ dm^{-3}$ dok se TOC vrijednost za OV2A nalazi u spomenutom opsegu vrijednosti i iznosi 307 $mg\ dm^{-3}$. MLSS se povezuje s koncentracijom biomase koja se povećava razgradnjom organskih tvari bilo u testu biorazgradnje ili u aeracijskom bazenu. Početne koncentracije MLSS-a u sva tri testa su različite vrijednosti (1200, 1560 i 1980 $mg\ dm^{-3}$), jer ovise o koncentraciji aerobnog aktivnog mulja uzetog iz aeracijskog bazena.^{14,31} TN predstavlja ukupnu koncentraciju dušika organskog podrijetla. TN je sadrži amonijeve ione, amonijak, nitrite i nitrate, s time da nitrati čine najveći udio. Prilikom biološke razgradnje u aerobnim uvjetima dolazi do formiranja amonijevih iona iz organskih tvari koje u sebi sadrže dušik. Ako se pH-vrijednosti kreću od 6,45–8,95 amonijevi ioni će spontano prelaziti u amonijak. Amonijak se zatim oksidira u nitrat pomoću otopljenog kisika dovedenog aeracijom. Taj proces nitrifikacije se odvija u aerobnim uvjetima, pomoću autotrofnih bakterija nitrifikanata koji kao hranu koriste ugljik anorganskog podrijetla i kisik za proces nitrifikacije. Vrijednost TN se mijenja u ovisnosti o procesu

nitrifikacije.^{14,39} Koncentracija otopljenog kisika je vrlo važna u procesu aerobne biorazgradnje. Kako bi biorazgradnja bila zadovoljavajuća potrebna je dovoljna koncentracija otopljenog kisika. Mikroorganizmi za svoje metaboličke procese troše otopljeni kisik.^{14,15,32}

5.2. ZAHN-WELLENSOV TEST BIORAZGRADNJE

5.2.1. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV1

Slika 4.1. prikazuje promjenu koncentracije otopljenog kisika i pH-vrijednosti u Zahn-Wellensovom testu tijekom 32 dana. Najveća koncentracija otopljenog kisika zabilježena je na početku mjerenja i iznosila je $7,6 \text{ mg dm}^{-3}$. Koncentracija otopljenog kisika se smanjuje zbog aktivnosti mikroorganizama u aktivnom mulju koji kisik koriste za razgradnju što je vidljivo u 25. danu i održala se do 32. dana. Vrijednosti pH nakon izmjerene maksimalne vrijednosti opadaju do pH-vrijednosti 8, zbog razgradnje organskih spojeva do CO_2 koji zbog svojih kiselih svojstava utječe na smanjenje pH-vrijednosti.⁴⁰

Iz slike 4.2. je vidljiva promjena vrijednosti koncentracija KPK i MLSS u Zahn-Wellensovom testu. Vidljivo je da se koncentracija KPK vrijednosti smanjila na 96 mg dm^{-3} u 18. danu nakon čega je došlo do blagog rasta koncentracije KPK u 25. i 32. danu. Tijekom testa došlo je do biorazgradnje onečišćujućih tvari u otpadnoj vodi što se vidi iz pada koncentracije KPK vrijednosti i rasta koncentracije MLSS-a. Koncentracija KPK vrijednosti se smanjuje zbog biološkog uklanjanja organske tvari.³⁶

Promjena koncentracija vrijednosti TOC-a i TN-a prikazana je na slici 4.3. Iz prikaza je vidljivo kontinuirano smanjenje koncentracije TOC-a od 181 mg dm^{-3} do 72 mg dm^{-3} . Svoju najnižu vrijednost postiže u 25. danu koja iznosi 62 mg dm^{-3} , kada je postignuta i maksimalna koncentracija MLSS-a od 1325 mg dm^{-3} . U 32. danu vrijednost TOC-a počinje polagano rasti, što se može objasniti odumiranjem biomase koja ne može razgraditi teško razgradive komponente u otpadnoj vodi OV1, što potvrđuje i smanjenje biomase u 32. danu. Koncentracija TN raste kontinuirano kroz cijeli period testa zbog aktivnosti nitrifikatora, tj. zbog nastajanja nitrata.³⁹

5.2.2. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2

Iz slike 4.4. je vidljivo kako se koncentracija otopljenog kisika smanjuje od vrijednosti $7,7 \text{ mg dm}^{-3}$ do vrijednosti $7,5 \text{ mg dm}^{-3}$ u 15. danu, te se nakon tog dana više ne mijenja. Pretpostavlja se da dolazi do inhibicije biomase toksičnim onečišćujućim tvarima iz farmaceutske otpadne vode OV2.³⁶ Vrijednost pH se također nije značajno mijenjala te je njezina srednja vrijednost bila $6,8 \pm 0,1$. Pretpostavlja se da nije došlo do biorazgradnje.^{36,40}

Slika 4.5. prikazuje promjenu koncentracije KPK i MLSS. U periodu provedbe testa dolazi do smanjenja koncentracije MLSS od 1980 mg dm^{-3} u 2. danu do 1490 mg dm^{-3} u 32. danu, koncentracija KPK raste od 820 mg dm^{-3} do 1365 mg dm^{-3} u istom periodu. Ovakav rast koncentracije MLSS i KPK je u suprotnosti s onime dobivenim u testu s OV1. To se može pripisati odumiranju biomase, vjerojatno zbog neke toksične komponente prisutne u otpadnoj vodi OV2. Vrijednost KPK raste zbog odumiranja biomase.³⁶

U slici 4.6. prikazana je promjena koncentracija TOC-a i TN-a. Iz prikaza je vidljivo da ne dolazi do smanjenja koncentracije TOC-a, kao što dolazi u testu biorazgradnje s otpadnom vodom OV1. Vrijednost TOC-a se kreće od početne vrijednosti 49 mg dm^{-3} do vrijednosti 350 mg dm^{-3} u 32. danu. Biomasa odumire te se ne odvija proces biorazgradnje, što je vidljivo smanjenjem koncentracije MLSS-a (slika 4.5.). Koncentracija TN-a se smanjuje kroz cijeli period trajanja testa od početne vrijednosti 216 mg dm^{-3} do 156 mg dm^{-3} u zadnjem danu provedbe testa. Pretpostavka je da dolazi do inhibicije nitrifikacije.³⁹

5.2.3. Zahn-Wellensov test biorazgradnje OV2A

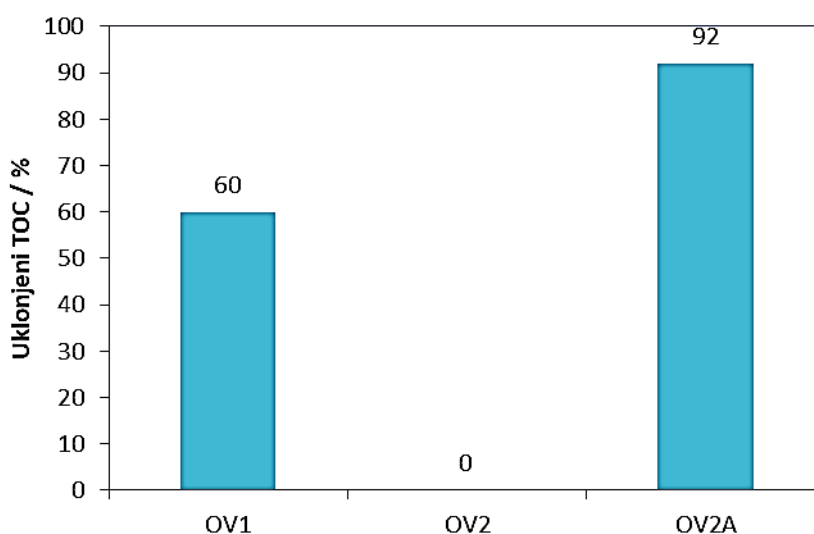
Otpadna voda OV2 je provedena kroz postupak obrade aktivnim ugljenom. Tako obrađena otpadna voda nazvana je otpadna voda OV2A te se koristila kao supstrat u testu biorazgradnje OV2A.

Promjena koncentracije otopljenog kisika i pH-vrijednosti u Zahn-Wellensovom testu biorazgradnje OV2A je prikazana na slici 4.7. Iz slike je vidljivo da se koncentracija otopljenog kisika smanjila s vrijednosti $6,5 \text{ mg dm}^{-3}$ mjerene u prva 3 sata na $6,4 \text{ mg dm}^{-3}$ u 3. danu, što upućuje da je došlo do biorazgradnje kao i u testu s OV1. U 5. danu je postignuta najveća vrijednost koncentracije otopljenog

kisika od $6,7 \text{ mg dm}^{-3}$, što ukazuje da se potrošio sav supstrat te više ne dolazi do biorazgradnje i time potrošnje kisika.^{15,36} Pad pH-vrijednosti s 8,3 na 7,9 u 3. i 5. danu ukazuje na stvaranje CO_2 usred biorazgradnje i nitrifikacije.⁴⁰

Slika 4.8. prikazuje promjenu koncentracije KPK i MLSS, gdje dolazi do naglog pada vrijednosti KPK s 1230 mg dm^{-3} na 21 mg dm^{-3} već u 3. danu te rasta biomase koja se očituje povećanjem koncentracije MLSS-a od početne 1560 mg dm^{-3} do koncentracije 1873 mg dm^{-3} u 3. danu. Biomasa u 5. danu počinje odumirati što se vidi po smanjenju koncentracije MLSS-a na 1755 mg dm^{-3} .

Na slici 4.9. je prikazana promjena koncentracije TOC-a i TN-a u testu biorazgradnje OV2A. Iz grafa je vidljiv nagli pad koncentracije TOC-a s 307 mg dm^{-3} na 25 mg dm^{-3} unutar 5 dana. Smanjenje koncentracije TOC-a ukazuje da dolazi do biorazgradnje. Koncentracija TN-a se 3. dana smanjila s 33 mg dm^{-3} na $3,6 \text{ mg dm}^{-3}$, ali se povećala zadnjeg dana testa na 20 mg dm^{-3} .



Slika 5.1. Grafički prikaz postotka uklanjanja TOC-a za svaki provedeni test biorazgradnje.

Iz slike 5.1. vidljivi je postotak biorazgradnje za pojedini provedeni Zahn-Wellensov test. Test biorazgradnje OV1 je trajao 32 dana. Norma dopušta produljenje trajanja testa biorazgradnje ako se u 28 dana ne postigne zadovoljavajući % smanjenja. No, čak ni produljenjem testa nije postignuto smanjenje vrijednosti TOC-a

> 80 %, nego je iznosilo 60 %, što upućuje da uvjet postotka uklanjanja vrijednosti TOC-a nije zadovoljen. U Zahn–Wellensovom testu OV2 nije postignuto smanjenje vrijednosti TOC-a. Naprotiv, koncentracija TOC-a je rasla kroz cijeli test. Najveće uklanjanje TOC-a se vidi kod testa OV2A, gdje je otpadna voda predobrađena pomoću aktivnog ugljena. Kod testa OV2A je već u 5 dana postignuto uklanjanje TOC-a za 92 %.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog Zahn-Wellensovog testa biorazgradnje na otpadnim vodama iz farmaceutske industrije može se zaključiti sljedeće:

1. Zahn-Wellens testom biorazgradnje OV1 je postignuta samo djelomična razgradnja organskih tvari.
2. Predobradom aktivnim ugljenom otpadnoj vodi OV2 se povećala biorazgradivost.
3. U Zahn-Wellensovom testu za OV2 dolazi do najvećeg povećanja koncentracije otopljenog kisika za $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$.
4. Vrijednost pH u svim provedenim pokusima se kretala u području od 6,7 do 8,7.
5. U Zahn-Wellens testu za OV2A postignuto je najveće uklanjanje KPK od 97,6 %.
6. Najveći prirast biomase je postignut u Zahn-Wellensovom testu za OV2A od 12,5%.
7. Najveće uklanjanje TOC-a od 92 % postignuto je za OV2A.

7. LITERATURA

1. Petrović, M., Gonzalez, S., Barceló, D., Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water, *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (2003) 685-696.
2. Barceló, D., Petrović, M., Emerging contaminants from industrial and municipal waste, Springer, Berlin, 2008.
3. Petrie, B., Barden, R., Kasprzyk-Hordern, B., A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Research*, 72 (2014) 3-27.
4. Kučić, D., Kopčić, N., Briški, F., Biodegradation of agro-industrial waste, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 31 (2017) 369-374.
5. Uredba o okolišnoj dozvoli, NN 8/2014
6. Wirz, K.C., Studer, M., Straub, J.O., Environmental risk assessment for excipients from galenical pharmaceutical production in wastewater and receiving water, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 1 (2015) 28-35.
7. Europska komisija, Organic fine chemicals, 2006
8. Hanselmeier, A., Water in universe, Springer, New York, 2010.
9. Šabić, M., Bioremedijacija farmaceutika iz otpadne vode, Diplomski rad, Zagreb, 2013.
10. <http://www.blueplanet.nsw.edu.au/mi--water--distribution-of-water/.aspx> (pristup 17.2.2018)
11. Schweitzer, L., Noblet, J., Green Chemistry An Inclusive Approach, Elsevier B.V., Boston, 2017., str. 261–290.
12. Distefano, T., Kelly, S., Are we in deep water? Water scarcity and its limits to economic growth, *Ecological Economics*, 142 (2017) 130-147.
13. Zakon o vodama, NN 130/11
14. Bitton, G., Wastewater Microbiology, John Wiley & Sons, Inc., Florida, 2005., str.78-83, 220, 226, 553.
15. Briški, F., Zaštita okoliša–interna skripta, FKIT, Zagreb, 2016., str. 36, 44.
16. . Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, NN 80/2013
17. Coelho, A. D., Sans, C., Esplugas, S., Dezotti, M., Ozonation of NSAID: A biodegradability and toxicity study, *Ozone: Science & Engineering*, 32 (2010) 91-98.
18. Zrnčević, S., Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, *Hrvatske vode*, 24 (2016) 119-136.

19. Ejhed, H., Fång, J., Hansen, K., Graae, L., Rahmberg, M., Magnér, J., Dorgeloh, E., Plaza, G., The effect of hydraulic retention time in onsite wastewater treatment and removal of pharmaceuticals, hormones and phenolic utility substances, *Science of The Total Environment*, 618 (2017) 250-261.
20. World health organization, *Pharmaceuticals in drinking water*, France, 2012., str. 15-20.
21. Gartiser, S., Hafner, C., Hercher, C., Kronenberger-Schäfer, K., A. Paschke, Whole effluent assessment of industrial wastewater for determination of BAT compliance. Part 2: metal surface treatment industry, *Environmental Science and Pollution Research*, 17 (2010) 1149-1157.
22. . Organizacija za ekonomsku suradnju i razvoj, Principles and strategies related to the testing of degradation of organic chemicals, OECD guideline for testing of chemicals Part 1, 2005.
23. Mascolo, G., Balest, L., Cassono, D., Laera, G., Lopez, A., Pollice, A., Salerno, C., Biodegradability of pharmaceutical industrial wastewater and formation recalcitrant organic compounds during aerobic biological treatment, *Bioresource Technology*, 101 (2010) 2585-2591.
24. Marcelino, R.B.P., Andrade, L.N., Starling, M.C.V.M., Amorim, C.C., Barbosa, M.L.T., Lopes, R.P., Reis, B.G., Leão, M.M.D., Evaluation of aerobic and anaerobic biodegradability and toxicity assessment of real pharmaceutical wastewater from industrial production of antibiotics, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 33 (2015) 445 – 452.
25. Nacrt hrvatske norme, nHRN EN ISO 7827
26. Peake, B.M., Braund, R., Tong, A.Y.C., Tremblay, L.A., *The Life-Cycle of Pharmaceuticals in the Environment*, Elsevier, Otago, 2016., str. 77-107, 109-152, 203-228
27. Klätte, S., Schaefer, H.C., Hempel, M., *Pharmaceuticals in the environment – A short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems*, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 5 (2017) str. 61-66.
28. Šabić, M., Vuković Domanovac, M., Findrik Blažević, Z., Meštrović, E., Kinetika bioremedijacije farmaceutske industrijske otpadne vode, *Kemija u industriji*, 64 (2015) 229–236.
29. Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D., Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(2007) 1365–1377.
30. Gastier, S., Urich, E., Alexy, R., Kümmerer, K., Ultimate biodegradation and elimination of antibiotics in inherent tests, *Chemosphere*, 67 (2007) 604-613.
31. Nayar, S.C., Sylvester, N.D., Control of phenol in biological reactors by addition of powered activated carbon, *Water Research*, 13 (1979) 201-205.

32. Holenda, B., Domokos, E., Rédey, Á., Fazakas, J., Dissolved oxygen control of activated sludge wastewater treatment process using model predictive control, *Computers and Chemical Engineering*, 32 (2008) 1270-1278.
33. APHA, Standard methods for examination of water and wastewater, 21th Edition. APHA, Washington DC, USA, 1998.
34. APHA, Standard methods for examination of water and wastewater, 22th Edition. APHA, Washington DC, USA, 2012.
35. Terna Iorhemen, O., Ahmed Hamza, R., Hwa Tay, J., Membrane bioreactor (MBR) technology for wastewater treatment and reclamation: Membrane Fouling, *Membranes*, 6 (2016) 33.
36. Environmental Protection Agency, Wastewater treatment manuals, Arcadavan, Ireland, 1997., str. 13-14.,16.
37. Marco, A., Espulgas, S., Saum, G., How and why combine chemical and biological processes for wastewater treatment, *Water Science and Technology*, 33 (1997) 321-327.
38. Kincannon, D.F. Performance comparison of activated sludge, PAC activated sludge, granular activated carbon and a resin column for removing the priority pollutants from a pharmaceutical wastewater, 35th Industrial Waste Conference, West Lafayette, 1980, str. 476-483.
39. Minnesota Pollution Control Agency, Nitrogen in Minnesota Surface Waters, Saint Paul, 2013., str. 2.
40. Lijklema, L., Factors affecting pH change in alkaline wastewater treatment–I, *Water Research*, 3 (1969) 913-930.

ŽIVOTOPIS

Wanda Plačko [REDACTED] gdje upisuje osnovnu školu Trnsko, u Zagrebu. Za vrijeme osnovnoškolskog obrazovanja, sudjeluje na natjecanjima iz matematike i biologije. Nakon završene osnovne škole, 2010. godine upisuje IX. Gimnaziju u Zagrebu općeg usmjerenja. Preddiplomski studij Ekoinženjerstvo na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2014. Tijekom preddiplomskog studija sudjeluje u uređivanju radova za studentski časopis Reaktor ideja.