



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Sandra Karolina Puidokaitė

**TOKSINIO POVEIKIO SKIRTINGOMS AKTYVIOJO DUMBLO
SYSTEMOMS VERTINIMAS**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas
Doc. dr. Viktoras Račys

KAUNAS, 2018

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**TOKSINIO POVEIKIO SKIRTINGOMS AKTYVIOJO DUMBLO
SYSTEMOMS VERTINIMAS**

Baigiamasis magistro projektas
Pramoninė biotechnologija (kodas 621J70004)

Vadovas

(parašas) Doc. dr. Viktoras Račys
(data)

Recenzentas

(parašas) Dokt. Martynas Tichonovas
(data)

Projektą atliko

(parašas) Sandra Karolina Puidokaitė
(data)

KAUNAS, 2018



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Sandra Karolina Puidokaitė

(Studento vardas, pavardė)

Pramoninė biotechnologija, 621J70004

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

Baigiamojo projekto „Toksinio poveikio skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms vertinimas“
AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20 18 m. birželio 4 d.
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Sandros Karolinos Puidokaitės**, baigiamasis projektas tema „Toksinio poveikio skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms vertinimas“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

TURINYS

TURINYS	12
SANTRAUKA.....	3
SUMMARY.....	5
SANTRUMPOS.....	7
IŽANGA	11
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	13
1.1 Nuotekų valymo tikslas ir principas	13
1.1.1 Biologinis nuotekų valymas.....	14
1.2 Nuotekų toksiškumas.....	15
1.2.1 Toksinių junginių poveikio vertinimo metodai	16
1.2.1.1. Dehidrogenazių aktyvumo matavimas.....	18
1.2.1.2. Organinių junginių skaidymo gebos vertinimas	18
1.2.2. Toksinio poveikio išraiška	19
1.3 Aktyviosios anglies savybės	19
1.3.1 Aktyviosios anglies panaudojimas biologinio nuotekų valymo sistemose.....	20
1.4 Literatūros apžvalgos apibendrinimas	23
2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI.....	25
2.1 Laboratorinės skalės reaktorius	25
2.2 Suspenduotų sausųjų medžiagų kiekio analizė.....	26
2.3 Ištirpusios organinės anglies analizė.....	27
2.4 Aktyviojo dumblo dehidrogenazių aktyvumo analizė	28
2.5 Skaičiavimai ir duomenų apdorojimas	30
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	32
3.1. Substrato parinkimas ištirpusios organinės anglies suvartojimo analizei.....	32
3.2. Aktyviojo dumblo jautrumo toksiniam poveikiui vertinimas.....	33

3.3. Skirtingų aktyviojo dumblo sistemų našumas veikiant jas toksinu	35
3.4 Suminio toksino poveikio analizė skirtingose aktyviojo dumblo sistemose	39
4. REKOMENDACIJOS	43
5. IŠVADOS	45
6. LITERATŪROS SĄRAŠAS	47

Puidokaitė, Sandra Karolina. Toksinio poveikio skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms vertinimas. Magistro baigiamasis projektas / vadovas doc. dr. Viktoras Račys; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis: technologijų mokslai, biotechnologijos.

Reikšminiai žodžiai: aktyvusis dumblas, nuotekų valymas, toksiškumas, aktyvintoji anglis.

Kaunas, 2018. 57 p.

SANTRAUKA

Biologinis nuotekų valymas šiuo metu yra populiariausia nuotekų valymo strategija. Siekiant palaikyti šio proceso našumą, svarbu įvertinti su nuotekomis į vandenvalos įrenginius patenkančių potencialiai pavojingų junginių toksiškumą. Literatūroje aprašomi junginių toksinio poveikio tyrimai kaip objektą dažniausiai pasirenkant aktyvųjų dumblą iš vienos vandenvalos įmonės, kurioje valomos buitinės arba pramoninės nuotekos, didelė toksino koncentracija į sistemą pridedama tik vieną kartą, o toksino poveikis tiriamos funkcijos pokytis vertinamas po neilgo laiko tarpo.

Tyrimo metu buvo siekiama įvertinti ir palyginti 3,5-dichlorfenolio poveikį skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms. Kaip tyrimo objektas pasirinktas aktyvusis dumblas iš AB „Klaipėdos nafta“ periodinio veikimo nuotekų valymo įrenginių ir aktyvusis dumblas iš UAB „Kauno vandenys“ nuotekų valyklos aerotankų. Į dalį bandymams naudotų laboratorinės skalės bioreaktorių pridėta biologiškai aktyvintos anglies. Tirta 3,5-dichlorfenolio priedo įtaka aktyviojo dumblo gebai šalinti ištirpusią organinę anglį, taip pat aktyviojo dumblo dehidrogenazių aktyvumas. Bandymų metu parinktas tinkamas substratas ištirpusios organinės anglies analizei – etanolis. Nustačius 3,5-dichlorfenolio EC50 vertes, įvertinta, kad didelio amžiaus aktyvusis dumblas iš AB „Klaipėdos nafta“ nuotekų valymo įrenginių yra mažiau jautrus šio toksino poveikiui, nei aktyvusis dumblas iš UAB „Kauno vandenys“ nuotekų valyklos aerotankų: EC50 vertės šiose sistemose nustatytos 21,78 mg/l ir 11,33 mg/l ir, atitinkamai. Penkias dienas trukusiais bandymais, kurių metu tirta ištirpusios organinės anglies šalinimo geba ir dehidrogenazių aktyvumas, parodyta, kad didelio amžiaus aktyvusis dumblas pasižymi geba greičiau prisitaikyti prie 15 mg/l koncentracijos 3,5-dichlorfenolio priedo poveikio. Ištirpusios organinės anglies suvartojimo slopinimas šioje sistemoje per penkias dienas sumažėjo 2,89 karto, aktyviojo dumblo iš buitinių nuotekų valymo įrenginių sistemoje šio parametro slopinimas per tą patį laiką sumažėjo tik 1,26 karto, lyginant su kontrole. Slopinantis toksino poveikis dehidrogenazių aktyvumui didelio ir mažesnio dumblo amžiaus sistemose penktąją dieną sumažėjo iki 18,7 % ir 25,5 %, lyginant su kontrole, atitinkamai. Parodyta, kad 10,75 g/l biologiškai aktyvintos anglies priedas

geba apsaugoti aktyviojo dumblo sistemą nuo 20 mg/l koncentracijos 3,5-dichlorfenolio slopinančio poveikio, toksinui pakartotinai patenkant į šią sistemą.

Puidokaitė, Sandra Karolina. *Evaluation of Toxicity to Different Activated Sludge Systems*: Master's thesis in Industrial Biotechnology/ supervisor assoc. prof. Viktoras Račys. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area: technological sciences, biotechnology.

Key words: activated sludge, wastewater treatment, toxicity, activated carbon.

Kaunas, 2018. 57 p.

SUMMARY

Biological methods are the most widely used strategies to treat wastewater. In order to maintain the efficiency of this process, it is important to evaluate the toxicity of potentially hazardous chemicals in influents to wastewater treatment plants. Previous studies described in literature mainly focus on determining the toxicity of chemicals to activated sludge either from municipal or industrial wastewater plants. Most researchers use shock loads of toxicants, rather than repeatedly adding the chemical of interest to the test system. Moreover, only short-term response to the toxicant is investigated.

In this study the effect of 3,5-dichlorophenol was assessed and compared between different activated sludge systems. Activated sludge used in this study was obtained from KN (AB Klaipėdos nafta) sequencing batch reactors, as well as from an aerobic basin from a local municipal wastewater treatment plant at UAB Kauno vandenys. Some of the used laboratory scale bioreactors were supplied with biologically activated carbon. The effect of 3,5-dichlorophenol to dissolved organic carbon removal and activated sludge dehydrogenase activity was assessed. Ethanol was selected as a suitable substrate for dissolved organic carbon removal assay. EC50 values for 3,5-dichlorophenol obtained in this study showed that a higher sludge system is less sensitive to the effect of this toxicant, compared with the activated sludge from a municipal wastewater treatment plant. The EC50 values in these systems were 21,78 and 11,33 mg/l, respectively. Continuous tests conducted for five days showed that higher age activated sludge is capable of adapting to 15 mg/l 3,5-dichlorophenol concentration more rapidly. Inhibition of dissolved organic carbon removal in this system decreased 2,89 fold in five days, whereas the inhibition of this parameter decreased only 1,26 fold in a system utilising activated sludge from a municipal wastewater treatment plant, when compared with control. Inhibition of sludge dehydrogenase activity in these two systems decreased to 18,7 and 25,5 % on the fifth day of testing, respectively. The ability of activated carbon to improve resistance to toxic upsets was confirmed. It was shown that a 10,75 g/l biologically activated carbon supplement is capable of

completely overcoming the inhibitory effect of 3,5-dichlorophenol, when this toxicant is added to test system repeatedly at a concentration of 20 mg/l.

SANTRUMPOS

AA – aktyvintoji anglis

AD – aktyvusis dumblas

BAA – biologiškai aktyvinta anglis

BDS – biocheminis deguonies suvartojimas

BOA – bendroji organinė anglis

ChDS – cheminis deguonies suvartojimas

DCP – dichlorfenolis

DHA – dehidrogenazių aktyvumas

EC50 – efektyvi koncentracija, kuriai esant pasireiškia 50 % tiriamos funkcijos pakitimo

IOA – ištirpusi organinė anglis

A₄₈₄ – optinis tankis esant 484 nm spinduliuotės bangos ilgiui

TF – trifenilformazanas

TTC – 2,3,5 – trifeniltetrazolio chloridas

IŽANGA

Biologinis valymas panaudojant aktyvųjį dumblą (AD) yra plačiausiai taikoma nuotekų valymo strategija. Jos populiarumą lemia stambaus masto įrenginių eksploatacijos ekonomiškumas, nesudėtingas sistemos veikimas, galimybė įdiegti įvairias sistemos veikimą optimizuojančias modifikacijas ir išvalytų nuotekų kokybę, atitinkanti įstatymuose numatytas normas. Kita vertus, šis metodas turi reikšmingų trūkumų: dalis teršalų atsparūs biologiniam skaidymui, proceso našumas priklauso nuo daugelio kintamųjų, tokių kaip aplinkos temperatūra, terpės pH, substratų prieinamumas, mikroorganizmų aktyvumas ir kt. [1, 2]. Nuotekų valymo efektyvumui ir sistemos stabilumui ypač gali pakenkti su nuotekomis į vandenvalos įrenginius patenkantys toksinai, pavyzdžiui, sunkieji metalai, fenoliniai junginiai, organiniai tirpikliai [3, 4, 5, 6]. Šių ir kitų inhibuojančių junginių apkrovoms viršijus valyklos pajėgumą juos suskaidyti ar neutralizuoti, nuotekų valymo procesas gali būti visiškai sustabdytas. Tokiu atveju nevalytos nuotekos į aplinką patenka tol, kol atkuriamas aktyviojo dumblo biocenozė.

Aktyvintosios anglies (AA) panaudojimas biologinio nuotekų valymo sistemose padeda išspręsti keletą esminių šios valymo strategijos problemų, tokių kaip perteklinio dumblo susidarymas, nedidelis biologiniam skaidymui atsparių junginių šalinimo efektyvumas, neigiamas toksinių medžiagų poveikis sistemai [7, 8, 9, 10]. Manoma, kad naudingosios šio priedo savybės pasireiškia ne vien dėl aktyvintosios anglies sorbcinės gebos, nes bioplėvelė, susidaranti ant biologiškai aktyvintos anglies (BAA) pasižymi išskirtinėmis savybėmis, t. y., geba prisitaikyti prie inhibuojantį poveikį turinčių junginių skaidymo ir didesniu efektyvumu, nei suspenduotas dumblas [7].

Junginių toksiškumas paprastai vertinamas kaip bandymų objektą pasirinkus AD iš vienos vandenvalos įmonės, kurioje apdorojamos pramoninės arba buitinės nuotekos. AD iš tokių šaltinių prisitaikęs skaidyti skirtingus substratus, taip pat skiriasi sistemų eksploataavimo sąlygos, dumblo mikrobiologinė sudėtis, jo amžius ir kitos savybės, galinčios lemti atsparumą toksinams. Literatūroje aprašyta nedaug tyrimų, palyginančių sistemų iš AD ir AD su BAA priedu atsparumą toksinams, dėmesį skiriant sistemos gebai išlaikyti organinių junginių mineralizavimo našumą, taip pat toksino poveikis dažniausiai vertinamas po neilgos toksino veikimo trukmės [11, 12].

Darbo tikslas: Įvertinti toksino poveikį skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms.

Darbo uždaviniai:

1) Parinkti optimalias sąlygas toksinio junginio įtakai aktyviojo dumblo efektyvumui įvertinti;

- 2) Palyginti skirtingų aktyviojo dumblo sistemų jautrumą 3,5-dichlorfenolio poveikiui;
- 3) Įvertinti ilgalaikį 3,5-dichlorfenolio poveikį šioms sistemoms;
- 4) Įvertinti sistemos atsparumą 3,5-dichlorfenolio poveikiui į ją pridėjus aktyvintosios anglies.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Nuotekų valymo tikslas ir principas

Nuotekose esantys teršalai pagal fizines charakteristikas gali būti skirstomi į tirpius ir netirpius, pagal imlumą mikroorganizmų sukeliams pokyčiams – į biologiškai skaidžius ir biologiniam skaidymui atsparius. Teršalai dar skirstomi į organinius ir neorganinius, pagal kilmę – į biogeninius ir antropogeninius, taip pat į toksiškus ir toksiniu veikimu nepasižyminčius [13]. Mišriųjų (paviršinių, buitinių ir gamybinių) nuotekų surinkimo ir transportavimo įrenginiais nuotekos patenka į valyklas. Pagrindinė nuotekų valymo sistemų užduotis – efektyviai ir ekonomiškai pašalinti junginius, galinčius pakenkti aplinkai, į kurią jie išleidžiami.

Buitinių nuotekų sudėtis yra palyginti vienoda ir nuspėjama, skirtingai nuo gamybinių nuotekų, kurios yra įvairios sudėties ir skirtingų koncentracijų organinių ir neorganinių teršalų mišinys [14, 15]. Didžiausią ir, netiesiogiai, kenksmingiausią aplinkai teršalų dalį nuotekose sudaro biologiškai skaidomi organiniai junginiai [16].

Stipriai užterštų nuotekų valymas vykdomas keliais etapais, kurie skiriasi esminiais veikimo mechanizmais. Pirminio apdorojimo metu siekiama užtikrinti, kad antrinis valymo įrenginys dirbtų efektyviai ir būtų ilgaamžiškas. Pirmiausiai atskiriami heterogeniniai nuotekų komponentai, pavyzdžiui, suspenduotos dalelės, nesimaišantys skysčiai, kieti kūnai, koloidinės ar dispersinės dalelės [17]. Tam dažniausiai naudojami mechaniniai metodai, tokie kaip API (naftos – vandens separatorius), paremti gravitacijos jėgos panaudojimu [1]. Po mechaninio apdorojimo gali būti taikomi fizikocheminiai metodai, kuriais sumažinamos sunkiųjų metalų koncentracijos bei vykdoma suspenduotų dalelių koaguliacija, taip palengvinant jų atskyrimą filtracijos, sedimentacijos ar flotacijos būdu [18].

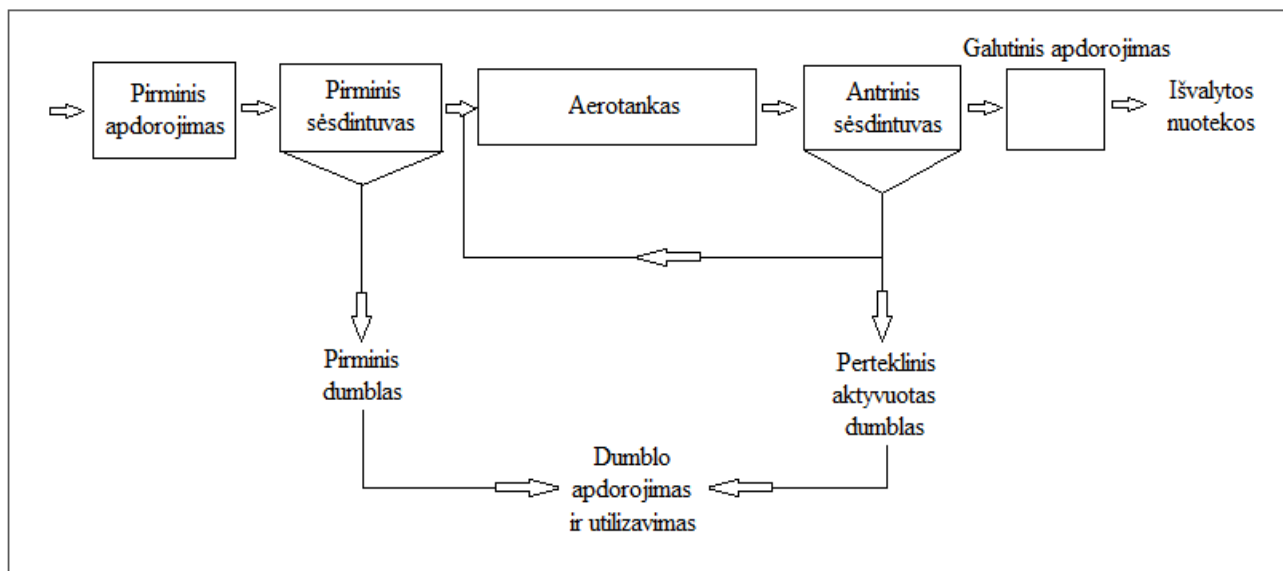
Pažangaus antrinio nuotekų apdorojimo metu siekiama sumažinti teršalų koncentracijas iki tinkamų nuotekoms išleisti į vandens telkinius. Sunkiai valomoms nuotekoms, pavyzdžiui, turinčioms daug naftos angliavandenilių, valyti taikomi įvairūs metodai: koaguliacija, membraniniai atskyrimo metodai, pažangoji oksidacija ir kt. [19]. Vis dėlto, plačiausiai tam taikomas biologinis valymas [1]. Skiriamas ir tretinis nuotekų apdorojimas pažangiais metodais, vykdomas prieš išleidžiant vandenį į aplinką. Tam naudojamos tokios technologijos, kaip sintetinės membranos ar mikrofiltracija [20].

1.1.1 Biologinis nuotekų valymas

Biologinio nuotekų valymo procesai, priklausomai nuo nuotekų išvalymo tikslų, vykdomi aerobinėmis, anaerobinėmis arba pusiau aerobinėmis sąlygomis. Bioreaktoriuose mikroorganizmai būna suspenduoti (laisvi arba dribsnių pavidalo), prisitvirtinę prie kietos įkrovos, turinčios didelį paviršiaus plotą (laistomieji filtrai (angl. *trickling filters*), besisukantys biologiniai kontaktoriai, panardintų membranų bioreaktoriai) arba šie metodai kombinuojami hibridinėse sistemose (verdančio sluoksnio bioreaktoriai) [21].

Aktyvusis dumblas yra skirtingų mikroorganizmų, tokių kaip bakterijos, judrūs ar nejudrūs pirmuonys, daugialąsčiai gyvūnai, grybai ir dumbliai, mišinys. Bakterijos sudaro apie 95 % aktyviojo dumblo biomasės [22]. Dribsnis yra aktyviojo dumblo vienetas, susidedantis iš heterogeninės mikroorganizmų masės. Dribsnių formavimąsi, kuris būtinas gravitacija paremtam aktyviojo dumblo atskyrimui nuo išvalytų nuotekų bei biomasės recirkuliacijai, lemia įvairios organinės ir neorganinės medžiagos, ypač ekstraląsteliniai polisacharidai [23].

Reikšmingiausias organinių junginių skaidymas aplinkoje vyksta veikiant bakterijoms bei grybams [24]. Nors dumbliai ir pirmuonys yra svarbi vandens telkinių bei dirvožemio ekosistemų dalis, šie mikroorganizmai nepasižymi reikšminga geba skaidyti organinius junginius [25]. Nustatyta, kad teršalus geriau šalina ne parinktos grynos bakterijų kultūros, o bendrijos, susidedančios iš skirtingų mikroorganizmų. Vienos rūšies mikroorganizmai kaip substratą gali naudoti palyginti nedaug teršalų, todėl visiškam jų skaidymui reikalingos skirtingos mikroorganizmų rūšys, gebančios sintetinti platesnį fermentų spektrą [26].



1 pav. Biologinio nuotekų valymo procesas [27].

1 paveiksle pavaizduota įprastinio nuotekų valymo, kurio tikslas pašalinti organinius anglies junginius panaudojant aktyvųjį dumblą, proceso eiga. Nuotekos pirmiausiai patenka į pirminio apdorojimo įrenginius, tuomet – į pirminį sėsdintuvą. Šių procesų metu pašalinama didžioji dalis nuotekose esančių heterogeninių komponentų. Tada nuotekos aeruojamos aerotanke, kuriame suspenduotos ir tirpios organinės medžiagos skaidomos aktyviajame dumble esančių mikroorganizmų. Dalis organinių medžiagų panaudojamos naujų mikroorganizmų ląstelių sintezei, o kita dalis oksiduojama iki anglies dvideginio ir vandens, išsiskiriant energijai. Intensyvi aeracija ir maišymas užtikrina pakankamą ištirpusio deguonies koncentraciją aerotanke, mikroorganizmų aprūpinimą organiniais substratais ir mineralizuotų skaidymo atliekų pašalinimą iš aktyviojo dumblo dribsnių. Nuotekos, kartu su dalimi biomasės, tuomet tiekiamos į antrinius sėsdintuvus. Juose susidaręs supernatantas išleidžiamas į tolimesnio apdorojimo įrenginius ir nuotekos galutinai išvalomos. Dalis nusėdusios biomasės grąžinama į aerotanką, o likęs perteklinis dumblas, kartu su adsorbuotais organiniais ir neorganiniais junginiais, apdorojamas (dažniausiai sutankinamas bei nusausinamas) ir utilizuojamas arba panaudojamas anaerobiniam pūdymui, aerobiniam kompostavimui [27, 28, 29]. Pastaruoju metu tiriama vis daugiau perteklinio dumblo panaudojimo galimybių, tokių kaip biopolimerų sintezė grynas kultūras pakeičiant aktyviuoju dumblu, ar denitrifikacijos procesų optimizavimas, atitinkamai apdorotą perteklinį dumblą panaudojant kaip anglies šaltinį [30, 31].

Biologinis nuotekų valymas yra plačiai taikoma bei pakankamai gerai iširta nuotekų valymo strategija. Kita vertus, šis metodas turi ir nemažai trūkumų: nuotekose lieka biologiniam skaidymui atsparūs junginiai [2]; proceso našumas priklauso nuo daugelio kintamųjų (pavyzdžiui, teršalų savybių ir kiekio, mikroorganizmų aktyvumo ir gyvybingumo), todėl sudėtinga prognozuoti metodo atkartojamumą didelio masto įrenginiuose [1]. Šios problemos sprendžiamos procesą įvairiai modifikuojant, pavyzdžiui, mikroorganizmus imobilizuojant [26], į sistemą pridėdant genetiškai modifikuotų ar iš užterštos aplinkos išgautų mikroorganizmų [32].

1.2 Nuotekų toksiškumas

Projektuojant nuotekų valyklas, didelis dėmesys turi būti skirtas sistemos gebai atlaikyti šoką sukeliančias apkrovas, kurias lemia staigūs fizikocheminių parametrų pokyčiai, padidėjusios substratų koncentracijos ar toksinų patekimas į sistemą. Šie pokyčiai neigiamai veikia biochemines reakcijas, atitinkamai mažindami sistemos našumą. Šoką sukeliančios substratų ar toksinų apkrovos, ženkliai viršijančios nuotekų valyklos pajėgumą šiuos junginius suskaidyti ar neutralizuoti, gali visiškai

sustabdyti proceso veikimą. Taip nutikus, nevalytos nuotekos patenka į paviršinius vandenį, kol aktyviojo dumblėko ekologinė bendrija atkuriamą. Sistemos našumo atstatymas po toksinų sukeltų sutrikimų yra ypač sudėtingas, nes aktyviajam dumblėkui reikia laiko prisitaikyti prie toksinų medžiagų, tačiau nuotekų hidraulinis išbuvoimo laikas reaktoriuje tam dažniausiai yra pernelyg trumpas [33]. 2000 metų duomenimis, į 45 – 60 % iš 109 Švedijoje esančių buitinių nuotekų valymo įrenginių su nuotekomis patenka jų efektyvumą slopinančių junginių [34]. Kito tyrimo metu nustatyta, kad iki 50 % nitrifikacijos inhibicijos Volos miesto (Graikija) vandenvalos įrenginiuose sietina su į juos patenkančiomis pramoninėmis nuotekomis [35]. Vandenvalos įrenginio Sao Paulo-Barueri (Brazilija) našumas buvo smarkiai sutrikdytas beveik 6 mėn. dėl toksinio poveikio, kurį sukėlė didelė fenolio (49 mg/l fenolio nevalytose nuotekose) ir, manoma, fenolio darinių toksinė apkrova [36].

Dalis su nuotekomis į valyklą patenkančių inhibuojančių junginių yra ilgai aplinkoje išliekantys, toksiški itin mažomis koncentracijomis ar atsparūs antriniam nuotekų apdorojimui. Tokie teršalai yra: sunkieji metalai (pavyzdžiui, Pb, Cu, Cr) [3, 4], sunkiai biologiškai skaidomi organiniai junginiai (pavyzdžiui, pesticidai, fenoliniai junginiai, detergentai) [5, 6, 37], farmacijos produktai (ypač estrogenai [37]), naftos perdirbimo nuotekų teršalai (ypač policikliniai aromatiniai angliavandeniliai) [38] ir kt. Jeigu nuotekose esantys teršalai gali sutrikdyti AD sistemos veiklą, prieš nuotekoms patenkant į bioreaktorių jas reikia praskiesti arba tinkamai apdoroti.

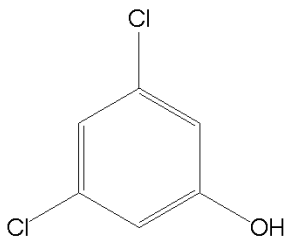
1.2.1 Toksinų junginių poveikio vertinimo metodai

Toksinis poveikis biologinėms nuotekų valymo sistemoms gali būti vertinamas tiesiogiai, pagal mikroorganizmų fiziologinių funkcijų susilpnėjimą, arba netiesiogiai, pagal vandens kokybės parametrų pokyčius (pvz., ChDS (cheminio deguonies suvartojimo) ar BDS (biocheminio deguonies suvartojimo) reikšmes). Tiesioginio toksiškumo vertinimo strategijos pagal matuojamus dydžius gali būti skirstomos į tris kategorijas: substrato suvartojimas, organizmų savybių rodikliai ir reakcijų produktų išskyrimas (1 lentelė).

1 lent. Toksiškumo biologinio nuotekų valymo sistemoms vertinimo strategijos [39]

Substrato suvartojimas	Mikroorganizmų savybių rodikliai	Reakcijų produktų išskyrimas
Deguonies suvartojimo greitis; NH_4^+ (amonio jonų) suvartojimo greitis; NO_2^- (nitrito jonų) suvartojimo greitis; NO_3^- (nitrato jonų) išskyrimo greitis	Ląstelių tankis; Ląstelių gyvybingumas; Dribsnių morfologija; Fermentų aktyvumas	CO_2 išskyrimo greitis; NO_2^- (nitrito jonų) išskyrimo greitis; NO_3^- (nitrato jonų) išskyrimo greitis; N_2O išskyrimo greitis; CH_4 išskyrimo greitis; Lakiųjų riebalų rūgščių akumuliacija

OECD (*Organisation for Economic Cooperation and Development*) metodas Nr. 209 [40] rekomenduoja naudoti 3,5-dichlorfenolį (3,5-DCP) kaip etaloninį toksiną siekiant įvertinti kenksmingų medžiagų poveikį aktyviojo dumblo mikroorganizmams. 3,5 – DCP, kurio struktūra pavaizduota 3 paveiksle, yra biologiniam skaidymui atspari medžiaga. Jo skaidumą bandoma padidinti aktyvųjų dumblą aklimatizuojant prie chlorfenolių ar taikant kometabolizmo principą [41, 42]. Nustatyta, kad 3,5 – DCP ženkliai sorbuoja aktyvintoji anglis, bet AA sorbcinę gebą mažina ant jos susiformavusi bioplėvelė bei ištirpę organiniai junginiai, kurių masė didesnė kaip 50 kDa [43].



2 pav. 3,5-dichlorfenolio struktūra.

Toksiškumas aktyviajam dumbliui gali būti diagnozuojamas mikroskopuojant bei aktyvųjų dumblą įvertinant vizualiai. Dažnai stebimas pirminis žiuželinių pirmuonių kiekio padidėjimas, po kurio vyksta visiškas pirmuonių ir kitų aukštesnių gyvybės formų išmirimas. Biomasės dribsniai išyra, dažnai dumblas suputoja [44].

1.2.1.1. Dehidrogenazių aktyvumo matavimas

Vykdamas biologinį teršalų skaidymą, svarbu įvertinti ne tik procese dalyvaujančių mikroorganizmų kiekį, bet ir jų aktyvumą. Mikroorganizmų dehidrogenazių aktyvumo (DHA) matavimas yra greitas ir nesudėtingas tyrimas, atspindintis jų gebą skaidyti organinius junginius [45]. Dehidrogenazės priklauso vienai iš pagrindinių fermentų grupių, atsakingų už elektronų pernašos procesus. Dėl to šių fermentų aktyvumas yra geras bendro visos mikroorganizmų bendrijos metabolinio aktyvumo indikatorius [39].

DHA dažniausiai matuojamas į biologinę sistemą pridedant tetrazolio druskos, tokios kaip trifeniltetrazolio chloridas (TTC) ar 2-(p-jodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil tetrazolio chloridas (INT). Druska naudojama kaip galutinis bioreakcijų vandenilio akceptorius. Tetrazolio druska yra tirpi vandenyje ir bespalvė ar turinti blankią spalvą. Po redukcijos prijungiant du vandenilio atomus, ši druska pakeičia spalvą į raudoną susidarant netirpiems vandenyje trifenilformazano (TF) kristalams. Raudoni TF kristalai gali būti išekstrahuoti iš mikroorganizmų ląstelių naudojant organinius tirpiklius [46].

DHA sumažėjimas tiesiogiai priklauso nuo toksinių medžiagų koncentracijos terpėje [47, 48]. Dėl to DHA testai atliekami vertinant tokių medžiagų, kaip tetrahidrofuranas (polinis eteris, naudojamas kaip tirpiklis) [49], TiO₂ nanodalelės (naudojamos kaip pigmentas) [50], aliuminio nitrido nanodalelės [51], sunkieji metalai (Cu, Cd, Co, Cr) [3] ir kt. toksinį poveikį aktyviajam dumbliui.

1.2.1.2. Organinių junginių skaidymo gebos vertinimas

Toksinių junginių poveikis biologiniam skaidymui gali būti tiriamas vertinant ištirpusios organinės anglies (IOA), bendros organinės anglies (BOA), BDS ar ChDS vertes terpėje [52, 53]. Šiais metodais vertinamas terpėje likęs, mikroorganizmų nesuskaidytas organinių junginių kiekis. BDS suvartojimo testu galima įvertinti aktyviojo dumblo gebą skaidyti realiose nuotekose esančius biologiškai skaidžius organinius junginius, tačiau bandymas trunka ilgai – BDS₅ tyrimui indus su mikroorganizmais, mitybine terpe ir pasirinktais toksiniais junginiais reikia inkubuoti 5 dienas [52]. Nors kvėpavimo inhibicijos testas yra vienas iš populiariausių aktyviojo dumblo aktyvumo slopinimo vertinimo metodų, jis pasižymi mažesniu jautrumu, lyginant su IOA suvartojimo testu tiriant mažų toksino koncentracijų (pavyzdžiui, 0,5 ir 1 mg/l Cu) poveikį AD [10].

BOA yra nespecifinis parametras, todėl jo matavimas ypač naudingas siekiant įvertinti nežinomos struktūros tarpinių junginių skaidymą [19]. BOA analizė pasižymi žema aptikimo riba, greita atlikimo procedūra bei palyginti nedidele kaina. Metodo taikymą apriboja heterogeninė tiriamų

pavyzdžių prigimtis, kuri gali lemti prastą rezultatų atkartojamumą ir tikslumą, taip pat aparatūros gedimus dėl užsikimšimo [55]. Dėl to dažnai prieš analizę netirpūs junginiai iš pavyzdžio pašalinami jį filtruojant, o gauti rezultatai išreiškiami kaip IOA. IOA apibūdinama kaip organinės anglies dalis, kuri lieka filtrate, mėginį prafiltravus pro 0,2 – 0,7 μm porų dydžio filtrą [56]. Nuotekų, kaip organinės anglies šaltinio, naudojimas atliekant IOA pasisavinimo tyrimą nėra patartinas, kadangi neapdorotos nuotekos paprastai pasižymi dideliu vandenyje netirpių organinių junginių kiekiu. IOA matavimai neapima anglies, esančios šiuose junginiuose, koncentracijos vertinimo [57]. Tokiu atveju naudojamos sintetinės žinomos sudėties nuotekos, kaip IOA šaltinį naudojant pasirinktą greitai skaidomą organinį junginį. Kaip substratai AD tyrimuose naudojami sacharozė [58], gliukozė [59], metanolis [60], natrio acetatas [61], acto rūgštis [12] ar kt. junginiai.

1.2.2. Toksinio poveikio išraiška

Toksiškumo gyvosioms sistemoms vertinimo testai remiasi toksino poveikio matuojamam parametru nustatymu po tyrėjo parinktos poveikio trukmės [62]. Toksiškumo vertinimui dažnai naudojamos LC50, EC50, IC50 ir MIC vertės. LC50 (letalinė koncentracija) yra toksino koncentracija, kuri nužudo 50 % bandymo populiacijos per nustatytą laiko tarpą. EC50 (efektyvi koncentracija) arba IC50 (inhibuojanti koncentracija) nusako medžiagos koncentraciją, kuri sukelia 50 % tiriamos funkcijos pakitimo, lyginant su didžiausiu pokyčiu, kurį gali sukelti tiriamoji medžiaga. EC50 ir IC50 sąvokos vertinant inhibicinį poveikį dažnai vartojamos kaip sinonimai. MIC (minimali inhibuojanti koncentracija) yra mažiausia toksino koncentracija, kurios reikia inhibicianiam efektui sukelti. LC50 ir EC50 yra ūminio toksinio poveikio matai [62, 63, 64].

Remiantis EC50 vertinamas tiek tam tikrų pasirinktų junginių [52], tiek medžiagų mišinio, pvz., nevalytų nuotekų [65] toksiškumas. Šiai vertei apskaičiuoti taikomi įvairūs metodai, kurie skiriasi sudėtingumu, reikiamu duomenų kiekiu ir tikslumu. Dažniausiai taikomi skaičiavimo būdai: IC₅₀ apskaičiuojama interpoliuojant tiesinę poveikio dydžio priklausomybę nuo toksino koncentracijos, išreikštos logaritmu, funkciją [66, 67]; poveikio dydžio priklausomybė nuo toksino koncentracijos užrašoma tiesine funkcija, iš kurios išskaičiuojama EC50 reikšmė [11, 52, 68]; sukuriami tinkamiausi matematiniai modeliai, apibūdinantys poveikio ir medžiagos koncentracijos priklausomybę [62]; naudojamos specialiai EC50 skaičiavimui sukurtos kompiuterinės programos [69].

1.3 Aktyvintosios anglies savybės

Aktyvintoji anglis plačiai naudojama įvairios kilmės nuotekų (komunalinių, naftos chemijos, popieriaus, farmacijos pramonės) bei užteršto požeminio vandens valymui. AA (aktyvintosios

anglies) panaudojimas nereikalauja didelių technologinių proceso modifikacijų, todėl gali būti pritaikytas daugumoje jau veikiančių vandens valyklų. Kita vertus, šio sorbento panaudojimą riboja palyginti didelė jo kaina, ypač didelio masto valymo įrenginiuose.

Aktyvintoji anglis gali būti gaminama iš įvairių nebrangių ir lengvai dideliais kiekiais prieinamų žaliavų, turinčių didelį anglies ir mažą pelenų kiekį, pavyzdžiui, lignoceliuliozinių žemės ūkio atliekų (t. y., vaisių kauliukai, riešutų kevalai, vilnamedžio stiebai, cukranendrių išspaudos ir pan.) ar biomasės. AA gamybos procesas naudoja gana daug energijos. Jis dažnai atliekamas tokiu būdu: lėtai keliant temperatūrą iki 500 °C, oksiduojamos ir pašalinamos lakiosios priemaišos [9, 70, 71, 72]. Toliau didinant temperatūrą iki 1000 °C, generuojami garai, kurie išplečia medžiagos poringą struktūrą. Aktyvacijos metu sukuriama skirtingų dydžių porų pasiskirstymas. Aktyvacija taip pat gali būti vykdoma cheminiu būdu: žaliavos, impregnuotos tam tikromis cheminėmis medžiagomis (pavyzdžiui, $ZnCl_2$), terminė dekompozicija atliekama vienu žingsniu. Dėl naudojamų žemesnių temperatūrų (500 – 800 °C), cheminė aktyvacija pasižymi mažesnėmis energijos sąnaudomis, taip pat pasiekama didelė produkto išeiga [72]. Poros skirstomos į tris kategorijas, priklausomai nuo poros skersmens: mikroporos yra < 2 nm, mezoporos yra 2 – 50 nm, o makroporos > 50 nm. Organinių junginių adsorbcija daugiausiai vyksta mezoporose ir mikroporose, makroporomis vyksta medžiagų pernaša [74]. AA gali būti granulių arba miltelių pavidalo. Granuliuotos aktyvintosios anglies (GAA) dalelės dažniausiai yra nuo 0,6 iki 4 mm skersmens, o aktyvintosios anglies milteliai (AAM) pasižymi mažesniu kaip 0,5 mm dalelių skersmeniu [70, 73, 74, 75].

Didelis AA paviršiaus plotas, kurį lemia mikroporos ir mažos mezoporos, tiesiogiai susijęs su organinių teršalų šalinimo geba [76], AA pasižymi hidrofobinėmis paviršiaus savybėmis, todėl didelis adsorbato hidrofobiškumas lemia geresnę sorbciją prie AA. Vandens donorinių ar akceptorinių grupių ir aromatinių žiedų buvimas molekulinėje adsorbato struktūroje taip pat skatina geresnę adsorbciją prie AA [77]. Be to, ištirpusių organinių junginių adsorbcija lemia anglies paviršiuje susidarantį neigiamą krūvį (vidutinėse išvalytų nuotekų pH reikšmėse), kuris didina elektrostatinę sąveiką. Dėl to junginiai, turintys teigiamą krūvį, tokiomis sąlygomis paprastai pasižymi geresnėmis sorbcinėmis savybėmis [78].

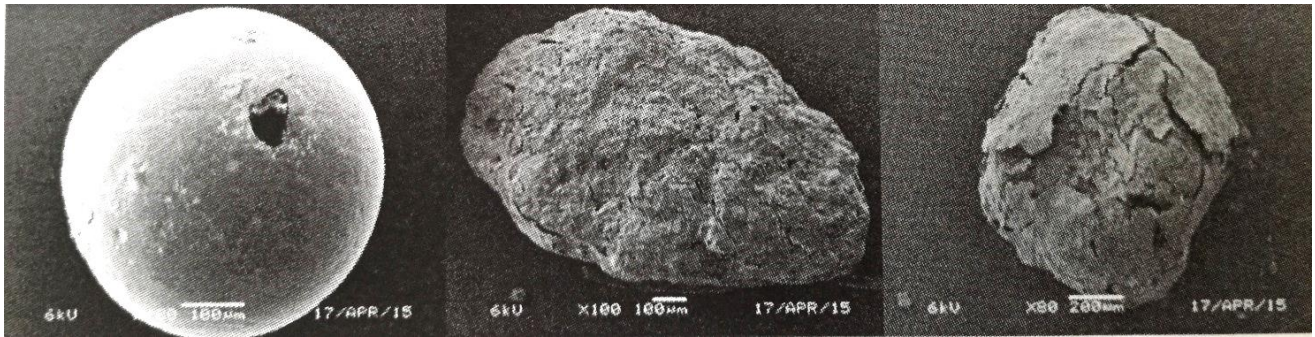
1.3.1 Aktyvintosios anglies panaudojimas biologinio nuotekų valymo sistemose

Nustatyta, kad aktyvintoji anglis padidina biologinio teršalų valymo efektyvumą. Ypač pagerėja aktyviojo dumblo geba šalinti biologiškai neskaidžius junginius [7]. Tyrimų duomenimis, AA turi teigiamą poveikį ChDS, NH_4-N (amonio azoto), NO_3-N (nitrato azoto), TKN (bendro Kjeldalio

azoto), BDS bei spalvotų junginių biologiniam šalinimui iš įvairios kilmės nuotekų [8]. Įrodyta, kad šis efektas negali būti paaiškintas vien adsorbicine AA geba.

Biologiniuose procesuose AA naudojama kaip įkrova, ant kurios susidaro bioplėvelė. Bioplėvelė susideda iš bakterijų ir grybų ląstelių, kurios išskiria ekstraląstelinius polimerinius junginius, lemiančius pastovios matricos susidarymą. Matricos polisacharidai apsaugo ląsteles nuo aplinkos sąlygų pokyčių, padeda ląstelėms prikibti vienai prie kitos ir prie paviršių, taip susiformuojant tankiems ląstelių aglomeratams [79, 80]. Nustatyta, kad bioplėvelę sudaranti ir suspensijoje esanti biomasė skiriasi mikrobiologine sudėtimi. BAA sistemos tyrimo metu parodyta, kad biomasės suspensijoje dominavo *Sphingobacteria* tipo ir *Gammaproteobacteria* klasės bakterijos, kurios siejamos su mikroteršalų ir ksenobiotikų skaidymu, tuo tarpu BAA bioplėvelę daugiausiai sudarė *Nitrospiraceae* šeimos bakterijos, atsakingos už nitrifikacijos procesus biologinio nuotekų valymo įrenginiuose [81]. Kiti tyrėjai parodė, kad bioplėvelėje, susidariusioje ant fiksuotos didelio paviršiaus ploto įkrovos, nitrifikuojančių ir denitrifikuojančių bakterijų, lyginant su eubakterijomis, yra žymiai daugiau. Bioplėvelėse amonį oksiduojančių, nitritus oksiduojančių ir denitrifikuojančių bakterijų santykis su eubakterijomis nustatytas 31 – 51 %, 19 – 42 % ir 21 – 40 %, atitinkamai. AD dribsniuose šių bakterijų kiekis buvo mažesnis: amonį oksiduojančių, nitritus oksiduojančių ir denitrifikuojančių bakterijų santykis su eubakterijomis atitinkamai buvo 10 – 22%, 7 – 17 % ir 7 – 16 % [82].

Sistemose su aktyviosios anglies milteliais mikroorganizmų įsitvirtinimas ant dalelių paviršiaus yra mažiau efektyvus, nei reaktoriuose, kuriuose kaip inertinė ar suspenduota įkrova naudojama granuliuota aktyvintoji anglis [83]. Kita vertus, sistemose, kuriose naudojami suspenduoti mikroorganizmai, aktyviosios anglies miltelių panaudojimas yra pranašesnis: tokios sistemos pasižymi vienodesniu kietųjų dalelių pasiskirstymu bei mažesnėmis energijos sąnaudomis, reikalingomis sistemai maišyti [10]. 3 paveiksle pavaizduotos biologiškai aktyvios anglies granulių nuotraukos, darytos skenuojančiuoju elektroniniu mikroskopu.



3 pav. BAA granulės, paimtos iš bioreaktorių [81]

Teigiamas AA poveikis biologiniam valymui aiškinamas keliais mechanizmais:

1) ant AA adsorbuojamos organinės medžiagos, taip padidinamas kontaktas tarp teršalų ir biomasės [7];

2) AA greitai adsorbuoja biologiškai neskaidomus, toksiškus bei inhibuojantį poveikį turinčius junginius [9]. Taip padidėja aktyviojo dumblo atsparumas šioms medžiagoms, o adsorbuoti junginiai (pavyzdžiui, 2,4-dimetilfenolis), toliau gali būti biologiškai suskaidomi prisitaikiusių mikroorganizmų [7]. Didesnį biologiškai aktyvintos anglies sistemų atsparumą toksiniams junginiams, lyginant su įprastinėmis aktyviojo dumblo sistemomis, taip pat lemia apsauginis bioplėvelės ekstraląstelinio matrikso poveikis [84];

3) manoma, kad bioplėvelė, susidaranti ant AA paviršiaus pasižymi didesniu aktyvumu, negu suspenduotas dumblas [7].

Adsorbuota aktyviojo dumblo bioplėvelė vykdo AA bioregeneraciją, t. y., regeneruoja AA sorbcinę gebą [85]. Tokiu būdu pailginamas AA įkrovos tarnavimo laikas, dėl to sorbento nereikia dažnai regeneruoti. Bioregeneracijos efektyvumas priklauso nuo teršalų adsorbicijos grįžtamumo, jų biologinio skaidumo, anglies dalelių dydžio, mikroorganizmų išbuvimo laiko reaktoriuje, anglies porų dydžio pasiskirstymo, anglies aktyvacijos proceso, teršalų, adsorbuotų ant anglies ir esančių tirpale, koncentracijos gradiento, egzofermentų aktyvumo, biomasės koncentracijos ir rūšinės sudėties ir kitų faktorių [10].

Eksperimentu, kurio metu į aerobinio nuotekų valymo bioreaktorių pridėta aktyvintosios anglies, nustatyta, kad AA, naudotos bioreaktoriuje 10 ir 20 dienų, sorbcinė geba organinių (ChDS) bei spalvotų junginių atžvilgiu susilpnėjo nuo pradinės 127,00 mg/g reikšmės iki 49,02 ir 58,82 mg/g, atitinkamai. Po ilgesnės AA-AD sistemos operavimo trukmės (30 dienų) ChDS sorbcija dėl bioregeneracijos padidėjo beveik iki pradinių reikšmių, t. y., iki 107,85 mg/g [86].

Nuotekų valymo procesai, įgyvendinami panaudojant BAA, vyksta trimis fazėmis. Pirmiausia vyksta teršalų adsorbcija ant AA, kuomet adsorbcijos greitis ženkliai pranoksta biologinio skaidymo greitį. Antrosios fazės metu pasiekama adsorbcijos pusiausvyra, kuomet adsorbcija ir biologinis skaidymas vyksta panašiu greičiu. Trečiosios fazės metu biologinio skaidymo greitis tampa didesnis nei adsorbcijos, galima desorbcija nuo AA porų, dėl kurios vyksta AA regeneracija [87].

AA taikymas biologinio nuotekų valymo sistemose pasižymi ir kitomis naudingomis savybėmis:

- didesnė organinės anglies ir deguonies koncentracija prie aktyvintosios anglies paviršiaus [10];
- sumažinamas nemalonus kvapas vandenvėlyje įrenginiuose [88];
- sistemose su bioplėvelėmis biomasės koncentracija yra didesnė, negu bioreaktoriuose, kuriuose mikroorganizmai yra suspenduoti [84];
- sumažinama dumblo indekso reikšmė (tūris, kurį užima 1 g aktyviojo dumblo), t. y., pagerėja dumblo nusėdimo savybės [86];
- slopinamas putojimas aeratoriuje [85];
- dumblas efektyviau tankinamas ir nusauginamas [89];
- AA, sorbuodama ekstraląstelinius polimerinius junginius, sumažina pasipriešinimą filtracijai membraniniuose biologiniuose reaktoriuose [90].

1.4 Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Toksiniai junginiai, patenkantys į biologinio nuotekų valymo įrenginius, gali ženkliai sutrikdyti nuotekų valymo našumą ir lemti didelius į aplinką patenkančių biologiškai skaidomų organinių junginių kiekius. Siekiant įvertinti nuotekose esančių junginių toksiškumą AD, taikomi įvairūs metodai, kurie skiriasi savo principu, tikslumu, atlikimo sudėtingumu ir kaina [39]. IOA suvartojimo analizė yra jautrus, nesunkiai atliekamas ir tiesiogiai su nuotekų valymo procesu susijęs AD aktyvumo matavimo kriterijus. Skirtingi tyrėjai kaip substratą šiam tyrimui pasirenka įvairius junginius, kurie gali skirtis prieinamumu biologiniam skaidymui bei poveikiu AD [12, 58, 59, 61], dėl to vertinant to paties toksino poveikį, galimi skirtingi tyrimų rezultatai.

Toksino poveikis AD dažniausiai tiriamas vienoje pasirinktoje sistemoje, kaip tyrimų objektą pasirenkant AD iš buitinių ar pramoninių nuotekų valymo įrenginių. Toksinis poveikis įprastai vertinamas pagal tiriamos funkcijos pokytį po nedidelio laiko tarpo (30 min – 24 val.), nestebint poveikio dinamikos sistemoje esant sunkiai biologiškai skaidžiam toksinui [11, 12]. Tiriant AA gebą

apsaugoti sistemą nuo toksinų, kurie gali būti ant jos sorbuojami, slopinantis poveikis dažniausiai vertinamas į reaktorių su AA toksino pridėjus vieną kartą, užuot į sistemą toksinio junginio pridedant mažesnėmis koncentracijomis, tačiau ilgesnį laiko tarpą [43, 7]. Dėl šių priežasčių toksiškumo vertinimo tyrimų rezultatai yra nepakankamai informatyvūs ir juos sudėtinga interpretuoti, gauti rezultatai nebūtinai gali būti pritaikyti vertinant poveikį skirtingiems įrenginiams.

2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI

2.1 Laboratorinės skalės reaktorius

Tyrimams naudotas reaktorius sudarytas iš cilindro formos skaidraus plastiko talpos atviru viršumi. Oras bioreaktoriui tiekiamas iš apačios, panaudojant orapūtę *HAILEA ACO9601*. Reaktoriaus apačioje įtaisytas difuzorius, užtikrinantis tolygų oro srauto paskirstymą terpėje (apie 1,2 l/min, matuota rotametu *Fisher & Porter 10A6130, JAV*) visame reaktoriaus skersmenyje. Talpos tūris – 4 l, vidinis skersmuo – 10,5 cm. Viso tyrimui naudoti penki tokios struktūros reaktoriai (4 paveikslas). Tyrimams naudotas aktyvusis dumblas:

- Aktyvusis dumblas (AD1) iš AB „Klaipėdos nafta“ periodinio veikimo nuotekų valymo įrenginių. Šis aktyvusis dumblas kartu su biologiškai aktyvinta anglimi laikytas rezervuare, kuriam oras tiekiamas orapūte *SECOH JDK-40*. Į šį rezervuarą reguliariai pridėta žaliavinės naftos (apie 10 ml l⁻¹ d⁻¹). Didelis kietųjų medžiagų išbuvimo laikas (angl. *solids retention time*) reaktoriuje (apie 20 dienų) palaikytas dalį rezervuaro tūrio reguliariai pakeičiant kambario temperatūros vandeniu iš čiaupo [91]. Dumblo koncentracija suspensijoje, išreikšta kaip netirpių sausųjų medžiagų kiekis terpėje, tokiu būdu palaikyta apie 2,8 g/l.
- Aktyvusis dumblas iš UAB „Kauno vandenys“ nuotekų valyklos aerotankų (AD2), paimtas tą pačią dieną, kuomet pradėdami vykdyti bandymai.

Tyrimams naudotos GAA savybės: žaliava – antracitas; paruošimo būdas (aktyvacija) – terminis; gamintojas – *Brennta*, Vokietija; piltinis tankis, kg m⁻³ – 430±30; dalelių dydis, mm – 0,5 – 2,5; specifinis paviršiaus plotas, m²/g – 1000; jodo skaičius, mg/g min – 950; peleningumas – 5%; porų pasiskirstymas, %: mikro (porų skersmuo < 6 nm) – 62, mezo (porų skersmuo 6 – 20 nm) – 14, makro (porų skersmuo > 20 nm) – 24. Terpės pH matuotas nešiojamu matuokliu *WTW 340i* (Vokietija). Tyrimams naudotos analitinės svarstyklės *KERN 770*, vienkanalės automatinės pipetės: *CAPP Bravo* (10 – 1000 µl), *Eppendorf Research plus* (100 – 1000 µl), *WinLab* (2 – 10 ml). Sunkiai skaidomo toksinio junginio poveikiui aktyviajam dumblui iširti pasirinktas 3,5-dichlorfenolis (grynumas – 97 %, *Sigma-aldrich*).



4 pav. Tyrimui naudota biologinio valymo sistema

2.2 Suspenduotų sausųjų medžiagų kiekio analizė

Aktyviojo dumblo kiekis bioreaktoriuje išreikštas kaip netirpių sausųjų medžiagų kiekis viename litre terpės. Tyrimas atliktas vadovaujantis *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* metodu Nr. 2540 D [92].

Aktyviojo dumblo mėginys kruopščiai išmaišytas, 50 ml pavyzdžio nufiltruota pro iš anksto 105 ° temperatūroje 30 min išdžiovintą bei pasvertą popierinį filtrą. Popierinis filtras su ant jo likusiomis netirpiomis medžiagomis tuomet 2 val. džiovintas džiovinimo spintoje 105 °C temperatūroje. Mėginys su filtru po džiovinimo atvėsintas eksikatoriuje, papildytame sorbentu, ir pasvertas 0,0001 g tikslumu, tuomet vėl 1 val. įdėtas į džiovinimo spintą. Džiovinimo, atvėsimo ir svėrimo veiksmai karoti kol pasiekta pastovi mėginio su filtru masė, t. y., kol skirtumas tarp dviejų gretimų svėrimų rodmenų yra ne didesnis kaip 0,5 mg.

Mėginiai filtruoti vidutinio filtravimo greičio popieriniais filtrais (porų diametras 5-8 μm), juos įtaisius daugkartinių filtravimo piltuvų *Sartorius stedim* sistemoje. Filtruota panaudojant vakuuminį laboratorinį siurbį *KNF LABOPORT*, filtratas surinktas į 2 l talpos Büchnerio kolbą. Rezultatai apskaičiuoti formule:

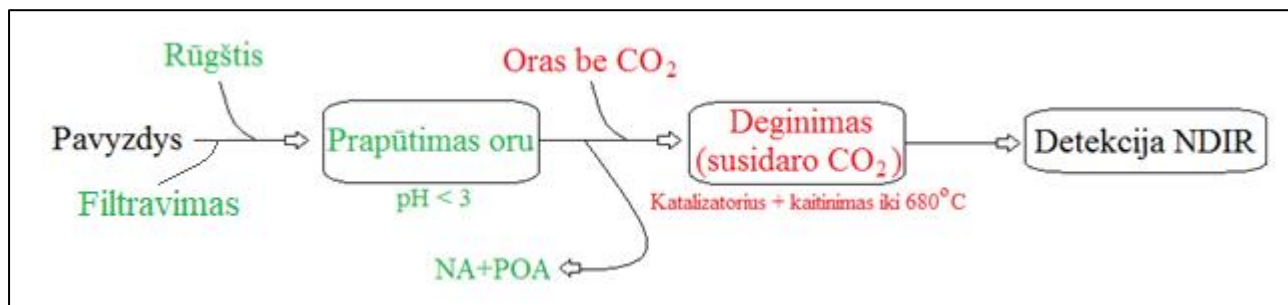
$$C_{AD}, \text{g/l} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{paimto pavyzdžio tūris, ml}}$$

C_{AD} yra aktyviojo dumblo koncentracija, išreikšta kaip netirpių sausųjų medžiagų kiekis, g/l; A yra filtro su 105 °C temperatūroje išdžiovinto mėginio likučiu masė, g; B yra iš anksto iškaitinto popierinio filtro masė, g.

2.3 Ištirpusios organinės anglies analizė

IOA matuota *Shimadzu TOC-L* (Japonija) analizatoriumi, į kurį tiekias sintetinis oras (79 % azoto, 21 % deguonies, UAB „AGA“). Analizatoriaus veikimo principas: pavyzdys sudeginamas 680 °C temperatūroje, daug deguonies turinčioje aplinkoje. Tolimesnė mėginio katalitinė oksidacija vyksta deginimo kameroje veikiant platinos katalizatoriui. Taip efektyviai oksiduojami sunkiai skaidomi, netirpūs ir makromolekuliniai organiniai junginiai. Oksidacijos metu susidariusio anglies dvideginio koncentracija matuojama nedispersiniu infraraudonųjų spindulių dujų jutikliu (NDIR). Gauto signalo piko plotas proporcingas pavyzdyje esančios anglies koncentracijai.

Kadangi aktyviojo dumblo sistemos pavyzdžiuose neorganinės anglies dalis yra labai didelė, siekiant išvengti reikšmingų paklaidų svarbu atlikti tinkamą pavyzdžio paruošimą. Organinės anglies kiekio pavyzdyje matavimo principas pavaizduotas 5 paveiksle (šioje scheme: NA – neorganinė anglis, POA – pašalinta organinės anglies dalis).



5 pav. Ištirpusios organinės anglies analizės schema

Darbo eiga: iš reaktoriaus paimtas mėginys (apie 10 ml) nufiltruotas stikliniu filtru – piltuvu, neorganinei angliai pašalinti į filtratą įlašinta 3 lašai 4 N sieros rūgšties. Parūgštintas filtratas tuomet dujiniu degikliu pakaitintas iki virimo, susidaręs anglies dvideginis iš filtrato pašalintas mėginį prapūčiant oru. Prieš analizę mėginys atvėsintas tekančio šalto vandens srove.

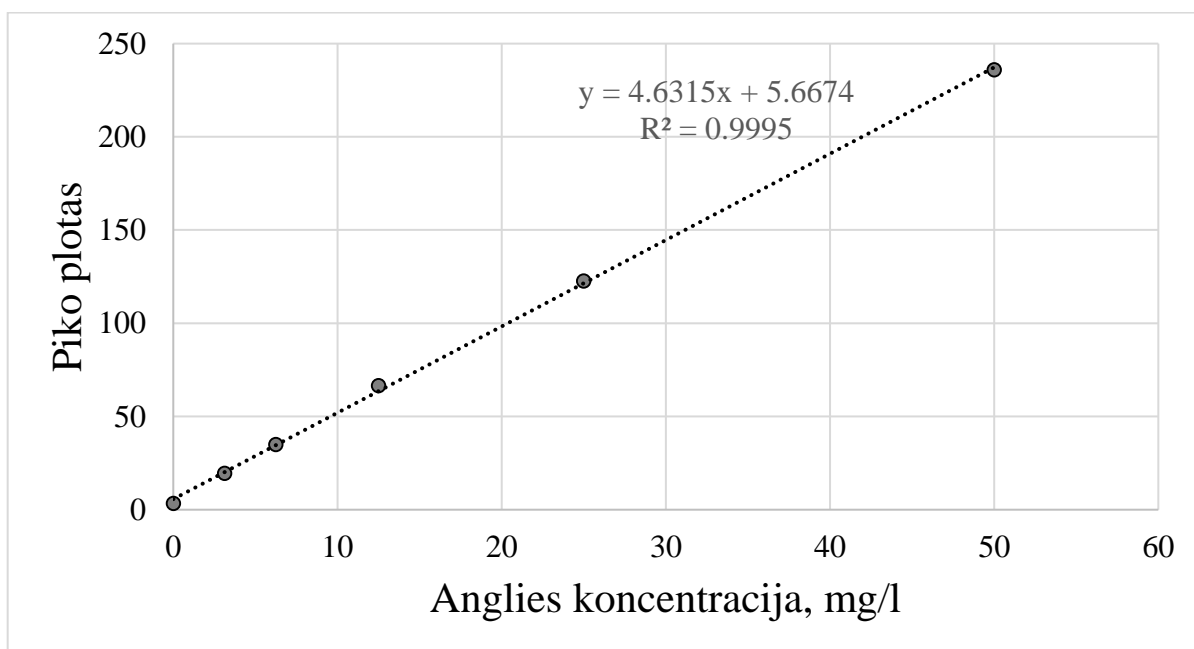
IOA pašalinimo pajėgumas (IOA_{pa} , %) per laiką t paskaičiuotas pagal formulę:

$$IOA_{pa} = \left(1 - \frac{c_t}{c_A}\right) \times 100,$$

kurioje c_t yra IOA koncentracija po laiko t , c_A yra IOA koncentracija testo pradžioje, į terpę pridėjus skaidomo anglies šaltinio. Biodegradacijos kreivės sudarytos grafiko abscisių ašyje atidedant

laiką, o ordinačių ašyje – išmatuotos IOA kiekį procentais, lyginant su IOA kiekiu testo pradžioje, praėjus apie 2 min po anglies šaltinio pridėjimo.

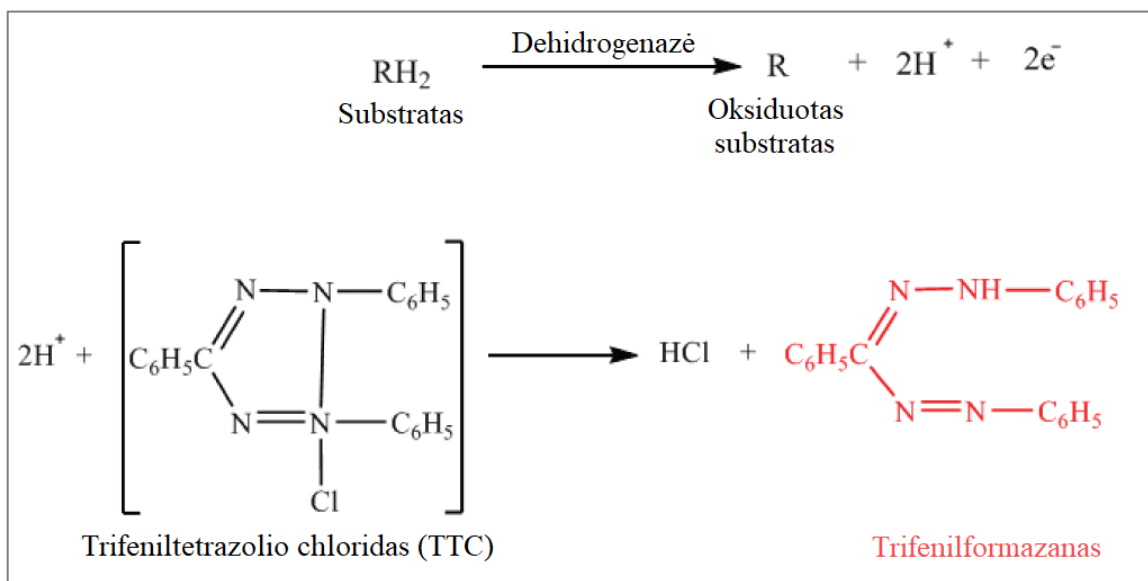
Bendrosios organinės anglies analizatorius sukalibruotas vadovaujantis gamintojo instrukcija. Kalibracinei kreivei sudaryti naudotas KHP (kalio hidroftalato, *Merck*, $\geq 99,95\%$) vandeninis tirpalas. Pagrindinis tirpalas (1000 mg anglies/l) paruoštas pasveriant 1,0625 g 1 valandą 105 °C temperatūroje išdžiovinto KHP ir ištirpinant jį 500 ml distiliuoto vandens. Standartiniai tirpalai pagaminti pagrindinį tirpalą atitinkamai skiedžiant distiliuotu vandeniu, kad būtų gauti 3,125, 6,25, 12,5, 25 ir 50 mg anglies/l koncentracijų tirpalai. Tirpaluose išmatuota BOA koncentracija kalibraciniame grafike prilyginta gautam signalo piko plotui (6 paveikslas).



6 pav. Bendrosios organinės anglies koncentracijos kalibracinė kreivė

2.4 Aktyviojo dumblo dehidrogenazių aktyvumo analizė

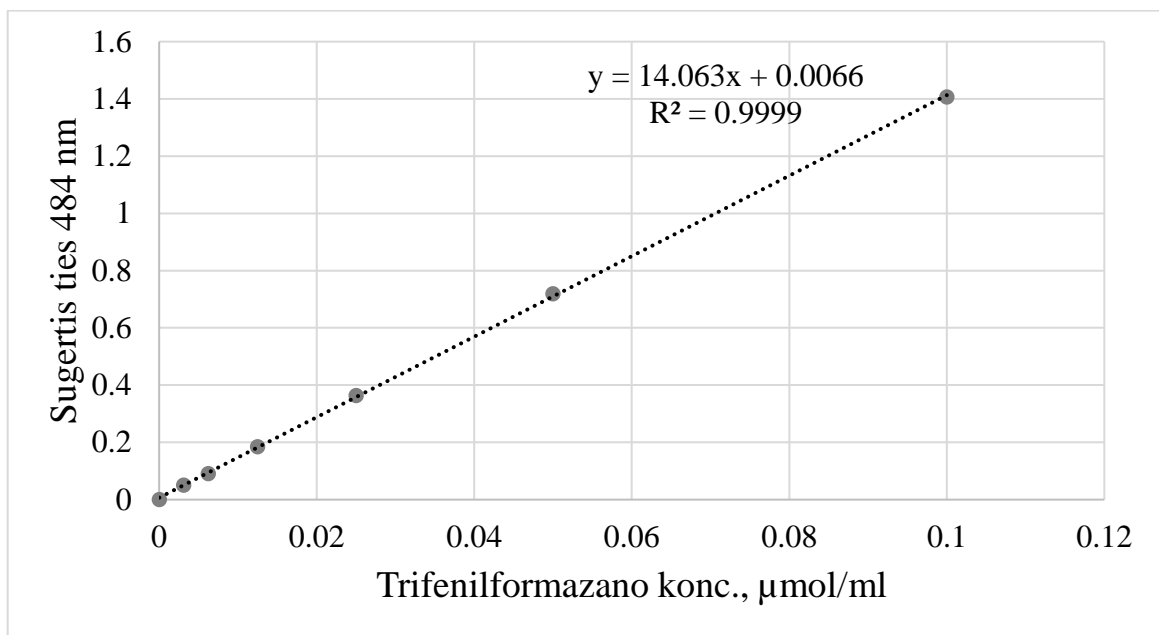
Tyrimas atliktas vadovaujantis literatūroje aprašyta metodika [93, 94]. TTC (2,3,5 – trifeniltetrazolio chloridas, *Sigma*, $\geq 95\%$) buvo tetrazolio druska, naudota dehidrogenazės testui. TTC – gliukozės reagentas (1 g gliukozės ir 2 g TTC ištirpinti 100 ml distiliuoto vandens) paruoštas ir laikytas tamsoje, 4 °C temperatūroje. TF (trifenilformazanas, *Merck*, $\geq 90\%$) naudotas kalibracinės kreivės, kurioje pavaizduota optinio tankio (A_{484}) priklausomybė nuo TF koncentracijos, sudarymui. Metodo principas pavaizduotas 7 paveiksle.



7 pav. Dehidrogenazių lemiamą TTC redukcija iki TF [93]

Tyrimo eiga: 1 ml aktyviojo dumblo pavyzdžio pipete perkelta į keturis mėgintuvėlius. TTC – gliukozės tirpalas (1 ml) ir 1 ml distiliuoto vandens pridėti į mėgintuvėlius (į kontrolinį mėgintuvėlį vietoje TTC – gliukozės tirpalo įdėta 1 ml distiliuoto vandens). pH sureguliuotas iki 7 naudojant 1.0 N HCl tirpalą, mėgintuvėlių turinys švelniai sumaišytas. Mėgintuvėliai inkubuoti 1 val. kambario temperatūroje (apie 25 °C). Mėgintuvėliai tada nucentrifuguoti 10 min, taip atskiriant ląsteles nuo terpės komponentų. TF ekstrakcija atlikta 3 kartus kaskart naudojant 2,5 ml etanolio. Visi pavyzdžiai gerai supurtyti taip išskiriant TF iš ląstelių. Tada mėginiai nucentrifuguoti, ląsteles atskiriant mėgintuvėlių apačioje. Visų trijų ekstraktų supernatantai supilti kartu ir spektrofotometru HACH DR/4000V (JAV) išmatuota jų 484 nm bangos ilgio šviesos spindulio sugertis naudojant 10 mm pločio vienkartinės kiuvetes. Su kiekviena mėginių serija atliktas tuščio mėginio matavimas, kurio metu vietoje AD pavyzdžio į mėgintuvėlį pridėta 1 ml distiliuoto vandens. Visi DHG skaičiavimai atlikti iš gautos sugerties reikšmės atėmus tuščio mėginio sugerties vertę.

Kalibracinė kreivė sudaryta norint nustatyti TF koncentraciją, atitinkančią sugertį ties 484 nm. Pradinis 0,2 μmol/ml tirpalas pagamintas ištirpinant 0,03 g TF 500 ml etanolio (96 % tūrio). Tirpalas praskiestas etanolio pagaminant 6 tirpalus, kurių TF koncentracija buvo nuo 0,003125 μmol/ml iki 0,1 μmol/ml. Kiekvieno tirpalo sugertis matuota spektrofotometru, nustatytas bangos ilgis 484 nm. Sugerties rezultatai lyginti su žinoma paruoštų tirpalų TF koncentracija (8 paveikslas). Tuščio mėginio (gryno etanolio) sugertis prilyginta nuliui.



8 pav. TF koncentracijos kalibracinė kreivė

Specifinis aktyviojo dumblo dehidrogenazių aktyvumas, išreikštas $\mu\text{mol TF}$, susidariusio po 1 val. inkubacijos veikiant 1 g AD (DHA, $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$), apskaičiuotas:

$$\text{DHA} = \frac{C_{TF} \times 1000}{C_{AD} \times t}$$

C_{TF} yra TF koncentracija, paskaičiuota iš kalibracinės kreivės, išreikšta $\mu\text{mol/ml}$ tirpiklio; t yra inkubacijos laikas, h.

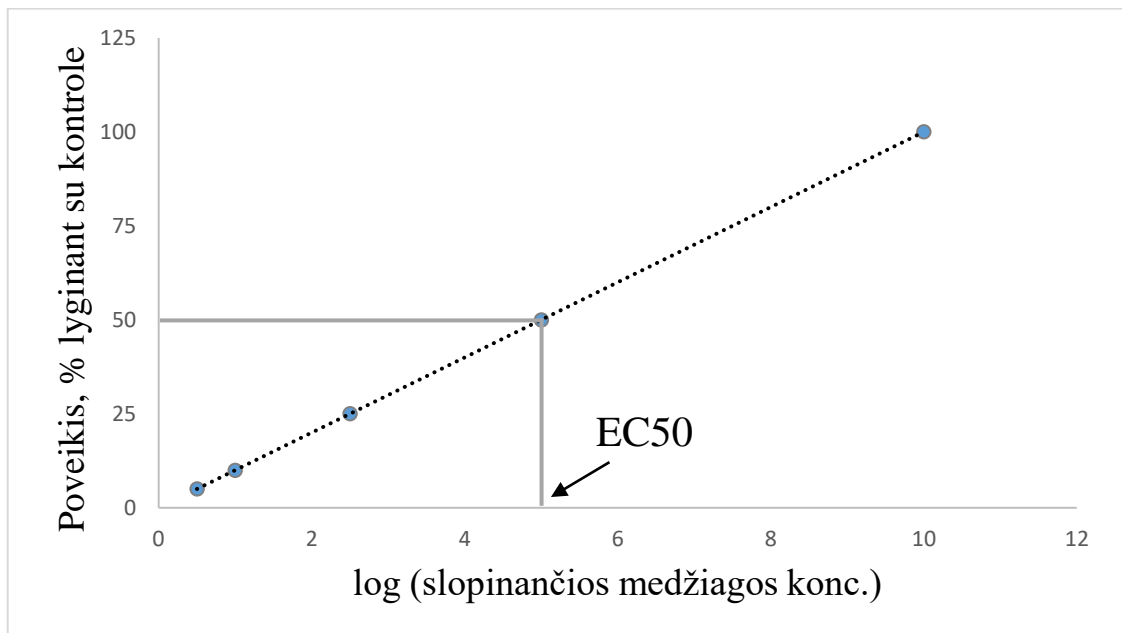
2.5 Skaičiavimai ir duomenų apdorojimas

EC50 paskaičiuota iš grafiko, gauto 3,5 – dichlorfenolio koncentracijos logaritmą atidedant abscisių ašyje, o slopinančio poveikio reikšmes, išreikštas procentais lyginant su kontroliniu mėginiu, atidedant ordinačių ašyje. Gautas pusiau logaritminis grafikas, EC50 vertė nustatyta iš grafiko lygties.

IOA suvartojimo slopinimas paskaičiuotas atsižvelgiant į IOA suvartojimo pajėgumą pagal formulę:

$$\text{Slopinimas, \%} = \left(1 - \left(\frac{\text{IOA}_{pa} (\text{pavyzdžio})}{\text{IOA}_{pa} (\text{kontrolinio mėginio})} \right) \right) \times 100$$

Pusiau logaritminio grafiko pavyzdys pavaizduotas 9 paveiksle.



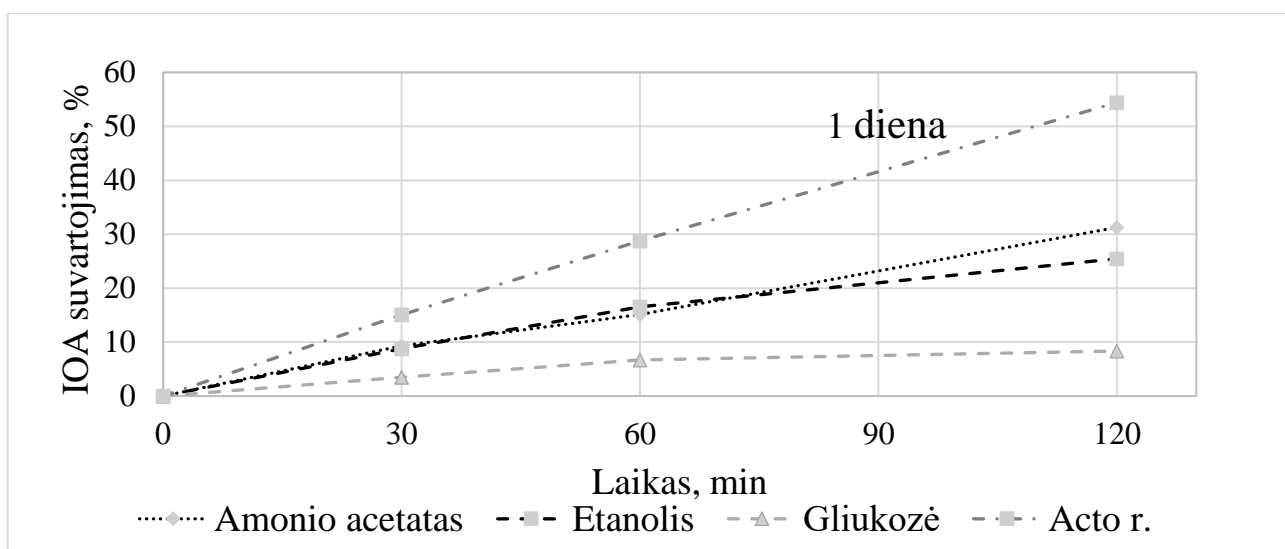
9 pav. Standartinis poveikio, priklausančio nuo medžiagos koncentracijos, pusiau logaritminis grafikas

Visi skaičiavimai atlikti programine įranga MS Excel 2016.

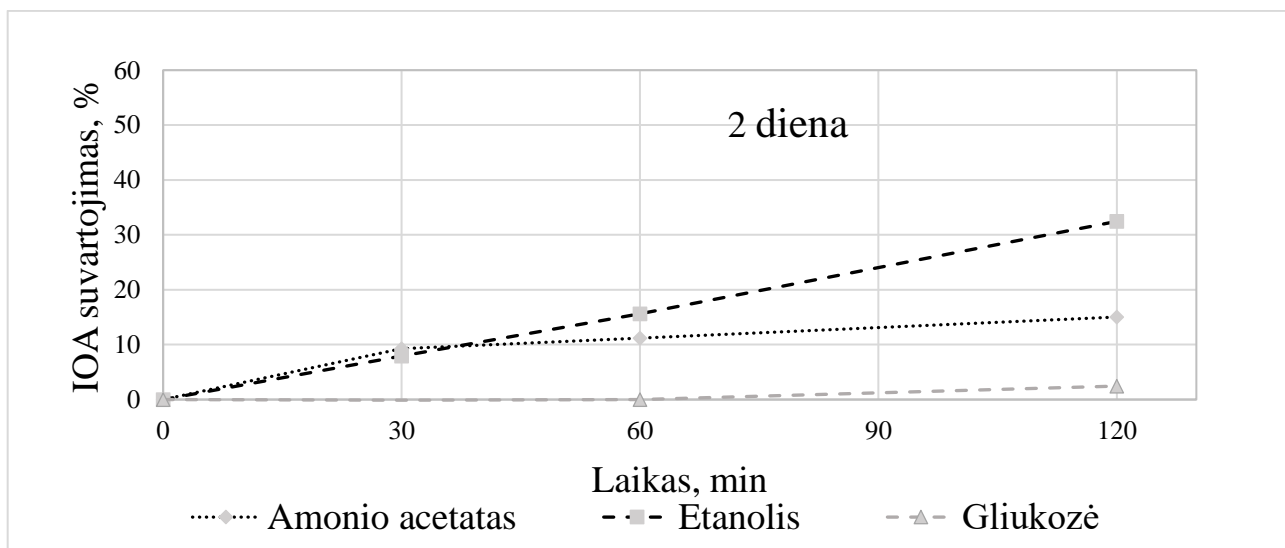
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Substrato parinkimas ištirpusios organinės anglies suvartojimo analizei

Bandymai atlikti su AD1, kaip substratus IOA suvartojimo vertinimui parinkus amonio acetatą, etanolį, gliukozę ir acto rūgštį [12, 59, 61]. Į reaktorių talpas šie anglies šaltiniai pridėti tokiomis koncentracijomis, kad jų IOA koncentracija reaktoriuje būtų 200 mg/l. Siekiant išvengti didelės organinės anglies šaltinių koncentracijos neigiamo poveikio AD, jie distiliuotu vandeniu praskiesti iki maždaug 100 ml. AD praskiestas taip, kad galutinė C_{AD} visuose bioreaktoriuose būtų vienoda, t. y. apie 1,5 g/l. Bandymai atlikti dvi dienas iš eilės, IOA koncentracija matuota 2 valandas. Tyrimų rezultatai pateikti grafikuose, 10 ir 11 paveiksluose.



10 pav. Skirtingų substratų suvartojimo rezultatai, 1 diena



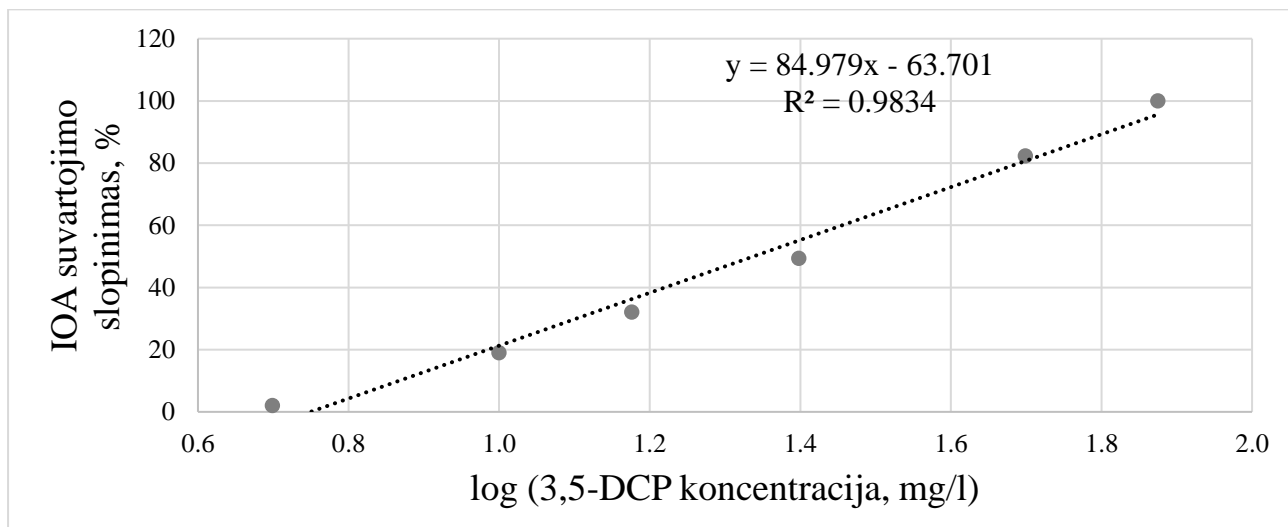
11 pav. Skirtingų substratų suvartojimo rezultatai, 2 diena

Iš grafikų matyti, kad AD1 lėčiausiai skaidė gliukozę: per dvi valandas jos suskaidyta 8 % ir 3 % pirmąją ir antrąją bandymo dieną, atitinkamai. Acto rūgšties koncentracija pirmąją dieną sumažėjo labiausiai, tačiau jos pridėjus į terpę, pH sumažėjo iki 4,2, kuris nėra optimalus AD sistemai. Dėl to antrąją dieną šio substrato suvartojimas nebuvo tiriamas. Amonio acetatą AD1 skaidė palyginti greitai (per 2 valandas jo koncentracija terpėje sumažėjo 31 %), tačiau ši medžiaga taip pat lėmė terpės pH pokyčius: pirmąją dieną terpės pH padidėjo iki 8,5, o antrąją dieną iki 9,2. AD1 etanolį skaidė pakankamai greitai, t. y. per 2 valandas jo koncentracija sumažėjo 24 %, o antrąją eksperimento dieną per tą patį laiką etanolio bioreaktoriuje buvo suvartota 32 %. pH reikšmės reaktoriuose su etanoliumi ir gliukoze išliko panašios į pradines, t. y. apie 7,8.

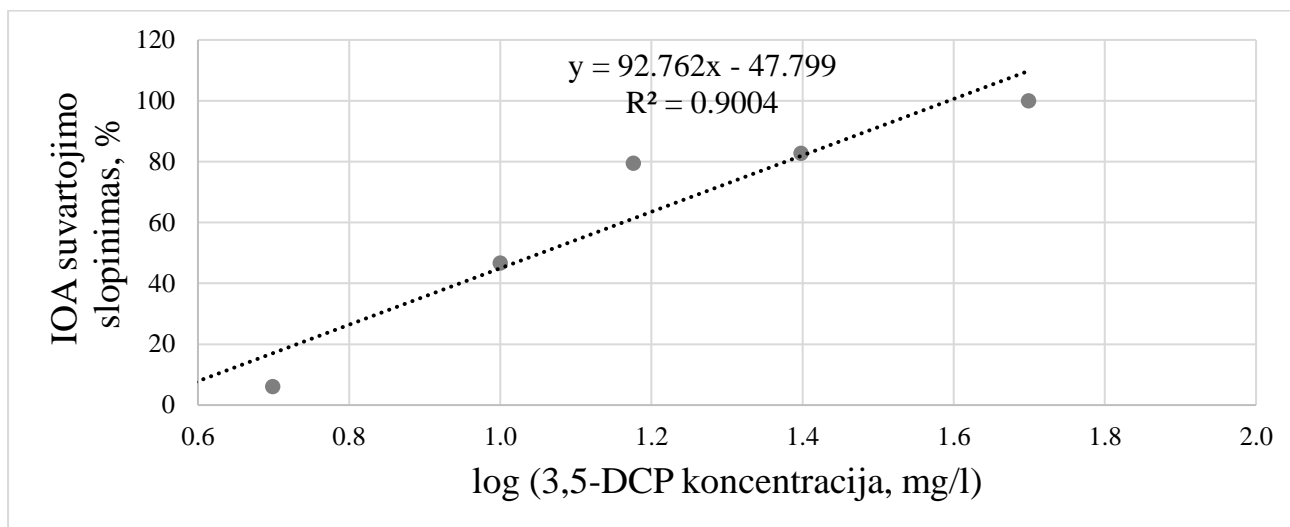
Kaip mitybinę medžiagą naudojant amonio acetatą, aktyviojo dumblo, net ir nepaveikto toksinu, skaidymo geba silpnėja. Tai galima paaiškinti bandymui parinkto substrato savybe padidinti terpės pH iki biologiniam skaidymui neoptimalių reikšmių. Tolimesniems tyrimams kaip anglies šaltinis pasirinktas etanolis.

3.2. Aktyviojo dumblo jautrumo toksiniam poveikiui vertinimas

EC50 nustatyta įvertinus AD1 ir AD2 sistemų gebėjimo pasisavinti organinės anglies šaltinį (etanolį) slopinimą. Ši koncentracija paskaičiuota įvertinant IOA reikšmes, gautas bandymą vykdžius 2 valandas. AD bandymų metu praskiestas taip, kad galutinė dumblo sausųjų medžiagų koncentracija visuose bioreaktoriuose būtų apie 1,5 g/l. 3,5-DCP į terpę pridėta nuo 5 mg/l iki 75 mg/l, prieš bandymą pridėta etanolio, kurio galutinė koncentracija atitinka 200 mg/l IOA. Tirpalai prieš juos supilant į reaktoriaus talpas praskiesti iki maždaug 100 ml. IOA suvartojimo slopinimas priklausomai nuo 3,5-DCP koncentracijos pavaizduotas 12 ir 13 paveiksluose.



12 pav. 3,5-DCP poveikis IOA suvartojimui AD1 sistemoje



13 pav. 3,5-DCP poveikis IOA suvartojimui AD2 sistemoje

Sistemoje su AD1 EC50 nustatyta 21,78 mg/l 3,5-DCP, o sistemoje su AD2 EC50 vertė gauta 11,33 mg/l 3,5-DCP. Abiejų bandymų metu IOA suvartojimą pavyko visiškai nuslopinti į sistemą pridėdant pakankamai didelės 3,5-DCP koncentracijos tirpalų. Reaktoriuje su AD1 IOA nebeskaidyta pridėjus 75 mg/l 3,5-DCP, o AD2 gebą suvartoti IOA visiškai nuslopino 50 mg/l 3,5-DCP koncentracija.

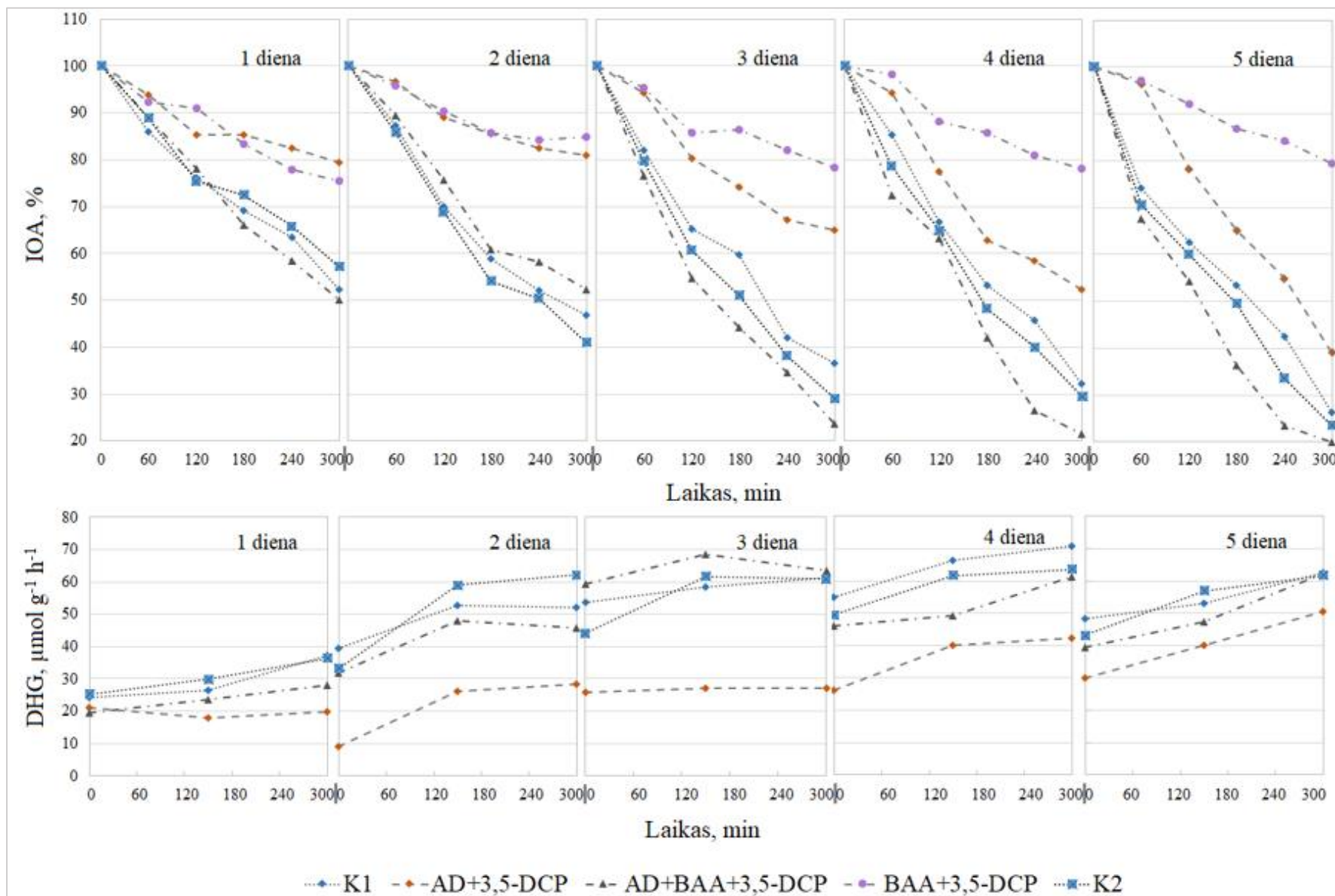
Gauti tyrimų rezultatai parodo, kad AD iš buitinių nuotekų valymo įrenginių yra jautresnis toksino poveikiui, negu AD, prisitaikęs skaidyti naftos junginius, t. y., EC50 priklauso nuo bandymams parinkto AD kilmės. Vienų tyrėjų duomenimis, AD šaltinis neturi įtakos atsakui į toksiškumą, dėl to aktyviojo dumblo pasirinkimas bandymų rezultatams didelės reikšmės neturi [67]. Kiti autoriai nustatė, kad, priklausomai nuo AD kilmės, jo atsparumas toksinams skiriasi, dėl to analogiškų bandymų metu ta pati toksino koncentracija skirtingos kilmės AD aktyvumą slopina nevienodai: bandymuose, kuriuose vertintas specifinis deguonies suvartojimo greitis veikiant tokiems toksinams kaip Cu^{2+} , fenolis, amoksicilinas ir natrio alkilbenzeno sulfonatas, pastebėta, kad AD iš reaktoriaus, į kurį tiekta sintetinės nuotekos be kenksmingų junginių, ir AD iš duonos ir pyrago gaminių kepyklos nuotekų valymo įrenginių yra mažiau atsparūs toksiniams junginiams, lyginant su AD iš pramoninių nuotekų valyklos, į kurią patenkančiose nuotekose yra antibiotikų liekanų ir kitų potencialiai toksiškų medžiagų [95]. Literatūros duomenimis, AD jautrumas 3,5-DCP poveikiui priklauso nuo pramoninių nuotekų kiekio, patenkančio į valymo įrenginius: EC50 vertė amperometriniiais biosensoriais nustatyta net 249 mg/l, kai pramoninės nuotekos sudaro 35 % bendro nuotekų kiekio, ir vos 12,5 mg/l, kai į AD sistemą pramoninių nuotekų patenka 20 % nuo bendro

nevalytų nuotekų kiekio [62]. Šių bandymų metu patvirtinta, kad AD, prisitaikęs skaidyti sunkiai biologiškai skaidžius žaliavinės naftos junginius, iš tiesų yra mažiau jautrus toksinų poveikiui.

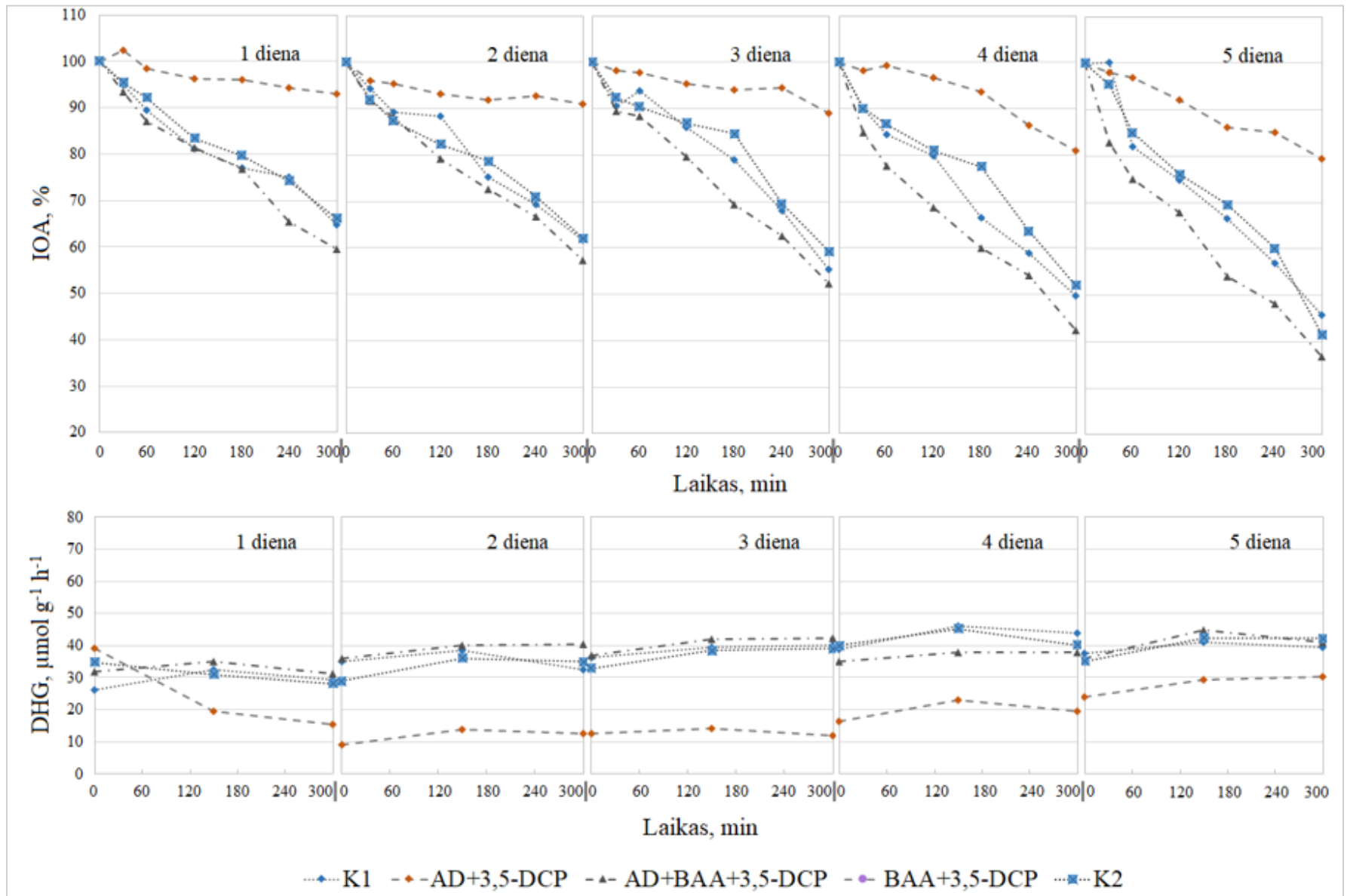
Literatūroje nurodoma, kad priimtinos 3,5-DCP EC50 vertės AD sistemoje yra 5 – 30 mg/l [67]. Abiejų bandymų metu gauti rezultatai atitinka šias ribas, todėl IOA suvartojimo slopinimą galima laikyti tinkamu kriterijumi šio toksino poveikiui įvertinti.

3.3. Skirtingų aktyviojo dumblo sistemų našumas veikiant jas toksinu

Šių bandymų metu į AD1 ir AD2 reaktorius buvo pridėta 15 mg/l 3,5-DCP, sistemos atsakas į šią toksino koncentraciją stebėtas 5 dienas, po 5 valandas kasdien. Į reaktorius kasdien pridėta etanolio, kurio koncentracija atitinka 200 mg/l IOA. Etanolis ir 3,5-DCP tirpalai prieš supilant juos į reaktorius distiliuotu vandeniu praskiesti iki maždaug 100 ml. AD skiestas taip, kad galutinė jo koncentracija, išreikšta kaip netirpių sausųjų medžiagų kiekis, visų bandymų metu būtų 1,5 g/l. Į dalį reaktorių pridėta po 10,75 g/l BAA (t. y. 50 ml), t. y. toks kiekis, kuris leistų sistemos turiniui pakankamai maišytis veikiant orapūtei. Bandymų metu taip pat tirtas alternatyvus AD sistemos aktyvumo kriterijus – AD dehidrogenazių aktyvumas. Tyrimų rezultatai pateikti 14 ir 15 paveiksluose. Grafikuose: K1 ir K2 – kontroliniai reaktoriai, į kuriuos pridėtas tik AD ir substratas; AD + 3,5-DCP – reaktorius, į kurį pridėta AD, skaidomo substrato ir 15 mg/l 3,5-DCP; AD + BAA + 3,5-DCP – į šį reaktorių be AD dar pridėta 10,75 g/l (viso 50 ml) BAA bei 15 mg/l 3,5-DCP; BAA + 3,5-DCP – tai reaktorius, į kurį pridėta 10,75 g/l BAA ir 15 mg/l 3,5-DCP, tūris iki 2 l papildytas kambario temperatūros vandentiekio vandeniu. DHG netirtas pastarajame reaktoriuje. IOA kiekio reaktoriuose ir DHG pokyčiai bandymo metu pavaizduoti 14 ir 15 paveiksluose.



14 pav. IOA biodegradacijos (viršutinis grafikas) ir DHG aktyvumo (apatinis grafikas) dinamika tiriant 3,5-DCP poveikį AD1 sistemai



15 pav. IOA biodegradacijos (viršutinis grafikas) ir DHG aktyvumo (apatinis grafikas) dinamika tiriant 3,5-DCP poveikį AD2 sistemai

Pirmąją dieną AD1 kontroliniuose reaktoriuose terpėje esantis IOA kiekis per 5 valandas sumažėjo 45,2 %, o penktąją dieną per tą patį laiką jis sumažėjo 75,1 %. Didžiausi IOA suvartojimo skirtumai tarp kontrolinių ir toksinu paveiktų AD1 reaktorių matyti 2 – 3 eksperimento dienomis (IOA suvartojimo per 5 val. skirtumas, lyginant su kontrole, buvo 40,0 % ir 32,2 %, atitinkamai). Paskaičiuotas IOA suvartojimo slopinimas šiomis dienomis siekė apie 65,9 % ir 48,0 % lyginant su kontrole, atitinkamai. Nors pirmąją dieną IOA suvartojimo skirtumas tarp kontrolinio AD1 reaktoriaus ir AD1 reaktoriaus su pridėtu toksinu po 5 valandų buvo tik 24,6 %, šio parametro slopinimas siekė 54,4 %. Penktąją dieną IOA suvartojimo slopinimas tesiekė 18,8 %, lyginant su AD1, nepaveiktu 3,5-DCP, t. y. buvo 2,89 karto mažesnis nei pirmąją dieną. BAA pasižymėjo pastovia, nedidele IOA šalinimo geba, kuri siekė apie 20 % viso bandymo metu.

IOA suvartojimas kontroliniuose AD2 reaktoriuose padidėjo nuo 34,5 % per 5 val. pirmąją dieną iki 56,4 % per tą patį laiko tarpą penktąją bandymo dieną. 3,5-DCP AD2 reaktoriuose IOA suvartojimą 1-ąją dieną slopino 79,9 %, penktąją dieną – 63,6 %, t. y. slopinimas sumažėjo 1,26 karto.

Iš pateiktų grafikų matyti, kad AD1 biomasėje nustatytos didesnės DHG vertės, lyginant su AD2: kontroliniuose AD1 reaktoriuose praėjus 3 val. po etanolio pridėjimo DHG nustatyta vidutiniškai $36,85 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$, o AD2 reaktoriuose – $28,82 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$. Eksperimento eigoje DHG vertės didėjo abejose sistemose, tačiau AD1 pasižymėjo ženkliai didesniu DHG augimu: penktąją bandymų dieną 3 val. po etanolio pridėjimo kontroliniuose reaktoriuose nustatytas vidutiniškai $62,20 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ DHG, tuo tarpu AD2 kontroliniuose reaktoriuose po to paties laiko tarpo DHG nustatytas $40,86 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$. 3,5-DCP pasižymėjo geba mažinti AD DHG abejose tirtose sistemose. Slopinantis efektas AD1 sistemoje jau pirmąją bandymo dieną praėjus 3 val. po toksino pridėjimo siekė 46,0 %, lyginant su kontrole, o AD2 sistemoje – 63,0 %. Tyrimo pabaigoje, penktąją dieną, slopinimas AD1 sistemoje sumažėjo iki 18,7 %, o AD2 sistemoje – iki 25,5 % praėjus 3 val. po etanolio pridėjimo į reaktorių, lyginant su kontrole. Nustatyta, kad DHG padidėja į sistemą pridėjus lengvai skaidomo substrato. DHG padidėjimas į reaktorių pridėjus etanolio pastebėtas ir tiriant AD, paveiktą toksinu.

Atlikti tyrimai parodė, kad absoliutūs IOA suvartojimo skirtumai tarp kontrolinių mėginių ir mėginių, paveiktų toksinu, yra mažiau informatyvūs, nei IOA suvartojimo gebos slopinimo reikšmės, lyginant su kontrole. Taip yra todėl, kad AD geba suvartoti terpėje esančią IOA pirmąją dieną buvo didelė. Vėlesnėmis dienomis IOA suvartojimo geba išaugo, tai galėjo lemti AD savybė prisitaikyti prie substrato skaidymo. Tiek IOA suvartojimo gebos, tiek DHG vertinimas parodė, kad AD iš buitinių nuotekų valymo įrenginių yra jautresnis 3,5-DCP, nei AD prisitaikęs skaidyti naftos angliavandenilius. AD1 aktyvumas, paveikus šiuo toksinu, taip pat atsistato lėčiau. Nustatyta, kad

AD1 labiau prisitaikęs skaidyti etanolį, tai matyti iš didesnio IOA suvartojimo greičio ir DHG augimo. Reaktoriuose, į kuriuos pridėta AA ir 3,5-DCP, tiek IAO skaidymo gebos, tiek DHG vertės viso eksperimento metu išliko panašios į vertes, gautas tiriant kontrolinius mėginius. Tai rodo AA gebą sistemą apsaugoti nuo ant jos sorbuojamo toksino poveikio. Pastebėtas nedidelis AA priedo teigiamas poveikis IOA skaidymui: AD1 sistemoje pirmąją bandymo dieną per 5 val. šiame reaktoriuje IOA suvartota 4,72 %, o penktąją dieną – 4,91 % daugiau, nei kontroliniuose reaktoriuose, o AD2 sistemoje šie skirtumai siekė 5,96 % ir 6,95 %, atitinkamai. Reaktoriuje, į kurį nepridėta AD suspensijos, IOA šalinimo geba sieta su AD, sorbuoto ant GAA, aktyvumu.

Gauti tyrimų rezultatai parodo, kad svarbu užtikrinti pastovias DHG matavimo sąlygas kiekvieną eksperimento dieną. DHG tyrimu greitai nustatomas AD aktyvumo sumažėjimas, tačiau jis priklauso nuo terpėje esančio mitybinio substrato kiekio.

Kitų tyrėjų duomenimis, toksinių junginių (benzenų, fenolių ir anilinų) poveikis AD po ilgesnės veikimo trukmės (24 val.) yra mažesnis, negu poveikis po 30 min, pavyzdžiui, tolueno EC50 respirometriniu metodu po 24 val. nustatyta 0,474 g/l, o po 30 min. ši vertė buvo 0,053 g/l. Tai siejama su AD prisitaikymu prie toksinų per ilgesnį laiko tarpą [11]. Šių tyrimų metu gauti rezultatai sutampa su literatūros duomenimis.

Po dviejų valandų inkubacijos su 3,5-DCP Broecker *et al.* nustatė, kad mažiausia toksinį poveikį sukianti 3,5-DCP koncentracija yra 5 mg/l, tačiau didelės 3,5-DCP apkrovos nesukelia numatyto biodegradacijos sulėtėjimo, stebėti tik saikingi biologinio skaidymo greičio svyravimai. Šis neigiamas poveikis beveik ar visiškai išnyko po kelių savaičių, tai taip pat sieta su bakterijų geba prisitaikyti prie toksino [96].

Tirdami sunkiųjų metalų poveikį AD, Feng *et al.* parodė, kad yra tiesioginė koreliacija tarp substrato suvartojimo greičio ilgalaikio proceso metu ir dehidrogenazių aktyvumo trumpalaikių biologinių testų, naudojant 2-(p-jodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil tetrazolio chloridą, metu. Dėl to dehidrogenazių aktyvumas gali būti taikomas kaip efektyvus metodas AD sistemų eksploatacinėms savybėms vertinti veikiant slopinantiems junginiams [97].

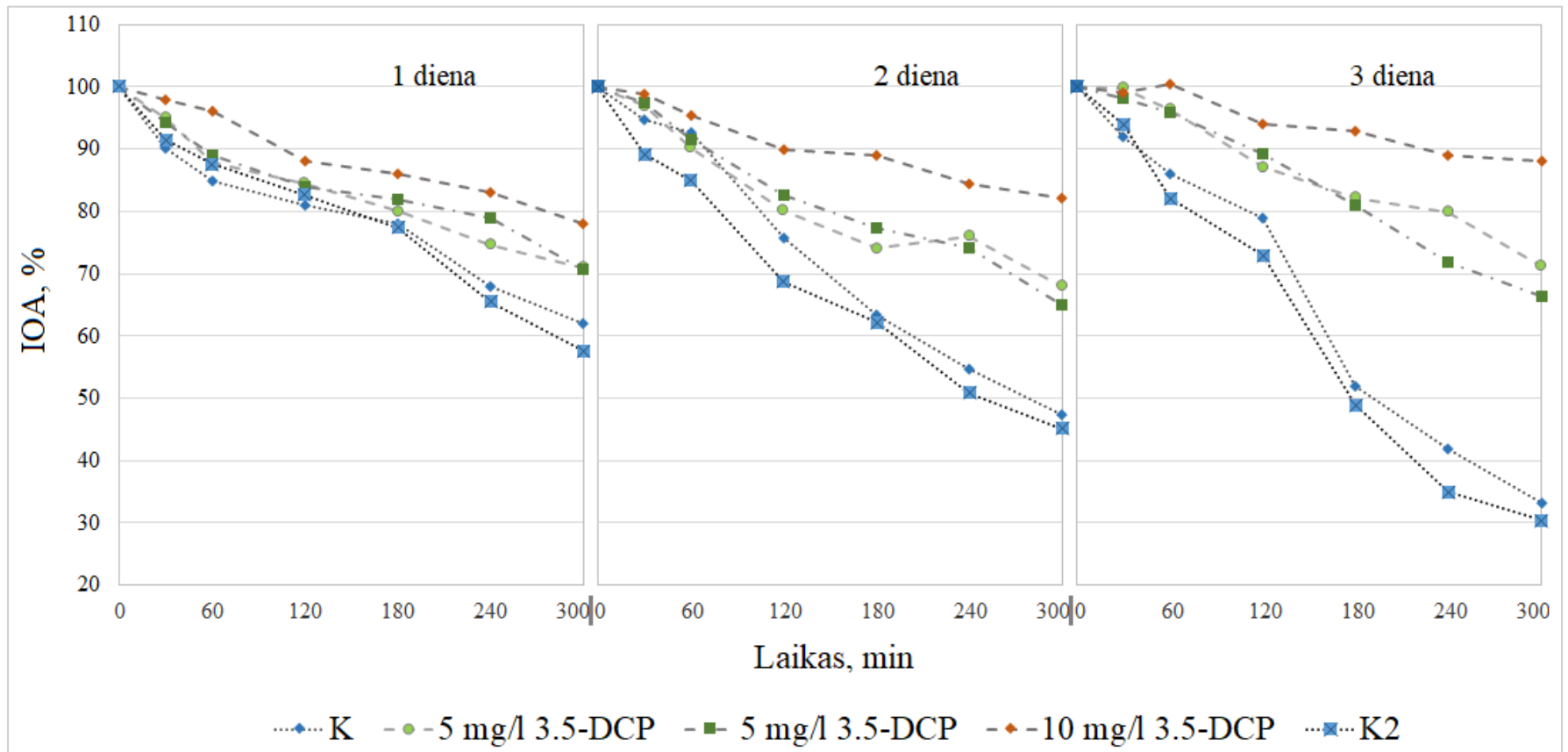
3.4 Suminio toksino poveikio analizė skirtingose aktyviojo dumblo sistemose

Šiam tyrimui pasirinktas AD1, kadangi jis pasižymėjo geresne geba skaidyti IOA, dėl to tyrimo rezultatus lengviau interpretuoti. Į reaktorių su AD1 tris dienas iš eilės pridėta 5 arba 10 mg/l 3,5-DCP, šias dienas stebėtas toksino poveikis IOA skaidymo greičiui. Kaip anglies šaltinis naudotas etanolis, kasdien pridėtas jo kiekis atitinka galutinę 200 mg/l IOA koncentraciją. Į reaktorių su AD1

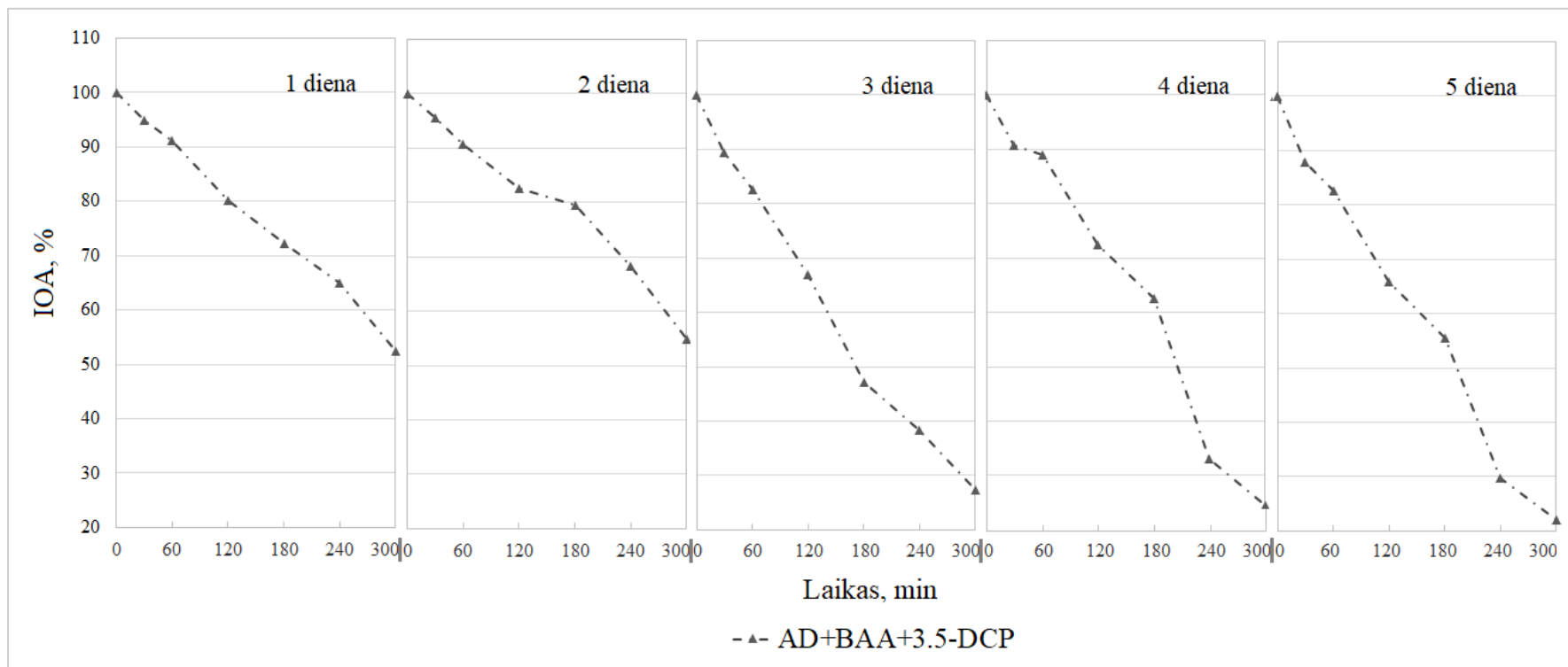
ir BAA (10,75 g/l) 3,5-DCP pridėta po 20 mg/l kasdien, penkias dienas iš eilės. Substratas ir 3,5-DCP tirpalai prieš supilant juos į reaktorius distiliuotu vandeniu praskiesti iki maždaug 100 ml. Visuose reaktoriuose AD koncentracija, išreikšta kaip netirpių sausųjų medžiagų kiekis, bandymo pradžioje buvo 1,5 g/l. Tyrimų rezultatai pateikti 16 ir 17 pav. Šiuose grafikuose: K1 ir K2 – kontroliniai reaktoriai, į kuriuos pridėta tik AD ir substrato; 5 mg/l 3,5-DCP – reaktoriai, į kuriuos pridėta AD, kasdien taip pat įdėta skaidomo substrato ir po 5 mg/l 3,5-DCP; 10 mg/l 3,5-DCP – reaktoriai, į kuriuos pridėta AD, kasdien taip pat įdėta skaidomo substrato ir po 5 mg/l 3,5-DCP; AD+BAA+3,5-DCP – reaktorius, į kurį įdėta AD ir BAA, kasdien pridėta substrato ir po 20 mg/l 3,5-DCP.

Nustatyta, kad į sistemą papildomai pridedant 3,5-DCP, jo poveikis stiprėja: pirmąją dieną reaktoriuje, į kurį pridėta 5 mg/l 3,5-DCP, IOA suvartojimas po 5 valandų nuslopintas 27,5 %, trečiąją dieną slopinimas buvo 55,9 %. Reaktoriuje, į kurį kasdien pridėta po 10 mg/l 3,5-DCP, pirmąją dieną po 5 valandų poveikio trukmės IOA suvartojimas nuslopintas 47,5 %, trečiąją dieną slopinimas buvo 83,3 %, lyginant su kontrole. Reaktoriuose su BAA, į kuriuos kasdien pridėta po 20 mg/l 3,5-DCP, slopinančio poveikio nepastebėta. IOA suvartojimas šiuose reaktoriuose pirmąją ir trečiąją bandymo dienomis buvo didesnis, negu kontroliniuose reaktoriuose (8 % ir 3 %, atitinkamai), kitomis dienomis IOA suvartojimas toliau augo.

IOA suvartojimo vertinimo metodu patvirtinta, kad AA apsaugo AD sistemą nuo toksinio junginio, kuris yra ant jos sorbuojamas, neigiamo poveikio. Toksino veikiamoje sistemoje su BAA IOA suvartojimas išlieka panašus į reaktorių, į kuriuos nepridėta toksino. Literatūroje nurodoma, kad 3,5-DCP sorbcijos ant AA gebą susilpnina terpėje esantys ekstraląsteliniai polisacharidai ir baltymai, bioplėvelė, susidariusi ant AA taip pat gali sutrikdyti 3,5-DCP pernašą iš skystos terpės į AA vidinį paviršių, taip sumažindama AA sorbcinę gebą. Tyrėjų duomenimis, 3,5-DCP sorbcija ant skirtingos kilmės AAM bioreaktoriuose atitinka tik 17 – 34 % šviežios AA sorbcinės gebos [43], dėl to 3,5-DCP sorbcijos ant AA tyrimai nėra pakankamai informatyvūs. Nustatyta, kad bandymo metu terpėje esanti BAA visiškai apsaugojo sistemą nuo neigiamo 3,5-DCP, kurio galutinė koncentracija buvo 100 mg/l, poveikio.



16 pav. IOA biodegradacijos dinamika į AD1 sistemą kasdien pridėnant 3,5-DCP

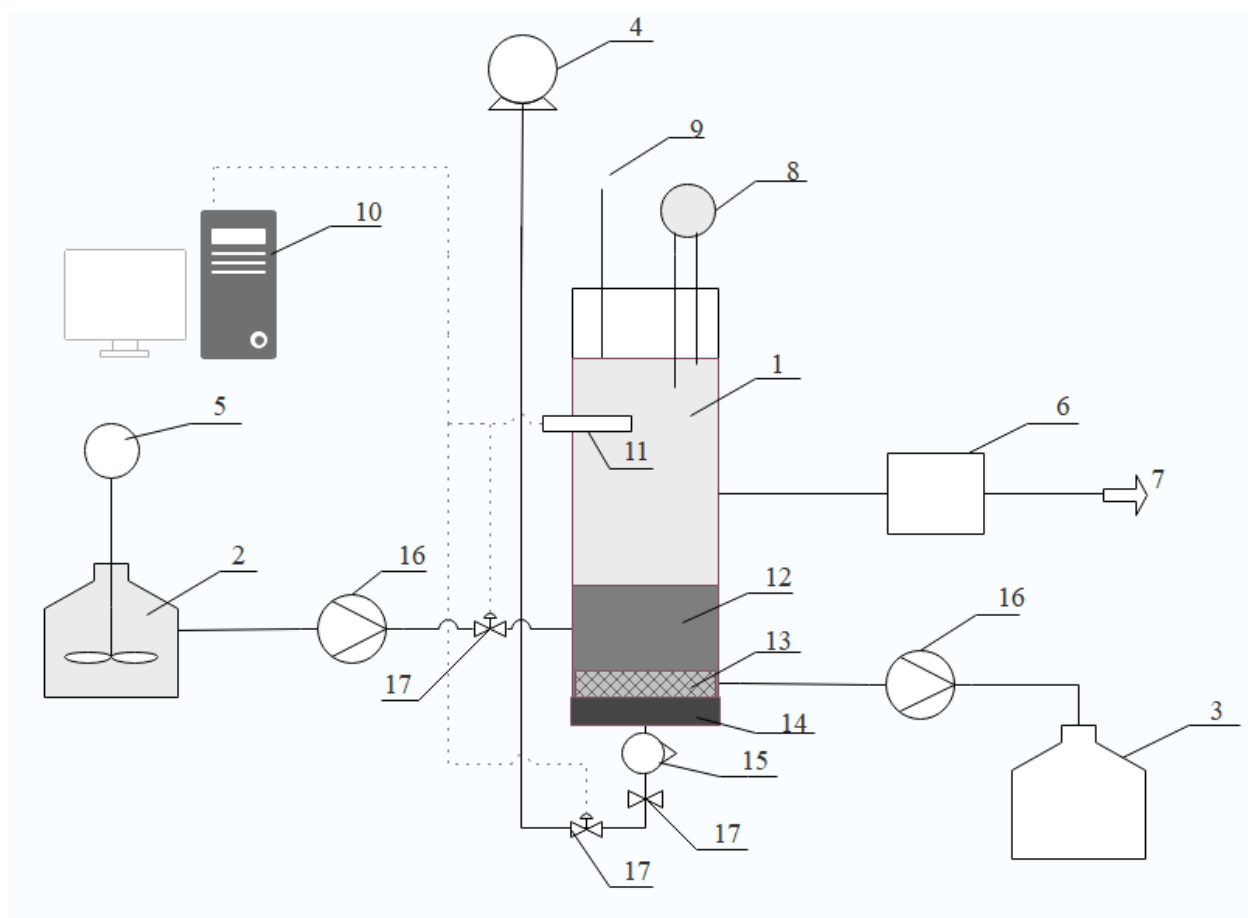


17 pav. IOA biodegradacijos dinamika į AD1 – BAA sistemą kasdien pridedant 3,5-DCP

4. REKOMENDACIJOS

Toksinio poveikio skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms tyrimų rezultatai parodė, kad aktyviojo dumblo dehidrogenazių aktyvumo reikšmės priklauso nuo organinės anglies šaltinio buvimo terpėje. Siekiant tinkamai įvertinti toksinį poveikį, rekomenduojama užtikrinti pastovias sąlygas viso eksperimento metu. Vertinant IOA suvartojimo gebą, skirtingos kilmės AD sistemoms rekomenduojama parinkti tinkamiausią substratą. Tyrimų metu parinktas substratas etanolis buvo tinkamas AD1 sistemos našumui vertinti, tačiau AD2 etanolį skaidė gerokai lėčiau.

Tolimesnių tyrimų metu kaip substratą taip pat rekomenduojama naudoti realias nuotekas, taip būtų galima geriau įvertinti galimą toksino poveikį biologinio nuotekų valymo sistemai. Norint tiksliau įvertinti toksino poveikį AD dehidrogenazių aktyvumui, rekomenduojama paskaičiuoti EC50 reikšmes šio parametro atžvilgiu. Daugiau informacijos apie toksinių junginių poveikį sistemai suteiktų jų biodegradacijos ir sorbcijos ant aktyvintosios anglies tyrimai. Tolimesniems tyrimams siūloma principinė aparatūrinė schema pavaizduota 18 pav.



18 pav. Aerobinio verdančio sluoksnio bioreaktoriaus principinė schema

Šioje schemoje: 1 – bioreaktoriaus korpusas; 2 – nevalytų nuotekų talpykla; 3 – išvalytų nuotekų talpykla; 4 – orapūtė; 5 – maišyklė; 6 – perteklinio dumblo ir terpės separatorius; 7 – perteklinis dumblas; 8 – lygio daviklis; 9 – mėginių ėmimo įtaisas; 10 – proceso valdymo sistema; 11 – ištirpusio deguonies, pH ir temperatūros davikliai; 12 – aktyvinta anglis; 13 – difuzorius; 14 – palaikantis sluoksnis; 15 – rotametas; 16 – siurbliai; 17 – vožtuvai.

5. IŠVADOS

Atliekant 3,5-dichlorfenolio poveikio skirtingoms aktyviojo dumblo sistemoms tyrimus, nustatyta, kad:

1. Ištirpusios organinės anglies pašalinimo gebos vertinimas yra tinkamas metodas siekiant iširti toksinio junginio poveikį veikliojo dumblo sistemos aktyvumui. Šis metodas yra nesudėtingas ir tiesiogiai susijęs su biologinio nuotekų valymo proceso tikslu. Eksperimentų rezultatai parodė, kad etanolis yra tinkamas substratas vertinant anglies suvartojimo gebą, kadangi jis skaidomas pakankamai greitai (tirtoje aktyviojo dumblo sistemoje jo koncentracija per 2 valandas sumažėjo 25,46 ir 32,48 % pirmąją ir antrąją eksperimento dienomis, atitinkamai), 0,05 % etanolio priedas neslopina aktyviojo dumblo aktyvumo ir neturi savybės keisti terpės pH (pH vertė reaktoriuose išlieka artima pradinei, t. y., apie 7,8).

2. 3,5-dichlorfenolis labiau slopina aktyviojo dumblo iš buitinių nuotekų valymo įrenginių aerotankų gebą iš sistemos pašalinti ištirpusią organinę anglį, lyginant su poveikiu didelio amžiaus aktyviajam dumblui, prisitaikiusiam skaidyti sunkiai biologiškai skaidžius naftos angliavandenilius. Tiriant šį parametą 3,5-dichlorfenolio EC50 vertės nustatytos 11,33 mg/l ir 21,78 mg/l, atitinkamai. Gauti rezultatai parodė, kad toksino poveikį svarbu įvertinti konkrečiai aktyviojo dumblo sistemai.

3. Skirtingos kilmės aktyvūs dumblas pasižymi nevienoda geba prisitaikyti prie toksino poveikio. Tiriant 15 mg/l 3,5-dichlorfenolio priedo įtaką aktyviojo dumblo gebai pasisavinti terpėje esantį anglies šaltinį, parodyta, kad toksino poveikis didelio amžiaus aktyviajam dumblui ilgainiui silpnėja labiau, nei poveikis aktyviajam dumblui iš buitinių nuotekų valymo įrenginių aerotankų. Pirmąją dieną ištirpusios organinės anglies suvartojimo slopinimas didelio amžiaus aktyviojo dumblo sistemoje siekė 54,4 %, o po penkių dienų, bandymo pabaigoje, šis poveikis sumažėjo 2,89 karto. 15 mg/l 3,5-dichlorfenolio priedas šio parametro reikšmes aktyviojo dumblo iš buitinių nuotekų valymo įrenginių sistemoje pirmąją dieną slopino 79,9 %, penktąją dieną slopinimas sumažėjo tik 1,26 karto. Slopinantis toksino poveikis dehidrogenazių aktyvumui didelio amžiaus aktyviojo dumblo sistemoje pirmąją bandymo dieną praėjus 5 val. po toksino pridėjimo siekė 46,0 %, lyginant su kontrole, o mažesnio dumblo amžiaus sistemoje – 63,0 %. Tyrimo pabaigoje, penktąją dieną, slopinimas šiose sistemose, lyginant su kontrole, sumažėjo iki 18,7 % ir 25,5 %, atitinkamai.

4. Patvirtinta aktyvintosios anglies apsauginė geba aktyviojo dumblo sistemai ją veikiant 3,5-dichlorfenoliu, kai į sistemą nuolat patenka šio toksino. Reaktoriuose su 10,75 g/l biologiškai aktyvintos anglies, į kuriuos kasdien pridėta po 20 mg/l 3,5-dichlorfenolio, toksino slopinančio

poveikio nepastebėta. Ištirpusios organinės anglies suvartojimas per penkias valandas šiuose reaktoriuose buvo didesnis, negu kontroliniuose reaktoriuose: pirmąją bandymo dieną jis buvo 8 % didesnis, trečiąją dieną skirtumas siekė 3 %.

6. LITERATŪROS SARAŠAS

1. DIYA'UDDEEN, B.H. et al. Treatment technologies for petroleum refinery effluents: A review. *Process Safety and Environmental Protection* [interaktyvus]. 2011, 8(9), 95 – 105 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2010.11.003>
2. CHAVAN, A., MUKHERJI, S.. Treatment of hydrocarbon-rich wastewater using oil degrading bacteria and phototrophic microorganisms in rotating biological contactor: effect of N:P ratio. *J Hazard Mater* [interaktyvus]. 2008 Jun 15; 154(1-3), 63 – 72 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.106>
3. BESTAWY, E. E., HELMY, S., HUSSEIN, H., FAHMY, M. Optimization and/or acclimatization of activated sludge process under heavy metals stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [interaktyvus]. 2013, 29 (4), 693 – 705 [žiūrėta 2017-09-16]. Prieiga per doi:[10.1007/s11274-012-1225-9](https://doi.org/10.1007/s11274-012-1225-9).
4. YUAN, L., ZHI, W., LIU, Y., KARYALA, S., VIKESLAND, P. J., CHEN, X., ZHANG, H. Lead Toxicity to the Performance, Viability, And Community Composition of Activated Sludge Microorganisms. *Environmental Science & Technology* [interaktyvus]. 2015, 49 (2), 824 – 830 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per doi:[10.1021/es504207c](https://doi.org/10.1021/es504207c)
5. PENG, X. et al. Persistence, temporal and spatial profiles of ultraviolet absorbents and phenolic personal care products in riverine and estuarine sediment of the Pearl River catchment, China. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus]. 2017, 5, 139 – 146 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per doi:[10.1016/j.jhazmat.2016.05.020](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.020).
6. ULRICH, H., FREIER, K. P., GIERIG, M. Getting on with persistent pollutants: Decreasing trends of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in sewage sludge. *Chemosphere* [interaktyvus]. 2016, 161, 527 – 535 [žiūrėta 2017-11-12]. Prieiga per doi:[10.1016/j.chemosphere.2016.07.048](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.048).
7. LESAGE, N., SPERANDIO, M., CABASSUD, C. Study of a hybrid process: Adsorption on activated carbon/membrane bioreactor for the treatment of an industrial wastewater. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* [interaktyvus]. 2008, 47(3), 303 – 307 [žiūrėta 2017-11-12]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.cep.2007.01.021>
8. AGHAMOHAMMADI, N. et al. Performance of a Powdered Activated Carbon (PAC) Augmented Activated Sludge Process Treating Semi-Aerobic Leachate. *International*

- Journal of Environmental Research* [interaktyvus], 2007, 2, 96 – 103 [žiūrėta 2017-09-12].
Prieiga per doi: [10.22059/ijer.2010.115](https://doi.org/10.22059/ijer.2010.115)
9. TCHOBANOGLIOUS, George. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4th ed. Metcalf & Eddy Inc., New York: McGraw-Hill, 2003. ISBN 9780070418783
 10. AKTAS, O., CECEN, F. Bioregeneration of activated carbon: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* [interaktyvus], 2007, 59 (4), 257-272 [žiūrėta 2017-09-04]. Prieiga per doi: [10.1016/j.biortech.2011.07.107](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.107)
 11. CAI, B. et al. Toxicity Evaluation and Prediction of Toxic Chemicals on Activated Sludge System. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus], 2010, 177, 414 – 419 [žiūrėta 2017-11-09]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.152>
 12. RICCO G., et al. Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox®. *Water Research* [interaktyvus], 2004, 38 (8), 2103 – 211 [žiūrėta 2017-10-14]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.01.020>
 13. GRADY, C. P. Leslie et al. *Biological wastewater treatment*. New York, 1999. ISBN 9780849396793
 14. CAI, Q.-Y. et al. Occurrence of organic contaminants in sewage sludges from eleven wastewater treatment plants, China. *Chemosphere* [interaktyvus]. 2007, 68 (9), 1751 – 1762 [žiūrėta 2017-10-14]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.03.041>
 15. DE SOUZA PEREIRA, M., KUCH, B. Heavy metals, PCDD/F and PCB in sewage sludge samples from two wastewater treatment facilities in Rio de Janeiro State, Brazil. *Chemosphere* [interaktyvus], 2005, 60 (7), 844 – 853 [žiūrėta 2017-10-14]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.079>
 16. GRAY, N. F. *Biology of wastewater treatment (Second Edition)*. London: Imperial College Press, 2004. ISBN: 978-1-86094-328-7
 17. RENAULT, F., SANCEY, B., BADOT, P.-M., CRINI, G. Chitosan for coagulation/flocculation processes—an eco-friendly approach. *Eur. Polym. J.* [interaktyvus], 2009, 45, 1337 – 1348 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2008.12.027>
 18. EL-NAAS, M.H. et al. Assessment of electrocoagulation for the treatment of petroleum refinery wastewater. *J. Environ. Manage.* [interaktyvus], 2009, 91, 180 – 185 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.08.003>

19. LI Y., MEI H., FANG H. A review of treating oily wastewater. *Arabian Journal of Chemistry* [interaktyvus], 2017, 10, 1913 – 1922 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.020>
20. GUPTA, A., THAKUR, I. S. Treatment of Organic Recalcitrant Contaminants in Wastewater. *Biological Wastewater Treatment and Resource Recovery* [interaktyvus], 2017, 3 – 15 [žiūrėta 2017-11-12]. Prieiga per doi: [10.5772/66346](https://doi.org/10.5772/66346).
21. ISHAK, S., MALAKAHMAD, A., and ISA, M. H. Refinery wastewater biological treatment: A short review. *Journal of Scientific & Industrial Research* [interaktyvus], 2012, 71, 251 – 256 [žiūrėta 2017-11-12]. Prieiga per <https://www.researchgate.net/publication/266346964>
22. XIE, C. et al. Effects of ions and phosphates on alkaline phosphatase activity in aerobic activated sludge system. *Bioresource Technology* [interaktyvus], 2010, 101 (10), 3394–3399 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.047>
23. AN, W. et al. Comparative genomics analyses on EPS biosynthesis genes required for floc formation of *Zoogloea resiniphila* and other activated sludge bacteria. *Water Research* [interaktyvus], 2016, 102, 494 – 504 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per doi: [10.1016/j.watres.2016.06.058](https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.06.058).
24. OLAJIRE, A. A., ESSIEN, J.P. Aerobic Degradation of Petroleum Components by Microbial Consortia. *J Pet Environ Biotechnol* [interaktyvus], 2014, 5:195. [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per doi:[10.4172/2157-7463.1000195](https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000195)
25. DAS, N. and CHANDRAN, P.. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International* [interaktyvus], 2011, Article ID 941810, 13 p., 2011 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per doi:[10.4061/2011/941810](https://doi.org/10.4061/2011/941810)
26. ZHAO, X. et al. Oil field wastewater treatment in Biological Aerated Filter by immobilized microorganisms. *Process Biochemistry* [interaktyvus], 2006, 41, 1475 – 1483 [žiūrėta 2017-10-07]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.02.006>
27. AZADI, N. A., FALAHZADEH, R. A., SADEGHI, S. Dairy wastewater treatment plant in removal of organic pollution: a case study in Sanandaj, Iran. *Environmental Health Engineering and Management Journal* [interaktyvus], 2015, 2 (2), 73 – 77 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per SSRN: <https://ssrn.com/abstract=2662793>

28. JUDAL, A. L., BHADANIA, A. G, UPADHYAY, J. B. Biological Unit operation for waste water treatment: Aerobic Process. *International Conference of Advance Research and Innovation (ICARI - 2015)*, 196 – 201, ISSN 2347 - 3258
29. DU, H., LI, F. Characteristics of dissolved organic matter formed in aerobic and anaerobic digestion of excess activated sludge. *Chemosphere* [interaktyvus], 2017, 168, 1022 – 1031 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.108>
30. SHEN, L. et al. Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) from excess activated sludge as a promising substitute of pure culture. *Bioresource Technology* [interaktyvus], 2015, 189, 236 – 242 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per doi: [10.1016/j.biortech.2015.04.007](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.007)
31. SUN, H. et al. Denitrification using excess activated sludge as carbon source: Performance and the microbial community dynamics. *Bioresource Technology* [interaktyvus], 2017, 238, 624 – 632 [žiūrėta 2018-04-04]. Prieiga per <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.105>
32. MA, F. et al. Application of bioaugmentation to improve the activated sludge system into the contact oxidation system treating petrochemical wastewater. *Bioresour. Technol.* [interaktyvus], 2009, 100, 597 – 602 [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per doi: [10.1016/j.biortech.2008.06.066](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.066)
33. CHEREMISINOFF, P. Nicholas. Handbook of water and wastewater treatment technology. New York, Marcel Dekker, Inc., 1995, ISBN 0824792777
34. JONSSON, K. et al. Occurrence of nitrification inhibition in Swedish municipal wastewaters. *Water Research* [interaktyvus], 2000, 34 (9), 2455 – 2462, [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00420-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00420-0)
35. ANDREADAKIS, A. D. et al. Determination of the impact of toxic inflows on the performance of activated sludge by wastewater characterization. *Water Science and Technology* [interaktyvus], 1997, 36 (2 – 3), 45 – 52 [žiūrėta 2017-10-07]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00368-5](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00368-5)
36. GRAU, P., DA-RIN, B. P. Management of toxicity effects in a large wastewater treatment plant. *Water Science and Technology* [interaktyvus], 1997, 36 (2 – 3), 1 – 8 [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00397-1](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00397-1)
37. NELSON, E. D. et al. Diurnal variability of pharmaceutical, personal care product, estrogen and alkylphenol concentrations in effluent from a tertiary wastewater treatment facility.

- Environmental Science & Technology* [interaktyvus], 2011, 45 (4), 1228 – 1234 [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per doi:[10.1021/es102452f](https://doi.org/10.1021/es102452f)
38. GHOSAL, D. et al. Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review. *Frontiers in Microbiology* [interaktyvus], 2016, 7, 1369. [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per doi:[10.3389/fmicb.2016.01369](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369)
39. XIAO, Y. et al. Toxicity measurement in biological wastewater treatment processes: A review. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus], 2015, 286, 15 – 29 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.033>
40. OECD (2010), Test No. 209: Activated Sludge, Respiration Inhibition Test (Carbon and Ammonium Oxidation), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, [žiūrėta 2017-11-12]. Prieiga per: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070080-en>.
41. BOYD, S. A., SHELTON D. R. Anaerobic Biodegradation of Chlorophenols in Fresh and Acclimated Sludge. *Applied and Environmental Microbiology* [interaktyvus], 1984, 47 (2), 272 – 277 [žiūrėta 2017-09-18]. ISSN : 0099-2240
42. LIU, D. et al. Biodegradation of Recalcitrant Chlorophenols by Cometabolism. *Environmental Toxicology and Water Quality* [interaktyvus], 1991, 6 (1), 85 – 95. [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1002/tox.2530060108>
43. WIDJAJA, T. et al. Adsorption capacity of powdered activated carbon for 3,5-dichlorophenol in activated sludge. *Chemosphere* [interaktyvus], 2004, 57 (9), 1219 – 1224 [žiūrėta 2017-09-19]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.033>
44. RICHARD, M. Activated sludge microbiology problems and their control. Pristatyta 20th Annual USEPA National Operator Trainers Conference, Buffalo, NY, 2003, 1 – 21.
45. YANG, H.W. et al. INT-dehydrogenase activity test for assessing anaerobic biodegradability of organic compounds. *Ecotoxicol. Environ. Saf* [interaktyvus]. 2002, 53 (3), 416 – 421 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00002-7)
46. HONGWEI, Y. et al. INT–dehydrogenase activity test for assessing anaerobic biodegradability of organic compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [interaktyvus], 2002, 53 (3), 416 – 421 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00002-7)

47. QIN, Z., LU D., LIANG, S. Toxicity Effect of Organic Solvents in Pharmaceutical Wastewater on Activated Sludge. *International Journal of Simulation: Systems, Science & Technology* [interaktyvus], 2016, 17 (47), 16.1 – 16.4 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per: DOI 10.5013/IJSSST.a.17.47.16
48. MAKUCH, A., MEDRZYCKA, K., PLAZA, E. The Effect of Sulphonamides on Activated Sludge Dehydrogenase Activity. *Research and Application of New Technologies in Wastewater Treatment and Municipal Solid Waste Disposal in Ukraine, Sweden and Poland: Proceedings of a Polish-Swedish-Ukrainian Seminar*, 2010.
49. YAO, Y. et al. Assessment of toxicity of tetrahydrofuran on the microbial community in activated sludge. *Bioresource Technology* [interaktyvus], 2010, 101 (14), 5213 – 5221 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per doi: [10.1016/j.biortech.2010.02.051](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.051)
50. LI, D. et al. The impact of titanium dioxide nanoparticles on biological nitrogen removal from wastewater and bacterial community shifts in activated sludge. *Biodegradation* [interaktyvus], 2014, 25 (2), 167 – 177 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s10532-013-9648-z>
51. ZHOU, L. et al. Potential acute effects of suspended aluminum nitride (AlN) nanoparticles on soluble microbial products (SMP) of activated sludge. *Journal of Environmental Sciences* [interaktyvus], 2017, 57, 284 – 292 [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per doi: [10.1016/j.jes.2017.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.02.001)
52. NEUMEGEN, R. A., FERNANDEZ-ALBA, A. R., CHISTI, Y. Toxicities of Triclosan, Phenol, and Copper Sulfate in Activated Sludge. *Environmental Toxicology* [interaktyvus], 2005, 20(2), 160 – 164 [žiūrėta 2018-05-12]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1002/tox.20090>
53. WANG, D. et al. Evaluating the removal of organic fraction of commingled chemical industrial wastewater by activated sludge process augmented with powdered activated carbon. *Arabian Journal of Chemistry* [interaktyvus], 2016, 9(2), S1951 – S1961. [žiūrėta 2018-05-14]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.08.031>
54. PERNETTI, M., DI PALMA, L., MERLI, C. A Real Time Toxicity Bioassay for Activated Sludge Reactor. *International Journal of Chemical Reactor Engineering* [interaktyvus], 2003, 1 (1), 1 – 11. [žiūrėta 2018-04-02]. Prieiga per: <https://doi.org/10.2202/1542-6580.1076>
55. WALLACE, B., PURCELL, M., FURLONG, J. Total organic carbon analysis as a precursor to disinfection byproducts in potable water: oxidation technique considerations. *Journal of*

- Environmental Monitoring* [interaktyvus], 2002, 4(1), 35 – 42 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per doi: [10.1039/B106049J](https://doi.org/10.1039/B106049J)
56. ROMERA-CASTILLO, C. et al. Dissolved organic carbon leaching from plastics stimulates microbial activity in the ocean. *Nature Communications* [interaktyvus], 2018, 9. [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per doi: [10.1038/s41467-018-03798-5](https://doi.org/10.1038/s41467-018-03798-5)
57. LST EN ISO 7827:2013 Vandens kokybė. Organinių junginių spartaus ir visiško aerobinio biologinio skaidomumo vandens terpėje įvertinimas. Metodas, taikant ištirpusios organinės anglies analizę (ISO 7827:2010)
58. ONG, S. A. et al. Effects of nickel(II) addition on the activity of activated sludge microorganisms and activated sludge process. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus], 2004, 113 (1 – 3), 111 – 121 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.05.031>
59. SHIN, H. S., KANG, S. T. Characteristics and fates of soluble microbial products in ceramic membrane bioreactor at various sludge retention times. *Water Research* [interaktyvus], 2003, 37 (1), 121 – 127 [žiūrėta 2017-10-12]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00249-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00249-X)
60. TAREKEGEN, M., M. et al. Biodegradation Kinetics of Methanol and Thiosulphate under Anaerobic Conditions. In: Rene, E. R., Bhattarai, S., Nancharaiah, Y. V., Lens, P.N. L (eds.), Proceedings of the 4th International Conference on Research Frontiers in Chalcogen Cycle Science & Technology, Delft, Nyderlandai, 2015, gegužės 28 – 29 d., 171 – 176.
61. SONG, K. et al. Impact of carbon sources on nitrous oxide emission and microbial community structure in an anoxic/oxic activated sludge system. *Clean Technologies and Environmental Policy* [interaktyvus], 2015, 17 (8), 2375 – 2385 [žiūrėta 2017-09-18]. Prieiga per DOI: [10.1007/s10098-015-0979-9](https://doi.org/10.1007/s10098-015-0979-9)
62. EVANS, M. R. et al. Biosensors for the Measurement of Toxicity of Wastewaters to Activated Sludge. *Pest Management Science* [interaktyvus], 1998, 54 (4), 447 – 452 [žiūrėta 2018-04-12]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199812\)54:4<447::AID-PS846>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199812)54:4<447::AID-PS846>3.0.CO;2-9)
63. KAPANEN, A., ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. *Ecotoxicol Environ Saf* [interaktyvus], 2001, 49, 1 – 16 [žiūrėta 2017-10-24]. Prieiga per <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1927>

64. NEUBIG, R. C. et al. International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification. XXXVIII. Update on Terms and Symbols in Quantitative Pharmacology. *Pharmacological Reviews* [interaktyvus] , 2003, 55 (4), 597 – 606 [žiūrėta 2018-04-02]. Prieiga per DOI:[10.1124/pr.55.4.4](https://doi.org/10.1124/pr.55.4.4)
65. GIORDANO, A. et al. Effect of Selected Textile Effluents on Activated Sludge Nitrification Process. *Journal of Environmental Science and Health* [interaktyvus], 2005, 40 (11), 1997 – 2007 [žiūrėta 2018-05-16]. Prieiga per doi:[10.1080/10934520500229304](https://doi.org/10.1080/10934520500229304)
66. COKGOR, E. U. et al. Critical appraisal of respirometric methods for metal inhibition on activated sludge. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus], 2007, 139 (2), 332 – 339 [žiūrėta 2018-05-16]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.06.038>
67. DALZELL, D. et al. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. *Chemosphere* [interaktyvus], 2002, 47 (5), 535 – 545 [žiūrėta 2018-05-16]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00331-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00331-9)
68. ALISI, C. et al. Bioremediation of diesel oil in a co-contaminated soil by bioaugmentation with a microbial formula tailored with native strains selected for heavy metals resistance. *Science of The Total Environment* [interaktyvus], 2009, 407 (8), 3024 – 3032 [žiūrėta 2018-05-22]. Prieiga per doi:[10.1016/j.scitotenv.2009.01.011](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.011)
69. CHEN, Z., BERTIN, R., FROLDI, G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry* [interaktyvus], 2013, 131 (8), 414 – 420 [žiūrėta 2018-04-22]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.001>
70. AYGUN, A., YENISOY-KARAKAS, S., DUMAN, I. Production of granular activated carbon from fruit stones and nutshells and evaluation of their physical, chemical and adsorption properties. *Microporous and Mesoporous Materials* [interaktyvus], 2003, 66 (2-3), 189 – 195 [žiūrėta 2018-03-14]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2003.08.028>
71. HAMEED, B. H., RAHMAN, A. A. Removal of phenol from aqueous solutions by adsorption onto activated carbon prepared from biomass material. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus], 2008, 160 (2 – 3), 576 – 581 [žiūrėta 2018-02-12]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.028>
72. IOANNIDOU, O., ZABANIOTOU, A. Agricultural residues as precursors for activated carbon production—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [interaktyvus],

- 2007, 11 (9), 1966 – 2005 [žiūrėta 2018-03-14]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2006.03.013>
73. ZDRAVKOV, B. D. et al. Pore classification in the characterization of porous materials: A perspective. *Central European Journal of Chemistry* [interaktyvus], 2007, 5 (2), 385 – 395 [žiūrėta 2018-03-16]. Prieiga per DOI: [10.2478/s11532-007-0017-9](https://doi.org/10.2478/s11532-007-0017-9)
74. TARYBOS REGLAMENTAS (EB) Nr. 649/2008 2008 m. liepos 8 d. nustatantis galutinį antidempingo muitą importuojamiems Kinijos Liaudies Respublikos kilmės aktyvintųjų anglių milteliams.
75. SCHARF, R. G. et al. Comparison of batch sorption tests, pilot studies, and modeling for estimating GAC bed life. *Water Research* [interaktyvus], 2010, 44 (3), 769 – 780. [žiūrėta 2018-03-24]. Prieiga per doi: [10.1016/j.watres.2009.10.018](https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.10.018).
76. MAILLER, R. et al. Removal of emerging micropollutants from wastewater by activated carbon adsorption: Experimental study of different activated carbons and factors influencing the adsorption of micropollutants in wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [interaktyvus], 2016, 4 (1), 1102 – 1109 [žiūrėta 2018-05-20]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.01.018>
77. de RIDDER, D. J. et al. Modeling equilibrium adsorption of organic micropollutants onto activated carbon. *Water Research* [interaktyvus], 2010, 44, 377 – 386 [žiūrėta 2018-05-20]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.02.034>
78. YU, J. et al. Effect of effluent organic matter on the adsorption of perfluorinated compounds onto activated carbon. *Journal of Hazardous Materials* [interaktyvus], 2012, 225-226, 99 – 106 [žiūrėta 2018-05-20]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.073>
79. LIMOLI, D. H., JONES, C. J., WOZNIAK, D. J. Bacterial Extracellular Polysaccharides in Biofilm Formation and Function. *Microbiology Spectrum* [interaktyvus], 2015, 3 (3), [žiūrėta 2018-05-20]. Prieiga per doi: [10.1128/microbiolspec.MB-0011-2014](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0011-2014)
80. VU, B. et al. Bacterial Extracellular Polysaccharides Involved in Biofilm Formation. *Molecules* [interaktyvus], 2009, 14 (7), 2535 – 2554, [žiūrėta 2018-05-24]. Prieiga per doi: [10.3390/molecules14072535](https://doi.org/10.3390/molecules14072535)
81. ABROMAITIS, Vytautas. *Metoprololio Adsorbcijos, Desorbcijos ir Biodegradacijos Dinamika Biologiškai Aktyvių Anglių Sistemose*. Daktaro disertacijos santrauka. Kaunas: Kauno technologijos universitetas, 2018.

82. MAHENDRAN, B. et al. Structural, physicochemical and microbial properties of flocs and biofilms in integrated fixed-film activated sludge (IFFAS) systems. *Water Research* [interaktyvus], Volume 46, Issue 16, 15 October 2012, 5085 – 5101 [žiūrėta 2018-05-24]. Prieiga per doi: [10.1016/j.watres.2012.05.058](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.058).
83. IMAI, A. et al. Biodegradation and adsorption in refractory leachate treatment by the biological activated carbon fluidized bed process. *Water Research* [interaktyvus], 1995, 29 (2), 687 – 694 [žiūrėta 2018-05-24]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00147-Y](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00147-Y)
84. COHEN, Y. Biofiltration – the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology* [interaktyvus], 2001, 77 (3), 257 – 274 [žiūrėta 2018-05-28]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00074-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00074-2)
85. SUBLETTE, K. L., SNIDER, E. H. and SYLVESTER, N. A review of the mechanism of powdered activated carbon enhancement of activated sludge treatment. *Water Res.* [interaktyvus], 1982, 6, 1075 –1082 [žiūrėta 2018-05-28]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(82\)90122-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(82)90122-1)
86. SIRIANUNTAPIBOON, S. Application of Granular Activated Carbon – Sequencing Batch Reactor (GAC-SBR) System for Treating Pulp and Paper Industry Wastewater. *Science & Technology Asia* [interaktyvus], 2002, 7 (1), 20 – 29 [žiūrėta 2018-05-28]. Prieiga per: <https://tci-thaijo.org/index.php/SciTechAsia/article/view/41845>
87. SIROTKIN, A. S., KOSHKINA, L. Y., IPPOLITOV, K. G. The BAC-process for treatment of waste water Containing non-ionogenic synthetic surfactants. *Water Research* [interaktyvus], 2001, 35 (13), 3265-3271 [žiūrėta 2018-05-28]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00029-X)
88. ESTRADA, J. M. at al. A Comparative Analysis of Odour Treatment Technologies in Wastewater Treatment Plants. *Environmental Science & Technology* [interaktyvus], 2011, 45 (3), 1100 – 1106 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per doi:[10.1021/es103478j](https://doi.org/10.1021/es103478j)
89. NG, A., STENSTROM, M. K., MARRS, D. R. Nitrification enhancement in the powdered activated carbon-activated sludge process for the treatment of petroleum refinery wastewaters. *Journal (Water Pollution Control Federation)* [interaktyvus], 1987, 59 (4), 199 – 211 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per DOI: [10.2307/25043224](https://doi.org/10.2307/25043224)

90. FANG, H. H. P., SHI, X., ZHANG, T. Effect of activated carbon on fouling of activated sludge filtration. *Desalination* [interaktyvus], 2006, 189, 193 – 199 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.02.087>
91. SMITH, R. C., ELGER, S. O., MLEZIVA, S. Implementation of Solids Retention Time (SRT) Control in Wastewater Treatment. Pristatyta „2013 ISA Water/Wastewater and Automatic Controls Symposium“, Orlandas, Florida, JAV, 2013 m. rugpjūčio 6 – 8 d.
92. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA) et al. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition. . 2005. ISBN 978-0875532356
93. BURDOCK, T. J., BROOKS, M. S., A.E. GHALY A. E. A Dehydrogenase Activity Test for Monitoring the Growth of *Streptomyces Venezuelae* in a Nutrient Rich Medium. *J Bioprocess Biotechniq* [interaktyvus] 1:101. [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per doi:[10.4172/2155-9821.1000101](https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000101)
94. GHALY, A.E. - MAHMOUD, N.S. Optimum Conditions for Measuring Dehydrogenase Activity of *Aspergillus niger* using TTC. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* [interaktyvus], 2006, 2 (4), 186 – 194 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per DOI : 10.3844/ajbbsp.2006.186.194
95. SURERUS, V., GIORDANO, G., TEIXEIRA, L. A. C. Activated sludge inhibition capacity index. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* [interaktyvus], 2014, 31 (02), 385 – 392 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per: <http://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20140312s00002516>
96. BROECKER, B., ZAHN, R. The performance of activated sludge plants compared with the results of various bacterial toxicity tests-A study with 3,5-dichlorphenol. *Water Research* [interaktyvus], 1977, 11 (2), 165 – 172 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(77\)90122-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(77)90122-1)
97. FENG, Q. et al. Using the dehydrogenase activity for alert of activated sludge system under different copper concentrations. *Desalination and Water Treatment* [interaktyvus], 2016 57 (38), 17836 – 17843 [žiūrėta 2018-05-29]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1087339>