

# Kinetika biorazgradnje organskih tvari u procjednoj vodi iz duhanskog otpada

KUI – 17/2012  
Prispjelo 6. ožujka, 2012.  
Prihvaćeno 7. svibnja, 2012.

M. Vuković,<sup>a\*</sup> I. Ćosić,<sup>a</sup> K. Kolačko<sup>b</sup> i F. Briški<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Zavod za industrijsku ekologiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 19, 10 000 Zagreb, Hrvatska

<sup>b</sup> Laura d. o. o., Dubravička 31, Harmica, 10 292 Šenkovec, Hrvatska

Sve stroži zakonski propisi, kojima se štiti okoliš, zahtijevaju obradu nastalog otpada i procjednih voda prije odlaganja, odnosno ispuštanja u okoliš. U radu je istražena biorazgradnja organskih tvari u procjednoj vodi dobivenoj iz duhanskog otpada. Pokusi su provedeni u šaržnom reaktoru s početnom koncentracijom aktivnog mulja  $3,03 \text{ g dm}^{-3}$  te različitim početnim koncentracijama organskih tvari u procjednoj vodi, izraženoj kao vrijednost kemijske potrošnje kisika (KPK), u rasponu od  $0,5$  do  $3,0 \text{ g dm}^{-3}$ . Monodova jednadžba je odabrana za matematički opis kinetike biorazgradnje procjedne vode. Dobivene vrijednosti biokinetičkih parametara iznosile su  $Y = 0,25 \text{ g g}^{-1}$ ,  $k_d = 0,005 \text{ d}^{-1}$ ,  $\mu_{\max} = 0,39 \text{ d}^{-1}$  i  $K_s = 5,45 \text{ g dm}^{-3}$ . Aktivni mulj pokazuje sposobnost razgradnje organskih tvari u procjednoj vodi. Učinkovitost procesa biorazgradnje iznosila je u prosjeku  $80,3 \%$ .

Ključne riječi: Kinetika, proces biorazgradnje, procjedna voda, duhanski otpad, aktivni mulj

## Uvod

U duhanskoj industriji, tijekom različitih postupaka obrade duhana i proizvodnih ciklusa, nastaju velike količine organskog otpada. Procjenjuje se da se u svijetu proizvede svake godine oko  $3 \times 10^6$  tona duhanskog otpada.<sup>1</sup> Sastav duhanskog otpada ovisi o mjestu na kojem nastaje u sustavu proizvodnje cigareta. Može sadržavati prah različite granulacije, cijele listove ili dijelove listova biljke. Duhanski otpad predstavlja značajan problem za okoliš, kao i prisutnost opasnih i toksičnih tvari, posebice nikotina.<sup>2</sup> Duhanski otpad klasificira se kao opasan i toksičan prema propisima Europske unije jer sadržaj nikotina prelazi  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  suhe tvari.<sup>3</sup> Nikotin je glavni alkaloid duhana, topljiv u vodi te lako može dospjeti u podzemne vode procjeđivanjem iz otpada, što je posebno opasno za okoliš i zdravlje ljudi.<sup>3,4</sup>

Odlagališta predstavljaju fizikalni, kemijski i biološki heterogeni sustav koji ovisi o hidrološkim uvjetima, sastavu i zbijanju otpada, temperaturi, sadržaju vlage uz sezonske varijacije, kao ključnim čimbenicima. Unatoč brojnim prednostima, sadrže i svojstvene nedostatke kao što su stvaranje procjednih voda vrlo promjenjivih količina i sastava. Procjedne vode obogaćene su brojnim toksičnim organskim i anorganskim tvarima, što može dovesti do ugrožavanja okolnog tla, podzemnih i površinskih vodâ.<sup>5,6</sup> Sastav procjednih vodâ predstavlja glavni pokazatelj vrste i stanja procesa koji se odvija unutar odlagališta i relativne topljivosti otpada, što je potrebno za odabir procesa i procesne opreme za obradu procjedne vode. Procjedne vode se mogu obraditi biološkim, kemijskim i fizikalnim postupcima ili

kombiniranjem navedenog u cilju povećane učinkovitosti obrade radi zadovoljavanja strogih zakonskih propisa.<sup>7,8</sup>

Testovi toksičnosti s različitim bakterijama (*Vibrio fischeri*, *Photobacterium phosphoreum*, *Vibrio harveyi* i *Pseudomonas fluorescens*) i vodenim organizmima (*Daphnia similis*, *Artemia salina* i *Brachydanio rerio*) ukazuju na potencijalnu opasnost procjednih voda i potrebu za učinkovitom obradom kako bi se zadovoljili standardi za ispuštanje u prirodne prijemnike.<sup>5,6</sup>

Uklanjanje onečišćujućih tvari iz otpadnih vodâ zahtijeva primjenu različitih postupaka obrade. Biološka obrada otpadne vode desetljećima se primjenjuje u svijetu. U tu svrhu primjenjuje se i velik broj različitih postupaka, koji variraju ovisno o podrijetlu otpadne vode, odnosno o vrsti postojećih onečišćenja.<sup>1,8,9</sup> Ipak, jedan od najčešćih postupaka je biološka obrada otpadne vode s aktivnim muljem.<sup>10</sup> Široka primjena ovog procesa proizlazi iz njegove djelotvornosti, bilo da se radi o obradi vode podrijetlom iz kućanstva, industrijskoj otpadnoj vodi ili procjednoj vodi.<sup>11,12</sup>

Biološka obrada relativno je jednostavna, pouzdana i isplativa metoda koja se primjenjuje za obradu procjednih voda visokih vrijednosti kemijske potrošnje kisika (KPK). Biorazgradnju obavljaju mikroorganizmi koji u aerobnim uvjetima prevode organske spojeve u ugljikov dioksid i staničnu biomasu, a u anaerobnim uvjetima u bioplin i manju količinu stanične biomase. Biološki procesi pokazali su se vrlo učinkovitim u uklanjanju organskih i dušikovih spojeva iz procjednih vodâ.<sup>6,13</sup> Bez obzira na vrstu otpadnih vodâ, biološka obrada zahtijeva kontrolu okoliša potrebnog za optimalan rast mikroorganizama. Proces s aktivnim muljem predstavlja vrlo složen biološki sustav u kojem se uklanjanje organskih tvari iz otpadnih vodâ provodi aerobnim mikroorganizmima. Ti mikroorganizmi se nalaze unutar ili na pa-

\* Autor za dopisivanje: dr. sc. Marija Vuković,  
e-pošta: mvukovic@fkit.hr

huljici aktivnog mulja gdje se aeracijom suspenzije aktivnog mulja i otpadne vode osigurava izmjena supstrata i produkata metabolizma, kao i potrebna količina kisika za održavanje životne aktivnosti mikroorganizama.<sup>13,14</sup>

U mikrobnom ekosustavu koncentracija supstrata koja okružuje mikroorganizme značajna je u određivanju kinetičkih parametara. Supstrat, izvor ugljika i energije, koji ograničava rast biomase u procesima biorazgradnje, izražava se preko biokemijske i/ili kemijske potrošnje kisika (BPK, KPK). U novije vrijeme razvijeno je više kinetičkih modela za opis biološke razgradnje organskih tvari u otpadnim vodama, koji se primjenjuju u razumijevanju, primjenjivosti i ograničenjima procesa obrade. Razvoj matematičkih modela od velike je važnosti u daljnjem razvitku, kao i vođenju procesa obrade otpadnih voda.<sup>6,14,15</sup>

U ovom radu je istražena kinetika biorazgradnje organskih tvari u procjednoj vodi, dobivenoj iz duhanskog otpada, s pomoću aktivnog mulja u šaržnim uvjetima. Navedeni proces je opisan Monodovom jednačbom iz koje su, na temelju podataka iz serije provedenih pokusa, optimiranjem dobiveni biokinetički parametri.

## Eksperimentalni dio

### Materijali

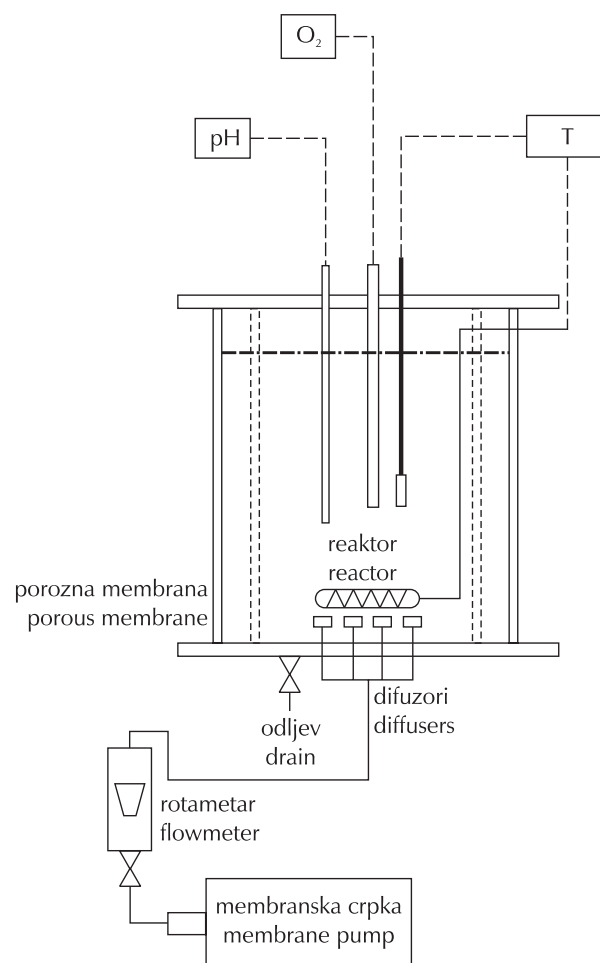
Aktivni mulj, koji je upotrijebljen za nacjepljivanje procjedne vode u reaktoru, dopremljen je iz uređaja za obradu otpadnih voda grada Zagreba, Zagrebačke otpadne vode d. o. o. (ZOV), te tri puta ispran i istaložen. Priređena početna koncentracija aktivnog mulja, izražena preko vrijednosti suspendirane tvari, iznosila je  $\gamma_X = 3,03 \text{ g dm}^{-3}$ . Organski dio u suspendiranoj tvari aktivnog mulja čini koncentracija biomase, koja je iznosila je  $\gamma_{XV} = 2,09 \text{ g dm}^{-3}$ .

U ovom je radu pripremljena procjedna voda (eluat) laboratorijskom simulacijom procjeđivanja vode kroz duhanski otpad tvrtke TDR d. o. o. Rovinj prema standardu EN 12457-4:200216.<sup>16</sup> Eluat je proizvod laboratorijske simulacije procjeđivanja vode kroz otpad. Početne vrijednosti KPK i BPK<sub>5</sub> eluata iznosile su  $16,03 \text{ g dm}^{-3}$  i  $8,78 \text{ g dm}^{-3}$ . Za eluat je proveden test toksičnosti pomoću bioluminescentne bakterije *Vibrio fischeri*. Inhibicija bioluminescencije izmjerena je instrumentom Lumistox 300 (Dr Lange GmbH, Njemačka) nakon inkubacije od 30 min prema standardnoj metodi (EN ISO 11348-3, 1998).<sup>17</sup> Toksičnost eluata i početne vrijednosti KPK i BPK<sub>5</sub> određene su nakon filtriranja uzorka kroz membranu veličine pora  $0,45 \mu\text{m}$ . Za daljnji rad iz eluata su priređene početne koncentracije procjedne vode  $\gamma_{S1} = 0,5 \text{ g dm}^{-3}$ ,  $\gamma_{S2} = 1,0 \text{ g dm}^{-3}$ ,  $\gamma_{S3} = 1,5 \text{ g dm}^{-3}$ ,  $\gamma_{S4} = 2,3 \text{ g dm}^{-3}$  i  $\gamma_{S5} = 3,0 \text{ g dm}^{-3}$ , te označene kao S1, S2, S3, S4, i S5.

### Proces biorazgradnje

U radu je upotrijebljen laboratorijski uređaj za aerobnu obradu otpadnih voda Armfield W11, Armfield Limited, Engleska, prikazan na slici 1.

Reaktor se sastoji od reaktorske posude maksimalnog obujma  $10 \text{ dm}^3$ , u koji se dozira otpadna voda. Unutar reaktora se nalazi porozna polimerna membrana koja služi za zadržavanje suspendirane tvari. Zrak se upuhuje u reaktor preko četiri difuzora membranskom crpkom za zrak. Difu-



Slika 1 – Shematski prikaz laboratorijskog reaktora

Fig. 1 – Schematic diagram of the laboratory reactor

zori su oblikovani tako da sprječavaju začepjenja, te omogućuju dobro raspršivanje zraka u obliku sitnih mjehurića za učinkovitu aeraciju. Protok zraka podešava se na rotametu. Reaktorski poklopac sadrži otvore za mjerenje pH, temperature i otopljenog kisika. Senzori su spojeni na prijenosni mjerac na kojem se očitavaju dobiveni rezultati.

Proces biorazgradnje je proveden šaržno pri različitim početnim koncentracijama supstrata u procjednoj vodi,  $\gamma_{S1} - \gamma_{S5}$ , i pri početnoj koncentraciji aktivnog mulja,  $\gamma_X$ . Radni volumen reaktora iznosio je  $7 \text{ dm}^3$ . Uzorak procjedne vode i aktivnog mulja iz reaktora uziman je svakih 12 sati tijekom dva dana te analiziran. Određivani su suspendirana tvar, organski i anorganski udjel, kao i KPK te BPK<sub>5</sub> prema standardnim metodama<sup>18</sup> nakon filtriranja uzorka kroz membranu promjera  $0,45 \mu\text{m}$ . Vrijednost pH i koncentracija otopljenog kisika (WTW Multi 340i, Njemačka) određivani su izravno u reaktoru. U prosjeku je dnevno uzimano  $100 \text{ cm}^3$  uzorka iz reaktora. Uzorak aktivnog mulja iz reaktora svakodnevno je pregledavan svjetlosnim mikroskopom (Olympus BX50, Olympus Optical Co. Ltd., Japan) opremljenim kamerom za snimanje mikrofotografija (kamera Olympus DP 10) te pripadajućim programskim paketom za mjerenje veličine pahuljica aktivnog mulja (Olympus DP-Soft). Svi pokusi provedeni su pri  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  i održavani u aerobnim uvjetima tijekom 48 sati. Tijekom pokusa aeraci-

ja je iznosila  $1,5 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$  radi održavanja aerobnih uvjeta i miješanja reakcijskog medija.

### Kinetika biorazgradnje

Mikrobna razgradnja definira se općenito kao biološki katalizirano smanjenje kemijske složenosti organskih tvari. U prirodnom okolišu uvjeti za biorazgradnju su vrlo složeni, pa brzina i stupanj biorazgradnje ovise o kemijskim, fizikalnim i biološkim čimbenicima koji mogu biti različiti za različite ekosustave. Iako su mikrobni procesi vrlo kompleksni, pojedina procesna zbivanja ili skupine tih zbivanja mogu se predstaviti pomoću modela. Najpoznatiji model koji povezuje rast biomase s koncentracijom supstrata postavio je Monod. On je definirao funkcijsku ovisnost specifične brzine rasta biomase i koncentracije:<sup>14,19</sup>

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{\gamma_s}{K_s + \gamma_s} \quad (1)$$

gdje je  $\mu$  – specifična brzina rasta,  $\text{d}^{-1}$ ,  $\mu_{\max}$  – maksimalna specifična brzina rasta,  $\text{d}^{-1}$ ,  $\gamma_s$  – koncentracija supstrata,  $\text{g dm}^{-3}$ ,  $K_s$  – konstanta zasićenja supstratom,  $\text{g dm}^{-3}$ , koja je definirana kao koncentracija supstrata pri polovini maksimalne specifične brzine rasta. Kao posljedica procesa biorazgradnje javlja se mikrobni rast uz uklanjanje supstrata, kao što to opisuju sljedeće jednadžbe:

$$r_x = \frac{d\gamma_{xv}}{dt} = \mu \cdot \gamma_{xv} \quad (2)$$

$$r_s = \frac{d\gamma_s}{dt} = q_s \cdot \gamma_{xv} \quad (3)$$

gdje su  $r_x$  i  $r_s$  brzina rasta biomase odnosno brzina potrošnje supstrata,  $\text{g dm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ,  $\gamma_{xv}$  koncentracija biomase,  $\text{g dm}^{-3}$ ,  $t$  vrijeme,  $\text{d}$ , i  $q_s$  specifična brzina potrošnje supstrata,  $\text{g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Koncentracija supstrata se obično smanjuje rastom mikroorganizama te se stoga može razviti sljedeća jednadžba:

$$r_s = \frac{1}{Y} \cdot \frac{\mu_{\max} \cdot \gamma_{xv} \cdot \gamma_s}{K_s + \gamma_s} \quad (4)$$

gdje je  $Y$  koeficijent iskorištenja,  $\text{g}^{-1}$ .

Pri određenim okolnostima, kao što su to autoliza stanica, prisutnost predatora te endogeni metabolizam, mikroorganizmi gube sposobnost rasta ili dijeljenja. Stoga mikroorganizmi odumiru, što rezultira smanjenjem populacije biomase uz pretpostavku da je brzina smanjenja biomase proporcionalna koncentraciji biomase u sustavu.<sup>20</sup>

$$r_d = \left( \frac{d\gamma_{xv}}{dt} \right)_d = k_d \cdot \gamma_{xv} \quad (5)$$

gdje je  $r_d$  brzina odumiranja,  $\text{g dm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , a  $k_d$  konstanta odumiranja mikroorganizama,  $\text{d}^{-1}$ . Smanjenje koncentracije stanica poznato je kao faza endogene respiracije.<sup>21</sup>

Brzina rasta mikroorganizama može se opisati jednadžbom (6):

$$r_x = Y \cdot r_s - k_d \cdot \gamma_{xv} \quad (6)$$

Uvrštenjem jednadžbe (4) u (6) dobiva se sljedeća jednadžba:

$$r_x = \frac{\mu_{\max} \cdot \gamma_{xv} \cdot \gamma_s}{K_s + \gamma_s} - k_d \cdot \gamma_{xv} \quad (7)$$

Specifična brzina rasta, specifična brzina potrošnje supstrata i realan prinos biomase po supstratu,  $Y_{x/s}$ , mogu se izračunati izravno iz eksperimentalnih podataka na temelju sljedećih jednadžbi:

$$\mu = \frac{\ln(\gamma_{xvi} / \gamma_{xv0})}{(t_i - t_0)} \quad (8)$$

$$q_s = \frac{(\gamma_{s0} - \gamma_{si}) / (t_0 - t_i)}{\gamma_{xvi} - \gamma_{xv0}} \quad (9)$$

$$Y_{x/s} = \frac{\gamma_{xvi} - \gamma_{xv0}}{(\gamma_{s0} - \gamma_{si})} \quad (10)$$

Specifična brzina rasta biomase ( $\mu$ ) u izravnoj je vezi sa specifičnom brzinom potrošnje supstrata ( $q_s$ ):

$$\mu = Y \cdot q_s - k_d \quad (11)$$

U pokusima u šaržnom reaktoru reaktor se puni reaktantom ili reaktantima te se sustav dovodi u željene reakcijske uvjete. Tada se tijekom reakcije analiziraju uzorci, a koncentracija se bilježi u ovisnosti o vremenu. U šaržnom reaktoru, u kojem nema protoka, nakon inokulacije započinje iskorištavanje supstrata i mikrobni rast.<sup>15,19</sup>

Parametri u modelu računaju se uz određeni kriterij dobrog slaganja eksperimentalnih podataka s vrijednostima dobivenim prema modelu. Kao opće prihvaćen kriterij primjenjuje se srednje kvadratno odstupanje definirano izrazom:

$$SD = \frac{1}{n} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_e - y_t)^2} \quad (12)$$

gdje su  $y_e$  i  $y_t$  eksperimentalne i teorijski izračunate vrijednosti određene zavisne varijable  $y$ , a  $n$  broj eksperimentalnih točaka.

### Obrada podataka

Parametri modela procijenjeni su linearnom i nelinearnom regresijskom analizom. Metodom najmanjih kvadrata, koja je sastavni dio programskog paketa MS Excel, provedena je linearna regresijska analiza. Numeričke vrijednosti parametara modela dobivene su uspoređivanjem modela i rezultata pokusa primjenom programskog paketa MS Solver,<sup>22</sup> koji provodi nelinearnu regresijsku analizu i metodu optimiranja po GRG2 (Generalized Reduced Gradient). Diferencijalne jednadžbe modela rješavane su numerički algoritmom Runge Kutta 4. Skup optimalnih parametara modela upotrijebljen je za simulacije koje su uspoređene s rezultatima pokusa.

### Rezultati i rasprava

Primjena strožih zakonskih propisa u zaštiti okoliša i kontrola onečišćenih tokova procjednih voda dovodi do neizbježnih promjena u planiranju, projektiranju i radu odlagališta otpada. U ovom radu izmjerena vrijednost KPK eluata duhanskog otpada iznosila je oko  $16,03 \text{ g dm}^{-3}$ , što je oko

128 puta veća vrijednost od granične vrijednosti za ispuštanje u površinske vode, odnosno 23 puta veća za ispuštanje u sustav javne odvodnje. Dakle, procjedne vode duhanskog otpada potrebno je obraditi prije ispuštanja u okoliš ili u sustav javne odvodnje kako bi izlazni tok odgovarao propisanoj vrijednosti pokazatelja iz navedenog Pravilnika.<sup>23</sup> Zbog oštrijih propisa pristupa se istraživanju selektivnih, pouzdanih i trajnih alternativa za obradu onečišćenih procjednih voda. Količina otpada se stalno povećava, što utječe na stvaranje procjedne vode. Zbrinjavanje duhanskog otpada predstavlja problem zbog visokog sadržaja toksičnih tvari.<sup>1,2</sup>

Proces obrade otpadnih voda pomoću aktivnog mulja s tehnološko-ekonomskog gledišta je učinkovit i opravdan. Vrijednosti KPK procjedne vode, kao i otpadne vode duhanske industrije u rasponu su od 1,0 do 70,9 g dm<sup>-3</sup>.<sup>1,5–7,9</sup> Određivanje vrijednosti BPK<sub>5</sub> značajno je za procjenu biorazgradivosti organskih tvari u otpadnim vodama. Omjer BPK<sub>5</sub>/KPK iznosio je 0,55, što ukazuje na biorazgradivost organskih tvari u eluatu duhanskog otpada, odnosno da se za obradu može primijeniti biološki proces.<sup>5,7</sup>

Prije postavljanja pokusa biorazgradnje, provedeno je ispitivanje toksičnosti eluata s bakterijom *V. fischeri*, jer je ova metoda prihvaćena kao standardna i primjenjuje se za procjenu ekotoksičnosti industrijskih otpadnih voda, otpadnih voda gradova i naselja, procjednih voda s odlagališta otpada te kakvoće riječnih voda.<sup>24</sup> Metoda se temelji na mjerenju emisije svjetlosti bakterije *V. fischeri*. Stanice ove bakterije bile su izložene seriji razrjeđenja eluata. Emisija svjetlosti odredila se nakon 30 min inkubacije i usporedila s kontrolnim uzorkom. Koncentracije uzoraka koje su smanjile emisiju svjetlosti u odnosu na kontrolni uzorak (EC<sub>50</sub>) izračunate su akvizicijskim paketom LumiSoft. Iz vrijednosti EC<sub>50</sub> računaju se jedinice toksičnosti TU<sub>i</sub> (TU – toxicity units) ili indeksi utjecaja toksičnosti TII<sub>50</sub> (TII<sub>50</sub> – toxicity impact index), koji su definirani izrazima: TU = (EC<sub>50</sub>)<sup>-1</sup> · 100 i TII<sub>50</sub> = (EC<sub>50</sub>)<sup>-1</sup> · 100. TII<sub>50</sub> i TU računaju se na isti način, ali su oni različiti pokazatelji jer se TU odnosi na količinu poznate tvari u uzorku, a TII<sub>50</sub> se odnosi na količinu smjese nepoznatog sastava u uzorku. TII<sub>50</sub> je izravno proporcionalan s toksičnošću i izražava se u postocima te omogućava usporedbu toksičnog utjecaja različitih vrsta otpadnih voda na prirodne vode.<sup>25</sup> Na osnovi ove analize akutna toksičnost eluata, odnosno njegova efektivna koncentracija, EC<sub>50</sub> iznosi 1,6 g dm<sup>-3</sup>, a TII<sub>50</sub> = 9,99, što ukazuje na njegovu toksičnost. Ove vrijednosti upućuju na to da se eluat bez prethodne obrade ne smije ispuštati u okoliš.

Nakon određivanja akutne toksičnosti procjedne vode, priređene su početne koncentracije supstrata u procjednoj vodi od 0,5 do 3,0 g dm<sup>-3</sup> (S1 – S5) i početna koncentracija aktivnog mulja 3,03 g dm<sup>-3</sup>. U tablici 1 prikazane su vrijednosti dobivene u procesu biorazgradnje procjedne vode iz duhanskog otpada u šaržnom reaktoru tijekom ispitivanog perioda.

Iz tablice 1 vidljivo je da je omjer  $\gamma_{Xv}/\gamma_X$  bio gotovo konstantan tijekom provedbe pokusa. Kreće se u rasponu od 0,69 do 0,73, što pokazuje da se udio biomase nije značajnije mijenjao tijekom pokusa. Prosječan prinos biomase iznosio je 5,26 %. Navedene srednje vrijednosti pokazale su zadovoljavajuća srednja kvadratna odstupanja. Omjer  $\gamma_{Xv}/\gamma_X$  pokazuje kolika je koncentracija biomase u aktivnom mulju pa je stoga promjena u navedenom omjeru ujedno i pokazatelj promjene u sastavu biomase.<sup>21</sup> Okolišni faktor koji utječe na brzinu i ograničava rast mikroorganizama je pH, tj. kiselost ili lužnatost vodenog okoliša te je stoga vrlo važan za provedbu bioloških procesa.<sup>26</sup> Srednje vrijednosti izmjenjenih pH za provedene pokuse bile su u rasponu od 7,81 do 7,98. Dobivene vrijednosti nalaze se u rasponu od 6,5 do 8,5, što odgovara biološkoj aktivnosti mikroorganizama u aktivnom mulju i u skladu je s objavljenim podacima u odnosu na koncentracijski raspon supstrata.<sup>5</sup> pH je bitan parametar prilikom obrade procjedne vode iz duhanskog otpada. Srednja kvadratna odstupanja približno su jednaka i zadovoljavajuća. Malo povećanje pH može se pripisati oslobađanju amonijakalnog dušika tijekom biorazgradnje.<sup>6,8</sup> Koncentracije otopljenog kisika pri procesu biorazgradnje za sve koncentracije supstrata iznose u prosjeku 6,42 ± 1,53 mg dm<sup>-3</sup>. S povećanjem koncentracije supstrata u pokusima S1 – S5 srednje vrijednosti proporcionalno se smanjuju (tablica 1). Razgradnjom organskih tvari u vodi koncentracija kisika opada, što je ujedno i pokazatelj stupnja opterećenja vode. Kod aerobnih bioloških procesa, raspoloživa količina otopljenog kisika za rast mikroorganizama često je najkritičniji parametar koji ograničava djelotvornost procesa.<sup>8,26</sup> Može se zaključiti da mikroorganizmi najviše kisika troše za razgradnju najveće koncentracije supstrata S5. Drugim riječima, potrošnja kisika pri nižim koncentracijama supstrata je manja, jer mikroorganizmi imaju manje supstrata na raspolaganju za razgradnju pa im je potrebno i manje kisika pri aerobnoj biorazgradnji. Potreba za kisikom je u prosjeku za 2,38 mg dm<sup>-3</sup> veća u pokusu S5 u odnosu na pokus S1, što ukazuje i na povećanu aktivnost mikroorganizama.<sup>27</sup> Specifična brzina rasta,  $\mu$ , izračunata je izravno iz eksperimentalnih podataka na temelju podataka o promjeni koncentracije biomase ( $\gamma_{Xv}$ ) u vremenu prema

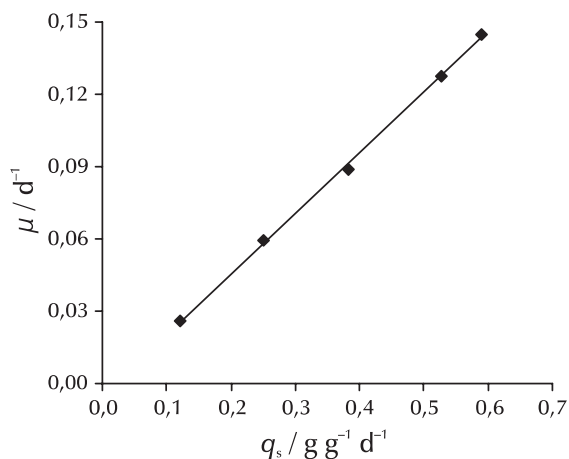
Tablica 1 – Rezultati procesa biorazgradnje procjedne vode u šaržnom reaktoru

Table 1 – Results of leachate biodegradation process in batch reactor

Pokus Experiment	$\gamma_{Xv}/\gamma_X$	pH	$\frac{\gamma_{O_2}}{\text{mg dm}^{-3}}$	$\frac{\mu}{\text{d}^{-1}}$	$\frac{q_s}{\text{g g}^{-1}\text{d}^{-1}}$	$\frac{Y_{X/s}}{\text{g g}^{-1}}$
S1	0,69 ± 0,003	7,81 ± 0,14	7,86 ± 0,79	0,03 ± 0,006	0,12 ± 0,02	0,26 ± 0,10
S2	0,71 ± 0,011	7,90 ± 0,17	7,16 ± 0,94	0,06 ± 0,014	0,25 ± 0,05	0,27 ± 0,11
S3	0,71 ± 0,014	7,95 ± 0,15	5,83 ± 1,45	0,09 ± 0,018	0,38 ± 0,07	0,29 ± 0,04
S4	0,72 ± 0,019	7,98 ± 0,21	5,75 ± 1,52	0,13 ± 0,035	0,53 ± 0,11	0,29 ± 0,13
S5	0,73 ± 0,028	7,92 ± 0,19	5,48 ± 1,95	0,15 ± 0,025	0,59 ± 0,09	0,28 ± 0,08

jednadžbi (8). Srednje vrijednosti  $\mu$  povećavaju se proporcionalno s početnim koncentracijama supstrata. Dobivene vrijednosti  $\mu$  kreću se u rasponu od 0,03 do 0,15 d<sup>-1</sup>. Prosječna vrijednost specifične brzine rasta iznosi 0,09 d<sup>-1</sup>. Srednja specifična brzina potrošnje supstrata  $q_s$ , izračunata prema jednadžbi (9), predstavlja brzinu potrošnje supstrata u odnosu na rast biomase, povećavala se u odnosu na početne koncentracije supstrata od S1 do S5 s vrijednosti od 0,12 do 0,59 g g<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Vrijednost SD za odabrane pokuse kretala se do vrijednosti 0,11 (tablica 1). Raspon dobivenih vrijednosti za  $\mu$  i  $q_s$  prikazanih u tablici 1 relativno dobro se slaže s objavljenim vrijednostima.<sup>28</sup> Stvaran prinos biomase,  $Y_{x/s}$  izračunat je na temelju eksperimentalnih vrijednosti prema jednadžbi (10). Prosječna vrijednost  $Y_{x/s}$  iznosi 0,28 ± 0,09 g g<sup>-1</sup>, što pokazuje da se prinos biomase povećao za 7,1 %. Vrijednosti  $Y_{x/s} = 0,25 - 0,40$  dobivene su u istraživanjima s aktivnim muljem u aerobnim uvjetima.<sup>27</sup>

Koeficijent prinosa biomase,  $Y$ , jedan je od najvažnijih parametara koji se primjenjuje u biološkim kinetičkim modelima. On predstavlja koncentraciju biomase koja se proizvede po jedinici uklonjenog supstrata. Brzina endogene respiracije,  $k_d$ , brzina je odumiranja biomase. Ovisnost potrošenog organskog supstrata i proizvedenih stanica mikroorganizama prikazana je jednadžbom (11). Linearnom regresijskom analizom iz ovisnosti  $\mu$  o  $q_s$ ,<sup>28</sup> prema jednadžbama (8) i (9), dobivaju se parametri  $Y$  i  $k_d$  iz nagiba pravca, odnosno odsječka na osi y (slika 2, tablica 1) uz visoke vrijednosti  $R^2$ . Vrijednosti dobivenih parametara  $Y$  i  $k_d$  odgovaraju rasponu publiciranih vrijednosti za procese biorazgradnje s aktivnim muljem.<sup>27</sup>



Slika 2 – Ovisnost specifične brzine rasta o specifičnoj brzini potrošnje supstrata za procjenu  $Y$  i  $k_d$ , rezultati pokusa (◆) i linearna regresija (—),  $R^2 = 0,9986$

Fig. 2 – Dependence of specific growth rates on specific substrate consumption rate for estimation of  $Y$  and  $k_d$ , experimental results (◆) and linear regression (—),  $R^2 = 0,9986$

Proučavanje kinetike u sustavima s aktivnim muljem zahtijevalo je primjenu matematičkog modeliranja zbog lakšeg razumijevanja bioloških procesa koji su rezultat međusobnih djelovanja različitih faktora uključenih u ovom složenom sustavu. Primjenjujući Monodovu kinetiku, procijenjeni su biokinetički parametri. Metodom optimiranja biokinetičkih parametara dobivene su vrijednosti  $\mu_{\max}$  i  $K_s$ .

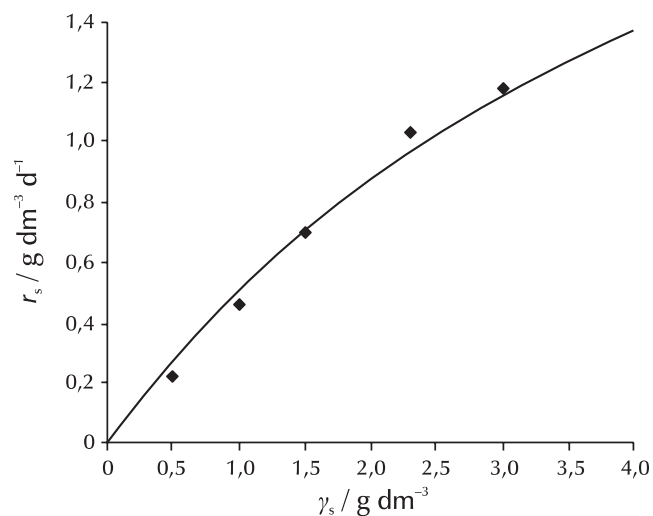
Vrijednosti navedenih parametara procijenjene su na temelju ovisnosti  $\mu$  o  $\gamma_s$  nelinearnom regresijskom analizom pomoću MS Solvera. Pretpostavljeni model (jednadžbe (4) i (7)) s dobivenim vrijednostima parametara iz tablice 2 primijenjen je za provedbu simulacije procesa biorazgradnje procjedne vode u šaržnom reaktoru. Na slikama 3 i 4 prikazana je usporedba rezultata pokusa i modela. Vrijednosti dobivenih biokinetičkih parametara u rasponu su očekivanih vrijednosti za proces biorazgradnje u šaržnim uvjetima.<sup>19,28,29</sup>

Tablica 2 – Biokinetički parametri modela

Table 2 – Biokinetic model parameters

Parametar Parameter	$\frac{\mu_{\max}}{\text{d}^{-1}}$	$\frac{K_s}{\text{g dm}^{-3}}$	$\frac{Y}{\text{g g}^{-1}}$	$\frac{k_d}{\text{d}^{-1}}$
Vrijednost Value	0,39 ± 0,12	5,45 ± 0,15	0,25 ± 0,06	0,005 ± 0,003

Slika 3 prikazuje ovisnost brzine potrošnje supstrata o početnim koncentracijama supstrata u procesu biorazgradnje. Uspoređujući rezultate pokusa s modelom, može se ustanoviti da model (jed. (4), tab. 2), u rasponu početnih koncentracija za provedene pokuse, dobro opisuje kinetiku procesa, uz visoku vrijednost  $R^2$ .

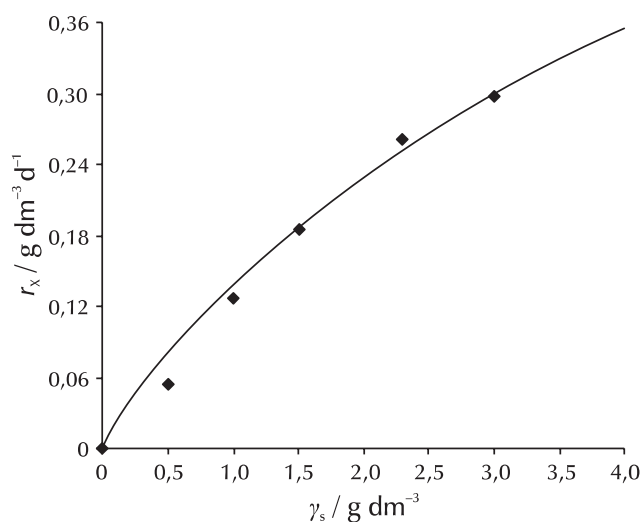


Slika 3 – Utjecaj početnih koncentracija supstrata na brzinu potrošnje supstrata. Usporedba rezultata pokusa (◆) i modela (—),  $R^2 = 0,9944$ .

Fig. 3 – Influence of initial substrate concentrations on substrate degradation rate. Comparison of experimental results (◆) and model (—),  $R^2 = 0,9944$ .

Ovisnost brzine rasta biomase o početnim koncentracijama supstrata u procesu biorazgradnje prikazana je slikom 4. Vrijednost  $R^2$  pokazuje dobro slaganje modela (jed. (7), tab. 3) i rezultata pokusa. Vidljivo je da odabrani model dobro opisuje kinetiku procesa.

Mikroskopska analiza sastojala se od pregleda uzorka aktivnog mulja u prolaznoj svjetlosti. Analiza se provodila zbog određivanja karakteristika pahuljica, njihove veličine i oblika, što omogućava uvid u promjene koje se događaju u



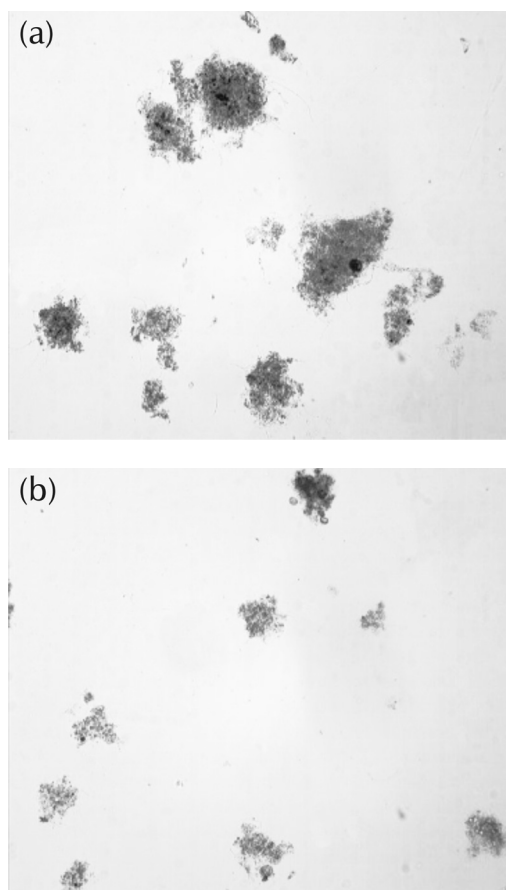
Slika 4 – Utjecaj početnih koncentracija supstrata na brzinu rasta biomase. Usporedba rezultata pokusa (◆) i modela (—),  $R^2 = 0,9917$ .

Fig. 4 – Influence of initial substrate concentrations on biomass growth rate. Comparison of experimental results (◆) and model (—),  $R^2 = 0.9917$ .

mješavini aktivnog mulja i otpadne vode.<sup>15,26</sup> Slika 5 prikazuje mikrofotografije pahuljica aktivnog mulja drugog dana procesa biorazgradnje supstrata S3. Pahuljice aktivnog mulja su relativno čvrste, kompaktne, zaobljene, nepravilnog oblika, što je doprinijelo smanjenju vrijednosti KPK procjedne vode (slika 5a). Prozirne i rahle pahuljice (slika 5b) upućuju na mladu biomasu, koja se tek počela razvijati tijekom provedbe pokusa u reaktoru.<sup>30</sup>

Pahuljice aktivnog mulja nastaju međusobnim povezivanjem mikroorganizama prisutnih u procjednoj vodi pa promjena njihove brojnosti izravno utječe na promjenu veličine pahuljica. Pahuljice u početku pokusa su veće (tablica 3). Srednja veličina pahuljica se u prosjeku smanjila za 37,26  $\mu\text{m}$ . Nakon drugog dana pokusa (slika 5) minimalna veličina pahuljica iznosi 58,49  $\mu\text{m}$  (tablica 3). Maksimalna veličina pahuljica u drugom danu stabilizirala se i smanjila za samo 38,60  $\mu\text{m}$  u odnosu na prvi dan, što pokazuje i vrijednost srednje veličine pahuljica koja iznosi 31,91  $\mu\text{m}$ . Slika 6 prikazuje rezultate potrošnje supstrata i rasta biomase tijekom dva dana za pokus S3. U prvom danu razgrađeno je 60,6 % supstrata uz prirast biomase od 11,06 %, a do kraja pokusa dodatno se razgradilo još 21,0 % i prirast biomase se povećao za 3,3 %. Zbog malog prirasta biomase nakon drugog dana pokusa (slika 6) dolazi do stabilizacije veličine pahuljica (slika 5a), što se vidi i po vrijednostima SD (tablica 3), koja pokazuju manja odstupanja. Istodobno, kompaktna struktura aktivnog mulja utječe na kraće vrijeme taloženja, dobru kakvoću procjedne vode na izlazu iz reaktora<sup>31</sup> te u ovom procesu ne nastaje prekomjeren višak aktivnog mulja, kao kod klasičnih uređaja za obradu otpadnih voda.<sup>26</sup>

Učinkovitost provedenog procesa biorazgradnje u šaržnom reaktoru izražena je preko vrijednosti KPK te je prikazana slikom 6. Rezultati pokazuju zadovoljavajući stupanj učinkovitosti, koji u prosjeku iznosi  $80,26 \pm 5,72$  %. Slične vrijednosti od 82,8 % do 84,4 % dobivene su za učinkovitost biološke obrade otpadne vode duhanske industrije u



Slika 5 – Mikrofotografije pahuljica aktivnog mulja drugog dana u šaržnom reaktoru, povećanje 100 puta,  $\gamma_{S3} = 1,5 \text{ g dm}^{-3}$ ; a) stabilne kompaktne pahuljice aktivnog mulja; b) razvoj mladih pahuljica aktivnog mulja

Fig. 5 – Microphotographs of activated sludge flocs second day in batch reactor, magnification 100 $\times$ ,  $\gamma_{S3} = 1.5 \text{ g dm}^{-3}$ ; a) stable and compact flocs of activated sludge; b) young flocs of activated sludge

Tablica 3 – Veličina pahuljica aktivnog mulja u šaržnom reaktoru  $\gamma_{S3} = 1,5 \text{ g dm}^{-3}$

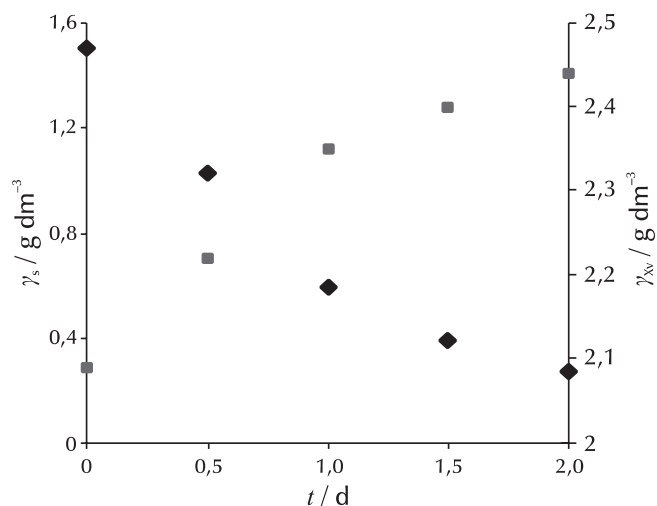
Table 3 – Floc size of activated sludge in batch reactor,  $\gamma_{S3} = 1.5 \text{ g dm}^{-3}$

$\frac{t}{d}$	srednja veličina	minimum	maksimum	SD
	mean size	minimum	maximum	
	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$
0	279,37	111,78	429,66	83,40
1	223,26	72,31	371,60	76,07
2	191,35	58,49	333,00	68,00

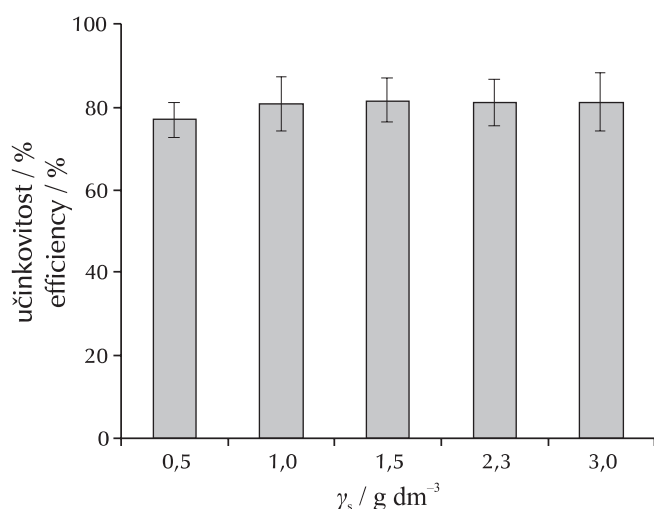
odnosu na približno iste početne koncentracije procjedne vode i u šaržnim uvjetima.<sup>1,12</sup>

## Zaključak

U radu je istražena biorazgradnja procjedne vode iz duhanskog otpada u šaržnom reaktoru. Test toksičnosti je pokazao da se ta vrsta procjedne vode ne smije bez obrade



Slika 6 – Promjene koncentracija supstrata,  $\gamma_{S3} = 1,50 \text{ g dm}^{-3}$  (◆) i biomase,  $\gamma_{Xv} = 2,09 \text{ g dm}^{-3}$  (■) tijekom dva dana biorazgradnje  
 Fig. 6 – Changes in concentrations of substrate,  $\gamma_{S3} = 1.50 \text{ g dm}^{-3}$  (◆) and biomass,  $\gamma_{Xv} = 2.09 \text{ g dm}^{-3}$  (■) during two days of biodegradation



Slika 7 – Učinkovitost biorazgradnje supstrata u procjednoj vodi u šaržnom reaktoru  
 Fig. 7 – Efficiency of biodegradation of substrate in the leachate in batch reactor

ispuštati u okoliš. Brzina potrošnje supstrata i brzina rasta biomase u procesu biorazgradnje opisani su Monodovom kinetikom uz visoke vrijednosti  $R^2$ . Učinkovitost smanjivanja vrijednosti KPK biorazgradnjom bila je u rasponu od 76,80 % do 81,60 %, što ukazuje da je aktivni mulj otporan na potencijalno toksičan supstrat. Također, vođenjem procesa biorazgradnje procjedne vode postižu se vrijednosti izlaznih pokazatelja koje zadovoljavaju ispuštanje obrađenih voda u sustav javne odvodnje, što predstavlja doprinos u zaštiti okoliša.

#### ZAHVALA

Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta 125-1251963-1968 uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske.

#### Popis kratica i simbola

#### List of abbreviations and symbols

BPK	– biokemijska potrošnja kisika, $\text{g dm}^{-3}$
BOD	– biochemical oxygen demand, $\text{g dm}^{-3}$
EC	– djelotvorna koncentracija, $\text{g dm}^{-3}$ – effective concentration, $\text{g dm}^{-3}$
KPK	– kemijska potrošnja kisika, $\text{g dm}^{-3}$
COD	– chemical oxygen demand, $\text{g dm}^{-3}$
TII	– indeks utjecaja toksičnosti – toxicity impact index
TU	– jedinice toksičnosti – toxicity units
$K_s$	– konstanta zasićenja supstratom, $\text{g dm}^{-3}$ – substrate saturation constant, $\text{g dm}^{-3}$
$k_d$	– konstanta odumiranja, $\text{d}^{-1}$ – decay constant, $\text{d}^{-1}$
$q_s$	– specifična brzina potrošnje supstrata, $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$ – specific substrate degradation rate, $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$
$r_d$	– brzina odumiranja, $\text{g dm}^{-3} \text{d}^{-1}$ – decay rate, $\text{g dm}^{-3} \text{d}^{-1}$
$r_s$	– brzina potrošnje supstrata, $\text{g dm}^{-3} \text{d}^{-1}$ – substrate consumption rate, $\text{g dm}^{-3} \text{d}^{-1}$
$r_X$	– brzina rasta biomase, $\text{g dm}^{-3} \text{d}^{-1}$ – biomass growth rate, $\text{g dm}^{-3} \text{d}^{-1}$
$t$	– vrijeme, d – time, d
$Y$	– koeficijent iskorištenja, $\text{g g}^{-1}$ – growth yield, $\text{g g}^{-1}$
$Y_{X/S}$	– realni koeficijent iskorištenja biomase po supstratu, $\text{g g}^{-1}$ – overall yield coefficient, $\text{g g}^{-1}$
$\gamma_{O_2}$	– koncentracija kisika, $\text{mg dm}^{-3}$ – oxygen concentration, $\text{mg dm}^{-3}$
$\gamma_S$	– koncentracija supstrata, $\text{g dm}^{-3}$ – substrate concentration, $\text{g dm}^{-3}$
$\gamma_X$	– koncentracija aktivnog mulja, $\text{g dm}^{-3}$ – activated sludge concentration, $\text{g dm}^{-3}$
$\gamma_{Xv}$	– koncentracija biomase, $\text{g dm}^{-3}$ – biomass concentration, $\text{g dm}^{-3}$
$\mu$	– specifična brzina rasta, $\text{d}^{-1}$ – specific growth rate, $\text{d}^{-1}$
$\mu_{\max}$	– maksimalna specifična brzina rasta, $\text{d}^{-1}$ – maximum growth rate, $\text{d}^{-1}$

#### Literatura

#### References

1. M. Wang, G. Yang, H. Min, Z. Lv, X. Jia, Bioaugmentation with the nicotine-degrading bacterium *Pseudomonas* sp. HF-1 in a sequencing batch reactor treating tobacco wastewater: Degradation study and analysis of its mechanisms, *Water Res.* **43** (2009) 4187–4196.
2. F. Briški, N. Horgas, M. Vuković, Z. Gomzi, Aerobic composting of tobacco industry solid waste-simulation of the process, *Clean Technol. Environ. Pol.* **5** (2003) 295–301.
3. S. N. Wang, P. Xu, H. Z. Tang, J. Meng, X. L. Liu, J. Huang, H. Chen, Y. Du, H. D. Blankespoor, Biodegradation and detoxification of nicotine in tobacco solid waste by a *Pseudomonas* sp., *Biotechnol. Lett.* **26** (2004) 1493–1496.

4. D. T. Sponza, Toxicity studies in a tobacco industry biological treatment plant, *Water Air Soil Poll.* **134** (2002) 137–164.
5. S. Renou, J. G. Givaudan, S. Poulain, F. Dirassouyan, P. Moulin, Landfill leachate treatment: Review and opportunity, *J. Hazard. Mater.* **150** (2008) 468–493.
6. P. T. Williams, *Waste Treatment and Disposal*, John Wiley & Sons, New York, 2005., str. 220–227.
7. K. Y. Foo, B. H. Hameed, An overview of landfill leachate treatment via activated carbon adsorption process, *J. Hazard. Mater.* **171** (2009) 54–60.
8. J. Wiszniowski, D. Robert, J. Surnacz-Gorska, K. Miksch, J. V. Weber, Landfill leachate treatment methods: A review, *Environ. Chem. Lett.* **4** (2006) 51–61.
9. M. X. Loukidou, A. I. Zouboulis, Comparison of two biological treatment processes using attached-growth biomass for sanitary landfill leachate treatment, *Environ. Pollut.* **111** (2001) 273–281.
10. S. Jianqiang, A. K. Ray, Performance improvement of activated sludge wastewater treatment by nonlinear natural oscillations, *Chem. Eng. Technol.* **23** (2000) 1115–1122.
11. N. Laitinen, A. Luonsi, J. Vilen, Landfill leachate treatment with sequencing batch reactor and membrane bioreactor, *Desalination* **191** (2006) 86–91.
12. Y. Wei, M. Ji, R. Li, F. Qin, Organic and nitrogen removal from landfill leachate in aerobic granular sludge sequencing batch reactors, *Waste Manage.* **32** (2012) 448–455.
13. A. I. Zouboulis, M. X. Loukidou, Enzymatic treatment of sanitary landfill leachate, *Chemosphere* **44** (2001) 1103–1108.
14. L. K. Wang, N. C. Pereira, Y.-T. Hung, *Biological treatment processes*, Humana Press, New York, 2009., str. 207–278.
15. D. W. Sundstrom, H. E. Klei, *Wastewater treatment*, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 1979., str. 75–105.
16. EN 12457-4:2002, Characterization of waste – Leaching; Compliance test for leaching of granular waste materials and sludge – Part 4: One-stage batch test at a liquid to solids ratio of 10 l/kg for materials with particle size below 10 mm (without or with size reduction), European Committee for Standardization.
17. EN ISO 11348-3:1998, Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 3: Method using freeze-dried bacteria.
18. Standard methods for examination of water and wastewater, 19<sup>th</sup> Edition. APHA, Washington, 1995., poglavlja 5–2, 5–15.
19. G. Nakhla, V. Liu, A. Bassi, Kinetic modeling of aerobic biodegradation of high oil and grease rendering wastewater, *Biores. Technol.* **97** (2006) 131–139.
20. S. Simkins, M. Alexander, Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density, *Appl. Environ. Microb.* **47** (1984) 1299–1306.
21. M. Vuković, F. Briški, M. Matošić, I. Mijatović, Analysis of the activated sludge process in an MBR under starvation conditions, *Chem. Eng. Technol.* **29** (2006) 357–363.
22. A. K. Coker, *Modeling of chemical kinetics and reactor design*, Gulf Publishing Company, Houston, 2001., str. 830–939.
23. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, NN 87/10.
24. E. H. Günesf, Y. Günesf, Toxicity evaluation of industrial and land base sources in a river basin, *Desalination* **226** (2008) 348–356.
25. M. Farre, D. Asperger, L. Kantiani, S. Gonzalez, M. Petrovic, D. Barcelo, Assessment of the acute toxicity of triclosan and methyl triclosan in wastewater based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri*, *Anal. Bioanal. Chem.* **390** (2008) 1999–2007.
26. G. Bitton, *Wastewater microbiology*, John Wiley & Sons, New York, 2005., str. 213–257.
27. L. Liu, Z. Wang, J. Yao, X. Sun, W. Cai, Investigation on the properties and kinetics of glucose-fed aerobic granular sludge, *Enzyme Microb. Tech.* **36** (2005) 307–313.
28. F. Carta-Escobar, J. Pereda-Marín, P. Álvarez-Mateos, F. Romero-Guzmán, M. M. Durán Barrantes, Aerobic purification of dairy wastewater in continuous regime Part II: Kinetic study of the organic matter removal in two reactor configurations, *Biochem. Eng. J.* **22** (2005) 117–124.
29. M. Tobajas, E. Garcia-Calvo, Comparison of analysis methods for determination of the kinetic parameters in batch cultures, *World J. Microb. Biotechnol.* **16** (2000) 845–851.
30. H. Y. Chung, D. J. Lee, Porosity and interior structure of flocculated activated sludge floc, *J. Colloid Interface Sci.* **267** (2003) 136–143.
31. B. Q. Liao, I. G. Droppo, G. G. Leppard, S. N. Liss, Effect of solids retention time on structure and characteristics of sludge flocs in sequencing batch reactors, *Water Res.* **40** (2006) 2583–2591.



## SUMMARY

## Kinetics of Organic Matter Biodegradation in Leachate from Tobacco Waste

M. Vuković,<sup>a\*</sup> I. Ćosić,<sup>a</sup> K. Kolačko,<sup>b</sup> and F. Briški<sup>a</sup>

Treatment of wastes and leachate evolved in landfills is today an imperative due to rigorous environmental protection legislation. In this work, biodegradation of the organic fraction in tobacco-waste leachate was studied. Experiments were carried out in a batch reactor at initial concentration of activated sludge of  $3.03 \text{ g dm}^{-3}$  and different initial concentrations of organic matter in leachate, expressed as COD, which ranged from 0.5 to  $3.0 \text{ g dm}^{-3}$ . The working volume of the reactor (Fig. 1) was  $7 \text{ dm}^3$  within the cylindrical porous liner and it was filled with the suspension of leachate and activated sludge. The liner was designed such that it did not allow activated sludge to pass through. Continuous up-flow aeration was provided by a membrane pump. The temperature during the biodegradation process was  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Dissolved oxygen, pH and temperature in reactor were monitored continuously by probes connected to a remote meter. Toxicity of leachate was performed by toxicity test using marine bacteria *Vibrio fischeri* before starting with the biodegradation in the batch reactor.

The obtained results showed that effective concentration of leachate is  $\text{EC}_{50} = 1.6 \text{ g dm}^{-3}$  and toxicity impact index is  $\text{TII}_{50} = 9.99$ , meaning that untreated leachate must not be discharged into the environment before treatment.

The results of the biodegradation process of leachate in batch reactor are presented in Table 1 and Fig. 2. The ratio  $\gamma_{xv}/\gamma_x$  was almost constant throughout the experiments and ranged from 0.69 to 0.73. This implies that the concentration of biomass remained unchanged during the experiments, and average yield was 5.26 %. The important kinetic and stoichiometric parameters required for performance of the biological removal process, namely the  $Y$ ,  $K_s$ ,  $k_{dr}$  and  $\mu_{\max}$  were calculated from the batch experiments (Table 2).

The experimental results of the influence of initial substrate concentrations on substrate degradation rate, and influence of initial substrate concentrations on biomass growth rate in comparison with Monod model are presented in Figs. 3 and 4. These results suggest that selected model describes well the biodegradation process of leachate in batch reactor.

Microscopic examination of activated sludge showed that flocs were healthy and compact, with simultaneous formation of young flocs (Table 3, Figs. 5a and 5b).

Figure 6 presents the decrease in organic matter in the leachate and increase in activated sludge concentration within two days of biodegradation during which activated sludge showed strong ability to degrade organic matter, while process efficiency (Fig. 7) was approximately 80.3 %.

<sup>a</sup> Department of Industrial Ecology,  
Faculty of Chemical Engineering and Technology,  
University of Zagreb, Marulićev trg 19, 10 000 Zagreb, Croatia

Received March 6, 2012  
Accepted May 7, 2012

<sup>b</sup> Laura d. o. o., Dubravička 31, Harmica,  
10 292 Šenkovec, Croatia