

Praksa biološke faze čiščenja mlekarske odpadne vode za zaščito habitata *Proteus anguinus*

DOI: <https://doi.org/10.55707/eb.v12i2.150>

Pregledni znanstveni članek

UDK 502.172:628.356

KLJUČNE BESEDE: Slovenija, *Proteus anguinus*, odpadne vode mlekarske industrije, biološko čiščenje

POVZETEK – Slovenija je ena redkih držav, kjer živi človeška ribica (*Proteus anguinus*), katere habitat se večinoma nahaja na območju Natura 2000. V tem okolju deluje tudi mlekarna Krepko, ki mora skladno z zakonodajo odpadno vodo pred izpustom očistiti. Zaradi občutljivosti vrste *P. anguinus* ima čistilna naprava mlekarnice tri faze čiščenja: primarno, sekundarno in terciarno. Ključna je sekundarna, biološka faza, ki poteka v sekvenčnem šaržnem reaktorju z aktivnim blatom in omogoča odstranjevanje amoniaka ter nitrata. Za izboljšanje učinkovitosti denitrifikacije pri nizkih temperaturah se dodaja železov klorid kot hranilo za mikroorganizme. Kakovost obdelave se ocenjuje glede na prisotnost amoniaka, usedanje biomase ter vrednosti kemijske porabe kisika in dušika. Rezultati kažejo, da dodajanje železovega klorida spodbuja rast mikroorganizmov, pospešuje denitrifikacijo in izboljšuje parametre kakovosti vode, kar pozitivno vpliva na varstvo habitata vrste *P. anguinus*.

Scientific review article

UDC 502.172:628.356

KEY WORDS: Slovenia, *Proteus anguinus*, dairy industry wastewater, biological treatment

ABSTRACT – Slovenia is one of the few countries where the olm (*Proteus anguinus*) lives, with its habitat largely located within the Natura 2000 area. In this environment operates the Krepko dairy, which, in accordance with national legislation, must treat its wastewater before discharge. Due to the sensitivity of the *P. anguinus* habitat, the dairy's treatment plant includes three stages: primary, secondary, and tertiary. The key stage is the secondary, biological treatment, which takes place in a sequencing batch reactor with activated sludge and enables the removal of ammonia and nitrate. To improve denitrification efficiency at low temperatures, ferric chloride is added as a nutrient source for microorganisms. The quality of treatment is evaluated based on ammonia concentration, biomass settling, and measurements of chemical oxygen demand and nitrogen content. Results show that the addition of ferric chloride stimulates microbial growth, accelerates denitrification, and improves water quality parameters, thus contributing positively to the protection of the *P. anguinus* habitat.

1 Uvod

Evropska unija je razvila različne zakonodajne ukrepe, instrumente in programe za varstvo okolja in zagotavljanje trajnostnega razvoja v praksi. Ti pomembni ukrepi so podprti s številnimi politikami, zakonodajo in finančnimi viri, ki usmerjajo države članice pri ohranjanju naravnih virov in doslednem zmanjševanju negativnih vplivov na okolje. Direktiva o habitatih (92/43/EGS) in Direktiva o pticah (2009/147/EGS) sta ključni za varstvo narave v Evropski uniji (EU). Zavarovana območja teh dveh di-

Prejeto/Received: 6. 2. 2025
Sprejeto/Accepted: 8. 7. 2025

Besedilo/Text © 2025 Avtor(ji)/The Author(s)
To delo je objavljeno pod licenco CC BY Priznanje avtorstva 4.0 Mednarodna.
/ This work is published under a CC BY Attribution 4.0 International license.
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

rektiv so bila ustanovljena s programom Natura 2000 (Šobot in Lukšič, 2020). Glavni cilji Nature 2000 so ohranjanje habitatov, kot so travniki, mokrišča, gozdovi in kraški sistemi, varovanje vrst, kot so metulji, velike zveri, ptice in dvoživke, spodbujanje trajnostnega razvoja v kmetijstvu in zmanjšanje človekovih vplivov na okolje. Območja za ohranjanje ogroženih vrst ptic se imenujejo Posebna zavarovana območja (Special Protected Area, SPA), območja za ohranjanje habitatnih tipov pa se imenujejo Območja, pomembna za skupnost (Site of Community Interest, SCI).

Slovenija ima 355 območij vključenih v Naturo 2000. Posebna pozornost je namenjena kraškim habitatom in vrsti *Proteus anguinus* (*P. anguinus*), ki je endemit Dinarskega krasa. *P. anguinus* je dvoživka, ki živi v podzemnih vodah Dinarskega krasa od porečja Soče pri Trstu v Italiji, preko osrednje in južne Slovenije ter jugozahodne Hrvaške do reke Trebišnjice v Bosni in Hercegovini. Je edini evropski predstavnik družine Proteidae, edini predstavnik rodu *Proteus* in edini jamski vretenčar v Evropi (Ozinga idr., 2005). Po klasifikaciji IUCN je ta vrsta na rdečem seznamu kritično ogrožena.

V Sloveniji so najbolj znana habitatna območja vrste *P. anguinus* v osrednjem delu države, predvsem na Notranjskem, kjer so številne kraške jame in podzemni vodotoki, ki so idealni za njen obstoj. Med temi izstopa svetovno znana »Postojnska jama« kot najbolj znano domovanje *P. anguinus*. Ta edinstveni ekosistem s svojim obsežnim sistemom podzemnih rek in jezer, ki tečejo skozi kraške votline, zagotavlja popolne pogoje za preživetje vrste *P. anguinus*.

Čutilni sistem *P. anguinus* je čudež evolucije, edinstveno prilagojen življenju v vodnem jamskem okolju. Pomanjkanje svetlobe in s tem povezana nezmožnost uporabe vida za orientacijo kompenzirajo druga čutila, ki so bolj razvita kot pri dvoživkah, ki živijo v površinskih okoljih. Dogajanje v okolici zaznavajo preko vonja in treslajev, ki jih spremljajo s čutili v koži (Bizjak Mali idr., 2013). Njihove oči so zakrnele in prekrite s kožo, saj v okolju brez svetlobe niso uporabne, vendar je na svetlobo občutljiva celotna površina njihovega telesa. (Tesařová idr., 2022).

P. anguinus, vrsta, ki je zelo odvisna od svojega okolja, je še posebej občutljiva na onesnaževanje okolja. Zaradi te občutljivosti je odličen pokazatelj zdravja svojega ekosistema. Za habitat *P. anguinus*, ki vključuje reke, jezera in vodne potoke, ki se raztezajo skozi apnenčaste jame, je značilna voda, bogata s kisikom. Razpoložljivost kisika je ključnega pomena za preživetje *P. anguinus*, saj diha skozi zunanje škrge, pljuča in kožo (Lewarne in Balázs, 2020). Kakršno koli onesnaženje ali zmanjšanje ravnih kisika resno ogroža preživetje vrste *P. anguinus*, kar poudarja nujno potrebo po varstvu in ohranjanju njenega habitata.

Na slovenskem Krasu, enem najbolj ranljivih naravnih okolij, je ekologija *P. anguinus* močno prizadeta zaradi mlekarke industrije, ki svoje odpadne vode spušča v naravo in predstavlja enega izmed primarnih onesnaževalcev. Največ odpadnih voda nastane v proizvodnih in čistilnih procesih. Na primer, proizvodnja sira proizvede več ogljikovih hidratov in beljakovin, medtem ko maslo proizvede več lipidov (Slavov, 2017). Kazein, fosfoprotein v mleku sesalcev, je mogoče najti v odpadni vodi (Kaur, 2021). Poleg tega v odpadni vodi iz mlekarke industrije najdemo tudi maščobe (Al

-Wasify idr., 2017). Nekatere vode lahko celo vsebujejo elemente, kot so nikelj, natrij, klor, kalij, železo, baker, mangan in magnezij, ki so lahko v določenih količinah (Kalaf idr., 2021) škodljivi za življenjski prostor vrste *P. anguinus*. Eden od glavnih učinkov onesnaženosti odpadne vode iz mlekarne je sprememba kemijske potrebe po kisiku (KPK) in količini dušika (D) zaradi velike količine amoniaka (Sinha idr., 2018). Nenaden porast organske snovi lahko bistveno vpliva na kisikov režim v sekvenčnem šaržnem reaktorju - SŠR (Sequencing Batch Reactor). To so tako imenovani »šoki«, ko se količina organske snovi nenadoma poveča (primer je nenajavljena sprememba v proizvodnji), kar ni več skladno s SŠR programom, kar pomeni, da skupine mikroorganizmov ne uspejo obdelati organske mase v predvidenem času. Takrat pride do zmanjšanja količine kisika v SŠR bazenu, in če mešanje z zračenjem ne sledi tem spremembam, čiščenje vode ni ustrezno. Če takšna voda (obremenjena z organsko snovjo) pride v okolje, predvsem vpliva na habitate drobnih mikroorganizmov, ki so hrana *P. anguinus* (Shete in Shinkar, 2013).

Zanimivo je proučiti varstvo okolja kraških habitatov z vidika lokalnega upravljanja z industrijskimi odpadnimi vodami, ki ogrožajo podzemne kraške ekosisteme. Kot primer smo izbrali mlekarno Krepko, ki ima čistilno napravo za obdelavo velikih količin odpadne vode, ki se nato izpusti neposredno v okolje. Čistilna naprava uporablja napredne tehnologije za zmanjšanje onesnaževanja odpadne vode in zaščito podzemnih habitatov. Ima tri stopnje čiščenja: primarno, sekundarno in terciarno. Sekundarna stopnja vključuje biološke metode obdelave vode, kot sta sekvenčni šaržni reaktor (SŠR) in aktivno blato (AB). Namen te raziskave je preučiti učinkovitost dodajanja mikroorganizmov na osnovi železovega klorida pri nizkih temperaturah za izboljšanje procesa denitrifikacije (odstranjevanje amoniaka in nitratov) ter posledično izboljšanje metode čiščenja odpadne vode za zaščito habitatov vrste *P. anguinus*.

2 Teoretična izhodišča

2.1 Sekvenčni šaržni reaktor

SŠR je poenostavljena in učinkovita različica običajnega sistema z AB. Uporablja en sam rezervoar za vse svoje operacije – izravnavo, biološko obdelavo in sekundarno bistrenje. Njegov preprost sistem polnjenja in črpanja, ki ne vključuje stalnega dotoka odpadne vode, olajšuje sistem upravljanja z okoljem. Ima pet stopenj: polnjenje, reakcija, usedanje, dekantacija/izlivanje in mirovanje (Kushwaha idr., 2013).

Stopnja polnjenja predstavlja obseg vnosa neobdelane odpadne vode v rezervoar SŠR, v katerem poteka mešanje z zrakom. Pri statičnem polnjenju se dotok odpadne vode in aktivno blato ne mešata. Posledica tega so visoko koncentrirana področja organskih snovi, ki jih bakterije v aktivnem blatu uporabljajo za hrano (Azeez idr., 2023). Proces razgradnje organske snovi v tem primeru traja dlje v primerjavi z aktivnim polnjenjem s procesom mešanja.

Pri mešanju odpadne vode in aktivnega blata pride do takojšnje razgradnje organskih snovi. To vodi do popolne porabe kisika in ustvarja anoksične pogoje, ki spodbujajo denitrifikacijo. Zato je idealna kombinacija mešanja z zrakom, kar pospeši stopnjo denitrifikacije. Mešanje z zrakom se najpogosteje izvaja mehansko preko difuzerjev (Jing idr., 2021).

Stopnja reakcije je kritična faza SŠR, kjer bakterije in mikroorganizmi v blatu aktivno razgrajujejo organske snovi v odpadni vodi v anorganske spojine in s tem biološko čistijo vodo. Ta stopnja je lahko bodisi mešana z navadnim mešalom, kar ima za posledico anoksične pogoje in denitrifikacijo, bodisi mešana z zrakom, s čimer se vzpostavijo pogoji, potrebni za nitrifikacijo (Mahvi, 2008).

Tretji korak, usedanje, je tiha faza procesa, med katero sta blato in odpadna voda (očiščena voda) ločena s pomočjo gravitacije. Za izboljšanje rezultatov se lahko stopnja usedanja začne z nežnim mešanjem (Dutta in Sarkar, 2015).

Dekantiranje ali črpanje/izlivanje je mesto, kjer se odpadne vode odstranijo iz SŠR in prenesejo v naslednjo fazo čiščenja (Alagha idr., 2020).

Stopnja mirovanja med stopnjama črpanja in polnjenja je ključna za osvežitev blata, da ostane aktivno. Njegovo trajanje aktivnosti, ki je odvisno od količine dotočne vode, je ključno za ohranjanje učinkovitosti sistema.

SŠR sistemi so visoko učinkoviti sistemi z AB, ki dosledno odstranijo od 85 do 95 % biološke porabe po kisiku (BPK), posledično zmanjšujejo kemijsko porabo po kisiku in količino dušika (Dohare1 in Kesharwani, 2014).

2.2 Aktivno blato

AB, kultura mikroorganizmov, vključno z bakterijami in praživalmi, je ključnega pomena pri čiščenju odpadne vode iz različnih virov. Ti mikroorganizmi so osnova biološkega čiščenja vode, ki si prizadeva odstraniti organske spojine, ki onesnažujejo odpadno vodo.

Trije glavni elementi, ki jih uporablja aktivno blato, so kisik, dušik in fosfor (Ahansazan idr., 2014). Kisik privzeto porabijo vsi aerobni mikroorganizmi v blatu za svoje presnovne aktivnosti (Janczukowicz idr., 2001).

Bakterije v aktivnem blatu so izjemno učinkovite pri spopadanju s primarnim onesnaževalom – D. Bakterije so sposobne fiksacije D, amonifikacije, nitrifikacijo in denitrifikacije, pri čemer je slednja še posebej pomembna v odpadnih vodah mlečarn. Poleg tega so nitaste bakterije dokazano zelo uspešne pri odstranjevanju ogljikovih hidratov, kar dodatno povečuje učinkovitost procesa čiščenja. Shchegolkova idr. (2016) so ugotovili, da so najpogostejši organizmi v aktivnem blatu, ki se uporablja za čiščenje mlečnih odpadnih voda, cilijati (ciliates), rotifere (rotifers) in oligohete (oligochaeta).

Cilijati so bistvenega pomena za odstranjevanje bakterij iz odpadne vode, kar pomaga pri proizvodnji visokokakovostnih odplak z nizko vsebnostjo suspendiranih delcev in BPK. Plavajoči cilijati so enocelični organizmi, pokriti z migetalkami, ki premikajo mikroorganizme. Številne vrste in taksoni cilijatov so zanesljivi označe-

valci kakovosti odpadne vode znotraj določenih razponov biokemične porabe kisika in v povezavi s fizikalno-kemičnimi okoliščinami (Laybourn-Parry idr., 1999). Večina cilijatov v bioloških čistilnih napravah za hrano porabi razpršene populacije bakterij.

Vključitev gojenih rotiferov v aktivno blato znatno poveča učinkovitost čiščenja odpadne vode. Obstaja korelacija med številom rotifer ter hitrostjo in obsegom odstranjevanja suspendiranih delcev. Ugotovljeno je bilo, da se razpon velikosti neusedlih delcev, suspendiranih v odpadni vodi, in obseg velikosti delcev, ki jih pojedjo rotifere, prekrivata. Dokazano je bilo, da imajo rotifere dva različna učinka na suspendirane delce: izboljšano usedanje, najverjetneje zaradi povečane agregacije, in izboljšano porabo biomase zaradi prehranjevalne aktivnosti. Te študije kažejo, da imajo rotifere potencial za uporabo v izboljšanem procesu čiščenja odpadne vode, ki proizvaja manj biomase in več čistih odplak (Lapinski in Tunnacliffe, 2003).

Oligohete oziroma črvi jedo žive mikroorganizme. Pri gojenju na aktivnem blatu lahko dosežejo dolžino 2–7 cm, kar omogoča ročno ločevanje črvov od blata. Da bi dokazali, da sta zmanjšanje količine blata in rast črvov neločljivo povezana, je potrebna ločena kvantifikacija vsakega od njiju. Učinek plazečih ali premikajočih se organizmov na ravnotežje kisika v blatu in vodni plasti supernatanta je ključen pri njihovi uporabi v sloju blata brez mešanja. (Bastian idr., 2008). Trije sočasni procesi povzročijo razpad aktivnega blata v prisotnosti kisika in oligohete: trdne snovi blata se razgradijo v prebavnem traktu črvov, pri čemer nastane CO₂, biomasa črvov in fekalni peleti črvov.

2.3 Postopek denitrifikacije z aktivnim blatom v SŠR

Dušik je eno najpomembnejših onesnaževal v odpadnih vodah mlekarn, njegova obdelava pa je obvezna, da se odpadna voda lahko izlije v okolje. Visoke ravni dušika lahko povzročijo povečane emisije N₂O ali povzročijo pomanjkanje kisika v vodah zaradi eutrofikacije, ki jo povzroča hitra rast mikroorganizmov. Prvi produkt, iz katerega se pridobiva dušik, je amoniak. Za to sta potrebni nitrifikacija in denitrifikacija (Mees idr., 2013).

Nitrifikacija je proces, ki poteka v aerobnih pogojih. Vključuje pretvorbo amonijaka v nitrit in nadalje v nitrat. Amoniak najpogosteje izvira iz beljakovin, kot je kazein ali aminokislina. Za ta proces sta odgovorna dva bakterijska rodova, *Nitrosomonas* in *Nitrobacter*, pri čemer prva pretvori amoniak v nitrit, druga pa v nitrat. Krovni izraz, ki se uporablja za te vrste bakterij, je nitrifikatorji. Reakcije potekajo na citomembrani nitrifikatorja z dodajanjem kisika. Poleg tega so nitrifikatorji avtotrofni organizmi, ki uporabljajo anorganski ogljik v karbonatih ali ogljikov dioksid (Dong-Jin in Sun-Hee, 2006).

Denitrifikacija poteka v anoksičnih pogojih. To je proces pretvorbe nitrata v dušik, ki se sprosti v ozračje. Proces izvajajo denitrifikacijske bakterije, ki uporabljajo organski ogljik, ki se nahaja v sladkorjih (Zayed in Winter, 1998).

Izziv pri nitrifikaciji in denitrifikaciji je v njuni soodvisnosti in zahtevanih različnih optimalnih pogojih. Medtem ko nitrifikatorji najbolje delujejo pri približno 25 °C, je najučinkovitejše temperaturno območje denitrifikacijskih bakterij med 30 °C in

35 °C. Upravljanje teh razlik v istem okolju z aktivnim blatom pri nizkih temperaturah je ključnega pomena, saj zagotavlja popolno ravnovesje za oba procesa in je v procesu čiščenja odpadnih voda pomembno z vidika skrbnega upravljanja z okoljem.

2.4 Temperatura in proces nitrifikacije in denitrifikacije

Temperatura velja za enega najbolj kritičnih fizikalnih dejavnikov za mikrobno aktivnost v aktivnem blatu. Lahko vpliva na presnovne poti, tvorbo končnih produktov in sestavo aktivnega blata (Burgess idr., 1999). V zadnjem stoletju so številne raziskave pokazale, kako temperatura vpliva na procese v aktivnem blatu. Številni parametri so glavni poudarek teh raziskav: parametra KPK in BPK, usedanje blata, čas polnjenja SŠR, zmogljivost čistilne naprave, učinki na nitrifikacijo in denitrifikacijo, odstotek razpada aktivnega blata, koeficient celične sinteze, starost blata itd. Glede na spremenljivke, izbrane za opazovanje, se rezultati lahko razlikujejo.

Zvišanje temperature povzroči povečanje KPK in skupnih suspendiranih snovi, kar posledično povzroči zmanjšanje dušikovih komponent (Brehar idr., 2019). V drugi študiji je bilo dokazano, da povišanje temperature povzroči povečanje stopnje privzema kisika, kar predstavlja spremembo raztopljenega kisika, s čimer je mogoče oceniti vzorce biorazgradnje (Chalasan in Sun, 2007). Kitajska študija razkriva, da temperaturni razpon od 20 °C do 35 °C vodi do povečanja mikrobiološke aktivnosti odstranjevanja KPK, medtem ko temperature pod 20 °C zavirajo aktivnosti odstranjevanja D in KPK (Ai idr., 2019). Raziskava na čistilnih napravah iz leta 2001 pa razkriva, da se z nižjo temperaturo učinkovitost odstranjevanja KPK zmanjša s 93 % na 87 % (Ghanizadeh in Sarrafpour, 2001). Navajajo tudi, da se koncentracija suspendiranih delcev pri teh spremembah temperature poveča. Druga raziskava je pokazala, da je znižanje temperature privedlo do zmanjšane odstranjevanja KPK in povečane motnosti vode ter da je nizka temperatura vode razlog za spremembe v strukturi in delovanju bakterijske skupnosti (Nadarajah idr., 2007).

Pri odstranjevanju dušika je bila največja učinkovitost opažena pri temperaturnih območjih od 20 °C do 30 °C (Myszograj, 2015). Bakterije *Nitrosomonas* dosežejo vrh aktivnosti pri višji temperaturi (Fdz-Polanco idr., 1994). Druga študija o odpadni vodi iz industrije mlečnih izdelkov pa ni pokazala povezave med odstranjevanjem dušika in sezonskimi spremembami, je pa potrdila izboljšanje odstranjevanja amoniaka (Tao idr., 2012).

Glede na vzpostavljeno povezavo med visoko vsebnostjo organskih snovi, KPK in D v različnih letnih časih (Roufou idr., 2021), je očitno, da bo svetovni trend sprememb povprečnih temperatur pomembno vplival na proces aktivnega blata. To poudarja nujnost in pomen raziskav pri razumevanju in blaženju možnih učinkov spreminjanja temperature in čiščenja odpadne vode.

3 Materiali in metode

Na začetku prezračevalnega cikla je v SŠR veliko organske snovi, zato je aktivnost biomase v tem času zelo visoka in je med mešanjem pričakovana nižja koncentracija kisika. Koncentracija kisika je odvisna tudi od koncentracije biomase; več kot je biomase in bolj, kot je aktivna, nižja bo izmerjena koncentracija kisika.

Ker želimo, da sta amoniak in dušik biološko odstranjena v SŠR, je to mogoče doseči samo s ponavljajočimi se cikli mešanja z zrakom in denitrifikacije. V scenariju, kjer nitrifikacije ni – ves dušik je v amonijevi obliki, nitrat in nitrit nista prisotna. V tem primeru je v praksi potrebno mešati z zrakom čim dlje za pretvorbo amonijevega dušika v nitrat, pri prezračevanju pa se porablja tudi KPK/BPK oziroma organska snov.

V naši raziskavi smo izvedli dva poskusa za odstranjevanje amoniaka. V prvem poskusu smo pri temperaturi vode 6 °C vključili fazo denitrifikacije (16 ur zračenja/nad 4 bare) in dodali kemično tekočino od podjetja iz Avstrije VTA (org. Verfahrens-Technologische Abwasseraufbereitung) Nanofloc A644 (na osnovi železovega klorida) za pospešitev procesa rasti mikroorganizmov in s tem hitrejše zmanjšanje biomase v procesu hranjenja (ciljna vrednost je pod 400 ml/l), zmanjšanje KPK (želena vrednost je pod 70 mg/l O₂) in doseganje zelene vrednosti dušika (pod 7 mg/l O₂). V drugem poskusu, kjer smo zaznali amoniak, smo pri temperaturi vode 7 °C vključili fazo denitrifikacije brez dodajanja kemične tekočine VTA. V obeh primerih so bili zabeleženi rezultati za prisotnost amoniaka, usedanje biomase, številčnost mikroorganizmov, KPK in koncentracijo dušika.

3.1 Priprava vzorca

Bazen SŠR je bil napolnjen z vodo in AB do volumna 80 m³. Od tega je bila približno 1/5 aktivnega blata pripeljanega iz bližnje komunalne čistilne naprave. Dodajanje/mešanje zraka je potekalo pri 4–6 barih preko sistema cevi in difuzorjev v denitrifikacijskem ciklu. Cikel je obsegal 16 ur prezračevanja in 8 ur drugih faz sistema SŠR.

Poskus smo izvedli z dvema tipoma vzorcev odpadne vode. Vzorec 1: V teku procesa denitrifikacije smo v bazen 30 dni zapored dodajali tekočo hrano VTA Nanofloc A644 (<35% FeCl₃) v količini 0.500 kg na dan na začetku procesa prezračevanja. Povprečna zunanja dnevna temperatura je znašala 3.9 °C, temperatura vode pa 6 °C. Vzorec 2: V procesu denitrifikacije tekoče hrane VTA Nanofloc A644 nismo dodajali. Povprečna zunanja dnevna temperatura je znašala 10.5 °C, temperatura vode pa 7 °C.

3.2 Vzorčenje in analiza ter predstavitev rezultatov

Vsak dan smo odvzeli 1 L vode za ugotavljanje prisotnosti amoniaka. V posodo smo nalili vodo in s testnimi lističi za določevanje amoniaka (proizvajalec Macherey-Nagel, Nemčija) določili prisotnost amoniaka. Lističe smo namočili v vzorec odvzete vode za 15 s in po 1 min odčitali rezultate glede na spremembo barve lističa. Rezultate smo zapisali v tabelo 1 (prisoten/ni prisoten).

Na začetku in koncu poskusa smo odvzeli 1 l vode za merjenje količine biomase. Na začetku poskusa je bila biomasa v obeh vzorcih nad 800 ml/l odvzete vode. Na koncu poskusa smo v posodo nalili vodo, merili vsedljivost odpadne vode 30 minut in rezultate zapisali v tabelo 2.

Vsak dan smo na iztoku vzeli vzorce vode za merjenje KPK in koncentracije D. Vzorca sta bila podvržena laboratorijskemu testiranju v laboratoriju mlekarne Krepko po vnaprej določenem postopku za fotometrične analize. Fotometrična analiza vode s kivetnimi testi je postopek merjenja koncentracije kemikalij ali onesnaževal v vodi s pomočjo fotometrije, pri čemer se uporabljajo prozorni kivetni. Vzorec vode se vlije v kiveto, ki mora biti čista, in brez napak, saj lahko umazanija ali poškodba vplivata na natančnost meritev. V vzorec se doda kemijski reagent, kar povzroči kemijsko reakcijo, ki spremeni barvo vzorca. Kiveta se nato postavi v termoblok Vario Mini (proizvajalec Macherey-Nagel, Nemčija) na temperaturo 120 °C v časovnem obdobju 30 minut. Po tem obdobju se kiveta ohladi 30 minut. Nato se kiveta z vzorcem postavi v fotometer PF-12 Plus (proizvajalec Macherey-Nagel, Nemčija), ki meri količino svetlobe, ki jo prepušča ali absorbira vzorec pri določeni valovni dolžini. Svetloba se običajno oddaja skozi vzorec, fotometer pa meri spremembo svetlobe. Na podlagi absorbance svetlobe, ki jo meri fotometer, se izračuna koncentracija snovi, ki vpliva na porabo kisika, kar daje rezultat za KPK in D. Na podlagi izmerjenih podatkov se določi vrednost KPK in D, ki pomaga oceniti, koliko kisika bo potrebno za oksidacijo organske snovi v vodi. Višje vrednosti KPK in D običajno kažeta na večje onesnaženje z organskimi snovmi.

Na koncu poskusa smo iz SŠR bazena odvzeli 1 L odpadne vode za določitev vrste in števila mikroorganizmov. Ta del raziskave smo izvedli v sodelovanju z laboratorijem za okolje Univerze v Novi Gorici. Vzorec smo najprej pustili 24 ur v hladilniku pri temperaturi 7 °C. Nato smo vzeli vzorec, ga dobro premešali, da bi bila struktura čim bolj homogena, in neposredno s kapalko vzeli 1 ml. 1 ml smo nanесли na mikroskopsko steklo in ga pokrili s pokrovnim steklom. Vzorec smo pregledali pod svetlobnim mikroskopom. Svetlobni mikroskop je laboratorijski instrument, ki se uporablja za prikaz povečane slike s pomočjo steklenih leč in svetlobnih žarkov. Konveksne leče znotraj naprave manipulirajo s svetlobo, ki se odbija od predmeta, ki ga opazujemo, in jo upognejo proti očesu, kar povečuje predmet. Svetlobni mikroskop (proizvajalec Motic, ZDA), uporabljen med raziskavo, je vseboval tri leče: kondenzor, objektivne leče in okular. Kondenzor je postavljen med svetlobni vir in objekt na mikroskopu. Objektivne leče so med objektom in okularjem ter povečajo sliko. Mikroskop, ki je bil uporabljen, ima štiri možnosti povečave: 4x, 10x in 40x. Med raziskavo sta bili najpogosteje uporabljeni povečavi 10x in 40x.

Za namene raziskave smo uporabili ključ za identifikacijo mikroorganizmov (Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung, Nemčija). Pregled smo izvedli 5-krat v tekočem tednu (od ponedeljka do petka) na 1 ml vzorca, kar pomeni skupaj 5 ml. Mikroorganizme (MO) smo prešteli, rezultati pa so prikazani v tabeli 5.

4 Rezultati

Tabela 1

Odkrivanje amoniaka v vodi.

Dnevi	Amoniak	
	Vzorec 1	Vzorec 2
0–30 dni		
0	Da	Da
1–5 dni	Da	Da
6–10 dni	Ne	Da
11–15 dni	Ne	Da
16–20 dni	Ne	Da
21–25 dni	Ne	Ne
26–30 dni	Ne	Ne

Pojasnilo za tabelo: Da – amoniak je prisoten, Ne – amoniak je odsoten.

Tabela 2

Količina biomase (ml/l)

Vreme	Vzorec 1		Vzorec 2	
	Usedanje 1	Kompaktnost 1	Usedanje 2	Kompaktnost 2
0–30 min				
0 min	1000 ml/l	Slaba	1000 ml/l	Slaba
1–5 min	800 ml/l	Slaba	900 ml/l	Slaba
6–10 min	600 ml/l	Srednja	900 ml/l	Slaba
11–15 min	500 ml/l	Srednja	800 ml/l	Slaba
16–20 min	500 ml/l	Odlična	700 ml/l	Slaba
21–25 min	400 ml/l	Odlična	600 ml/l	Srednja
26–30 min	300 ml/l	Odlična	600 ml/l	Srednja

Tabela 3

Koncentracija KPK ob izpustu (mg/l O₂)

Dnevi	Količina KPK na izpustu	
	Vzorec 1	Vzorec 2
0–30 dni		
–	–	–
1–5 dni	nad 70 mg/l O ₂	nad 70 mg/l O ₂
6–10 dni	nad 70 mg/l O ₂	nad 70 mg/l O ₂
11–15 dni	nad 70 mg/l O ₂	nad 70 mg/l O ₂
16–20 dni	pod 70 mg/l O ₂	nad 70 mg/l O ₂
21–25 dni	pod 70 mg/l O ₂	nad 70 mg/l O ₂
26–30 dni	pod 70 mg/l O ₂	nad 70 mg/l O ₂

Pojasnilo za tabelo: zeleni cilj je pod 70 mg/l O₂.

Tabela 4

Koncentracija dušika pri izpustu (mg/l)

Dnevi	Količina D na izpustu	
	Vzorec 1	Vzorec 2
0–30 dni		

–	–	–
1–5 dni	nad 7 mg/l D	nad 7 mg/l D
6–10 dni	nad 7 mg/l D	nad 7 mg/l D
11–15 dni	nad 7 mg/l D	nad 7 mg/l D
16–20 dni	pod 7 mg/l D	nad 7 mg/l D
21–25 dni	pod 7 mg/l D	nad 7 mg/l D
26–30 dni	pod 7 mg/l D	nad 7 mg/l D

Pojasnilo za tabelo: zeleni cilj je 7 mg/l D.

Tabela 5

Vrste in število mikroorganizmov na 5ml/l

Mikroorganizmi					
Vzorec 1			Vzorec 2		
Ciliates	Rotiferes	Oligochaetes	Ciliates	Rotifers	Oligochaetes
15 MO/5ml	4 MO/5ml	8 MO/5ml	3 MO/5ml	2 MO/5ml	2 MO/5ml

5 Razprava

Dodajanje hrane na bazi železovega klorida v sekvenčni šaržni reaktor je bistveno pospešilo proces denitrifikacije, kar je pripomoglo k znižanju koncentracije amoniaka in dušika v odpadni vodi. Hrana je še posebej vplivala na hitro rast ciliatov, ki so se zelo hitro prilagodili novim pogojem. Ciliati so rasli petkrat hitreje ob dodajanju hrane v primerjavi z obdobjem, ko hrane ni bilo. Število ciliatov je bilo 15 na 5 ml odpadne vode, predpostavlja pa se, da jih je bilo več kot 3000 na 1 L odpadne vode. Ti organizmi so verjetno prispevali k hitrejši regulaciji vrednosti KPK in D. KPK je v procesu hranjenja dosegel zeleno vrednost v 14 dneh, medtem ko brez hranjenja tega cilja niso dosegli v 30 dneh. D je dosegel zeleno vrednost v 21 dneh v procesu hranjenja, brez hrane pa v 30 dneh ni dosegel zelene vrednosti. Znižanje koncentracije D je ključno za izboljšanje kakovosti vode, saj D v prekomernih količinah spodbuja eutrofikacijo vodnih teles. KPK je zelo pomemben za količino kisika v vodi, kar posledično vpliva tudi na boljše rezultate pri zmanjševanju D. Visoka koncentracija kisika je nujna za vrsto *P. anguinus*, saj diha preko zunanjih škrg, pljuč in celo telesa. Oligoheti so bili v vodi, kjer je bila dodana hrana, štirikrat številčnejši kot v vodi brez hrane. Našli smo jih 8 na 5 ml odpadne vode, predpostavlja pa se, da jih je bilo več kot 1600 na 1 L odpadne vode. Oligoheti so verjetno prispevali k manjši količini blata, kar pomeni manjšo obremenitev z organsko snovjo. Voda, obremenjena z organsko snovjo, lahko vpliva na habitate mikroorganizmov, ki so hrana *P. anguinus*. Rotiferi so bili dvakrat številčnejši ob dodajanju hrane v primerjavi z vodo brez hrane. Našli smo jih 4 na 5 ml odpadne vode, predpostavlja pa se, da jih je bilo več kot 800 na 1 l odpadne vode. Rotiferi so verjetno prispevali k boljši kompaktnosti blata in hitrejšemu usedanju, kar je pomembno za proces odvajanja čiste vode od aktivnega blata. Hrana na bazi železa je omogočila tudi hitrejši razvoj mikroorganizmov, ki so ključni za biološki proces čiščenja. Železo je delovalo kot pomemben katalizator za povečanje aktivnosti teh

organizmov, saj spodbuja njihovo presnovo in izboljšuje biološko učinkovitost pri razgradnji D. S tem se je izboljšala kakovost vode in omogočilo boljše varstvo podzemnih habitatov, ki so ključni za vrsto *P. anguinus*.

6 Sklep

Aplikativne raziskave so pokazale, da dodajanje kemikalij na osnovi železovega klorida, poleg vpliva temperature, pripomore k hitrejši rasti organizmov in s tem pospeši proces denitrifikacije, tj. odstranjevanje amoniaka in nitratov. To posledično vodi tudi do boljših rezultatov KPK in dušika pri končnem izpustu. Boljši rezultati so bili doseženi v dveh tednih za KPK in treh tednih za dušik. Pri običajnem postopku ta dva procesa običajno trajata 6–8 tednov brez dodajanja hrane.

Kljub tem napredkom pa obstaja jasna potreba po nadaljnjih raziskavah, ki bodo obravnavale različne mešanice odpadne vode na vstopu (proizvodnja sira, masla itd.), da se natančno določi proizvodno breme za sekvenčni šaržni reaktor in aktivno blato. Na podlagi teh raziskav bi lahko natančno določili tudi optimalno koncentracijo za dodajanje hrane na osnovi železovega klorida.

Zelo pomembno je tudi raziskovanje toksičnosti kemijskih ostankov železovega klorida na drobne organizme, ki so hrana za vrsto *P. anguinus*. Zato predlagamo stalno spremljanje mikroorganizmov v aktivnem blatu, spremljanje njihove populacije in izvedbo poskusov za obvladovanje teh populacij z biološkimi rešitvami.

Poleg tega je ključno proučevanje porabe kemikalij in njihovega končnega vpliva na ekonomski vidik vzdrževanja okoljevarstvenih procesov. To bo omogočilo dragocen vpogled v praktične posledice raziskav ter povečalo ozaveščenost o finančnih posledicah naših prizadevanj za varstvo okolja.

Aleksandar Šobot, PhD, Diana Bilić Šobot, PhD

Biological Treatment Practice of Dairy Wastewater to Protect the Habitat of *Proteus Anguinus*

*Slovenia is one of the few countries where the species *Proteus anguinus* resides. The habitat of this species exists primarily within the Natura 2000 area of Slovenia. This area has developed an agricultural industry that includes local farms and dairies. One such company is Krepko Dairy, which is strategically situated right in the habitat of *Proteus anguinus*. According to the current Slovenian legislation, directly discharging wastewater from the dairy industry into the environment is prohibited. Consequently, the dairy must treat the wastewater before its release into the environment. *Proteus anguinus* has a very narrow ecological tolerance regarding its habitat. Therefore, the Krepko Dairy wastewater treatment plant comprises prima-*

ry, secondary, and tertiary phases. The primary phase involves physical processes to eliminate large particles; the secondary phase includes biological treatment, utilizing a sequential batch reactor and activated sludge; and the tertiary phase employs chemical treatment for further water purification. The biological phase is essential for environmental protection, as it removes ammonia and nitrate, thus safeguarding the delicate habitat of *Proteus anguinus*.

In our research, we conducted two experiments to evaluate the effectiveness of the Krepko Dairy wastewater treatment plant in removing ammonia and nitrate, which are harmful to the habitat of *Proteus anguinus*. In the first experiment, we included the denitrification phase at a water temperature of 6°C (16 hours of aeration above 4 bars). We added the chemical liquid VTA (Austria) Nanofloc A644 (based on ferric chloride) to accelerate the growth process of microorganisms and thus achieve a faster reduction of biomass in the feeding process (with a target value below 400 ml/L), a decrease in COD (with a desired value below 70), and attainment of the desired nitrogen value (below 7). In the second experiment, where ammonia was detected, we included the denitrification phase at a water temperature of 7°C, without adding the chemical liquid. In both cases, we recorded the presence of ammonia, biomass sedimentation, the abundance of microorganisms, COD, and nitrogen concentrations, providing valuable insights into the wastewater treatment plant's efficiency.

The SBR pool contained 80 m³ of water, with approximately one-fifth being activated sludge from a nearby municipal wastewater treatment plant. We focused on maintaining ideal conditions, with air addition and mixing between 4 to 6 bars through a system of pipes and diffusers in the denitrification cycle—16 hours of aeration followed by 8 hours of other cycles of the SBR. In the first sample, in addition to the denitrification process, we introduced liquid food VTA Nanofloc A644 (less than 35% FeCl₃), directly into the pool, for 30 days at the start of the aeration process. The average daily outdoor temperature was 3.9°C, while the water's was 6°C. The same denitrification cycle was utilized for the second sample without adding liquid food. The average daily outdoor temperature increased to 10.5°C, and the water temperature was 7°C.

We carefully collected 1 litre of water daily to check for ammonia. We poured the water into a container and tested for ammonia using test strips. The strips were submerged in the water for 15 seconds, and after 1 minute, we read the results based on colour. At the beginning and end of the experiment, we sampled 1 litre of water to measure the biomass. Initially, the biomass in both samples exceeded 800 ml/L. By the end of the experiment, we poured more water into the container and measured it over 30 minutes.

We collected water samples daily at the outlet to monitor COD and nitrogen concentrations. The samples underwent laboratory testing following a defined procedure for Nanocolor cuvette tests. We conducted standard analyses using the Vario mini apparatus.

At the end of the experiment, 1 litre of water (with activated sludge) was taken from the SBR pool to determine the type and number of microorganisms. The research

was conducted using a Motic microscope in the Environmental Laboratory of the University of Nova Gorica (Slovenia) and the Environmental Laboratory of Dairy Krepko, following standard procedures (adding a drop of water to a slide and identifying organisms under the lens). For the study, we utilized a key to identify microorganisms.

In both cases, ammonia was initially present. In the first case (+ food), this issue was resolved in one week; in the second case, it took three weeks (- food). The results indicate that the desired biomass concentration (below 400 ml/L) was achieved in the first case, unlike in the second. This suggests that the addition of food significantly accelerated the denitrification process. Furthermore, biomass settling and better compaction occurred more quickly in the first case, which is crucial for effective wastewater treatment. After two weeks, the first case reached the desired goal (below 70), whereas the second did not. In the first case, the target (below 7) was met after three weeks, while the second failed to meet the goal. The results show that there were at least twice as many organisms in the first case (+ food) as in the second sample (- food).

Adding food to sample 1 significantly accelerated the denitrification process and swiftly addressed the issues of ammonia and nitrates in the wastewater. The increased number of microorganisms, particularly Ciliata, played a vital role in quickly regulating COD values. Rotifers further improved the process by promoting better sludge compaction and faster settling. Oligochaeta's contribution to reducing the amount of sludge was also significant. The substantial surge in the number of microorganisms during the denitrification process achieved the desired results. The example of feeding with ferric chloride illustrated that the denitrification process could succeed in three weeks, marking a significant improvement over the conventional method, which often takes 6-8 weeks without any added food.

The research has indicated that the issue of nitrate pollution can be addressed twice as quickly by feeding microorganisms in the activated sludge SBR pool. When such problems arise, discharging water into the environment is prohibited, or the water must be transported to a nearby treatment plant for processing until the situation stabilizes. All of this demands significant financial resources. Nevertheless, research demonstrating the potential for substantial cost savings in wastewater management will certainly encourage investment in a system for feeding microorganisms, helping to avoid the expensive transport and treatment of contaminated water.

LITERATURA

1. Ahansazan, B., Afrashteh, H., Ahansazan, N. in Ahansazan, Z. (2014). Activated sludge process overview. *International Journal of Environmental Science and Development*, 5(1).
2. Ai, C., Yan, Z., Zhou, H., Hou, S., Chai, L., Qiu, G. in Zeng, W. (2019). Metagenomic insights into the effects of seasonal temperature variation on the activities of activated sludge. *Microorganisms*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120713>
3. Alagha, O., Allazem, A., Bukhari, A. A., Anil, I. in Mu'azu, N. D. (2020). Suitability of SBR for wastewater treatment and reuse: Pilot-scale reactor operated in different anoxic conditions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph17051617>

4. Al-Wasify, R. S., Ali, M. N. in Hamed, S. R. (2017). Biodegradation of dairy wastewater using bacterial and fungal local isolates. *Water Science and Technology*, 76(11), 3094–3100. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.481>
5. Azeez, G. K., AlJaberi, F. Y., Ahmed, S. A. in Hussain, A. A. (2023). Sequencing batch reactor (SBR) technology in wastewater treatment: A mini-review. *AIP Conference Proceedings*, 2806(1). <https://doi.org/10.1063/5.0163432>
6. Balázs, G. in Lewarne, B. (2020). Observed air-breathing behaviour of *Proteus anguinus* individuals under an intermittent hypoxic scenario in their natural habitat, with details of the prevailing environmental conditions. *Observations in Speleology*, 6, 2–7.
7. Bastian, R., Buys, A., Klapwijk, H., Elissen, W. H. in Rulkens, W. H. (2008). Development of a test method to assess the sludge reduction potential of aquatic organisms in activated sludge. *Bioresource Technology*, 99(17), 8360–8366. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.041>
8. Bizjak Mali, L., Sepčić, K. in Bulog, B. (2013). Long-term starvation in cave salamander: Effects on liver ultrastructure and energy reserve mobilization. *Journal of Morphology*, 274(8), 887–900. <https://doi.org/10.1002/jmor.20145>
9. Brehar, M. A., Várhelyi, M., Cristea, V. M., Cristiu, D. in Agachi, Ș. P. (2019). Influent temperature effects on the activated sludge process at a municipal wastewater treatment plant. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Chemia*, 64(1), 113–123. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2019.1.09>
10. Burgess, J. E., Quarmby, J. in Stephenson, T. (1999). Role of micronutrients in activated sludge-based biotreatment of industrial effluents. *Biotechnology Advances*, 17(1), 49–70. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(98\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(98)00016-0)
11. Chalasani, G. in Sun, W. (2007). Measurement of temperature effects on oxygen uptake rate in activated sludge treatment. Report, Michigan State University College of Engineering, USA.
12. Dohare, D. in Kesharwani, N. (2014). A review on wastewater treatment using sequential batch reactor. *International Journal of Scientific Engineering and Technology*, 3(9), 1135–1138.
13. Dong-Jin, K. in Sun-Hee, K. (2006). Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitrification reactor systems and their kinetic characteristics. *Water Research*, 40(5), 887–894. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.12.023>
14. Dutta, A. in Sarkar, S. (2015). Sequencing batch reactor for wastewater treatment: Recent advances. *Current Pollution Reports*, 1(3), 177–190. <https://doi.org/10.1007/s40726-015-0016-y>
15. Fdz-Polanco, F., Villaverde, S. in Garcia, P. A. (1994). Temperature effect on nitrifying bacteria activity in biofilters and free ammonia inhibition. *Water Science and Technology*, 30(11), 121–130.
16. Ghanizadeh, G. in Sarrafpour, R. (2001). The effects of temperature and pH on settlability of activated sludge flocs. *Iranian Journal of Public Health*, 30(3–4), 139–142.
17. Janczukowicz, W., Szewczyk, M., Krzemieniewski, M. in Pesta, J. (2001). Settling properties of activated sludge from a sequencing batch reactor (SBR). *Polish Journal of Environmental Studies*, 10(1), 15–20.
18. Kaur, N. (2021). Different treatment techniques of dairy wastewater. *Groundwater for Sustainable Development*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2021.100640>
19. Khalaf, A. H., Ibrahim, W. A., Fayed, M. in Eloffy, M. G. (2021). Comparison between the performance of activated sludge and sequence batch reactor systems for dairy wastewater treatment under different operating conditions. *Alexandria Engineering Journal*, 60(1), 1433–1445. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2020.10.062>
20. Kushwaha, J. P., Srivastava, V. C. in Mall, I. D. (2013). Sequential batch reactor for dairy wastewater treatment: Parametric optimization, kinetics and waste sludge disposal. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 1(4), 1036–1043. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.08.018>
21. Lapinski, J. in Tunnacliffe, A. (2003). Reduction of suspended biomass in municipal wastewater using bdelloid rotifers. *Water Research*, 37(9), 2027–2034. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00626-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00626-7)
22. Laybourn-Parry, J., Boyall, J. in Rogers, P. (1999). The role of flagellated and ciliated protozoa in lagoon and grass filter sewage treatment systems. *Water Research*, 33(13), 2971–2977. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00523-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00523-5)

23. Mees, J. B. R., Gomes, S. D., Hasan, S. D. M., Gomes, B. M. in Vilas Boas, M. A. (2013). Nitrogen removal in a SBR operated with and without pre-denitrification: Effect of the carbon:nitrogen ratio and the cycle time. *Environmental Technology*, 35(1), 115–123. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.816373>
24. Myszograj, S. (2015). The impact of temperature on the removal of nitrogen compounds in activated sludge system. *British Journal of Applied Science & Technology*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.9734/bjast/2015/18950>
25. Nadarajah, N., Grant Allen, D. in Fulthorpe, R. R. (2007). Effects of transient temperature conditions on the divergence of activated sludge bacterial community structure and function. *Water Research*, 41(12), 2563–2571. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.002>
26. Roufou, S., Griffin, S., Katsini, L., Polańska, M., Van Impe, J. F. M. in Valdramidis, V. P. (2021). The (potential) impact of seasonality and climate change on the physicochemical and microbial properties of dairy waste and its management. *Trends in Food Science and Technology*, 116, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.008>
27. Shchegolkova, N. M., Krasnov, G. S., Belova, A. A., Dmitriev, A. A., Kharitonov, S. L., Klimina, K. M., Melnikova, N. V. in Kudryavtseva, A. V. (2016). Microbial community structure of activated sludge in treatment plants with different wastewater compositions. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00090>
28. Shete, B. S. in Shinkar, N. P. (2013). Dairy industry wastewater sources, characteristics and its effects on environment. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 1611–1615.
29. Sinha, S., Srivastava, A., Mehrotra, T. in Singh, R. (2018). A review on the dairy industry wastewater characteristics, its impact on environment and treatment possibilities. V T. Jindal (ur.), *Emerging issues in ecology and environmental science* (str. 73–84). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99398-0_6
30. Slavov, A. K. (2017). General characteristics and treatment possibilities of dairy wastewater – A review. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 14–28.
31. Sovon, H. S. (2005). Target species – species of European concern: A database driven selection of plant and animal species for the implementation of the Pan European Ecological Network. Alterra-report. Alterra, Wageningen.
32. Šobot, A. in Lukšič, A. (2020). Natura 2000 experiences in Southeast Europe: Comparisons from Slovenia, Croatia and Bosnia and Herzegovina. *Journal of Comparative Politics*, 13(1), 46–57.
33. Tao, C., Parker, W. in Bérubé, P. (2021). Characterization and modelling of soluble microbial products in activated sludge systems treating municipal wastewater with special emphasis on temperature effect. *Science of the Total Environment*, 779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146471>
34. Tesařová, M., Mancini, L., Mauri, E., Aljančič, G., Năpăruș-Aljančič, M., Kostanjšek, R., Bizjak Mali, L., Zikmund, T., Kaucká, M., Papi, F., Goyens, J., Bouchnita, A., Hellander, A., Adameyko, I. in Kaiser, J. (2022). Living in darkness: Exploring adaptation of *Proteus anguinus* in 3 dimensions by X-ray imaging. *GigaScience*, 11. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giac030>
35. Yang, J., Liang, W. L. in Huang, F. C. (2021). Review of SBR process in effluent treatment. *E3S Web of Conferences*, 233. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202123301120>
36. Zayed, G. in Winter, J. (1998). Removal of organic pollutants and of nitrate from wastewater from the dairy industry by denitrification. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49, 469–474.

dr. Aleksandar Šobot, docent na Fakulteti za ekonomijo in informatiko Univerze v Novem mestu

E-mail: aleksandar.sobot@uni-nm.si

dr. Diana Bilić-Šobot, Pivka perutninarstvo

E-mail: diana.bilic1988@gmail.com