

Zastosowanie techniki FTIR i metod chemometrycznych do oceny procesu biologicznego oczyszczania ścieków komunalnych osadem czynnym

Application of the FTIR technique and chemometric methods to evaluate the biological process of municipal wastewater treatment with activated sludge

Krzysztof Piaskowski, Bartosz Walendzik*

Słowa kluczowe: *oczyszczanie ścieków, FTIR, osad czynny, PCA, PLS*

Streszczenie

Biologiczny proces osadu czynnego jest najpopularniejszą metodą stosowaną w licznych oczyszczalniach ścieków, która z reguły pozwala na uzyskanie wymaganego efektu ekologicznego. Jednakże charakteryzuje się ona również pewną niestabilnością uzyskiwanych efektów zależną od warunków i parametrów, na które częściowo eksploatacja nie ma wpływu. Dlatego też poszukuje się szybkich technik analitycznych do kontroli i oceny osadu czynnego, które w przypadku pojawienia się nieprawidłowości w komorach biologicznych pozwolą na podjęcie decyzji operacyjnych korygujących proces, jak również jego optymalizację. W niniejszym artykule zaprezentowano możliwości wykorzystania analizy FTIR-DRIFT zawiesiny osadu czynnego połączonej z analizą chemometryczną wybranych parametrów osadu i ścieków do oceny procesu oczyszczania na poszczególnych etapach pracy reaktora biologicznego. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie techniki FTIR do szybkiej oceny procesu biologicznego jest możliwe, a w połączeniu z modelowaniem PLS i po odpowiednim skalibrowaniu z wartościami parametrów fizyczno-chemicznych może stanowić element kontroli w eksploatacji oczyszczalni ścieków.

Keywords: *wastewater treatment, FTIR, activated sludge, PCA, PLS*

Abstract

The activated sludge process is the most popular method used in many sewage treatment plants, which usually allows to achieve the required ecological effect. However, it is also characterized by a certain instability of the obtained effects, depending on conditions and parameters which are partly beyond the operator's influence. Therefore, rapid analytical techniques are being sought for the control and assessment of activated sludge, which, in the event of irregularities occurring in biological tanks, will allow operational decisions to be made to correct the process as well as its optimization. This article presents the possibilities of using FTIR-DRIFT analysis of activated sludge suspension combined with chemometric analysis of selected sludge and sewage parameters to assess the course of the purification process at various stages of operation of the biological reactor. The obtained results indicate that the use of the FTIR technique for rapid assessment of a biological process is possible, and in combination with PLS modeling and after appropriate calibration with physical and chemical parameters, it can constitute a control element in the operation of sewage treatment plants.

1. WSTĘP

Osad czynny, jako główna metoda biologicznego oczyszczania ścieków komunalnych jest złożonym układem, w którym w obecności różnych typów mikroorganizmów zachodzą procesy fizyczne oraz reakcje biochemiczne prowadzące do uzyskania wymaganej jakości ścieków oczyszczonych. Przebieg i efektywność procesów biologicznych są uzależnione od wielu zmiennych czynników i warunków, ale przede wszystkim od prawidłowej pracy samego osadu czynnego [13,24].

Racjonalna eksploatacja oczyszczalni ścieków opiera się na kontroli, zarówno elementów technicznych, jak i technologicznych. Prowadzenie codziennych obserwacji jakości i ilości odpływu i dopływu ścieków, kondycji osadu czynnego w reaktorach biologicznych, kontrola i analiza warunków technologicznych oraz innych parametrów oczyszczalni ścieków stanowią istotny element decyzyjny każdego eksploatacji. Stąd też szybka analiza stanu osadu czynnego może

w wielu przypadkach zasygnalizować oraz wskazać przyczyny nieprawidłowości w pracy oczyszczalni ścieków, w wyniku których może nastąpić pogorszenie jakości ścieków odprowadzanych do odbiornika [13,16]. Jest to o tyle istotne, że odpowiedź systemu biologicznego na zmiany warunków jest rozłożona czasie i nie zawsze eksploatacja ma możliwość zaobserwowania na wczesnym etapie negatywnego trendu pracy osadu czynnego. Może to prowadzić do rozregulowania układu, a jego przywrócenie na właściwy poziom będzie wymagało czasu i środków, podczas gdy jakość ścieków oczyszczonych nie będzie spełniała wyznaczonych wymagań prawnych. Pomocą w kontroli procesu biologicznego oczyszczania ścieków są możliwości monitorowania w systemie on-line w komorach osadu czynnego takich parametrów, jak: temperatura, stężenie tlenu rozpuszczonego, potencjału redox, stężenia osadu, czy też zawartości azotu amonowego oraz azotanowego (V) i ortofosforanów. Jednakże są to dane, które nie odzwierciedlają

* Krzysztof Piaskowski, Politechnika Koszalińska, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji, Katedra Technologii Wody, Ścieków i Odpadów, 75-453 Koszalin, ul. Śniadeckich 2, krzysztof.piaskowski@tu.koszalin.pl, ORCID - 0000-0001-8440-1562, Bartosz Walendzik (autor korespondencyjny) Politechnika Koszalińska, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji, Katedra Technologii Wody, Ścieków i Odpadów, 75-453 Koszalin, ul. Śniadeckich 2, bartosz.walendzik@tu.koszalin.pl, ORCID - 0000-0001-8366-7457.

aktualnie samego stanu osadu czynnego, a jedynie efekty jego pracy. Podstawowy zakres badań osadu czynnego, stosowany na oczyszczalniach ścieków, najczęściej obejmuje: oznaczenia stężenia zawiesiny ogólnej, indeksu objętościowego osadu (IO), opadalności osadu oraz jego uwodnienia [16]. Szersza analiza zawierać może dodatkowo pomiary: szybkości zużycia tlenu, aktywności enzymów oddechowych (TTC) oraz oceny osadu czynnego w obserwacji mikroskopowych (obejmujące analizy morfologii kłaczków, ich struktury, kształtu i wielkości kłaczków oraz różnorodności biocenozy osadu czynnego). Dobrze funkcjonujący osad czynny charakteryzuje się zróżnicowanym i zrównoważonym składem mikrobiologicznym. Wszelkie zaburzenia w proporcjach wybranych grup mikroorganizmów osadu czynnego (np. rozwój bakterii nitkowatych) mogą prowadzić do zaburzeń w pracy całego systemu biologicznego. Obserwacje mikroskopowe dostarczają również informacji na temat zależności pomiędzy sterowaniem procesem, biocenozą a parametrami ścieków oczyszczonych [13,16,28]. Ponieważ efektywność oczyszczania ścieków zależy w dużym stopniu głównie od składu gatunkowego, kondycji osadu czynnego i jego powierzchni właściwej [4,5], coraz częściej w monitoringu osadu czynnego znajduje zastosowanie cyfrowa analiza obrazu mikroskopowego wykorzystywana do pomiarów wielkości i kształtu aglomeratów oraz określenia udziału bakterii nitkowych [18]. Morfologia kłaczków, np. parametry określające strukturę fraktalną i rozmiar kłaczków osadu czynnego, mogą być wykorzystywane do prognozowania zjawiska puchnięcia osadu czynnego, czy też obecności substancji toksycznych w ściekach, które wpływają na rozdrobnienie kłaczków oraz pogorszenie ich sedimentacji, jak również procesu bio-sorpcji [15]. Metody przetwarzania oraz komputerowej analizy obrazu mikroskopowego mogą być wykorzystywane do charakteryzacji osadu czynnego, m.in. poprzez powiązanie struktury osadu z jego zdolnością do sedimentacji, na którą ma wpływ struktura kłaczków oraz bakterie nitkowane. Znaleziono m.in. istotne korelacje pomiędzy parametrami morfologicznymi (np. liczba i dł. nitek) i charakterystyką sedimentacyjną osadu czynnego [12,23]. Obecnie ewolucja technologiczna i postępy w obrazowaniu cyfrowym pozwalają na szybką i wydajną klasyfikację oraz ocenę ilościową mikroorganizmów. Ilościowa analiza obrazu (QIA) jest obecnie dobrze ugruntowaną procedurą w połączeniu z mikroskopią optyczną, nie tylko do monitorowania kłaczków osadu czynnego, ale także do poprawy wydajności procesu biologicznego, poprzez połączenie z danymi parametrami operacyjnymi [24]. Zautomatyzowane analizatory obrazu umożliwiają identyfikację do-wolnego parametru morfologicznego (wielkości czy kształtu kłaczków), który może zostać przedstawiony w postaci funkcji udziałów liczbowych, powierzchniowych oraz objętościowych [15].

Obecnie techniki mikroskopowe, połączone z procedurami barwienia, w tym z użyciem barwników fluorescencyjnych, dostarczają dużej ilości istotnych danych. W ten sposób możliwe jest uzyskanie informacji na temat charakterystyki biomasy, jej żywotności i składu w czasie zbliżonym do rzeczywistego [24]. Wśród innych metod stosowanych pod kątem szybkiej analizy procesu osadu czynnego i jego monitorowania *on-line* jest spektroskopia fluorescencyjna z matrycą emisyjną (FF-EEM). Badania przeprowadzone przez autorów [11] wykazały, że fluorescencję próbek osadu czynnego (substancje białkopodobne, NADH) można z powodzeniem scharakteryzować za pomocą spektroskopii FF-EEM, uzyskując wskaźnik biomasy i bioaktywności osadu czynnego. W ostatnich latach, również do identyfikacji bakterii PAO, najczęściej stosowane są metody fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Mogą być one połączone z technikami cyfrowej analizy obrazu w celu dokonania ilościowej oceny udziału PAO w osadzie czynnym [20].

Rozszerzający się zakres technik analitycznych stosowanych do kontroli procesu oczyszczania ścieków, dotyczący charakterystyki osadu czynnego, ale również parametrów ilościowych i jakościowych ścieków, generuje dużą ilość danych, które w celu praktycznego wykorzystania w eksploatacji oczyszczalni ścieków wymaga-

ją zastosowania metod matematycznych i zaawansowanych metod wielowymiarowej statystyki [24]. Połączenie technik analizy osadu czynnego z technikami chemometrycznymi analizowania danych, takimi jak np. PCA, PLS oraz sztuczne sieci neuronowe, stwarza możliwości w zakresie opracowania systemu wczesnego ostrzeżenia przed problemami technologicznymi w pracy oczyszczalni ścieków [24,32]. Analiza głównych składowych (*PCA Principal Component Analysis*) służy do kompresji danych i ekstrakcji informacji, znajdowania kombinacji zmiennych, opisujących główne trendy w danych. Jej celem jest projekcja przestrzeni wielowymiarowej na niskowymiarową, a przez to znalezienie kluczowych zmiennych systemu [23]. Analiza PCA wykorzystuje bezpośrednio informacje z danych, w celu wyodrębnienia bardziej istotnych informacji i wygenerowania nowych zmiennych, tzw. główne składowe. Najczęstszym zastosowaniem PCA jest statystyczna kontrola procesu. Pozwala ona m.in. na wykrywanie zakłóceń w systemie oczyszczania ścieków, wykrywanie stanów pozostających poza kontrolą i diagnozowanie zakłóceń wpływających na prawidłowość procesu, a także do analizy pracy oczyszczalni ścieków z osadem czynnym [33]. Analizę PCA można również zastosować do identyfikacji pęcznienia nitkowatego, tworzenia struktury kłaczków typu *pin point*, czy też pęcznienia zoogloalnego, poprzez zintegrowanie parametrów operacyjnych procesu osadu czynnego w warunkach normalnych i podczas różnych nieprawidłowości (np. pęcznienie nitkowane) z analizą obrazu [23].

Inna szeroko stosowana prognostyczna wielowymiarowa technika statystyczna, szczególnie przydatna do przewidywania zestawu parametrów na podstawie dużego zestawu zmiennych niezależnych to PLS, czyli częściowa regresja najmniejszych kwadratów (*PLS - Partial Least Squares Regression*) [24]. Badania wykazały, że PLS pozwala przewidzieć pogorszenie właściwości osadu w zakresie sedimentacji i zmian indeksu osadu SVI w oczyszczalniach ścieków, podczas puchnięcia nitkowatego przy użyciu wyłącznie informacji z analizy obrazu [2,26]. Modele PLS stosowano również do oszacowania parametrów operacyjnych, przy użyciu spektroskopii UV-vis i bliskiej podczerwieni w systemie osadu czynnego [19,30]. Obecnie powszechnie stosuje się również kombinację różnych wielowymiarowych metod statystycznych. Do obróbki dużej ilości danych morfologicznych, fizjologicznych i operacyjnych, odzwierciedlających działanie systemu osadu czynnego w różnych warunkach eksperymentalnych w pracy Mesquity [25] wykorzystano PCA i PLS, integrując parametry analizy obrazu, składu biomasy wraz z parametrami operacyjnymi. Potencjał PCA został zbadany w celu identyfikacji każdego stanu, a następnie wykorzystano PLS do przewidzenia wybranych parametrów, uzyskując metodę szybkiego monitorowania systemów osadu czynnego.

Połączenie narzędzi chemometrycznych do monitorowania i kontroli procesu oczyszczania ścieków z metodami spektroskopowymi może stanowić szybkie źródło informacji dla eksploatatora o stanie procesu w dowolnym czasie i momencie. W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie możliwością wykorzystania zakresu bliskiej podczerwieni NIR (*Near-Infrared Spectroscopy*) do celów diagnostycznych w czasie rzeczywistym. Technika podczerwieni z transformacją Fouriera (*FTIR Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) jest nieniszczącą techniką instrumentalną, która polega na przechwytywaniu widm substancji chemicznych w zakresie długości fal podczerwonych i pozwala na identyfikację grup funkcyjnych, zarówno prostych jak i złożonych struktur organicznych, a nawet szacowania ich stężenia [34]. Metoda umożliwia ciągle monitorowanie osadu czynnego lub składu ścieków dopływających do oczyszczalni ścieków, w ramach systemu wczesnego ostrzeżenia [14]. Widma FTIR nabierają również nowego znaczenia badawczego dzięki wielowymiarowym metodom przetwarzania danych, takich jak np. PCA [17]. Przykładowe badania w tym zakresie zastosowano do monitorowania procesu osadu czynnego za pomocą sond zanurzeniowych, połączonych światłowodami z odpowiednimi analizatorami ChZT, N-NO₃ i TSS, wykorzystując spektroskopię w zakresie widzialnym UV i NIR. W celu skorelowa-

nia uzyskanych widm z monitorowanymi parametrami zastosowano PLS, jako technikę regresji [30]. Badania te wykazały, że oba zakresy spektroskopowe można wykorzystać w praktyce do przewidywania kluczowych parametrów procesu w monitoringu on-line/in situ układu biologicznego, eliminując potrzebę pobierania próbek i ich analizy offline [30]. W innych badaniach wykorzystano spektroskopię FTIR do szybkiej identyfikacji bakterii *Acinetobacter* oraz rozróżnienia znanych gatunków genomowych i nieznanymi szczepów [35], a inne badania [14] wykazały przydatność tej metody do oceny składu chemicznego osadu czynnego, jego zmian, a także identyfikacji głównych składników. W badaniach wykorzystano technikę rozproszonej transformacji Fouriera w zakresie odbicia rozproszonego (FTIR-DRIFT) dla próbek osadu czynnego poddanych procesowi liofilizacji oraz homogenizacji. W otrzymanych widmach osadu czynnego zidentyfikowano wiązania absorpcyjne, charakterystyczne dla amidów, peptydów, węglowodanów, tłuszczów i alifatycznych. Uzyskany profil widmowy osadu z reaktora, zasilanego ściekami ropopochodnymi, nieznacznie różnił się od widma kontrolnej próbki, a intensywność pasm w obszarze charakterystycznym dla związków alifatycznych i fenoli była wyraźnie większa [14].

Obserwowany wzrost możliwości szerszego wykorzystania szybkich technik spektroskopii do analizy pracy oczyszczalni ścieków może stanowić w niedalekiej przyszłości dodatkowe użyteczne narzędzie w kontroli i optymalizacji procesu biologicznego. Dlatego też głównym celem artykułu jest przedstawienie możliwości wykorzystania techniki FTIR-DRIFT, jako optycznego „fingerprints” w połączeniu z metodami chemometrycznymi do szybkiej oceny zmian zachodzących w osadzie czynnym na poszczególnych etapach procesu biologicznego oczyszczania ścieków.

Metodyka badań

Pobór i analiza próbek osadu czynnego

Próbki zawiesiny osadu czynnego pobrano z części biologicznej miejskiej oczyszczalni ścieków *Jamno* w Koszalinie. Obiekt pracuje w systemie mechaniczno-biologicznym z chemicznym wspomaganie procesu oczyszczania ścieków. Proces wysokoefektywnego usuwania azotu i fosforu odbywa się w układzie komór beztlenowych, anoksydacyjnych oraz tlenowych (zmodyfikowany A2O) zgodnie z poniższym schematem (rys. 1). Próbki pobrano z najbardziej charakterystycznych miejsc układu: z komory beztlenowej (1), komory denitryfikacji (2), ostatniej komory przed osadnikiem wtórnym (3) oraz z pompowni osadu recykulowanego (4). Poboru dokonano dwukrotnie w odstępie dwutygodniowym (seria A i B).

Podstawowe analizy pobranych próbek wykonano bezpośrednio po przywiezieniu do laboratorium: pH, przewodność właściwa (handylab pH11 Schott oraz multifunction meter typ CX-505 Elmetron), stężenie osadu, indeks objętościowy osadu IOO, czas ssania kapilarnego (CST-meter Type CST-M02, Envolab), prędkość poboru tlenu oraz stężenie ortofosforanów i azotu amonowego w filtracji po przesączeniu przez sączki średnie (metodą kolorymetryczną z molibdenianem amonu oraz bezpośredniej Nesslerizacji, pomiar UV-VIS DR 5000 spectrophotometer (HACH Lange).

Pomiar widm FTIR

Widma FTIR zostały zarejestrowane za pomocą spektrofotometru Schimadzu IRAffinity-1S, wyposażonego w przystawkę ATR, wykorzystującą zjawisko osłabionego całkowitego odbicia promieniowania. W każdej z dwóch serii: A i B, w czterech miejscach układu technologicznego, pobrano trzy niezależne próbki badawcze, które poddano następnie analizie metodą spektralną. Widmo poszczególnej próbki zawiesiny osadu czynnego (rys. 2A-B), jest uśrednionym widmem uzyskanym na podstawie 60. niezależnych skanów w zakresie długości fali 4000-600 cm^{-1} i przy rozdzielczości 4 cm^{-1} .

Analizę widma FTIR osadu czynnego przeprowadzono w pierwotnej zawieszynie, bez preparowania próbki, w takim stanie, w jakim została ona bezpośrednio pobrana z reaktora biologicznego oczyszczalni ścieków. Uzyskane surowe widma poddano obróbce wstępnej. Jako główną technikę pre-processingu zastosowano normalizację wskaźnika Z-score, która odnosi się do procesu normalizacji każdej wartości w zbiorze danych w taki sposób, że średnia wszystkich wartości wynosi 0, a odchylenie standardowe wynosi 1. Wykonując normalizację, dla każdej wartości w zbiorze danych zastosowano następujący wzór (1):

$$\text{NOWA WARTOŚĆ} = (R - \mu) / \sigma \quad (1)$$

gdzie:

R - wartość oryginalna,

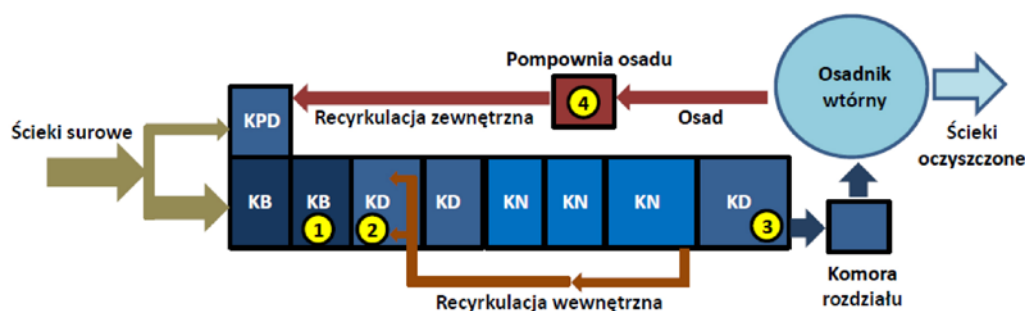
μ - średnia danych,

σ - odchylenie standardowe danych/

W kolejnym kroku widma FTIR pozbawiono szumów zgodnie z algorytmem Savitzky i Golay [9].

Analiza statystyczna

Do oceny statystycznej wyników zastosowano analizę głównych składowych (PCA), którą wykonano dla uzyskanych w trakcie badań parametrów fizyko-chemicznych osadu czynnego i ścieków oraz dla uśrednionych widm FTIR osadu czynnego. Do analizy ilościowej zastosowana została metoda regresji cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS), w której zbiór zmiennych niezależnych X stanowiły średnie wartości absorpcji próbek zawiesiny osadu czynnego w zakresie FTIR 4000-600 cm^{-1} , zaś zbiór zmiennych zależnych Y stanowiły wybrane parametry fizyko-chemiczne, charakteryzujące właściwości poszczególnych próbek. Celem zastosowania tej metody było uzyskanie modelu kalibracyjnego, który umożliwi korelację informacji zawartych w widmach z jedną lub kilkoma cechami fizyko-chemicznymi próbki. Skuteczność zastosowanej techniki predykcji oceniono za pomocą wartości współczynnika determinacji (R^2) oraz pierwiastka błędu średniokwadratowego (RMSE), obliczonych zgodnie z równaniem (2) i (3). Te dwa parametry są wykorzystywane na etapach kalibracji i testowania. Lepszy model powinien dawać wyższą wartość współczynnika R^2 i niższą wartość RMSE. Współczynnik determinacji (R^2) jest stosunkiem sumy kwadratów odchyleń regresyj-



Rys.1. Schemat systemu biologicznego oczyszczania ścieków koszalińskiej oczyszczalni ścieków *Jamno* z punktami poboru próbek (Oznaczenia: KPD- komora predenitryfikacji, KB- komora beztlenowa, KD- komora denitryfikacji, KN- komora nitrifikacji)
Fig.1. Diagram of the biological sewage treatment system for the Koszalin city with collection points (Designations: KPD - predenitrification, KB - anaerobic defosfatation, KD - denitrification, KN - nitrification)

nych (SSR) do całkowitej sumy kwadratów (SST). Pierwiastek z błędu średniokwadratowego (RMSE) jest pierwiastkiem sumy kwadratów błędów (SSE) do ilości danych (n). Dodatkowo walidację uzyskanych modeli kalibracyjnych oszacowano używając parametr RPD (ang. *Ratio of Performance to Deviation*), który obliczono zgodnie z równaniem (4). Wartości RPD < 3 wskazują na słabą jakość modelu kalibracyjnych, RPD > 3 wskazują, że model może być wykorzystany do badań jakościowych, RPD > 8 wskazują na bardzo dobrą zdolność przewidywania modelu [10].

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} \quad (2)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{SSE}{n}} \quad (3)$$

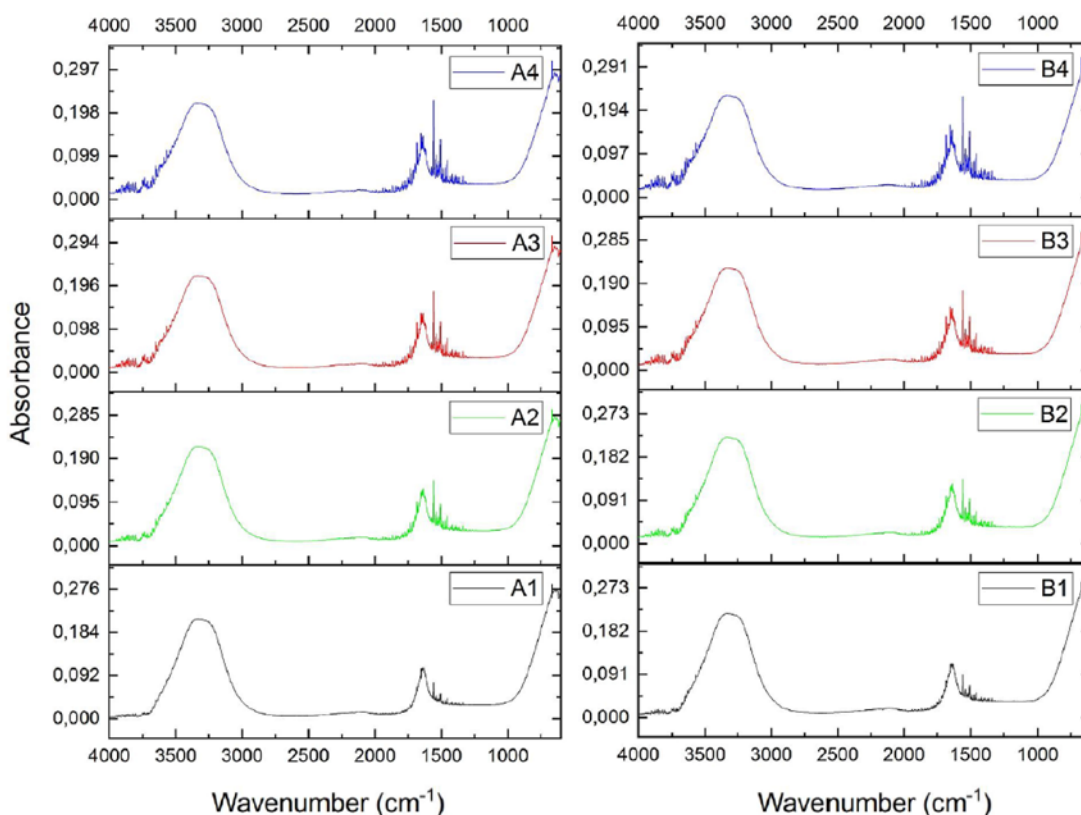
$$RPD = \frac{1}{\sqrt{1-R^2}} \quad (4)$$

Wyniki badań

Przeprowadzony wybór punktów poboru próbek umożliwił uzyskanie materiału, który powinien charakteryzować się zmiennością, możliwą do uchwycenia w technice FTIR. Niektórzy badacze wskazują na problemy w analizie próbek zawierających wodę, która ma duży wpływ na widma w podczerwieni, maskując pewne cechy widmowe [30]. Mimo tego autorzy artykułu postawili tutaj przede wszystkim na szybkość i łatwość poboru oraz analizy próbek zawieszinowych z komór biologicznych, bez wcześniejszej preparacji. Przeprowadzona analiza zawiesiny osadu czynnego techniką FTIR dla poszczególnych punktów poboru (w dwóch seriach) umożliwiła uzyskanie charakterystycznych widm (rys. 2A-B). Obie serie (A i B) wykazują wysokie podobieństwo przebiegu widm dla równoległych próbek, natomiast widoczne są różnice pomiędzy poszczególnymi punktami. Uzyskane piki widm charakteryzują się w obu seriach wzrostem wartości absorbancji (od próbki 1 do 4), jak również pojawiającymi się szumami szczególnie w zakresie długości fali

1300-1800 cm^{-1} , które mogą świadczyć o różnicach między poszczególnymi próbkami wykrywanymi przez FTIR.

Różnice te wynikają z tego, że na różnych etapach oczyszczania biologicznego ścieków, poszczególne procesy jednostkowe zachodzą ze zmienną dynamiką, różniąc charakterystykę jakościową, zarówno ścieków, jak i osadu czynnego. Są one realizowane przy udziale różnych populacji mikroorganizmów, które uaktywniają się pod wpływem zmiany warunków środowiskowych – rodzaju i stężenia substratu, obciążenia osadu, czy ilości rozpuszczonego tlenu i które mogą oddziaływać na stosunki ilościowe między poszczególnymi grupami mikroorganizmów, a w efekcie również na morfologię kłaczków osadu czynnego, mającą wpływ na efekt oczyszczania ścieków [3]. Stan fizjologiczny bakterii podlega wyraźnym zmianom, przeżywając fazy obfitości (gromadzenie wewnątrzkomórkowych zapasów ze ścieków surowych, adsorpcja substancji rozpuszczonych i cząstek koloidalnych na powierzchni kłaczków, czy też wiązanie rozcieńczonych substratów w kolejnych fazach bioreaktora) i braku pokarmu (w końcowym etapie procesu oczyszczania). Równolegle następują również zmiany w jakości ścieków, które ulegają oczyszczaniu w wyniku procesów biologicznych i biochemicznych [7]. Uzyskane widma umożliwiają również ogólną interpretację charakterystyki jakościowej próbek w zakresie wybranych grup funkcyjnych obecnych w zawieszynie osadu czynnego. Szerokie pasmo absorpcji zarejestrowane w zakresie 3700-3000 cm^{-1} , przypisywane jest drganiom rozciągającym wiązań O-H obecnych w polialkoholach i polisacharydach [29]. Szeroki pik z maksimum przy 3341 cm^{-1} jest również często przypisywany drganiom między- oraz wewnątrzcząsteczkowym wiązań wodorowych [27,31]. Wibracje w zakresie liczby falowej między 1750 a 1580 cm^{-1} są prawdopodobnie związane z obecnością drugorzędowych struktur grupy amidowej I i II białka. Absorbancję przy 1634 cm^{-1} , przypisuje się często produktom rozpadu białek i polisacharydów [6,22]. Pik zaobserwowany przy długości 1558 cm^{-1} można przypisać drganiom rozciągającym wiązań C=C. Małe pasma absorpcji przy 1500–1250 cm^{-1} mogą natomiast sugerować obecność asymetrycznych drgań rozciągających charakterystycznych dla wiązań C-H, C-C lub C-O [1]. Widma FTIR oczywiście nie dają bezpośredniej informacji o stanie



Rys. 2A-B. Widma FTIR próbek osadu czynnego pobranych z poszczególnych etapów biologicznego oczyszczania ścieków komunalnych (w zakresach liczby falowej 4000-600 cm^{-1}) po normalizacji metodą Z-score, mierzone w technice odbicia. Oznaczenia: A1, A2, A3, A4 – próbki zawiesiny osadu czynnego z punktów poboru nr 1-4 (seria A), B1, B2, B3, B4 – seria B

Fig. 2A-B. FTIR spectra of activated sludge samples from municipal sewage treatment points (in the wave number ranges 4000-600 cm^{-1}) after normalization with the Z-score method, measured using the reflectance technique. A1, A2, A3, A4 - samples of activated sludge suspension from collection points no. 1-4 (A series), B1, B2, B3, B4 - B series

osadu lub poziomie oczyszczenia ścieków, ale uchwycone zmienne mogą przy odpowiedniej kalibracji umożliwić uzyskanie danych o występujących różnicach, sygnalizujących nieprawidłowości w procesie biologicznym. W tym też celu przeprowadzono analizę statystyczną PCA dla uzyskanych widm FTIR poszczególnych próbek osadu czynnego.

Analiza PCA widm FTIR badanych próbek osadu czynnego

Celem zastosowanej metody głównych składowych PCA była próba klasyfikacji analizowanych próbek pod względem ich ewentualnych podobieństw lub różnic. Analizy dokonano na podstawie macierzy korelacji. Ilość składowych głównych, charakteryzujących zestaw danych zastosowanych w analizie, określono przy użyciu kryterium Keisera, według którego tylko czynniki z wartościami własnymi większymi niż 1 należy zachować. Wyniki analizy ujawniły, że wszystkie wartości widma przekazują ważne informacje i mogą znacząco przyczynić się do dalszej klasyfikacji analizowanych obiektów. Podczas analizy PCA widm FTIR ($4000-600\text{ cm}^{-1}$) pierwsza i druga składowa główna opisały łącznie 79,39% całkowitej zmienności (odpowiednio: PC1-71,32% i PC2-8,06%). Aby określić ewentualne podobieństwa pomiędzy próbkami, sporządzono wykres obserwacji (rys.3), na którym przedstawiono położenie zmiennych grupujących w nowym układzie współrzędnych, zdefiniowanym przez wyznaczone w trakcie analizy składowe PC1 oraz PC2. Miarą podobieństwa w trakcie graficznej interpretacji wyników była odległość euklidesowa.

Analiza wykresu obserwacji (rys.3) wskazuje na istnienie czterech niezależnych zbiorów przypadków (punkty poboru). Uzyskane wyniki sugerują, że próbki osadu czynnego w poszczególnych etapach prowadzonego procesu oczyszczania ścieków różnią się między sobą pod względem strukturalnym, czyli wykazują cechy charakterystyczne dla każdego etapu biologicznego oczyszczania ścieków. Największą rozpiętość pomiędzy wykonanymi seriami analiz (A i B) zaobserwowano dla punktu poboru 2, wskazując na możliwości dużej zmienności pracy pierwszej komory denitryfikacji. Charakteryzuje się ona mianowicie dużą dynamiką zachodzących procesów będących efektem recyrkulacji wewnętrznej ścieków i osadu czynnego z komory nityfikacji. Charakterystykę osadu czynnego oraz odzwierciedlające zachodzące procesy biochemiczne zmiany parametrów jakościowe ścieków w poszczególnych punktach poboru przedstawiono w tab.1.

Analizy fizyczno-chemiczne próbek

W badaniach przyjęto w analizie ścieków stężenie ortofosforanów oraz azotu amonowego, jako charakterystycznych parametrów o dużej zmienności ilościowej na kolejnych etapach oczyszczania ścieków, dodatkowo mierzono przewodność właściwą oraz pH. Określono podstawowe parametry osadu czynnego, czyli jego stężenie, indeks objętościowy, czas ssania kapilarnego, a także wyznaczono prędkość poboru tlenu (ocena aktywności oddechowej), służących do oceny charakterystyki oraz stanu osadu, od którego zależy prawidłowy przebieg procesów biochemicznych zachodzących w biomase osadu czynnego [8].

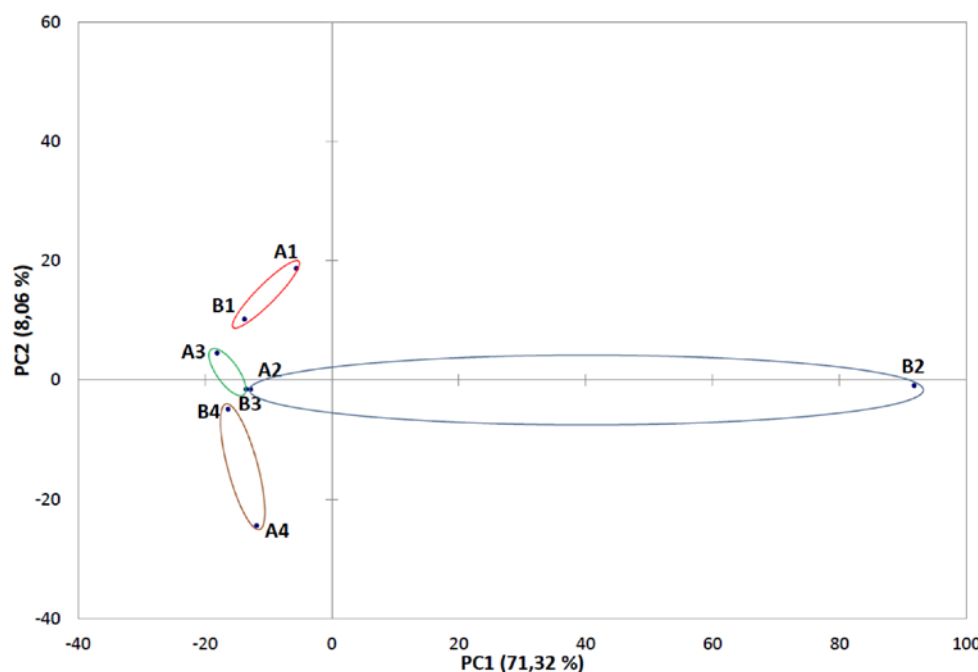
Tabela 1. Wartości średnie parametrów próbek zawiesiny osadu czynnego z poszczególnych punktów poboru dla dwóch serii (A i B)

Table1. Average values of samples parameters from collection points for two series (A and B)

Parametry	Seria A - Próbk nr				Seria B - Próbk nr			
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
Zawiesina								
pH	6,70	6,81	6,91	6,74	6,83	6,87	6,82	6,74
Przewodność wł. mS/cm	1,312	1,079	1,044	1,131	1,469	1,292	1,210	1,332
CSK, s/g _{osadu}	3,14	3,22	2,8	2,5	2,52	2,20	2,24	1,57
Stężenie osadu, g/l	6,57	5,89	6,02	13,33	6,75	7,76	7,08	18,45
DSVI, g/cm ³	228	214	219	137	225	196	189	101
JPPT, mgO ₂ /g·h	16,6	18,8	15,1	12,2	19,8	17,9	22,2	9,4
Przesącz								
Ortofosforany, mgPO ₄ /l	62,81	0,10	0,13	1,45	30,90	0,08	0,11	0,98
Azot amonowy, mgN/l	31,57	10,41	4,52	3,56	24,93	5,39	0,05	0,51

W pierwszym punkcie poboru (pkt.1) w warunkach beztlenowych osad przy wysokim obciążeniu substancjami organicznymi, realizuje proces I etapu defosfatacji, w którym główny udział mają bakterie

Wykres obserwacji (PC1 - PC2: 79,39 %)



Rys.3. Wykres obserwacji. Projekcja próbek osadu czynnego na przestrzeń zdefiniowaną przez składowe główne PC1 i PC2 na podstawie analizy widm FTIR. Oznaczenia: A1, A2, A3, A4 – próbki zawiesiny osadu czynnego z punktów poboru nr 1-4 (seria A), B1, B2, B3, B4 – seria B

Fig.3. Observation diagram. Projection of activated sludge samples onto the space defined by the main components PC1 and PC2 based on the analysis of FTIR spectra. A1, A2, A3, A4 - samples of activated sludge suspension from collection points no. 1-4 (series A), B1, B2, B3, B4 - series B

PAO, które pobierają łatwo rozkładalne związki organiczne, uwalniają ortofosforany z wiązań energetycznych (wzrost stężenia $PO_4\text{-P}$). Ten początkowy etap oczyszczania ścieków charakteryzuje adsorpcja substancji rozpuszczonych i cząsteczek koloidalnych na powierzchni kłaczków, które są bezpośrednio asymilowane przez bakterie lub hydrolizowane enzymatycznie. Materia organiczna przekształcana jest biochemicznie w materiał komórkowy oraz przyłączane są cząsteczki koloidalne przez przrastającą biomasę (obserwowane wyższe wartości SVI). Struktura kłaczków może być cechą charakterystyczną oddającą warunki operacyjne osadu czynnego, jak również przemiany wewnątrzkomórkowe. Kłaczki osadu czynnego, ich właściwości fizyczne mają istotny wpływ na transport substratu do wnętrza skupisk, flokulację mikroorganizmów oraz efektywność separacji w osadnikach. Znaczna ilość substratów wpływa na wzrost i rozmnażanie się organizmów [3]. W kolejnym punkcie (nr 2) dominującym procesem jest denitryfikacja oraz defosfatacja denitryfikacyjna, efektywnie zmniejszająca stężenie ortofosforanów. W warunkach anoksycznych warunki są dość zróżnicowane, gdyż oprócz osadu czynnego z komory beztlenowej dopływa duża ilość osadu z komory nityfikacji. Punkt poboru nr 3 jest dość specyficzny, ponieważ jest ostatnim etapem oczyszczania biologicznego ścieków (przed separacją ścieków oczyszczonych w osadniku wtórnym), ale w warunkach denitryfikacji końcowej. Eksploatator przeprowadził skuteczną modyfikację systemu oczyszczania biologicznego poprzez zastąpienie komory nityfikacji komorą anoksyczną, co pozwoliło na uzyskanie większej stabilności usuwania azotu ze ścieków, jak również zmniejszenie intensywności recyrkulacji wewnętrznej [21]. Punkt nr 4 to komora recyrkulacji zewnętrznej osadu czynnego z osadnika wtórnego na początek układu biologicznego (komora predenitryfikacji). Osad zagęszczony z komory osadowej osadnika wtórnego (ponad 2-krotnie wyższe stężenie w stosunku do mierzonego w reaktorach) stanowi stałe zasilenie układu biologicznego w osad czynny i utrzymanie wymaganego stężenia biomasy w reaktorze. Punkt ten znacznie odbiega od pozostałych w zakresie zachodzących procesów, nie jest on elementem ciągu oczyszczania ścieków, ale jest to element bardziej techniczno-technologiczny w pracy oczyszczalni ścieków. Jednakże umieszczenie go w analizach pozwala na określenie przydatności techniki FTIR i możliwości wyraźnego odróżnienia od pozostałych próbek, co zostało w analizach potwierdzone.

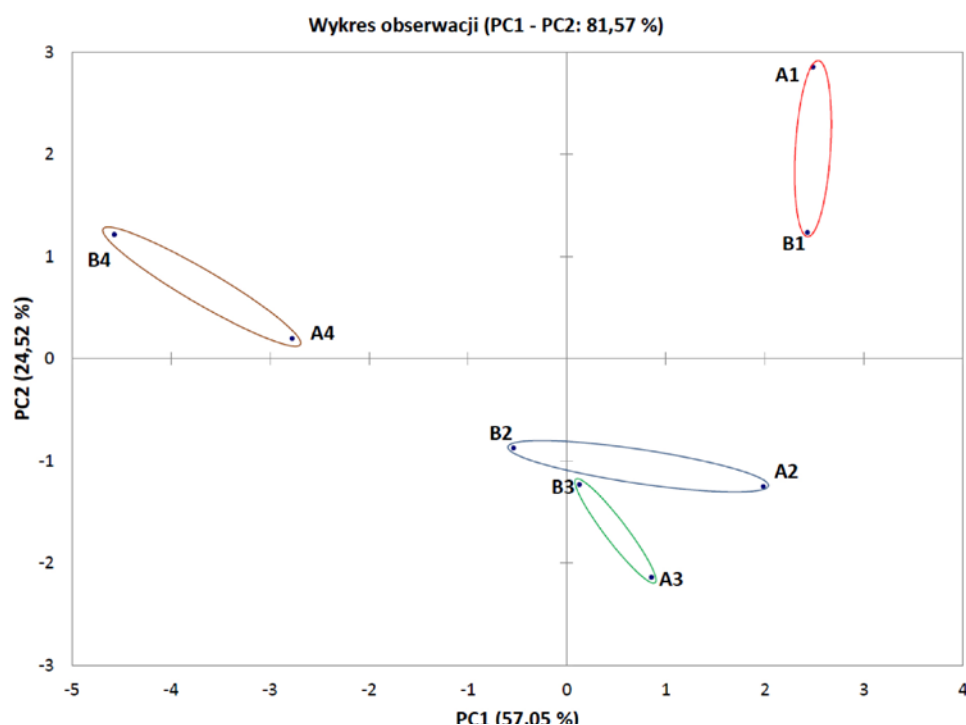
Uzyskane wartości poszczególnych parametrów dla próbek ścieków i osadu czynnego z dwóch serii wskazują na charakterystyczne wielkości dla danego etapu oczyszczania ścieków, ale także na różnice pomiędzy wynikami obu serii. To jest właśnie obserwowalny element pracy biologicznej oczyszczalni ścieków, który stwarza eksploatatorom warunki niepewności technologicznej, gdyż zmiana jakości ścieków, temperatury, opady, awarie techniczne będą miały wpływ na warunki i efektywność poszczególnych procesów realizowanych przez żywe mikroorganizmy, a więc nie w pełni kontrolowane.

Przeprowadzona analiza PCA powyższych wyników miała na celu porównanie próbek osadu czynnego pod względem danych uzyskanych w trakcie badań fizyczno-chemicznych. Kryterium różnicującym były wybrane parametry zamieszczone w tab.2. Pierwsza i druga składowa główna (PC1 i PC2) opisywały łącznie 81,57% całkowitej zmienności (odpowiednio 57,05 % i 24,52 %), jak pokazano na rys.4. W tym przypadku również określono na wykresie cztery zgrupowania punktów odpowiadające próbkom osadu czynnego na poszczególnych etapach oczyszczania ścieków. Pierwsze trzy próbki osadu czynnego (nr 1-3) różniły się nieznacznie od siebie względem składowej PC1. Wynika to z faktu, że stanowią one podstawowy ciąg biologicznego oczyszczania ścieków następujących po sobie procesów, w porównaniu do próbki 4, będącą komorą recyrkulacji osadu. Jednak składowa PC2 wykazała podobieństwo pod względem charakterystyki fizyczno-chemicznej jedynie dla próbek nr 2 i 3. Wynika z tego, że punkt poboru 1, który stanowi komora defosfatacji na początku układu biologicznego stanowi charakterystyczny etap zachodzących procesów.

Wyniki powyższej analizy wraz z wcześniejszymi danymi z widma FTIR potwierdzają różnice w jakości osadu czynnego oraz ścieków na poszczególnych etapach ich biologicznego oczyszczania, które można wykorzystać do kontrolowania i prognozowania procesu oczyszczania ścieków.

Model regresji PLS

Zbieżne odpowiedzi analizy PCA, jakie uzyskano dla parametrów fizyczno-chemicznej analizy zawiesiny osadu czynnego i ścieków oraz dla ich widm spektralnych w zakresie FTIR skłoniły autorów artykułu do próby opracowania modeli predykcyjnych. Mogłyby być one w przyszłości pomocne w szybkim monitoringu i ocenie osadu czynnego w reaktorach biologicznych przy pomocy analizy



Rys.4. Wykres obserwacji. Projektacja próbek osadu czynnego na przestrzeń zdefiniowaną przez składowe główne PC1 i PC2 na podstawie analizy parametrów fizyko-chemicznych ścieków i osadu czynnego. Oznaczenia: A1, A2, A3, A4 – próbki zawiesiny osadu czynnego z punktów poboru nr 1-4 (seria A), B1, B2, B3, B4 – seria B

Fig.4. Observation diagram. Projection of activated sludge samples onto the space defined by the main components PC1 and PC2 based on the analysis of physico-chemical parameters of sewage and activated sludge. A1, A2, A3, A4 - samples of activated sludge suspension from collection points no. 1-4 (series A), B1, B2, B3, B4 - series B

spektralnej FTIR na oczyszczalniach ścieków i być alternatywą lub techniką wspomagającą dla wykonywanych czasochłonnych badań fizyczno-chemicznych, stanowiąc dodatkowe narzędzie dla eksploatatora do oceny prawidłowości przebiegu procesu oczyszczania ścieków.

W tym celu zastosowano analizę regresji PLS. Zmiennymi objaśnianymi były wybrane parametry, charakterystyczne dla procesu biologicznego oczyszczania ścieków, tj. stężenie osadu, azotu amonowego oraz ortofosforanów, które w trakcie analizy PCA osiągnęły najwyższe wartości współczynników korelacji względem składowych głównych (współczynnik korelacji względem pierwszej składowej PC1 wyniósł dla stężenia osadu oraz azotu amonowego odpowiednio -0,9291 i 0,7053, współczynnik korelacji względem drugiej składowej PC2 dla ortofosforanów wyniósł 0,8073). Zmiennymi objaśniającymi były widma zmierzone w całym zakresie spektralnym (4000-600 cm^{-1}). Dla podanych powyżej parametrów fizyczno-chemicznych udało się rozwinąć potencjalnie przydatne modele kalibracyjne w oparciu o przekształcone widma FTIR. Niskie wartości RMSE, które wyniosły odpowiednio 0,49, 0,17 i 3,1 dla stężenia osadu, azotu amonowego oraz ortofosforanów świadczą o dobrej zdolności przewidywania (tab. 2).

Tabela 2. Wyniki analizy regresji PLS dla uzyskanych modeli określających poszczególne parametry fizyczno-chemiczne w analizowanych próbkach zawiesiny osadu czynnego

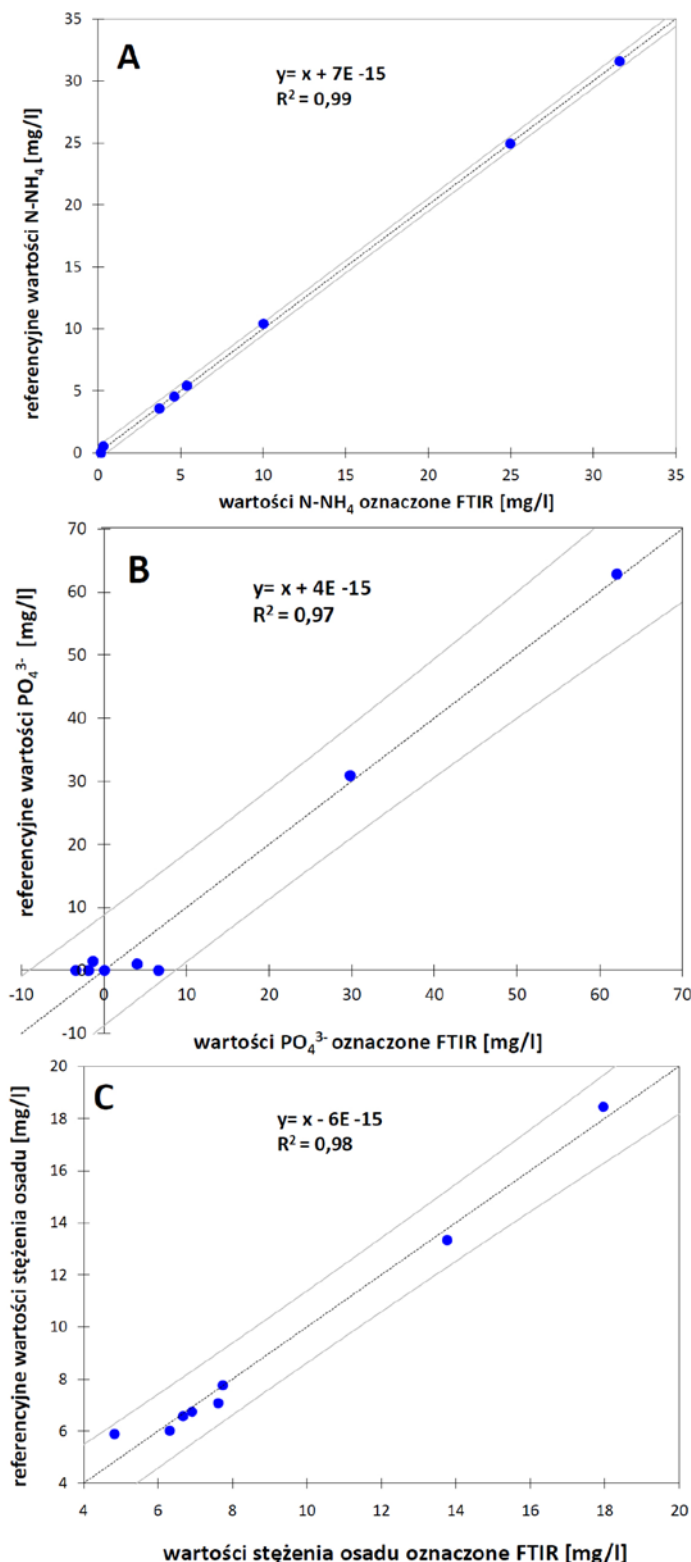
Table 2. Results of PLS regression analysis for the obtained models determining individual physico-chemical parameters in the analyzed activated sludge samples

Parametry	Zakres widma [cm ⁻¹]	Liczba widm	Odchylenie	R2	RMSE	RPD
Stężenie osadu	4000-600	160	1,4028	0,9862	0,49598	8,4
Stężenie azotu amonowego	4000-600	160	0,5083	0,9997	0,1797	10
Stężenie ortofosforanów	4000-600	160	8,7879	0,9794	3,1070	6,9

Rozwinięte modele predykcyjne pozwoliły na dokładne oszacowanie zawartości azotu amonowego, ortofosforanów oraz stężenia osadu w próbkach użytych do kalibracji (rys.5A-C). Wartości współczynnika regresji dla modeli uzyskanych dla w.w. parametrów wyniosły odpowiednio 0,98, 0,99, oraz 0,97. Również wszystkie uzyskane wartości parametru RPD przekroczyły poziom 6, co świadczy o bardzo dobrej zdolności przewidywania uzyskanych modeli.

Wnioski

Uzyskane podczas badań widma FTIR oprócz ogólnej charakterystyki chemicznej badanych próbek osadu czynnego, są w stanie dostarczyć również wystarczających informacji o samych zmianach zachodzących w nim podczas poszczególnych etapów procesu biologicznego oczyszczania ścieków. Badania ukazały, że informacje te uzyskane w postaci widm w zakresie FTIR wraz z chemometryczną analizą danych mogą być wykorzystywane jako narzędzie do szybkiego oznaczania parametrów fizykochemicznych, tj. stężenie osadu, azotu amonowego czy ortofosforanów podczas oczyszczania ścieków bez preparacji czy specjalnego przygotowania próbki. Zastosowana w badaniach technika FTIR-DRIFT jest metodą nieinwazyjną i stosunkowo tanią, którą można analizować próbki bezpośrednio pobrane z reaktora biologicznego, uzyskując natychmiastowy wynik. Nie wymaga ona również stosowania drogich odczynników chemicznych, dzięki czemu nie generuje żadnych poważnych kosztów, ani kłopotliwych chemicznych



Rys.5A-C. Kalibracja modeli predykcyjnych do oznaczania stężenia azotu amonowego (A), ortofosforanów (B) oraz stężenia osadu (C) w punktach poboru próbek
 Fig.5A-C. Calibration of predictive models for determining of ammonium nitrogen (A), orthophosphates (B) and sludge concentration (C) at collection points

odpadów. Przeprowadzone badania były zaledwie wstępnymi, sygnalizującymi możliwość wykorzystania techniki FTIR, które po uzyskaniu potwierdzeniu jej przydatności wymagają w dalszym kroku zastosowania odpowiednich metod kalibracyjnych, w celu prawidłowej interpretacji uzyskanych wyników.

LITERATURA

- [1] Abidi N., Cabrales L., Haigler C.H. 2014. "Changes in the cell wall and cellulose content of developing cotton fibers investigated by FTIR spectroscopy", *Carbohydr. Polym.*, 100: 9–16, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.01.074
- [2] Amaral A.L., Ferreira E.C. 2005. "Activated sludge monitoring of a wastewater treatment plant using image analysis and partial least squares regression", *Anal. Chim. Acta*, 544: 246–253, doi: 10.1016/j.aca.2004.12.061
- [3] Barbusiński K., Kościelniak H. 1997. "Preparowanie kłaczków osadu czynnego do badań struktury wewnętrznej", *Biotechnologia*, 1(36): 37-44
- [4] Barbusiński K., Kościelniak H. 2009. "Oznaczanie powierzchni właściwej osadu czynnego", *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 2: 119-132.
- [5] Barbusiński K. 2010. "Pomiar powierzchni właściwej osadu czynnego w oczyszczalni ścieków", *Forum Eksploatatora*, 4: 40-43.
- [6] Cocchi M., Durante C., Foca G., Marchetti A., Tassi L., Ulrici A. 2006. "Durum wheat adulteration detection by NIR spectroscopy multivariate calibration", *Talanta*, 68(5): 1505–1511, doi: 10.1016/j.talanta.2005.08.005
- [7] Fiałkowska E., Fyda J., Pajdak-Stoś A., Wiąckowski K. 2005. "Osad czynny: biologia i analiza mikroskopowa.", *Impuls*, Kraków
- [8] Głodniok M., Zdebek D., Korczak K. 2010. "Wykorzystanie pomiarów aktywności oddechowej osadu czynnego do kontroli przebiegu procesów biologicznego oczyszczania ścieków", *Research Reports Mining And Environment*, 2: 35-46.
- [9] Gorry P.A. 1990. "General least-squares smoothing and differentiation by the convolution (Savitzky-Golay) method", *Anal. Chem.* 62: 570–573, doi: 10.1021/ac00205a007
- [10] Huang Y., Rogers T. M., Wenz M. A., Cavinato A. G., Mayes D. M., Bledsoe G. E., Rasco B. A., 2001. "Detection of Sodium Chloride in Cured Salmon Roe by SW-NIR Spectroscopy", *J. Agric. Food Chem.* 49: 4161-4167, doi: 10.1021/jf001177f
- [11] Huaorong Yu, Yimeng Li, Haiyang Yang, Yong Lv, Jingyin Wang, Hongwei Rong, Fangshu Qu. 2022. "Characterization of activated sludge in wastewater treatment processes using front-face excitation-emission matrix (FF-EEM) fluorescence spectroscopy", *Environ. Sci. Water Res. Technol.*, 8(10): 2265-2276, doi: 10.1039/D2EW00315E
- [12] Jenne R., Banadda E.N., Smets I.Y., Van Impe J.F. 2004. "Monitoring activated sludge settling properties using image analysis", *Water Sci. Technol.*, 50,7: 281-285, doi: 10.2166/wst.2004.0471
- [13] Kocwa-Haluch R., Woźniakiewicz T. 2011. "Microscopic analysis of activated sludge and its role in control of technological process of wastewater treatment", *Czasopismo Techniczne. Środowisko*, 6(108): 141-162.
- [14] Kowalski M., Kowalska K., Wiszniowski J., Turek-Szytow J. 2018. "Qualitative analysis of activated sludge using FT-IR technique", *Chem. Pap.* 72: 2699–2706, doi: 10.1007/s11696-018-0514-7
- [15] Kuśnierz M., Domańska M., Szafulska K. 2018. "Badania morfologiczne kłaczków osadu czynnego z wykorzystaniem analizatora wielkości i kształtu cząstek", *Ecol. Eng.* 19(6): 94-102, doi: 10.12912/23920629/97263
- [16] Kuśnierz M., Zarzycka A. 2014. "Zakres i częstotliwość prowadzenia badań i pomiarów w racjonalnej eksploatacji oczyszczalni ścieków", *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 1(17): 63-73.
- [17] Liu Y, He Z, Uchimiya M. 2015. "Comparison of biochar formation from various agricultural by-products using FTIR spectroscopy", *Mod. Appl. Sci.* 9(4): 246–53, doi:10.5539/mas.v9n4p246
- [18] Liwarska-Bizukojć E. 2012. "Rola cyfrowej analizy obrazu w monitoringu osadu czynnego w oczyszczalniach ścieków", *Inż. Ap. Chem.* 51, 4: 151-153.
- [19] Lourenço N.D, Menezes J.C, Pinheiro H.M, Diniz D. 2008. "Development of PLS calibration models from UV-Vis spectra for TOC estimation at the outlet of a fuel park wastewater treatment plant", *Environ. Technol.* 29(8): 891-898, doi: 10.1080/09593330802015581
- [20] López-Vázquez C.M., Hooijmans C.M., Brdjanovic D., Gijzen H.J., van Loosdrecht M.C.M. 2008. "Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants in the Netherlands", *Wat. Res.*, 42: 2349-2360, doi: 10.1016/j.watres.2008.01.001
- [21] Maciołek P. 2019. "Optymalizacja usuwania azotu w wyniku modyfikacji istniejącego układu A20 przy wspomagananiu koagulantem żelazowym PIX 113", *Forum Eksploatatora*, 6(105): 47-51.
- [22] Mata P., Dominguez-Vidal A., Bosque-Sendra J. M., Ruiz-Medina A., Cuadros-Rodríguez L., Ayora-Cañada M. J. 2012. "Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics", *Food Control*, 23(2): 449–455, doi: 10.1016/j.foodcont.2011.08.013
- [23] Mesquita D.P., Amaral A.L., Ferreira E. 2011. "Characterization of activated sludge abnormalities by image analysis and chemometric techniques", *Anal. Chim. Acta*, 705: 235–242, doi: 10.1016/j.aca.2011.05.050
- [24] Mesquita D.P., Amaral A.L., Ferreira E. 2013. "Activated sludge characterization through microscopy: A review on quantitative image analysis and chemometric techniques", *Anal. Chim. Acta*, 802: 14–28, doi: 10.1016/j.aca.2013.09.016
- [25] Mesquita D.P. 2011. "Image analysis and chemometric techniques as monitoring tools to characterize aggregated and filamentous organisms in activated sludge processes", PhD Thesis, University of Minho, Braga, Portugal, <http://hdl.handle.net/1822/12470>
- [26] Mujunen S.P., Minkkinen P., Teppola P., Wirkkala R.S. 1998. "Modeling of activated sludge plants treatment efficiency with PLSR: A process analytical case study", *Chemometr. Intell. Lab.*, 41: 83.
- [27] Oh S.Y., Yoo D.I, Shin Y, Seo G. 2005. "FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide", *Carbohydr. Res.*, 340(3): 417–428, doi: 10.1016/j.carres.2004.11.027
- [28] Pajdak-Stoś A., Fiałkowska E. 2009. "Analiza mikroskopowa osadu czynnego jako cenne narzędzie eksploatatora oczyszczalni ścieków", *Forum Eksploatatora*, 6: 30-31.
- [29] Ramírez-Estrada A., Mena-Cervantes V.Y., Mederos-Nieto F.S., Pineda-Flores G., Hernández-Altamirano R. 2022. "Assessment and classification of lignocellulosic biomass recalcitrance by principal components analysis based on thermogravimetry and infrared spectroscopy". *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 19(4): 2529-2544, doi: 10.1007/s13762-021-03309-y
- [30] Sarragaça M.C, Paulo A., Alves M.M, Dias A.M.A., Lopes J.A., Ferreira E.C., 2009. "Quantitative monitoring of an activated sludge reaktor using on-line UV-visible and near-infrared spectroscopy", *Anal. Bioanal. Chem.* 395: 1159–1166, doi: 10.1007/s00216-009-3042-z
- [31] Schwanninger M., Rodrigues J. C., Pereira H., Hinterstoisser B. 2004. "Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose", *Vib. Spectrosc.* 1. 36 (1): 23–40, doi: 10.1016/j.vibspec.2004.02.003
- [32] Świdarska-Dąbrowska R., Piaskowski K., Baran M.J. 2017. "Application of multivariate classification protocols in research focusing on food, environmental samples, and wastewater technological processes", *J. AOAC Int.* 100 (2): 365–376, doi: 10.5740/jaoacint.16-0414
- [33] Tomita R.K., Park S.W., Sotomayor O.A.Z. 2002. "Analysis of activated sludge process using multivariate statistical tools - a PCA approach", *J. Chem. Eng.*, 90(3): 283–290, doi: 10.1016/S1385-8947(02)00133-X
- [34] Waldrip H.M, He Z, Todd R.W, Hunt J.F., Rhoades M.B., Cole N.A. 2014. "Characterization of organic matter in beef feedyard manure by ultraviolet-visible and Fourier transform infrared spectroscopies", *J. Environ. Qual.* 43(2): 690–700, doi: 10.2134/jeq2013.09.0358
- [35] Winder C.L., Carr E., Goodacre R., Seviour R. 2004. "The rapid identification of *Acinetobacter* species using Fourier transform infrared spectroscopy", *J. Appl. Microbiol.*, 2(96): 328-339, doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02154.x