ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Μεταπτυχιακή εργασία με θέμα:

<< ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΑΜΜΩΝΙΑΣ ΑΠΟ ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΑΝΑΜΜΟΧ>>

ΕΛΕΝΗ ΔΑΝΔΟΛΟΥ



Επιβλέπων καθηγητής:

Γκίκας Πέτρος

Χανιά, Ιανουάριος 2014

Ευχαριστίες

Ολοκληρώνοντας την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Γκίκα Πέτρο, για την ανάθεση καθώς και την επίβλεψη της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω πολύ τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής τον Καθηγητή κ. Τσούτσο Θεοχάρη και την κα. Βενιέρη Δανάη για τη συμμετοχή και αξιολόγηση της παρούσας εργασίας.

Επιπροσθέτως θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου Ποθουλάκη Δέσποινα και Μάρακα Χαρίδημο, και την αδερφή μου, Δανδόλου Μαρίνα για την βοήθεια τους κατά την εκπόνηση της εργασίας μου.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω τους φίλους μου και τους γονείς μου για την στήριξη και τη βοήθεια τους.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή1
1.1Διάρθρωση της εργασίας1
1.2Αντικείμενο της εργασίας2
Κεφάλαιο 2: Μετασχηματισμοί αζώτου3
2.1Νιτροποίηση4
2.2 Απονιτροποίηση
2.3 Αναερόβια οξείδωση αμμωνίου (Anammox)6
Κεφάλαιο 3: Μικροοργανισμοί anammox10
3.1 Κατηγορίες μικροοργανισμών10
3.2 Φυσιολογία10
3.3 Μεταβολισμός13
Κεφάλαιο 4: Οι μέθοδοι ανίχνευσης των anammox βακτηρίων και ο εντοπισμός τους
στο περιβάλλον
4.1 Ανίχνευση του anammox Βακτηρίου και της δραστηριότητας του16
Κεφάλαιο 5: Παράγοντες που επηρεάζουν τη διεργασία
5.1 Θερμοκρασία21
5.2 COD
5.3 DO και αλκαλικότητα25
5.4 pH - αμμωνία27
5.5 Αλατότητα
5.6 Ανόργανος άνθρακας31
5.7 Σουλφοναμίδια (Sulphonamides)33
Κεφάλαιο 6. Anammox και εναλλακτικές διεργασίες για την απομάκρυνση
αζώτου35
6.1 Νιτροδωποίηση – anammox σε συστήματα δύο αντιδραστήρων

6.2 Νιτροδωποίηση – anammox σε συστήματα ενός αντιδραστήρα
6.3 Απονιτροποίηση – anammox σε σύστημα ενός αντιδραστήρα40
6.4 Ποιοτική και ποσοτική σύγκριση μεταξύ των τεχνολογιών απομάκρυνσης αζώτου40
Κεφάλαιο 7: Ιστορική εξέλιξη anammox –Εφαρμογές βιομηχανικής κλίμακας44
7.1 Ιστορική εξέλιξη anammox44
7.2. Εφαρμογές μεγάλης κλίμακας και πιλοτικές εφαρμογές44
7.2.1 Πρώτη μεγάλης κλίμακας εφαρμογή στο Rotterdam (Ολλανδία)457.2.2 Πιλοτική εφαρμογή της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας σε δύο στάδια,
Ζυρίχη51
Κεφάλαιο 8: Σκοπός εργασίας55
Κεφάλαιο 9: Εξοπλισμός και αναλυτικές μέθοδοι56
9.1 Μικροοργανισμοί56
9.2 Υπόστρωμα ανάπτυξης56
9.3 Πειραματικός εξοπλισμός58
9.3.1 Διάσταση αντιδραστήρα58
9.3.2 Μετρήσεις
9.3.3 Πειραματική διεργασία59
Κεφάλαιο 10: Πειραματικά αποτελέσματα61
10.1 Πείραμα 162
10.2 Πείραμα 265
10.3 Πείραμα 369
10.4 Πείραμα 472
10.5 Πείραμα 575
10.6 Πείραμα 677

10.7 Πείραμα 7	79
10.8 Πείραμα 8	82
Κεφάλαιο 11: Συζήτηση	87
Κεφάλαιο 12: Συμπεράσματα – προτάσεις για συνέχιση της έρευνας	
Βιβλιογραφία	92
Παράρτημα Ι	

Περίληψη

Η παρούσα εργασία έχει ως στόχο την πειραματική διερεύνηση της απομάκρυνσης αζώτου από υγρά απόβλητα χαμηλής περιεκτικότητας σε αμμωνιακό άζωτο, με χρήση μικροοργανισμών anammox (Anaerobic Ammonium Oxidation). Η διεργασία anammox ανακαλύφθηκε και επιβεβαιώθηκε πειραματικά το 1995, από τους Mulder et al. (1995) και έκτοτε όπως ήταν αναμενόμενο, προκάλεσε το έντονο ενδιαφέρον των ερευνητών.

Αρχικά, παρατίθενται στοιχεία για τις διάφορες μορφές αζώτου και τους μηχανισμούς μετασχηματισμού του, και κυρίως για την αναερόβια οξείδωσης της αμμωνίας. Στη συνέχεια, ακολουθεί μία σφαιρική περιγραφή της φυσιολογίας και της δραστηριότητας των βακτηρίων anammox, με ιδιαίτερη έμφαση στον μεταβολισμό και στον ρυθμό ανάπτυξής τους. Επίσης, εξετάζονται οι παράγοντες και οι συνθήκες που επηρεάζουν την δραστικότητα των βακτηρίων anammox και ως εκ τούτου μεταβάλουν την απόδοση της διεργασίας.

Επιπροσθέτως, καταγράφονται οι βασικότερες τεχνολογίες βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου, συνοδευόμενες από μία ενδεικτική ποιοτική και ποσοτική σύγκριση.

Ακολούθως, γίνεται μία ιστορική ανασκόπηση για την ανακάλυψη και την τεχνολογική ανάπτυξη της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, καθώς και παράθεση κάποιων σημαντικών εφαρμογών βιοχημικής κλίμακας.

Στη συνέχεια, γίνεται αναλυτική περιγραφή του εξοπλισμού και της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε.

Για την πειραματική διαδικασία, ο αντιδραστήρας, όγκου 2L, εμβολιάστηκε με μικροοργανισμούς anammox, ενώ ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε συνθετικό υγρό απόβλητο και με αρχική συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου 50 mg/ L.

Οι συνθήκες που επικρατούσαν στον αντιδραστήρα ήταν T = 30 ° C, pH 8,00 και DO = 0 mg / L, βέλτιστες συνθήκες για τους anammox μικροοργανισμούς. Ο αντιδραστήρας ήταν εφοδιασμένος με ηλεκτρόδια: μέτρησης του pH, αγωγιμότητας και διαλυμένου οξυγόνου.

Τα νιτρώδη προσθέτονταν περιοδικά με την μορφή υδατικού διαλύματος NaNO₂, με χρήση πιπέτας, φροντίζοντας ώστε η συγκέντρωση NO₂ – N εντός του αντιδραστήρα να μην υπερέβαινε τα 20 mg / L ανά πάσα στιγμή. Ένα αέριο μίγμα N₂ - CO₂ (80% -

20 %) χρησιμοποιούνταν για τη διατήρηση ανοξικών συνθηκών μέσα στον αντιδραστήρα, αλλά και σαν πηγή άνθρακα (ανόργανου) στο μίγμα.

Η δειγματοληψία για την μέτρηση των νιτρωδών και αμμωνιακών γινόταν κάθε ώρα, ενώ των νιτρικών σε πιο αραιά χρονικά διαστήματα. Στα δείγματα αρχικά γινόταν φυγοκέντριση και έπειτα αναλυόταν μέσω τυποποιημένων τεστ της Hach-Lange. Όλες οι αναλύσεις γινόταν μέσω του DR 2800 φασματοφωτόμετρου της Hach Lange. Για τον προσδιορισμό των TSS λαμβάνονταν δείγμα από το υγρό του βιοαντιδραστήρα, περίπου κάθε δύο βδομάδες.

Η ίδια πειραματική διαδικασία, με τις ίδιες συνθήκες επαναλήφθηκε αρκετές φορές (συγκεκριμένα 7 φορές) ώστε να παρατηρήσουμε την επαναληψιμότητα των ρυθμών κατανάλωσης των αμμωνιακών και νιτρωδών. Στο τέλος, πραγματοποιήθηκε και μία πειραματική διαδικασία με αρχική συγκέντρωση αμμωνιακών 100 mg/L, ώστε να παρατηρήσουμε τις τυχόν διαφορές σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αμμωνιακών.

Τέλος, εξήχθησαν κάποια γενικά βιβλιογραφικά συμπεράσματα, καθώς και κάποια συμπεράσματα με βάση την πειραματική διαδικασία, όπως για τους ρυθμούς κατανάλωσης, οι οποίοι παρατηρείται ότι είναι πιο γρήγοροι στην αρχή κάθε κύκλου και την στοιχειομετρία της αντίδρασης, η οποία είναι πολύ κοντά στη θεωρητική στοιχειομετρία. Έγιναν επίσης και κάποιες προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή 1.1 Διάρθρωση της εργασίας

Η εργασία περιλαμβάνει συνολικά δέκα κεφάλαια, συμπεριλαμβανομένης και της παρούσας εισαγωγής.

Στο δεύτερο κεφάλαιο παρατίθενται στοιχεία σχετικά με τις διάφορες μορφές αζώτου και τους διάφορους μηχανισμούς μετασχηματισμών τους, καθώς και τον αναθεωρημένο πια κύκλο του αζώτου.

Το τρίτο κεφάλαιο αναφέρεται στη φυσιολογία των anammox βακτηρίων, καθώς και στον μεταβολισμό τους.

Στο τέταρτο κεφάλαιο παρατίθενται οι κυρίαρχες μέθοδοι ανίχνευσης και ταυτοποίησης των anammox βακτηρίων και της δραστηριότητάς τους, για την επιβεβαίωση της ύπαρξής τους στο φυσικό περιβάλλον αλλά και σε εργαστηριακές μελέτες..

Στο πέμπτο κεφάλαιο αναλύονται οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη διεξαγωγή της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας.

Στο έκτο κεφάλαιο, παρατίθεται μία ενδεικτική σύγκριση μεταξύ των τεχνολογιών βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου, καθώς και μια ενδεικτική οικονομική σύγκριση μεταξύ της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας και της συμβατικής νιτροποίησηςαπονιτροποίησης.

Στο έβδομο κεφάλαιο παρατίθεται μία μικρή ιστορική εξέλιξη της ιστορίας της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, από την πρόβλεψη της, έως την πειραματική επιβεβαίωση και κάποιες μεγάλες εφαρμογές βιομηχανικής κλίμακας.

Στο όγδοο και ένατο κεφάλαιο, γίνεται μία περιγραφή του εξοπλισμού και της πειραματικής διαδικασίας που διεξήχθη στο εργαστήριο.

Στο δέκατο κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας, καθώς και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από αυτά.

Τέλος, στο ενδέκατο κεφάλαιο εξάγονται κάποια συμπεράσματα που προέκυψαν τόσο από τη βιβλιογραφική επισκόπηση για τις δυνατότητες της αποδοτικής εφαρμογής της μεθόδου στην επεξεργασία λυμάτων, όσο και από την πειραματική διαδικασία. Ωστόσο, γίνονται και κάποιες προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

1.2 Αντικείμενο της εργασίας

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η πειραματική διερεύνηση της απομάκρυνσης αζώτου από υγρά απόβλητα χαμηλής περιεκτικότητας σε αμμωνιακό άζωτο, με χρήση μικροοργανισμών anammox (Anaerobic Ammonium Oxidation). Η διεργασία αυτή, ανακαλύφθηκε και επιβεβαιώθηκε πειραματικά το 1995, από τους Mulder et al. (1995).

Η διεργασία Anammox προκάλεσε το ενδιαφέρον των ερευνητών με αποτέλεσμα να ακολουθήσουν πολλές ερευνητικές μελέτες. Αρκετές έρευνες αφορούσαν την εφαρμογή της διεργασίας στην επεξεργασία λυμάτων, εξετάστηκαν πειραματικά διάφοροι τύποι λυμάτων, όπως αστικά λύματα αλλά και λύματα με αυξημένες συγκεντρώσεις αζώτου, αμμωνίου (N - NH₄⁺ >400 mg/L). Εκτός όμως από τους διάφορους τύπους λυμάτων εξετάστηκαν και διαφορετικά είδη αντιδραστήρων π.χ. αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (Sequencing Batch Reactors), αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας (Up flow Anaerobic Sludge Blanket reactors) κλπ.

Παράλληλα κάποιοι ερευνητές στράφηκαν προς τη μελέτη των ίδιων των βακτηριών. Μελέτησαν τη δομή και τη δραστηριότητα των βακτηρίων, το μεταβολισμό, το ρυθμό ανάπτυξής τους καθώς και τις συνθήκες που εξασφαλίζουν την επιβίωση και την ανάπτυξή τους.

Με όλες τις προαναφερόμενες πληροφορίες στη διάθεση τους πλέον, κάποιοι ερευνητές προχώρησαν στην πιλοτική αλλά και στην μεγάλης κλίμακας εφαρμογή της μεθόδου, η οποία και αποτελεί το κύριο ζητούμενο.

Η παρούσα εργασία συνοψίζει όλα τα προαναφερόμενα σημεία, με βάση τις δημοσιεύσεις ερευνητών. Στη συνέχεια παρουσιάζει κάποια πειραματικά αποτελέσματα που διεξάχθηκαν στο εργαστήριο, σε υγρά απόβλητα με μικρότερες συγκεντρώσεις (N - $NH_4^+ < 50 \text{ mg/L}$), με σκοπό τη διατήρηση της σταθερότητας του συστήματος σε απόβλητα με χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών.

Κεφάλαιο 2: Μετασχηματισμοί αζώτου

Οι ενώσεις του αζώτου βρίσκονται ανάμεσα στους πιο σημαντικούς ρυπαντές των υγρών αποβλήτων εξαιτίας του ρόλου που διαδραματίζουν στο φαινόμενο του ευτροφισμού, και της τοξικής τους δράσης στα ασπόνδυλα και σπονδυλωτά είδη, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Ωστόσο αυτές οι ενώσεις προκαλούν επίσης το ενδιαφέρον, λόγω της ωφέλιμης δράσης τους στην ανάπτυξη των φυτών με επακόλουθο την αύξηση της παραγωγής της πανίδας (R. H. Kadlec Knight, 1996).

Οι πλέον κοινές και σημαντικές μορφές αζώτου στα υγρά απόβλητα και στις αντίστοιχες οξειδωτικές μορφές στο υδάτινο ή χερσαίο περιβάλλον είναι η αμμωνία (NH₃, -III), το αμμώνιο (NH₄⁺, - III), το αέριο άζωτο (N₂, 0), τα νιτρώδη (NO₂⁻, + III) και τα νιτρικά (NO₃⁻, +V). Οι αλλαγές της οξειδωτικής κατάστασης μπορούν να επιτευχθούν μέσω μικροβιακής δραστηριότητας και μπορούν να έχουν οξειδωτική ή αναγωγική κατεύθυνση, ανάλογα με την ύπαρξη αερόβιων ή αναερόβιων συνθηκών. Οι μικροοργανισμοί αυτοί πραγματοποιούν καταβολικές αντιδράσεις (νιτρωδοποίηση, νιτρικοποίηση, απονιτροποίηση, αναγωγή νιτρικών και αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας), αναβολικές αντιδράσεις (αζωτοδέσμευση, αφομοιωτική αναγωγή νιτρικών) και αμμωνιοποίηση (Dapena Mora et al. 2007).

Υπάρχουν πολύ περίπλοκες αλληλοσυσχετίσεις ανάμεσα στις διαφορετικές μορφές αζώτου, καθώς και διαφορετικοί μηχανισμοί μετασχηματισμών. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν την αμμωνιοποίηση, τη νιτροποίηση, την απονιτροποίηση και την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας. Στο Σχήμα 2.1 παρουσιάζεται η μετατροπή του αζώτου στη βιόσφαιρα, η οποία είναι γνωστή ως κύκλος του αζώτου. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, οι περισσότερες από τις αντιδράσεις που απεικονίζονται στον κύκλο του αζώτου ήταν ήδη γνωστές για μεγάλο χρονικό διάστημα και ο κύκλος αζώτου θεωρείτο πλήρης. Σε αυτόν τον κύκλο δεν συμπεριλαμβανόταν η πιθανότητα ύπαρξης της αντίδρασης της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας (Kartal et al. 2008). Ωστόσο, μετά την πρόβλεψη και την πειραματική επαλήθευση της αντίδρασης αυτής (Strous et al. 1997) ο κύκλος του αζώτου αναθεωρήθηκε, όπως ήταν φυσικό. Στη συνέχεια του κεφαλαίου πραγματοποιείται μία συνοπτική περιγραφή των παραπάνω μετασχηματισμών του αζώτου.



Σχήμα 2.1: Η διεργασία της Αναερόβιας Οξείδωσης της Αμμωνίας στο πλαίσιο του επικαιροποιημένου κύκλου του αζώτου (Penton , Anaerobic Ammonium Oxidation, 2009).

2.1 Νιτροποίηση

Η νιτροποίηση (nitrification) είναι μια αερόβια διεργασία που συντελείται σε δύο στάδια, στην οποία το αμμωνιακό άζωτο οξειδώνεται βιολογικά σε νιτρικά άλατα μέσω υποχρεωτικά αερόβιων, αυτότροφων, χημειολιθότροφων μικροοργανισμών. Κατά το πρώτο στάδιο της νιτροποίησης τα βακτήρια Nitrosomonas οξειδώνουν το αμμωνιακό άζωτο σε νιτρώδη, σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \rightarrow NO_2^- + 2H^+ + 2H_2O$$
 (\$\varepsilon \xeta.1)

Στο δεύτερο στάδιο της νιτροποίησης συντελείται η οξείδωση των νιτρωδών σε νιτρικά μέσω των βακτηρίων Nitrobacter.

$$NO_{2}^{-} + 0.5 O_{2} \rightarrow NO_{3}^{-}$$
 (\$\varepsilon \xi.2.2)

Το πρώτο στάδιο αποτελεί και τον περιοριστικό παράγοντα στην νιτροποίηση, λόγω του ότι ο ρυθμός ανάπτυξης των βακτηρίων Nitrosomonas είναι συνήθως πιο αργός από τον ρυθμό των Nitrobacter (Grady et al., 1999). Επίσης, υπάρχουν αναφορές και για νιτροποίηση μέσω ετερότροφων βακτηρίων. Ωστόσο, ο ρυθμός νιτροποίησης αυτών είναι περίπου τρεις τάξεις μεγέθους μικρότερος από τον ρυθμό των αυτότροφων βακτηρίων (Schmidt et al., 2003).

Η απαίτηση για νιτροποίηση στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων σχετίζεται με το ενδιαφέρον για:

- τις επιπτώσεις της αμμωνίας στον υδάτινο αποδέκτη που συνδέονται με τη συγκέντρωση του DO και την τοξικότητα στα ψάρια. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις DO (<0,50 mg/L), οι ρυθμοί νιτροποίησης παρεμποδίζονται σε μεγάλο βαθμό.
- 2. την απαίτηση για απομάκρυνση αζώτου για έλεγχο του ευτροφισμού και
- την ανάγκη για έλεγχο του αζώτου σε εφαρμογές επαναχρησιμοποίησης του νερού (Metcalf & Eddy, 2003).

2.2 Απονιτροποίηση

Ετερότροφη απονιτροποίηση

Η απονιτροποίηση είναι μια ανοξική διαδικασία κατά την οποία τα νιτρικά αρχικά μετατρέπονται σε νιτρώδη και στη συνέχεια σε οξείδιο του αζώτου, σε νιτρώδες οξείδιο και τελικά σε αέριο άζωτο. Πραγματοποιείται ακολουθώντας τις παρακάτω αντιδράσεις (Τσώνης, 2004):

$$NO_{3}^{-} + 2e^{-} + 2H^{+} \to NO_{2}^{-} + H_{2}O$$
 (\$\varepsilon\$, 2.3)

$$NO_{2}^{-} + e^{-} + 2H^{+} \rightarrow NO^{-} + H_{2}O$$
 (\$\varepsilon\$.2.4)

$$2NO^{-} + 2e^{-} + 2H^{+} \rightarrow N_{2}O + H_{2}O \qquad (\epsilon\xi.2.5)$$

$$N_2 O + e^- + 2H^+ \to N_{2(g)} + H_2 O \tag{$\epsilon\xi.2.6$}$$

Γενικά, τα απονιτροποιητικά βακτήρια είναι ετερότροφα, προαιρετικώς αερόβια και υπό ανοξικές συνθήκες χρησιμοποιούν τα νιτρικά ως δέκτη ηλεκτρονίων. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της απονιτροποίησης αποτελεί το γεγονός ότι καθίσταται δυνατή η ταυτόχρονη απομάκρυνση άνθρακα και νιτρικών χωρίς την απαίτηση παροχής οξυγόνου (Grady et al., 1999). Επίσης, η απονιτροποίηση ανακτά το ήμισυ της αλκαλικότητας που καταναλώνεται κατά τη διάρκεια της νιτροποίησης. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι κατά την υλοποίηση της απονιτροποίησης τα νιτρικά χρησιμοποιούνται ως τελικός δέκτης ηλεκτρονίων και αναστέλλονται οι διαδικασίες τόσο της οξεογένεσης όσο και της μεθανιογένεσης.

Αυτότροφη απονιτροποίηση

Σε υγρά απόβλητα τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις θείου, η απομάκρυνση των νιτρικών μπορεί να συμβεί μέσω της αυτότροφης απονιτροποίησης. Τα απονιτροποιητικά βακτήρια Thiobacillus χρησιμοποιούν ανόργανες πηγές θείου (H₂S, SO₂₋₃) έναντι του οργανικού άνθρακα για τη μετατροπή των νιτρικών σε αέριο άζωτο (Onay et al., 2001). Η αντίδραση που ακολουθεί η σχέση αυτή είναι:

$$H^{+} + 1.25SO + N \to 0.75H^{+} + 1.25H_{2}S + 2NO^{-}$$
 (\$\varepsilon\$, 2.7)

Σύμφωνα με τον παραπάνω μηχανισμό απομάκρυνσης των νιτρικών παράγεται θειικό άλας. Σε περιπτώσεις όπου ο λόγος C/N είναι χαμηλός η διεργασία αυτή ευνοείται έναντι της ετερότροφης.

2.3 Αναερόβια οξείδωση αμμωνίου (anammox)

Για πολλά χρόνια, παραδοσιακή μέθοδο για την απομάκρυνση του αζώτου από τα υγρά απόβλητα είχε αποτελέσει ο συνδυασμός των διεργασιών νιτροποίησης - απονιτροποίησης. Συνήθως, η έλλειψη απαραίτητων εκτάσεων ή διάφοροι

οικονομικοί περιορισμοί, δεν επιτρέπουν την αύξηση της δυναμικότητας των υπαρχόντων εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, ιδιαίτερα στην περίπτωση που αυτά εμφανίζουν μεγάλα φορτία αμμωνίου. Τη λύση σε αυτό το πρόβλημα θα μπορούσε να δώσει η ανακάλυψη της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, η οποία δίνει νέες δυνατότητες και εναλλακτικές.

Τα anammox βακτήρια μπορούν να χρησιμοποιούν τα νιτρώδη ως δέκτη ηλεκτρονίου και να μετατρέπουν αναερόβια την αμμωνία και τα νιτρώδη σε αέριο άζωτο. Σε αντίθεση με τη συμβατική μέθοδο νιτροποίησης-απονιτροποίησης, η αναερόβια οξείδωση του αμμωνίου είναι μια αυτότροφη διεργασία. Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν τα δισανθρακικά ως πηγή άνθρακα.

Πιο συγκεκριμένα, κατά τη διεργασία αυτή 1 mol αμμωνίου οξειδώνεται με 1 mol νιτρωδών για την παραγωγή αέριου αζώτου N₂, απουσία οξυγόνου (Strous et al. 1997):

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O \tag{$\epsilon\xi.2.8$}$$

Σε σύγκριση με την απονιτροποίηση, αυτή η μέθοδος παράγει διπλάσια ποσότητα N_2 ανά mol νιτρωδών που καταναλώνονται, ενώ αυξάνει την παραγωγή N_2 σε περιπτώσεις όπου η νιτροποίηση είναι περιορισμένη. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι ένα στα δύο μόρια αζώτου στην ατμόσφαιρα έχει παραχθεί μέσω της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας (Jetten M., 2008). Άλλα στοιχεία δείχνουν ότι τα anammox αντιπροσωπεύουν το 13-51% της συνολικής παραγωγής N_2 στα βαθιά ωκεάνια ιζήματα (Penton, 2009).

Η υδροξυλαμίνη και η υδραζίνη ταυτοποιήθηκαν ως σημαντικά ενδιάμεσα προϊόντα (Jetten et al., 1999), ενώ τα πειράματα έδειξαν ένα πολύ χαμηλό ρυθμό ανάπτυξης των anammox βακτηρίων (χρόνος διπλασιασμού 11 ημερών) (Strous et al., 1998 και Strous et al., 1999).

Επομένως, οι αντιδραστήρες που επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν για αυτή την νέα μέθοδο επεξεργασίας θα έπρεπε να εμφανίζουν επαρκή χρόνο παραμονής της βιομάζας καθώς και μια αργή περίοδο εκκίνησης της διεργασίας.

Η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας πραγματοποιείται από Planctomycetes του γένους Candidatus "Brocadia anammoxidans" και "Kuenenia stuttgartiensis", από κάποια είδη του γένους "Scalindua" (Schmid et al.,2003) καθώς και από το μέλος,

"Anammoxoglobus propionicus" (Kartal et al. 2007b). Λόγω του ότι είναι αυτότροφοι μικροοργανισμοί, μία πλήρης μετατροπή του αμμωνίου σε αέριο άζωτο μπορεί να λάβει χώρα χωρίς την προσθήκη οργανικής ύλης (Jetten et al., 2002 και Van Dongen et al., 2001). Τα anammox βακτήρια δεν καταναλώνουν αμμωνία και νιτρώδη σε αναλογία 1:1 όπως θα ήταν αναμενόμενο από τον καταβολισμό τους αλλά σε αναλογία 1:1.3 , όπως φαίνεται και από τις παρακάτω σχέσεις (Van Dongen et al., 2002):

Anammox (without cell synthesis)

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2 H_2O \qquad (\epsilon\xi.2.9)$$

Anammox (with cell synthesis)

 NH_4^+ + 1.32 NO₂⁻ + 0.066 HCO₃⁻ → (εξ.2.10.)

$$1.02 \text{ N}_2 + 0.26 \text{ NO}_3^- + 0.66 \text{ CH}_2\text{O}_{0.5} \text{ N}_{0.15} + 2.03 \text{ H}_2\text{O}$$
 (\$\varepsilon\$, \$\varepsilon\$, \$\

Η περίσσεια του 0.3 mol νιτρωδών (ανά mol αμμωνίας) οξειδώνεται αναερόβια σε νιτρικά (Van de Graaf et al., 1996).

Οι μικροοργανισμοί anammox είναι πολύ ευαίσθητοι στην παρουσία σχετικά υψηλών συγκεκριμένων συγκεντρώσεων οξυγόνου και νιτρωδών. Πιο συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις οξυγόνου υψηλότερες από 0.06 mg/L, νιτρωδών μεταξύ 230 mg/L και 920 mg/L καθώς και φωσφορικών αλάτων υψηλότερες από 180 mg/L αναστέλλουν τη λειτουργία της αναερόβιας οξείδωσης του αμμωνίου αντιστρεπτά (Jetten et al., 1999).

Επίσης, τα anammox βακτήρια είναι πολύ ευαίσθητα στην παρουσία κάποιων πηγών οργανικής ύλης, όπως για παράδειγμα στις αλκοόλες και ειδικά στη μεθανόλη. Ακόμα δηλαδή και μία πολύ μικρή συγκέντρωση μεθανόλης, ίση με 40 mg/L, οδήγησε σε άμεση, πλήρη και μη αντιστρέψιμη αναστολή της αναερόβιας οξείδωσης του αμμωνίου (Paredes et al.,2007). Το γεγονός αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη διότι η μεθανόλη χρησιμοποιείται συχνά για την απομάκρυνση των νιτρικών στο στάδιο της απονιτροποίησης, είτε για την εξισορρόπηση της μείωσης του pH στους αντιδραστήρες μερικής νιτροποίησης (partial nitrification reactors).

Ο σχηματισμός φορμαλδεΰδης από το anammox ένζυμο υδροξυλαμίνη οξειδοαναγωγάση (hydroxylamine oxidoreductase) ταυτοποιήθηκε ως η πιθανή αιτία της αναστολής που προκαλεί η μεθανόλη. Αντιθέτως, τα οργανικά οξέα φαίνεται να αξιοποιούνται καθώς το προπιονικό οξύ (propionate) και πιθανώς το οξικό οξύ (acetate) φαίνεται να αποτελούν υπόστρωμα για τα anammox βακτήρια. Το προπιονικό οξύ οξειδώθηκε από τα βακτήρια με τα νιτρικά και/ή τα νιτρώδη ως δέκτη ηλεκτρονίου, ενώ ταυτόχρονα έλαβε χώρα η αναερόβια οξείδωση του αμμωνίου. Σε μια καλλιέργεια εμπλουτισμού anammox βακτηρίων, η οποία τροφοδοτήθηκε με προπιονικό οξύ για 150 ημέρες, η ποσότητα των anammox κυττάρων και απονιτροποιητικών βακτηρίων δεν άλλαξε σημαντικά με το χρόνο, γεγονός που υποδεικνύει ότι τα anammox βακτήρια μπορούν να ανταγωνιστούν επιτυχώς τα ετερότροφα απονιτροποιητικά βακτήρια για το προπιονικό οξύ (Güven et al., 2005).

Η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας χαρακτηρίζεται όχι μόνο από τον αργό ρυθμό ανάπτυξης αλλά και από την αλληλεπίδραση με άλλα βακτήρια. Τα anammox βακτήρια απαιτούν μια κοντινή πηγή νιτρωδών. Στο πλαίσιο αυτό, υπάρχουν δύο τρόποι για την επίτευξη υψηλών ρυθμών απομάκρυνσης μέσω της αναερόβιας οξείδωσης:

α. δύο αντιδραστήρες σε σειρά, με πρώτο στάδιο τον αντιδραστήρα της μερικής νιτροποίησης και δεύτερο στάδιο τη μονάδα της αναερόβιας οξείδωσης του αμμωνίου- με αυτήν τη διάταξη οι δύο βιολογικές διεργασίες μπορούν να ελεγχθούν ξεχωριστά (Van Dongen et al.,2001 και Fux and Siegrist 2004).

β. η χρήση συστημάτων με βιοφιλμ όπου η κλασική νιτροποίηση αναπτύσσεται στα εξωτερικά αερόβια στρώματα και η αναερόβια οξείδωση λαμβάνει χώρα στις ενδότερες ζώνες του βιοφιλμ, από τα anammox βακτήρια. Επομένως, οι συγκεντρώσεις οξυγόνου αποτελούν παράμετρο ελέγχου-κλειδί για την εφαρμογή αυτή (Egli et al., 2003 και Helmer-Madhoc et al.,2002).

γ. η χρήση συστημάτων με αντιδραστήρες SBR, όπου εναλλάσσονται η ανοξική και η αερόβια φάση ανά συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα. Αρχικά ο αντιδραστήρας τροφοδοτείται με αέρα για μερικά λεπτά, ενώ στη συνέχεια και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα επικρατούν αναερόβιες συνθήκες. Η διάρκεια της αερόβιας και της αναερόβιας φάσης εξαρτώνται από τη δραστικότητα τόσο της νιτροποίησης όσο και της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας (Joss et al, 2009).

Κεφάλαιο 3: Μικροοργανισμοί anammox

3.1 Κατηγορίες μικροοργανισμών

Έχουν ταυτοποιηθεί πέντε *Candidatus* γένη: Brocadia, Kuenenia, Anammoxoglobus, Jettenia, και Scalindua (Σχήμα 3.1), τα οποία θα μπορούσαν όλα να εμπλουτιστούν από διάφορες μονάδες επεξεργασίας λυμάτων (Jetten et al., 2010). Τα βακτήρια αυτά δεν είναι διαθέσιμα ως καθαρές καλλιέργειες, αλλά καλλιεργούνται σε ένα επίπεδο εμπλουτισμού της τάξης του 80% σε έναν αντιδραστήρα SBR ή της τάξης του 95% σε βιοαντιδραστήρα με μεμβράνες MBR (Van der Star et al., 2008). Το τρίτο *Candidatus* γένος έχει ένα μέλος, Anammoxoglobus propionicus, το οποίο εμφανίζει εναλλακτικό μεταβολισμό, ενώ όλα τα είδη μοιράζονται παρόμοια φυσιολογικά χαρακτηριστικά (Kartal et al. 2007).



Σχήμα 3.1: Φυλογενετικά δέντρα που εκπροσωπούν την υπαγωγή των 16S rRNA anammox βακτηρίων (Cho et al., 2010).

3.2 Φυσιολογία

Τα κοκκώδη anammox βακτήρια εμφανίζουν διάμετρο συνήθως μικρότερη από 1μm και χρόνο πολλαπλασιασμού από 10 έως 30 ημέρες. Η κυτταρική δομή των βακτηρίων αυτών παρουσιάζει κάποιες ιδιαιτερότητες, σε σχέση με αυτή άλλων βακτηρίων, δεδομένου ότι το κυτταρόπλασμα διαχωρίζεται σε τρία διακριτά τμήματα, τα οποία οριοθετούνται από ξεχωριστές μεμβράνες διπλής στρώσης. Επίσης, δεν φαίνεται να υπάρχει περιπλασματικός χώρος (periplasmic space) (Huston et al. 2007).

Το τρίτο και εξώτερο τμήμα του κυτταροπλάσματος, το paryphoplasm, οριοθετείται εξωτερικά από την κυτταρική μεμβράνη, ενώ το δεύτερο τμήμα, το ριβόπλασμα, περιέχει ριβοσώματα και την περιοχή του πυρήνα (nucleoid). Μεταξύ τους, τα δύο αυτά τμήματα διαχωρίζονται από μια εσωτερική κυτταρική μεμβράνη. Το ενδότερο και πλέον ενδιαφέρον τμήμα του κυτταροπλάσματος, το anammoxosome, το οποίο οριοθετείται από τη μεμβράνη του anammoxosome (Σχήμα 3.2), περιέχει οργανικές ενώσεις σιδήρου και σωληνοειδείς δομές, ενώ καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος του όγκου του κυττάρου. Η λειτουργία του anammoxosome θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει την παραγωγή ενέργειας, ανάλογα με τη λειτουργία των μιτοχονδρίων στα ευκαρυωτικά κύτταρα (Huston et al. 2007).

Η μεμβράνη του anammoxosome αποτελείται από λιπίδια που απαντώνται μόνο στους μικροοργανισμούς anammox και ονομάζονται ladderanes (Sinninghe Damste et al. 2002). Εξαιτίας της πολύ πυκνής διάταξης των ατόμων του άνθρακα (Σχήμα 3.3), τα λιπίδια αυτά λειτουργούν ως φραγμός διάχυσης (Sinninghe Damste et al. 2002), και πιθανότατα ως μέσο προστασίας του βακτηρίου από τα ενδιάμεσα τοξικά προϊόντα της αντίδρασης: υδροξυλαμίνη και υδραζίνη (Jetten et al. 2003). Η υδραζίνη μπορεί να διεισδύσει εύκολα στις λιγότερο πυκνές βακτηριακές μεμβράνες (Sinninghe Damsté et al. 2002). Επίσης, λόγω των μοναδικών χαρακτηριστικών τους έχουν χρησιμοποιηθεί και ως δείκτης για την παρουσία βακτηρίων anammox (Kuypers et al. 2003).



Σχήμα 3.2: Αριστερά: σχηματική απεικόνιση ενός anammox βακτηρίου. Δεξιά: φωτογραφία από transmission electron microscopy, Candidatus "Brocadia anammoxidans" (van Niftrik et al., 2004).



Σχήμα 3.3: Τρία παραδείγματα χημικής δομής των ladderane λιπιδίων (Brandes et al, 2007).

Οι Rattray et al. (2008) πραγματοποίησαν μία ανάλυση του πυρήνα των λιπιδίων και των φωσφολιπιδίων για βακτήρια προερχόμενα από καλλιέργειες τεσσάρων ειδών, αντιπροσωπευτικών για κάθε γένος. Η ανάλυση έδειξε λοιπόν ότι η τα κυρίαρχα λιπίδια των καλλιεργειών ήταν τα ladderane λιπίδια, ευθείας αλυσίδας λιπαρά οξέα, διακλαδισμένης αλυσίδας λιπαρά οξέα, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και τριτερπενοειδή. Οι υπολογισμοί των ποσοστών βάρους έδειξαν ότι τα ladderane λιπαρά οξέα συνιστούν το μεγαλύτερο κλάσμα λιπιδίων σε ότι αφορά στις καλλιέργειες ''Candidatus B. Fulgida'' (63%) και ''Candidatus K. Stuttgartiensis'' (45%), ενώ τα ακόρεστα λιπαρά οξέα δεν εμφάνισαν σημαντικό ποσοστό. Αντίθετα, όσον αφορά στα "Candidatus A. propionicus" και "Candidatus Scalindua" τα ποσοστά των ladderane λιπιδίων ήταν 24 και 25% αντίστοιχα, και όμοια με τα ποσοστά των ακόρεστων λιπαρών οξέων και των λιπιδίων ευθείας αλυσίδας. Τα λιπαρά οξέα διακλαδισμένης αλυσίδας ήταν ο τύπος που εμφάνισε τη μεγαλύτερη αφθονία (29%) στην καλλιέργεια του γένους "Candidatus Scalindua". Όλα τα είδη εμφάνισαν επίσης πολύ μικρές ποσότητες τριτερπενοειδών (<6% ολικά λιπίδια). Η σύνθεση των τύπων των λιπιδίων σε σχέση με το βάρος τους, σε κάθε είδος, απεικονίζεται στο διάγραμμα που ακολουθεί (Σχήμα 3.4).



Σχήμα 3.4: Σύνθεση με βάση τα ποσοστά βάρους των διαφορετικών τύπων λιπιδίων που εμφανίστηκαν για κάθε είδος anammox βακτηρίων (Rattray et al. 2008).

3.3 Μεταβολισμός

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το αναμμοξείσωμα είναι αυτό που εκτελεί το έργο της παραγωγής ενέργειας, ενώ η ενέργεια από την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας χρησιμοποιείται με τη μορφή της κινητήριας δύναμης πρωτονίων PMF, για τη μεταφορά τους εκτός μεμβράνης. Η διεργασία αυτή καταλύεται από αρκετές πρωτεΐνες κυτόχρωμα *c*-. Με βάση αυτό το μοντέλο, τα νιτρώδη ανάγονται αρχικά σε μονοξείδιο του αζώτου μέσω ενός κυτοχρώματος *c*- και κυτοχρώματος d_1 – που περιέχει αναγωγάση νιτρωδών (nitrite reductase). Το μονοξείδιο του αζώτου και το αμμώνιο στη συνέχεια σχηματίζουν την υδραζίνη με βιοκαταλύτη την hydrazine-hydrolase. Τέλος, η υδραζίνη οξειδώνεται σε αέριο άζωτο με τη συνεισφορά της hydrazine/hydroxylamine oxidoreductase, ενός octaheme κυτοχρώματος *c*-(Σχήμα 3.5) (Shimamura et al.2007).



Σχήμα 3.5: Σχηματική απεικόνιση (αριστερά) που αναπαριστά τη δομή των ANAMMOX βακτηρίων και η αντιστοίχιση της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας στη μεμβράνη του anammoxosome (δεξιά) για την συγκέντρωση της κινητήριας δύναμης πρωτονίου και επακόλουθα τη σύνθεση της ATP. Nir: nitrite reductase (cytochrome *cd*1), hh: hydrazine hydrolase, hao: hydrazine/hydroxylamine oxidoreductase (octaheme cyrochrome *c*), cyt: mono or diheme cytochrome *c* electron carriers, bc1: cytochrome *bc*1 complex (complex III), Q: coenzyme Q (ubiquinone). (van Niftrik et al. 2008).

Η παραπάνω διεργασία σύμφωνα με τους ερευνητές φαίνεται να αντιπροσωπεύει όλα τα γένη των anammox βακτηρίων. Στοιχεία από το είδος *Candidatus* K. stuttgartiensis (Strous et al. 2006) υποδεικνύουν ότι η αντίδραση anammox πραγματοποιείται μέσω των παρακάτω βημάτων:

$NO_2^- \rightarrow NO$

$NO+NH_4^+ \rightarrow N_2H_4 \rightarrow N_2$

Έχει παρατηρηθεί ότι τα anammox βακτήρια είναι ευέλικτα όσον αφορά στο μεταβολισμό, εμφανίζοντας εναλλακτικές βιοχημικές ατραπούς. Επίσης, παρέχουν τη δυνατότητα παραγωγής N₂O μέσω της διεργασίας detoxification του μονοξειδίου του αζώτου (Kartal et al. 2007a). Επιπρόσθετα, τα οξείδια του μαγνησίου και του σιδήρου μπορούν να λειτουργούν ως δότες ηλεκτρονίου (Strous et al. 2006), επεκτείνοντας την ποικιλία μεταβολισμού των anammox βακτηρίων. Μία άλλη οδός ακολουθείται από το *Candidatus* Anammoxoglobus propionicus, το οποίο φαίνεται να συνοξειδώνει προπιονικούς εστέρες και αμμώνιο με αποτέλεσμα να ανταγωνίζεται τα απονιτροποιητικά βακτήρια και άλλα anammox βακτήρια (Kartal et al. 2007b). Το γεγονός αυτό πιθανόν εξηγεί την σπάνια συνύπαρξη διαφορετικών ειδών anammox

βακτηρίων και την κυριαρχία συγκεκριμένου είδους ανάλογα με τον τύπο του ενδιαιτήματος.

Κεφάλαιο 4: Μέθοδοι ανίχνευσης των anammox βακτηρίων και ο εντοπισμός τους στο περιβάλλον.

4.1 Ανίχνευση του anammox βακτηρίου και της δραστηριότητας του

Η τεχνική αντιστοίχισης ισοτόπων, isotope pairing technique (IPT), αποτελεί την πλέον ενδεδειγμένη μέθοδο προσδιορισμού της δραστηριότητας anammox, συνηθέστερα στην περίπτωση ομογενοποιημένων ιζημάτων (Thamdrup and Dalsgaard, 2002). Πιο συγκεκριμένα, αρχικά προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις NH_4^+ , NO_3^- και NO_2^- , στη συνέχεια τα ιζήματα τοποθετούνται σε αεροστεγή δοχεία σφραγισμένα (septums), στα οποία παροχετεύεται ήλιο (He) για τουλάχιστον πέντε λεπτά ούτως ώστε να απομακρυνθεί το υπάρχον οξυγόνο (O₂). Οι συγκεντρώσεις παραμενόντων NO_X παρακολουθούνται έως ότου όλα τα διαθέσιμα οξείδια του αζώτου εξαλειφθούν από τις επωάσεις.

Στο στάδιο αυτό πραγματοποιούνται παράλληλα οι εξής τρεις συνδυασμοί: (1) 15 NH₄⁺, (2) 14 NO₂ και 15 NH₄⁺ σε συνδυασμό, και (3) 15 NO₂⁻. Οι αντιδράσεις σταματούν με την προσθήκη ZnCl₂. Η πρώτη επώαση αποσκοπεί στον έλεγχο οποιασδήποτε οξείδωσης του αμμωνίου χωρίς προσθήκη νιτρωδών. Η έλλειψη 29 N₂/ 30 N₂ είναι ενδεικτική της έλλειψης οξειδωτικών στο τέλος της προ-επώασης. Κατά τη δεύτερη επεξεργασία εξετάζεται η δυνατότητα διεξαγωγής της δραστηριότητας αυτής μέσω της οξείδωσης του αμμωνίου με νιτρώδη. Ο συνδυασμός των δύο προαναφερθέντων επωάσεων χρησιμοποιείται για την επαλήθευσηδιαπίστωση της αναερόβιας οξείδωσης του αμμωνίου. Τέλος, στην τρίτη επώαση υπολογίζεται ο ρυθμός της αναερόβιας οξείδωσης και της απονιτροποίησης (Σχήμα 4.1).



Σχήμα 4.1: Τυπικό προφίλ αζώτου στο νερό των πόρων ιζήματος από βαθύ ωκεανό, στο οποίο φαίνεται μια ζώνη αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας (Penton, 2009).

Η αναερόβια οξείδωση του αμμωνίου παράγει ²⁹N₂ κατά την οξείδωση του αμμωνίου με τα προστιθέμενα νιτρώδη, ενώ η απονιτροποίηση προσμετρείται από την παραγωγή ³⁰N₂ (Σχήμα 4.2). Ωστόσο, στοιχεία που αποδεικνύουν ότι η αναερόβια οξείδωση του αμμωνίου μπορεί επίσης να αναγάγει ¹⁵NO₃⁻ σε ¹⁵NH₄⁺ (Kartal et al. 2007a), οδηγούν στην πιθανότητα η αντίδραση να μπορεί να συνδυάσει ¹⁵NO₂⁻ με ¹⁵NH₄⁺ και επομένως κάποιο ποσοστό από τη μετρημένη απονιτροποίηση να οφείλεται στην αναερόβια οξείδωση.



Σχήμα 4.2: Επώαση με ${}^{15}NO_3^{-}$. Οι συγκεντρώσεις ${}^{29}N_2$ και ${}^{30}N_2$ αυξάνουν με το χρόνο. (Dalsgaard et al., 2003).

Κάποιες τροποποιήσεις στο πρωτόκολλο αυτό θα μπορούσαν να επιφέρουν θετικά αποτελέσματα, και ιδιαίτερα η προσθήκη μετρήσεων του N₂O για τον ακριβέστερο προσδιορισμό της παραγωγής N₂, καθώς και η χρήση ανέπαφων πυρήνων των ιζημάτων (Trimmer et al. 2006).

Μοριακές μέθοδοι έχουν αξιοποιηθεί εκτεταμένα για τον εντοπισμό anammox βακτηρίων σε δείγματα υγρών αποβλήτων ή φυσικού περιβάλλοντος. Η επιτόπου μέθοδος υβριδοποίησης με φθορισμό (Fluorescence in situ hybridization FISH), η οποία στοχεύει στο 16S rRNA, έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον για τη συλλογή ποιοτικών και ποσοτικών δεδομένων. Περιγράφεται αναλυτικά από τους Schmid et al. (2005), όπου μάλιστα αναφέρεται ως ο χρυσός κανόνας για την ανίχνευση των οργανισμών anammox. Ο ανιχνευτής S-P-Planc-0046-a-A-18 θεωρείται καλή επιλογή για αρχικά πειράματα, ενώ επισημαίνεται ότι ο ανιχνευτής S-P-Planc-0886-a-A-19, ο οποίος παρασκευάστηκε για να ανιχνεύει μέλη των γενών: *Pirellula, Gemmata, Planctomyces* και *Isosphaera* δεν διασταυρώνεται με τα 16S rRNA των anammox βακτηρίων, κάτι που συμβαίνει και στην περίπτωση του S-D-Bact-0338-a-A-18. Παράλληλα, θα πρέπει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές οι ανιχνευτές μπορεί να έχουν διαφορετική αποτελεσματικότητα για κάθε γένος.



Σχήμα 4.3: Εντοπισμός anammox βακτηρίων (σημαδεμένα με βέλη). Δείγμα από τα ιζήματα Gullmarsfjorden S3, 1-2 cm βάθος. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 5 mm. (Schmid et al., 2007).

Μάλιστα, για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας των anammox βακτηρίων αναπτύχθηκαν δύο προχωρημένες προσεγγίσεις της μεθόδου επιτόπου υβριδοποίησης με φθορισμό (FISH). Η πρώτη, η ISR-FISH, βασίζεται στην παρατήρηση ότι η αναλογία των ριβοσωμάτων δεν μειώνεται σημαντικά σε περιόδους αναστολής ή έλλειψης τροφής (Morgenroth et al., 2000: Schmid et al., 2001: Wagner et al., 1995). Οι συγκεντρώσεις του πρόδρομου rRNA λοιπόν αποτελούν άμεση μέτρηση του ρυθμού ανάπτυξης των ριβοσωμάτων των κυττάρων (Cangelosi et al. 1997) και κατ' επέκταση της δραστηριότητάς τους. Η δεύτερη προσέγγιση, η FISH-MAR, σχετίζεται με την πρόσληψη μαρκαρισμένου με ραδιοϊσότοπα υποστρώματος. Αυτή μάλιστα η μέθοδος βοήθησε να αποδειχτεί ότι anammox τα βακτήρια είναι χημειολιθοαυτότροφα και η βασική τους πηγή άνθρακα είναι το διοξείδιο του άνθρακα (Jetten et al., 1998).

Παράλληλα, τα μοναδικά ladderane λιπίδια, που αποτελούν το αναμμοξείσωμα, έχουν χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτες για σχετική ποσοτικοποίηση (Kuypers et al., 2003), ενώ τα διακριτά hopanoid μπορούν να φανούν χρήσιμα στην αξιολόγηση της σχετικής αφθονίας στο sedimentary record (Damste et al., 2004). Επιπροσθέτως, η δραστηριότητα των anammox βακτηρίων προκύπτει άμεσα από τη μέτρηση της κατανάλωσης αμμωνίας και νιτρωδών, σε αναερόβιες συνθήκες και για παρουσία επαρκούς πληθυσμού βακτηρίων (Mulder et al. 1995, Van de Graaf et al. 1995), ή από τη μέτρηση της πίεσης του αερίου αζώτου που παράγεται από την αντίδραση (Dapena–Mora et al.2003).

Η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (q-PCR) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για άμεση ποσοτικοποίηση όλων των γνωστών ομοίων με τα anammox βακτήρια, σε στήλες νερού (Hamersley et al. 2007), σε καλλιέργειες υγρών αποβλήτων (Tsushima et al. 2007) καθώς και για την ακριβή απαρίθμηση του *Candidatus* Scalindua "θαλάσσιου" anammox βακτηρίου στα ιζήματα.

Κεφάλαιο 5: Παράγοντες που επηρεάζουν τη διεργασία anammox

Στο κεφάλαιο αυτό αναλύονται οι πιο καθοριστικοί παράγοντες που επιδρούν στη λειτουργία και τη δράση των anammox βακτηρίων.

5.1 Θερμοκρασία

Ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας είναι η θερμοκρασία. Σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές, το βέλτιστο εύρος θερμοκρασίας για την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας αντιστοιχεί στους 30 – 40 °C (Strous et al., 1999: Egli et al. 2001: Yang et al., 2006: Toh et al., 2002). Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί anammox δραστηριότητα τόσο σε μικρότερες όσο και σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες. Βέβαια, κάτω από 15 °C και πάνω από 40 °C, δεν παρατηρείται καμία σημαντική anammox δραστηριότητα. Μάλιστα, πέρα από αυτές τις θερμοκρασίες η δραστηριότητα τους αναστέλλεται και δεν αποκαθίσταται με την επαναφορά της θερμοκρασίας.

To 2001, se éreuva tou K.Egli (2001), πραγματοποιήθηκαν επωάσεις se θερμοκρασίες 11, 20, 25, 30, 37 και 45 °C, προκειμένου να προσδιοριστεί η βέλτιστη θερμοκρασία για τα βακτήρια anammox. Η υψηλότερη δραστηριότητα (ως ποσοστό παραγωγής N_2) παρατηρήθηκε stoug 37 °C. Ωstóso, καμία anammox δραστηριότητα δεν παρατηρήθηκε stoug 45 °C και η δραστηριότητα τoug δεν μπορούσε να αποκατασταθεί με μείωση της θερμοκρασίας stoug 37 °C. Ακόμη παρατηρήθηκε ότι η δραστηριότητα anammox stoug 11 °C ήταν περίπου sto 24% της δραστηριότητας stoug 37 °C.

Σύμφωνα με τους T. Dalsgaard και B.Thamdrup (2002), οι οποίοι ασχολήθηκαν με ιζήματα από το Skagerrak (Baltic-North Sea), η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας εμφανίζει ένα ικανοποιητικό ποσοστό στους 15 °C και μέγιστη θερμοκρασία δραστηριότητας στους 37 °C.

Το 2007 οι J.Dosta et al. δοκίμασαν την εφαρμογή της διαδικασίας anammox σε χαμηλότερες θερμοκρασίες από τους 30°C, όπου θεωρούνται οι καλύτερες δυνατές συνθήκες. Αρχικά, μελετήθηκαν οι βραχυπρόθεσμες επιπτώσεις της θερμοκρασίας

στη βιομάζα anammox χρησιμοποιώντας αντιδραστήρα διαλείποντος έργου (batch). Η μέγιστη δραστηριότητα παρατηρήθηκε στους 35 – 40 ° C. Αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στους 45° C παρουσίασαν αρνητική επίπτωση της θερμοκρασίας στη δραστηριότητα των anammox βακτηρίων. Για τον προσδιορισμό των μακροπρόθεσμων επιπτώσεων χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήρας αλληλοδιαδοχικού έργου (SBR), ο οποίος λειτούργησε σε διαφορετικές θερμοκρασίες (από 30 μέχρι 15 °C). Το σύστημα λειτούργησε με επιτυχία στους 18 °C, αλλά όταν η θερμοκρασία μειώθηκε στους 15 °C, το σύστημα δεν κατάφερε να αφαιρέσει όλα τα νιτρώδη και έτσι ακολούθησε συσσώρευση. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην πλήρη αστοχία του συστήματος, δεδομένου ότι τα νιτρώδη ακόμα και σε μέτριες συγκεντρώσεις (30-50 $gNO2-N/m^3$) αποτελούν περιοριστικό παράγοντα για τα anammox βακτήρια (Fux et Junget al.,2007). Η συμπεριφορά του συστήματος απεικονίζεται στο al.,2004: διάγραμμα που ακολουθεί. Χαρακτηριστική είναι η αύξηση των συγκεντρώσεων των NH_4^+ και NO_2^- (Σχήμα 5.1), με την απότομη αλλαγή κλίσης της καμπύλης, κατά το πέρασμα στην 100^{η} ημέρα, όπου η θερμοκρασία μειώθηκε στους 15° C.



Σχήμα 5.1: Συγκεντρώσεις NH_4^+ -N(◊) και NO_2^- -N (□) στην εκροή (Dosta et al., 2007).

5.2 COD

Το COD αποτελεί μια ακόμα παράμετρο που σύμφωνα με τους ερευνητές μπορεί να επηρεάσει τη διεργασία της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας. Συγκεκριμένα, όσο μικρότερη είναι η συγκέντρωση COD των λυμάτων τόσο μεγαλύτερη είναι η απομάκρυνση του NH4⁺-N (άρα και η anammox δραστηριότητα). Προκειμένου να διερευνηθεί λοιπόν ο βαθμός επίδρασης του, οι Jink Kang et al. 2006 πραγματοποίησαν πειράματα σε αντιδραστήρα Expanded Granular Sludge Bed (EGSB) εργαστηριακής κλίμακας, με συνθετικό νερό και συγκεντρώσεις COD που κυμάνθηκαν από 0 mg/L έως και 550 mg/L.

Η αναερόβια ιλύς που χρησιμοποιήθηκε για τον εμπλουτισμό προήλθε από εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων ζυθοποιίας και η συγκέντρωσή της στον αντιδραστήρα μετά τον εμβολιασμό ήταν 3.3 g/L. Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στον αντιδραστήρα ήταν 1.2 ημέρες, η θερμοκρασία 37° C, ενώ η απόδοση απομάκρυνσης αμμωνιακών, νιτρωδών και νιτρικών ήταν 46.5%, 98.9% και 85.1% αντίστοιχα.

Με τη χρήση της λάσπης του EGSB πραγματοποιήθηκαν λοιπόν πειράματα στα οποία η συγκέντρωση αμμωνίας στην εισροή ήταν σταθερά ίση με 172.8 mg/L και το COD προσαρμόστηκε σε 0 mg/L, 200 mg/L, 350 mg/L και 550 mg/L σε τέσσερις αντιδραστήρες, προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση κάθε συγκέντρωσης στην απόδοση της διεργασίας. Παρατηρήθηκε ότι οι διαφορετικές συγκεντρώσεις COD είχαν σημαντική επίδραση στην απομάκρυνση του NH_4^+ -N ιδιαίτερα στην αρχή της αντίδρασης και πιο συγκεκριμένα, όσο μικρότερη ήταν η συγκέντρωση του COD τόσο μεγαλύτερη ήταν η ποσότητα NH_4^+ -N που απομακρύνθηκε στο αρχικό στάδιο.

Το οργανικό φορτίο έχει βρεθεί ότι επηρεάζει την απόδοση της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, όμως τα ακριβή περιοριστικά επίπεδα παραμένουν ακόμα ανακριβή (Sabumon, 2007; Wang and Kang, 2005). Μάλιστα έχει βρεθεί ότι μια συγκέντρωση COD μεγαλύτερη από 300mg /L μπορεί να αδρανοποιήσει τις κοινότητες των anammox βακτηρίων σε UASB αντιδραστήρα στον οποίο χρησιμοποιούνταν ως πηγή οργανικής ύλης γάλα με λιπαρά (Chamchoi et al., 2008).

Η απομάκρυνση της αμμωνίας μέσω της διεργασίας anammox έχει αναπτυχθεί για την επεξεργασία διαφόρων ειδών υγρών αποβλήτων με χαμηλή συγκέντρωση οργανικής ύλης (λιγότερο από 1700 mg COD/L), όπως για παράδειγμα νερό από δευτεροβάθμια επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων σε βιοφίλτρο καθοδικής ροής (Li et al., 2005), λύματα με υψηλές συγκεντρώσεις οργανικών σε αντιδραστήρες διακοπτόμενου έργου(Jing-Ping et al., 2006) και στραγγίδια XYTA σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής (Liang and Liu, 2008). To 2009 οι Molinuevo et al. μελέτησαν την επίδραση του COD στη διεργασία anammox, χρησιμοποιώντας ημι – συνεχούς λειτουργίας (semi – continuous) UASB αντιδραστήρα στους 37°C. Στον αντιδραστήρα χρησιμοποιήθηκαν δύο ήδη λυμάτων από προεπεξεργασμένα λύματα εκροής από την χώνευση κοπριάς χοίρων.

Ο αντιδραστήρας εμβολιάστηκε με 40 ml κοκκώδη ιλύ (από εργοστάσιο πατάτας, Kruiningen, Κάτω Χώρες) και 40 ml anammox ιλύ (από το εργαστήριο της Μικροβιακής Οικολογίας, Πανεπιστήμιο της Γάνδης, Βέλγιο). Ο αντιδραστήρας λειτούργησε στους 37 °C με συνολικό όγκο 334 ml και όγκο υγρού 255 ml. Η ταχύτητα ροής ρυθμίστηκε 120 ml/d και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής ήταν 2,1 d.

Στην πρώτη περίπτωση λυμάτων χρησιμοποιήθηκε κοπριά χοίρων μετά από χώνευση σε αντιδραστήρα UASB, ενώ στη δεύτερη μετά από μερική οξείδωση. Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα πραγματοποιήθηκε με συνθετικό νερό και με την προσθήκη των δύο τύπων λυμάτων σε αναλογία 2%, 3% και 5% για την πρώτη περίπτωση λυμάτων και 5%, 7%, 10% και 12% για τον δεύτερο τύπο.

Η απομάκρυνση αμμωνιακών που παρατηρήθηκε, για τα λύματα μετά από χώνευση σε UASB αντιδραστήρα, και συγκεκριμένα για τα δείγματα 2% και 3% αναλογίας, ήταν πολύ υψηλή. Συγκεκριμένα για το 2% η απομάκρυνση αμμωνιακών ήταν 92 ± 4.9% και για το δείγμα 3% 80 ± 7.8%. Για την αναλογία 5% η απομάκρυνση αμμωνιακών μειώθηκε στο 0%. Για την περίπτωση των λυμάτων μετά από μερική οξείδωση έχουμε απομάκρυνση 98.5 ± 0.8% για το δείγμα με αναλογία 5%, 83% με 86% για το δείγμα με 7% και 10% αντίστοιχα και 0% απομάκρυνση για το δείγμα 12%. Συνεπώς, συμπεραίνουμε ότι με την προεπεξεργασία της μερικής οξείδωσης ευνοείται η διεργασία anammox.

Στη συνέχεια παρατίθενται δύο πίνακες με τα ποσοστά απομάκρυνσης των αμμωνιακών για τους δύο τύπους λυμάτων.

24

% (v/v) of	Effluent	% Ammonia removal ± SD*				
UASB-post- COD digested (mg L ⁻¹)	COD (mg L ⁻¹)	Anammox	Denitrification	Nitrification	Other	
effluent added to SW						
0	0	48.20 ± 9.09	2.98 ± 0.02	5.56 ± 1.04	39.84 ± 11.28	
2	95	19.98 ± 0.24	7.14 ± 0.21	3.18 ± 0.19	69.70 ± 0.64	
3	142	11.32 ± 1.29	6.32 ± 0.96	3.36 ± 0.62	79.22 ± 2.22	
5**	237	0.00	9.61	5.08	85.31	

Πίνακας 5.1: Συμβολή διαφορετικών μεθόδων για την απομάκρυνση της αμμωνίας από τα λύματα μετά από χώνευση σε UASB αντιδραστήρα, (Molinuevo et al.2009).

Πίνακας 5.2: Συμβολή διαφορετικών μεθόδων για την απομάκρυνση της αμμωνίας από τα λύματα μετά από μερική οξείδωση, , (Molinuevo et al.2009).

% (v/v) of	Effluent	t % Ammonia removal ± SD*			
partially oxidized	COD (mg L ⁻¹)	Anammox	Denitrification	Nitrification	Other
added to SW					
5	121	33.23 ± 1.23	13.42 ± 4.68	5.74 ± 0.48	47.61 ± 6.39
7	170	41.75 ± 3.35	14.84 ± 2.73	7.13 ± 0.69	36.28 ± 6.77
10	242	29.97 ± 1.07	9.31 ± 0.32	6.24 ± 0.11	54.47 ± 1.5
12**	290	0.00	22.52	13.63	63.85

Όπως παρατηρείται και από τους Πίνακες 5.1 και 5.2, το COD επηρέασε αρνητικά την διεργασία anammox. Συγκεκριμένα, οργανικά φορτία πάνω από 112 mg COD/ Ld για την πρώτη περίπτωση λυμάτων ανέστειλαν τη δραστηριότητα των βακτηρίων anammox, ενώ για τη δεύτερη περίπτωση λυμάτων οργανικό φορτίο πάνω από 136 mg COD/ Ld ανέστειλαν τη διεργασία anammox.

5.3 DO και Αλκαλικότητα

Εξαιτίας της περίπλοκης λειτουργίας αλλά και του υψηλού κόστους συντήρησης των εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, οι ερευνητές προσανατολίζονται προς τη χρησιμοποίηση ενός αντιδραστήρα, στον οποίο θα γίνεται η απομάκρυνση του COD, του αμμωνίου και των νιτρικών σε ένα στάδιο, όπου η απαίτηση σε οξυγόνο είναι χαμηλή ή μηδενική. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση οξυγόνου θα πρέπει να είναι μικρότερη από 0,06 mg O/ (mg N day), μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ευνοούν τη νιτροποίηση.

Εκτός από το DO, η αλκαλικότητα επηρεάζει την διαδικασία SBNR, καθώς, μια αναλογία κατανάλωσης αλκαλικότητας προς αμμωνία ίση με 7 ή περισσότερο θεωρείται ως ένδειξη νιτροποίησης.

Προκειμένου να επιτευχθεί ένα ενιαίο στάδιο βιολογικής απομάκρυνσης του αζώτου (SBNR), η δραστηριότητα των NOB (nitrite oxidizing bacteria) θα πρέπει να αναστέλλεται χωρίς να επηρεάζει τις δραστηριότητες των AOB (ammonium oxidizing bacteria) και των anammox βακτηρίων. Αυτές οι τρεις ομάδες μικροοργανισμών είναι στενά συνδεδεμένες εξαιτίας των κοινών δοτών και δεκτών ηλεκτρονίων. Πολλοί ερευνητές ανέφεραν ότι με τον έλεγχο της συγκέντρωσης DOκαι νιτρωδών, μπορεί να επιτευχθεί μερικός έλεγχος της δραστηριότητας των NOB (Gong et al., 2007: Bagchi et al., 2009: Paredes et al., 2007: Third et al. 2001: Vlaeminck et al., 2009).

Τα NOB ανταγωνίζονται με τα AOB και τα anammox βακτήρια για το DO και τα νιτρώδη αντίστοιχα. Στην περίπτωση απουσίας νιτρωδών σε υγρά απόβλητα, τα NOB εξαρτώνται άμεσα από τα AOB ως δότη ηλεκτρονίων. Με τον περιορισμό της συγκέντρωσης DO, τα AOB καταναλώνουν το διαθέσιμο DO για την παραγωγή νιτρωδών. Ως εκ τούτου, υπό αυτές τις συνθήκες, τα NOB έχουν να αντιμετωπίσουν δύο περιορισμούς, αρχικά εξαιτίας του δότη ηλεκτρονίων (νιτρώδη) και αργότερα από το δείκτη ηλεκτρονίων (οξυγόνο) (Baghi et al.,2010). Ομοίως, και οι τρεις ομάδες chemolithotrophic μικροοργανισμών απαιτούν ανόργανη πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη των κυττάρων τους (Kuai et al. 1998). Με τον έλεγχο της όξινης ανθρακικής αλκαλικότητας, η διαδικασία της εξάλειψης των NOB μπορεί να τελειοποιηθεί από ένα «μηχανισμό ελέγχου τριών τρόπων».

Σκοπός της έρευνας ήταν να διερευνηθεί η σκοπιμότητα της διενέργειας της διαδικασίας SBNR σε εργαστηριακή κλίμακα σε σύστημα βιοαντιδραστήρα fixed film και να εκτιμηθεί επίδραση της αλκαλικότητας στη SBNR διαδικασία σε συνδυασμό με τον περιορισμό του DO.

Κατά τη διάρκεια της νιτροποίησης, 7,14 g αλκαλικότητας καταναλώνονται για κάθε γραμμάριο N που οξειδώνεται (Li B and Irvin S, 2007). Ως εκ τούτου, μια αναλογία κατανάλωσης αλκαλικότητας προς αμμωνία ίση με 7 ή περισσότερο θεωρείται ως ένδειξη νιτροποίησης, το οποίο δεν είναι επιθυμητό για

τη διαδικασία SBNR. Η μέγιστη απομάκρυνση αμμωνίας 117,3 mg NH₄-N/L, εμφανίστηκε όταν η αναλογία αλκαλικότητας προς αμμωνία στην εισροή ήταν 3,4. Στην παρούσα μελέτη, προκειμένου να περιοριστεί η νιτροποίηση, εξωτερική προσθήκη αερισμού δεν προβλέπεται. Το διαλυμένο οξυγόνο της εισροής, ήταν 4 έως 4,5 mg/L , και ήταν η μόνη πηγή οξυγόνου στο σύστημα του αντιδραστήρα. Όσον αφορά τη στοιχειομετρία της νιτροποίησης, για την οξείδωση 1 mg NH₃-N σε NO₃-N, απαιτούνται 4,56 mg οξυγόνου (Paredes et al. 2007). Κατά την απουσία εξωτερικού αερισμού, δεν ήταν διαθέσιμη μια σταθερή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου. Ως εκ τούτου, μόνο 4,0 - 4,5 mg DO ήταν διαθέσιμο στην τροφοδοσία για την οξείδωση των 29-200 mg NH₃-N, δεδομένου ότι η συγκέντρωση της αμμωνίας στην τροφοδοσία καθώς και το φορτίο του DO ανά μονάδα συγκέντρωσης της αμμωνίας ποικίλουν.

Τα δεδομένα της απόδοσης έδειξαν ότι η φόρτιση DO σε συγκεντρώσεις άνω των 0,06 mg O/ (mg N day) ευνοούν την νιτροποίηση. Ως εκ τούτου, η συγκέντρωση DO μικρότερη από 0,06 mg O/ (mg N day) στον αντιδραστήρα είναι επιθυμητή για τη διαδικασία SBNR.

Κατά τη μέθοδο CANON (κεφάλαιο 6.2), έχει αναφερθεί ότι η κατανάλωση DO κυμαίνεται από 0,21 έως 0,36 mg O / mg N (Ahn YH and Choi HC, 2006).

5.4 pH – αμμωνία

Οι Tang et al. (2009) μελέτησαν την επίδραση του pH καθώς και της συγκέντρωσης της αμμωνίας στη διεργασία anammox. Κατά τη διεργασία anammox παρατηρείται μία αύξηση της τιμής του pH, η οποία συνοδεύεται από μία αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας. Επίσης, η αύξηση της συγκέντρωσης της αμμωνίας συνοδεύεται από αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας. Όμως, μεγάλες συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας έχουν τοξική δράση για τους μικροοργανισμούς και συνεπώς για τη διεργασία anammox.

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε αναερόβια ιλύς που περιείχε γένη της τάξης Planctomycete τα οποία είχαν χρησιμοποιηθεί και στο παρελθόν για την έναρξη της διεργασίας anammox (Strous et al., 1997: Schmidt et al., 2004: Pynaert et al., 2004: Yang et al., 2007: Imajo et al., 2004: Jianlong and Jing, 2005). Χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήρας τύπου upflow biofilm reactor (UBF), με εσωτερική διάμετρο 50 mm, ύψος 750 mm και όγκο 1.1 L. Ο αντιδραστήρας καλυπτόταν με

μαύρο πανί για την αποφυγή επίδρασης του φωτός και λειτουργούσε σε θερμοκρασία 35±1°C. Το pH εισόδου ελέγχονταν ώστε να διατηρηθεί στο εύρος 6.8-7.0 και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής ρυθμίστηκε στις 9.1 h. Κατά την εκκίνηση το pH της εισροής ρυθμίστηκε αυστηρά στο 6.8.

Κατά τη διάρκεια των ημερών όπου δεν είχε ξεκινήσει η διεργασία anammox το pH των υγρών ήταν από 7.8 έως 8.3, το οποίο θα μπορούσε να οφείλεται στην απονιτροποίηση. Στη συνέχεια, όταν η διεργασία anammox έλαβε χώρα το pH των λυμάτων αυξήθηκε. Το pH των λυμάτων στον βιοαντιδραστήρα αυξανόταν με την αύξηση του φορτίου του αζώτου και το ποσοστό απομάκρυνσης του αζώτου.

Το φαινόμενο της σημαντικής αύξησης του pH στην εκροή των βιοαντιδραστήρων anammox αναφέρθηκε επίσης και από τους Liu et al. (2008). Οι Szatkowska et al. (2007) υποστήριξαν ότι το pH στη διαδικασία anammox μπορεί να αυξηθεί μέχρι ένα ορισμένο σημείο και αυτό οφείλεται στην κυτταρική σύνθεση. Ωστόσο, οι Strous et al. (1998) ανέφεραν ότι η αύξηση του pH, σε έναν αντιδραστήρα SBR δεν ήταν μεγάλη.

Οι Chamchoi και Nitisoravut το 2007 έδειξαν ότι οι τιμές του pH στην εκροή ήταν πάντα στην περιοχή από 7.7 έως 8.4, οι οποίες ήταν κάπως χαμηλότερες από ότι στην εισροή.

Υπάρχουν αρκετοί λόγοι οι οποίοι θα μπορούσαν να εξηγήσουν την αύξηση του pH των λυμάτων σε ένα βιοαντιδραστήρα anammox. Πρώτον, λαμβάνοντας υπόψη την στοιχειομετρία της αντίδρασης anammox, 0,13 mol H⁺ καταναλώνονται όταν μετατρέπεται 1 mol αμμωνιακών.

Οι Van de Graaf et al. (1996) προέβλεψαν ότι 0,09 mol OH⁻ παράγονται όταν 1 mol αμμωνιακών καταναλώνεται. Η κατανάλωση οξέων οδηγεί στην αύξηση του pH κατά τη διεργασία anammox (Liu et al., 2008). Η γραμμική σχέση μεταξύ του pH της εκροής και του ποσοστού απομάκρυνσης του αζώτου (Σχήμα 5.2) υποδεικνύει σαφώς ότι αυτή η λειτουργία μπορεί να είναι ο κύριος λόγος για την αύξηση του pH στη διεργασία anammox.



Σχήμα 5.2: Σχέση μεταξύ του pH και του ρυθμού απομάκρυνσης αζώτου, (Tang et al., 2009).

Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η αύξηση του pH καθώς και της συγκέντρωσης της αμμωνίας συγχρόνως συνοδεύεται από μία υψηλή συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας (Ganigue et al., 2007), σύμφωνα και με την παρακάτω εξίσωση:

$$FA(mgL^{-1}) = \frac{17}{14} x \frac{\sum NH_{4}^{+} - N(mgL^{-1})x10^{3}}{\binom{k_{b}}{k_{w}} + 10^{pH}}$$
(\$\varepsilon\$.5.1)

όπου $k_b/k_w = e^{6344/(273+T(^oC))}$

Η ελεύθερη αμμωνία έχει τοξική δράση στις αναβολικές και καταβολικές διεργασίες των μικροοργανισμών (Vadivelu et al., 2006). Οι Waki et al. το 2007 έδειξαν ότι η ελεύθερη αμμωνία σε συγκεντρώσεις 13-90 mg/L θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την επίδοση της διεργασίας anammox. Ο ρυθμός απομάκρυνσης αζώτου ήταν χαμηλότερος από το μισό του αντίστοιχου ρυθμού ενός αντιδραστήρα με ελεγχόμενη συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας, όπου η τιμή της δεν υπερέβη τα 21mg/L.
5.5 Αλατότητα

To 2007 οι Dapena – Mora et al. μελέτησαν την επίδραση διάφορων αλάτων στην επίδραση της διεργασίας anammox. Συγκεκριμένα μελέτησαν την επίδραση του NaCl, KCl και Na₂SO₄ σε διάφορες συγκεντρώσεις.

Η επίδραση της συγκέντρωσης διαφόρων αλάτων στην ειδική ενεργότητα anammox (SAA) παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.3. Συγκεντρώσεις NaCl κάτω από 150 mM δεν επηρέασαν τη δραστηριότητα anammox, ενώ για συγκεντρώσεις KCl και Na₂SO₄ μεγαλύτερες από 100 και 50 mm αντίστοιχα εμφανίστηκαν επιπτώσεις. Σύμφωνα με τους ερευνητές υπεύθυνα για τον περιορισμό της δραστηριότητας των βακτηρίων anammox είναι τα ιόντα νατρίου που περιέχονται στο NaCl και στο Na₂SO₄.



Σχήμα 5.3: Επίδραση των KCl (•), NaCl (•) and Na₂SO₄ (\Box) στη μέγιστη %SAA (specific Anammox activity), (Dapena- Mora et al. 2007).

Τα αποτελέσματα αυτά είναι παρόμοια με εκείνα των van de Graaf et al. (1996), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι δεν υπάρχει επίδραση από το KCl στη δραστηριότητα των βακτηρίων anammox για συγκεντρώσεις 50 mM. Η μείωση της δραστηριότητας κατά την παρουσία αλάτων μπορεί να οφείλεται σε αύξηση της οσμωτικής πίεσης στο μέσο που περιβάλλει τα κύτταρα και επηρεάζει το σύστημα μεταφοράς διαμέσου της μεμβράνης.

Η ανθεκτικότητα της βιομάζας anammox που παρατηρήθηκε σε αυτές τις δοκιμασίας και λαμβάνοντας υπόψη ότι αυτοί οι μικροοργανισμοί έχουν βρεθεί σε διάφορα

θαλάσσια περιβάλλοντα (Arrigo et al.,2005), οδηγεί στην πρόβλεψη της καταλληλότητας της διαδικασίας για εφαρμογές σε εκροές με υψηλή αλατότητα.

5.6 Ανόργανος άνθρακας

Έχει παρατηρηθεί ότι η προσθήκη ανόργανου άνθρακα και κυρίως με τη μορφή δισανθρακικών έχουν θετικές επιπτώσεις στη διεργασία anammox., με βέλτιστη συγκέντρωση εισροής δισανθρακικών γύρω στο 1,5 g / L.

Οι Liao et al. (2008) ερεύνησαν την επίδραση της προσθήκης ανόργανου άνθρακα στη διεργασία anammox σε αντιδραστήρα SBR. Πειραματίστηκαν με προσθήκη δισανθρακικού νατρίου, σε συγκεντρώσεις 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, και 2.0 g NaHCO₃/L σε διάρκεια 20 d. Οι συγκεντρώσεις NH_4^+ -N και NO_2^- -N της εισροής παρέμειναν σταθερές κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος και ίσες με 80 ± 10 mg/L.

Η συμπεριφορά της διεργασίας anammox ήταν διαφορετική για τις διαφορετικές εισροές δισανρθακικού. Οι μεταβολές του αμμωνίου, των νιτρωδών, των νιτρικών, καθώς και του pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα για τις διαφορετικές τιμές δισανθρακικού φαίνονται στο Σχήμα 5.4.



Σχήμα 5.4: Προφίλ συγκεντρώσεων των ενώσεων αζώτου και του pH του αντιδραστήρα στις διαφορετικές εισροές δισανθρακικών: (a) 1.0 g/L; (b) 1.5 g/L; (c) 1.75 g/L; (d) 2.0 g/L, (Liao et al. 2008).



Σχήμα 5.5: Ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακών και νιτρικών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις δισανθρακικών, (Liao et al. 2008).

To $\Sigma \chi \eta \mu a$ 5.5 δείχνει τα ποσοστά αφαίρεσης αμμωνιακών και νιτρωδών για τις διάφορες συγκεντρώσεις εισροής δισανθρακικών. Ο ρυθμός απομάκρυνσης των αμμωνιακών έφτασε στην υψηλότερη τιμή του 29,1 mg NH₄⁺/(L•d) σε συγκέντρωση 1,5 g/L δισανθρακικού, αλλά μειώθηκε σε 12,3 mg NH₄⁺/(L•d) σε συγκέντρωση 2,0 g/L . ο ρυθμός απομάκρυνσης των νιτρωδών αυξήθηκε από 15,9 σε 37,3 mg NO₂⁻/(L•d) όταν το δισανθρακικό αυξήθηκε από 1,0 σε 1,5 g/L και μειώθηκε απότομα σε 9,5 mg NO₂⁻/(L•d) σε συγκέντρωση δισανθρακικών 2,0 g/L. Όταν η συγκέντρωση των δισανθρακικών μειώθηκε σε 1,0 g/L, η δραστηριότητα anammox αποκαταστάθηκε και ο ρυθμός απομάκρυνσης τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών αυξήθηκε και έφτασε στο 18,7 mg NH₄⁺/(L•d) και 18,3 mg NO₂⁻/(L•d), αντίστοιχα. Η βέλτιστη συγκέντρωση εισροής δισανθρακικών ήταν 1,5 g/L, και το συνολικό ποσοστό αφαίρεσης αζώτου ήταν 66,4 mgN / (L•d).

Οι Yang et al. (2010) μελέτησαν την απομάκρυνση του αζώτου σε υψηλό ποσοστό με την αναερόβια οξείδωση του αμμωνίου (anammox) με την προσθήκη επαρκούς ποσότητας ανόργανου άνθρακα (IC). Τα πειράματα διεξήχθησαν σε up- flow anammox αντιδραστήρα για 110 ημέρες. Ο ανόργανος άνθρακας προστέθηκε στην εισροή με τη μορφή δισανθρακικού. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τις θετικές επιπτώσεις του ανόργανου άνθρακα στην διεργασία anammox. Μετά την προσθήκη επαρκούς ποσότητας δισανθρακικών, ο ρυθμός απομάκρυνσης του αζώτου αυξήθηκε απότομα από 5,2 σε 11,8 kg-N m⁻³ day⁻¹ μέσα σε μόλις 32 ημέρες. Αναστολή δεν παρατηρήθηκε ακόμη και σε συγκεντρώσεις NO₂-N μεγαλύτερες από 460 mgN / L. Η αναλογία απομάκρυνσης NO₂-N, παραγωγής NO₃-N και απομάκρυνσης NH₄-N άλλαξε αντίστοιχα από 1.21:0.21:1 σε 1.24:0.18:1.

32

5.7 Σουλφοναμίδια (Sulphonamides)

Τα λύματα μπορεί να περιέχουν πολλές διαφορετικές χημικές ουσίες, οι οποίες μπορεί να εμποδίζουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών και να προκαλούν διάφορα προβλήματα κατά τη διάρκεια της βιολογικής επεξεργασίας. Αυτές οι επιβλαβείς ουσίες, ανάλογα με τις φυσικές και χημικές ιδιότητες τους, μπορεί να μην είναι άμεσα βιοαποικοδομήσιμες και να παραμένουν τοξικές κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας επεξεργασίας των λυμάτων (Schalk *et al.*, 1998; Halling-Sørensen *et al.*, 2000). Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων είναι διάφορα φαρμακευτικά προϊόντα, όπως τα σουλφοναμίδια, τα οποία χρησιμοποιούνται στη θεραπεία ανθρώπων και στην κτηνοτροφία. Τα σουλφοναμίδια εισέρχονται στο περιβάλλον ως εκροή από φαρμακευτικές βιομηχανίες, εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, καθώς και από εκτροφεία ψαριών και κτηνοτροφία. Οι ενώσεις αυτές δεν μπορούν εύκολα να βιοδιασπαστούν και εμφανίζουν μικρή δυνατότητα προσρόφησης τόσο στο έδαφος όσο και στην ενεργό ιλύς (Ingerslev and Halling–Sørensen, 2000; Huang *et al.*, 2001).

Η αφαίρεσή τους κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των λυμάτων, ακόμη και στις σύγχρονες εγκαταστάσεις επεξεργασίας δεν είναι επαρκής και οι εκροές εξακολουθούν να περιέχουν αυτές τις ενώσεις. Τα βακτήρια anammox είναι πολύ ευαίσθητα κάθε είδους τοξικό ρύπο, ωστόσο, μέχρι πρόσφατα δεν σε υπήργαν αναφορές για την επίδραση των σουλφοναμιδίων (που περιέχονται σε υγρά απόβλητα) στην διεργασία anammox. Έτσι, οι Makush et al. (2012) ερεύνησαν με ποιο τρόπο διάφορα σουλφοναμίδια επηρεάζουν τη διεργασία anammox κατά τη μακροχρόνια έκθεση (90ημέρες) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις τους και κατά πόσο θα ήταν δυνατή η προσαρμογή των anammox βακτηρίων στην παρουσία των σουλφοναμιδίων σε υγρά απόβλητα με υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών ιόντων. Στην έρευνα τους χρησιμοποίησαν οι αντιβιοτικές ουσίες sulphanilamide (SA) και sulphacetamide (SCM), που χρησιμοποιούνται στην ιατρική και στην κτηνιατρική, καθώς και το ptoluenesulphonamide (p-TSA) που είναι ένα προϊόν μεταβολισμού του Chloramine T, που χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό κατά των βακτηρίων, των ιών και των μυκήτων.

Για να διερευνηθεί η επίδραση των σουλφοναμίδων στη διαδικασία anammox πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε αντιδραστήρα batch, για διαφορετικές

33

συγκεντρώσεις : 0, 10, 20, 40, 80, 100 και 1000 mg/l. Οι παράμετροι: DO, pH, θερμοκρασία παρέμειναν σταθερές και στο βέλτιστο επίπεδο(DO ~ 0,15 mg /dm3, pH 7,8 - 8,3 και θερμοκρασία 29- 32 °C).

Στα συμπεράσματα τους ανέφεραν ότι η διαδικασία anammox παρέμεινε σταθερή σε αντιδραστήρες με p- TSA σε όλη τη διάρκεια της περιόδου των 90 ημερών, ενώ στους αντιδραστήρες με SCM η διεργασία anammox ήταν ελαφρώς διαταραγμένη, ιδίως σε συγκέντρωση 1000 mg /L. Πιθανώς, στη συγκέντρωση 1000 mg SCM/L η διαδικασία anammox να συνοδεύτηκε από τη διαδικασία της νιτροποίησης Παρόμοια συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν και κατά τη διαδικασία anammox με SA (Makuch et. Al, 2007).

Κεφάλαιο 6: Anammox και εναλλακτικές διεργασίες για την απομάκρυνση αζώτου.

Η εφαρμογή της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντική μείωση του λειτουργικού κόστους. Σε σύγκριση με τα συμβατικά συστήματα νιτροποίησης – απονιτροποίησης, η χρήση της διεργασίας anammox επιτρέπει τη μείωση του απαιτούμενου οξυγόνου σχεδόν κατά το ήμισυ, δεδομένου ότι μόνο το 50% της αμμωνίας οξειδώνεται σε νιτρώδη, αντί της πλήρους οξείδωσης σε νιτρικά. Επιπλέον, δεδομένου ότι το anammox αποτελεί μία αυτότροφη διεργασία, δεν απαιτείται προσθήκη μεθανόλης ως πηγή άνθρακα. Επιπροσθέτως, σημαντικό πλεονέκτημα της εφαρμογής του anammox αποτελεί η αποφυγή της παραγωγής CO₂ κατά το στάδιο της απονιτροποίησης, του εναντίον ατμοσφαιρικό CO₂ καταναλώνεται από τα anammox βακτήρια (Paredes et al., 2007). Ως εκ τούτου, το κόστος και οι εκπομπές CO₂ μειώνονται κατά 60% και 90%, αντίστοιχα (Fux, 2003; Camp *et al.*, 2007; Kartal *et al.*, 2007).

Κατά κύριο λόγο, η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας απευθύνεται σε υγρά λύματα με υψηλά φορτία αμμωνίας και χαμηλά επίπεδα οργανικής ύλης. Έχει εφαρμοστεί κατά καιρούς σε διαφορετικούς τύπους υγρών αποβλήτων, πλούσια σε αμμωνιακά, όπως λύματα από χοιροστάσια, βυρσοδεψία, στραγγίσματα από ΧΥΤΑ, λύματα από χώνευση ιλύος. Αρκετά είδη αντιδραστήρων μεγάλης παραμονής βιομάζας έχουν εξεταστεί σε εργαστηριακή κλίμακα, συμπεριλαμβανομένων των sequencing batch reactors (SBR), air/gas lift reactors, fixed bed reactors, rotating biological contactors, and upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. Παράλληλες έρευνες που διεξήχθησαν από ερευνητικές ομάδες σε διάφορες χώρες οδήγησαν στη διαφορετική ονομασία των διεργασιών, όπου η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας αποτελεί την κύρια μέθοδο απομάκρυνσης του αζώτου (Πίνακας 6.1). Η κατάσταση αυτή οδήγησε σε μία σύγχυση στη βιβλιογραφία, την οποία προσπάθησαν να αποσαφηνίσουν οι Van der Star *et al.* (2007), χρησιμοποιώντας τους ακόλουθους περιγραφικούς όρους:

- Νιτροδωποίηση Anammox σε Σύστημα δύο αντιδραστήρων
- Νιτροδωποίηση Anammox σε Σύστημα ενός αντιδραστήρα
- Απονιτροποίηση Anammox σε Σύστημα ενός αντιδραστήρα

Πίνακας	6.1:	Συστήματα	απομάκρυνσης	του	αζώτου	που	περιλαμβάνουν	τη	διεργασία
Anammox	2								

Ονομασία Διεργασίας	Αριθμός	Πηγή νιτρικών	Εναλλακτικές
	αντιδραστή-		ονομασίες Διεργασιών
	ρων		
Νιτροδωποίηση –	2	NH4 ⁺	SHARON-anammox
Anammox σε Σύστημα		Νιτρωδοποίησ	• OLAND σε 2 στάδια
δύο αντιδραστήρων		η	 Αποαμμωνιοποίηση σε
			2 στάδια
Νιτροδωποίηση –	1	NH4 ⁺	 Αερόβια
Anammox σε Σύστημα		Νιτρωδοποίησ	αποαμμωνιοποίηση
ενός αντιδραστήρα		η	• OLAND
			• CANON
			 Αερόβια/ανοξική
			αποαμμωνιοποίη σ η
			• SNAP
			• DEMON
			• DIB
Απονιτροποίηση –	1	NO ₃ -	• DEMON
Anammox σε Σύστημα		Απονιτροποίη	• denanammox
ενός αντιδραστήρα		ση	• anammox

Sharon (Single reactor system for High Ammonium Removal Over Nitrite), Canon (Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite), Oland (Oxygen- Limited Autotrophic Nitrification – Denitrification), Snap (Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial Nitritation), Demon (Deamonification), Dib (Deammonification in Internal-aerated Biofilm system), Denammox (DENitrification-anAMMOX process)

6.1 Νιτροδωποίηση – anammox σε συστήματα δύο αντιδραστήρων.

Ο συνδυασμός των διεργασιών της μερικής νιτροδωποίησης και της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας επιτυγχάνεται σε δύο στάδια. Αρχικά, στο στάδιο της νιτροδωποίησης, τα αμμωνιακά οξειδώνονται μερικώς σε νιτρώδη. Στη συνέχεια, στο στάδιο της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, τα νιτρώδη αντιδρούν με τα αμμωνιακά που έχουν απομείνει. Η μετατροπή των αμμωνιακών σε νιτρώδη διεξάγεται από αερόβια οξειδωτικά βακτήρια (AOB). Στο πρώτο στάδιο, θα πρέπει να αποφευχθεί η ολική νιτροποίηση καθώς η εκροή, η οποία και θα τροφοδοτήσει στη συνέχεια τη δεύτερη μονάδα, θα πρέπει να περιέχει 50% αμμωνία και 50% νιτρώδη. Προκειμένου να διατηρηθεί ο πληθυσμός των βακτηρίων AOB σε ένα ορισμένο επίπεδο και να αποφευχθεί η περαιτέρω οξείδωση των νιτρωδών σε νιτρικά, εφαρμόζονται διάφορες μέθοδοι, οι οποίες περιλαμβάνουν τον έλεγχο της θερμοκρασίας, του υδραυλικού χρόνου παραμονής, της αλκαλικότητας, του pH, της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στον αντιδραστήρα, καθώς επίσης και της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας (Paredes *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007). Στο Σχήμα 6.1 απεικονίζεται ο συνδυασμός των διεργασιών της μερικής νιτροδωποίησης και της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας σε δύο αντιδραστήρες σε σειρά.

To 2001, οι Van Dongen *et al.*, έδειξαν ότι η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας μπορεί να συνδυαστεί επιτυχώς με τη μέθοδο SHARON (Single reactor system for High Ammonium Removal Over Nitrite), δημιουργώντας έτσι ένα σύστημα δύο σταδίων για την διαχείριση λυμάτων από χώνευση ιλύος. Η μέθοδος SHARON (Single reactor system for High Ammonium Removal Over Nitrite) σχεδιάστηκε για την μείωση των υψηλών φορτίων αζώτου της εισροής (1 g NH₄ N / L) σε μια μονάδα επεξεργασίας λυμάτων περισσότερο, παρά για την επίτευξη των επιθυμητών επιπέδων αζώτου στην εκροή. Οι συνθήκες που επικρατούν στον αντιδραστήρα ευνοούν τα οξειδωτικά βακτήρια του αμμωνίου με την έκπλυση των οξειδωτικών βακτηρίων των νιτρωδών μέσω του μικρού χρόνου παραμονής (περίπου 1 ημέρα) και της θερμοκρασίας πάνω από 30° C (Van Dongen et al., 2001a). Με αυτόν τον τρόπο στον αντιδραστήρα SHARON επιτυγχάνεται η μετατροπή του 50% του αμμωνίου σε νιτρώδη και στη συνέχεια στον αντιδραστήρα anammox η πλήρης απομάκρυνση του αζώτου.

Σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο νιτροποίησης απονιτροποίησης η απαίτηση σε οξυγόνο μειώνεται κατά 25% και ανέρχεται σε 3.43g O₂/g N. Αντίστοιχα η εισαγωγή οργανικού υλικού μειώνεται κατά 40%, το οποίο ισοδυναμεί με 2.4 g COD/ g N (Mulder et al., 2001 και Hellinga et al., 1998). Η παραγωγή ιλύος είναι επίσης μικρότερη.





6.2 Νιτροδωποίηση – anammox σε σύστημα ενός αντιδραστήρα.

Η ικανότητα των βακτηριδιακών πληθυσμών να δημιουργούν βιοφίλμ ενισχύει την αποτελεσματικότητα της βιολογικής διαχείρισης των υγρών αποβλήτων. Επιπλέον, το γεγονός ότι τα βακτήρια anammox και nitrosomonas έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται στο ίδιο στρώμα βιοφίλμ κατέστησε δυνατό το σχεδιασμό ενός συστήματος ενός σταδίου για την απομάκρυνση του αζώτου. Η ταυτόχρονη δράση των διεργασιών της νιτροδωποίησης και της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας μπορεί να οδηγήσει σε μία πλήρης αυτότροφη απομάκρυνση του αζώτου σε έναν μόνο αντιδραστήρα. Σε μία διεργασία ενός σταδίου, τα βακτήρια που οξειδώνουν τα αμμωνιακά, τα οποία δρουν στο εξωτερικό στρώμα του βιοφίλμ μπορούν να συνυπάρξουν με τους οργανισμούς anammox, οι οποίοι δρουν στο εσωτερικό στρώμα Mε βιοφίλμ. τον τρόπο αυτό, το οξυγόνο που αναστέλλει του τη διεργασία του anammox καταναλώνεται στο εξωτερικό στρώμα του βιοφίλμ, συνεπώς τα βακτήρια anammox δεν έρχονται σε επαφή με αυτό. Στο Σχήμα 6.2 απεικονίζεται ο συνδυασμός των διεργασιών της μερικής νιτροδωποίησης και της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας σε έναν αντιδραστήρα.

Η ταυτόχρονη νιτροδωποίηση και αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας έχει παρατηρηθεί και μελετηθεί σε διάφορους τύπους αντιδραστήρων και υπό διαφορετικές συνθήκες. Έχει αποδειχθεί ότι ο ρυθμός παραγωγής νιτρικών αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για τη διεργασία anammox σε σύστημα ενός αντιδραστήρα (Szatkowska *et al.*, 2007). Επίσης, ο διακοπτόμενος αερισμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξασφάλιση μίας κατάλληλης αναλογίας αερόβιων και αναερόβιων συνθηκών στο βιοφίλμ.

Η μέθοδος CANON (Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite) επιτρέπει το συνδυασμό νιτροποιητικών πληθυσμών και των βακτηρίων anammox σε σύστημα ενός αντιδραστήρα και έχει διερευνηθεί ως εναλλακτική λύση για την επεξεργασία λυμάτων, φτωχών σε υπόστρωμα οργανικού άνθρακα (Third, 2003). Οι κατάλληλες συγκεντρώσεις αμμωνίου και DO (διαλυμένου οξυγόνου) επιτρέπουν την κατανάλωση του οξυγόνου από τα αερόβια βακτήρια που οξειδώνουν τα αμμωνιακά (AOB), στο βαθμό τον οποίο η συγκέντρωση του DO δεν υπερβαίνει το όριο τοξικότητας για τα βακτήρια anammox. Συνθήκες οξυγόνου κάτω από 0,5 mg/Lτου κορεσμένου αέρα θεωρούνται κατάλληλες για τη σταθερή αλληλεπίδραση μεταξύ των αερόβιων μικροοργανισμών nitrosomonas και των αναερόβιων βακτηρίων Planctomycete (Sliekers *et al.*, 2002; Ahn, 2006). Οι περιορισμένες αερόβιες συνθήκες που απαιτούνται για τη μέθοδο CANON μπορούν να επιτευχθούν με διάφορους αντιδραστήρες, όπως SBR και gas-lift (Dapena-Mora *et al.*, 2004).



Σχήμα 6.2: Σχηματική απεικόνιση Νιτροδωποίησης-Anammox σε σύστημα ενός αντιδραστήρα

Δημοσιεύσεις που αφορούσαν στην ανεξήγητη απώλεια αζώτου κατά την απονιτροποίηση σε μεγάλης κλίμακας αντιδραστήρες με βιοφίλμ, οδήγησαν κάποιους ερευνητές στην ανάπτυξη της μεθόδου OLAND (Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification). Κατά τη μέθοδο αυτή τα βακτήρια οξείδωσης της αμμωνίας είναι σε θέση να οξειδώσουν το αμμώνιο σε αέριο άζωτο, σε έναν αντιδραστήρα, υπό αναερόβιες συνθήκες (Kuai and Verstraete, 1980: Verstraete and Philips, 1998: Pynaert et al., 2002). Τα είδη *Nitrosomonas* μπορούν να χρησιμοποιήσουν, ελλείψει δέκτη ηλεκτρονίου, τα νιτρώδη που παράγονται. Η μέθοδος αυτή δεν εμφανίζει πολυπλοκότητα στη εφαρμογή της ωστόσο η απόδοσή της δεν θεωρείται επαρκής.

6.3 Απονιτροποίηση – anammox σε σύστημα ενός αντιδραστήρα.

Πρόσφατα, μία νέα διαδικασία έχει αναπτυχθεί, η οποία αφορά στο συνδυασμό της αναερόβιας οξείδωσης του αμμωνίου και της απονιτροποίησης, με τη χρήση του υδρόθειου ως δότη ηλεκτρονίου για την παραγωγή νιτρικών από νιτρώδη εντός αναερόβιου βιοφίλμ (Kalyuzhnyi *et al.*, 2006). Το κύριο διάγραμμα ροής αυτής της διεργασίας για τη διαχείριση λυμάτων παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.3.

Στο πρώτο στάδιο αυτής της διεργασίας, λαμβάνει χώρα η ανοργανοποίηση του οργανικού αζώτου. Στη συνέχεια, τα λύματα από τον εν λόγω αντιδραστήρα (πλούσια σε αμμωνία και θειούχα) τροφοδοτούν εν μέρει τον αντιδραστήρα νιτροποίησης, για την παραγωγή κυρίως νιτρικών, και τα υπόλοιπα εισέρχονται απ' ευθείας στον αντιδραστήρα DEAMMOX. Στον τελικό αντιδραστήρα DEAMMOX, και οι δύο ροές αναμιγνύονται για την παραγωγή νιτρικών κυρίως από νιτρώδη, χρησιμοποιώντας το υδρόθειο ως δότη ηλεκτρονίου και για τη διαδικασία anammox (Kalyuzhnyi *et al.*, 2006; Szatkowska, 2007).



Σχήμα 6.3: Διάγραμμα ροής συστήματος DEAMMOX (Kalyuzhnyi et al., 2006).

6.4 Ποιοτική και ποσοτική σύγκριση μεταξύ των τεχνολογιών απομάκρυνσης αζώτου

Είναι εμφανές λοιπόν ότι με την πρόοδο της τεχνολογίας ολοένα και περισσότερες επιλογές είναι διαθέσιμες όσον αφορά γενικότερα στην επεξεργασία των υγρών αποβλήτων και πιο συγκεκριμένα στην αφαίρεση του αζώτου από αυτά. Επομένως, ανάλογα με το είδος του λύματος και τα χαρακτηριστικά του αλλά και πολλούς

άλλους παράγοντες που καταγράφονται παρακάτω θα μπορούσε κάποιος να συγκρίνει τις διαφορετικές τεχνολογίες και να καταλήξει στη βέλτιστη για κάθε περίπτωση.

Βασικό χαρακτηριστικό που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι ο τύπος του λύματος και τα χαρακτηριστικά του. Όπως φαίνεται και στον πίνακα 6.4, τα λύματα με υψηλές συγκεντρώσεις σε αμμωνιακά ιόντα δεν θεωρούνται κατάλληλα για την συμβατική μέθοδο νιτροποίησης-απονιτροποίησης. Ωστόσο, οι εναλλακτικές μέθοδοι επεξεργασίας και βέβαια η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας φαίνεται να ανταποκρίνονται με μεγάλη επιτυχία στις απαιτήσεις που παρουσιάζει η υψηλή συγκέντρωση αμμωνιακών. Παρόλα αυτά, δεν είναι γνωστά τα αποτελέσματα της διεργασίας για υγρά απόβλητα με χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών, καθώς δεν έχει δοκιμαστεί επαρκώς. Σημαντική είναι και η υπεροχή της σε σχέση με τις άλλες τεχνολογίες όσον αφορά στους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η κατανάλωση ενέργειας και πόρων, η παραγωγή ρύπων / αερίων του θερμοκηπίου, η απαίτηση χώρου, η παραγωγή λάσπης και γενικότερα οι επιπτώσεις στο περιβάλλον.

Ωστόσο, τομείς στους οποίους φαίνεται να υστερεί η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας είναι η αξιοπιστία και η αποδοχή από το κοινό γεγονός που θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως αναμενόμενο εξαιτίας της πρόσφατης εμφάνισής της και της ελλιπούς εφαρμογής της συγκριτικά με την παραδοσιακή πλέον τεχνολογία της νιτροποίησης-απονιτροποίησης. Αντίθετα, οι ερευνητές και οι επιστήμονες φαίνεται να αποδέχονται πλήρως την διεργασία αυτή.

Τέλος, από άποψη κόστους, σε πρώτη φάση η τεχνολογία αυτή συνδυασμένη με την μερική νιτρωδοποίηση φαίνεται να αποτελεί μια αρκετά πιο οικονομική επιλογή (πίνακας 6.5), όμως χρειάζεται να διερευνηθεί περισσότερο ο τομέας αυτός, για να εξαχθούν πιο συγκεκριμένα και σαφή στοιχεία.

41

Πίνακας 6.4: Αξιολόγηση της βιωσιμότητας των συστημάτων απομάκρυνσης αζώτου, L.Gut, 2006

Μεθοδος/	Συμβατική	Μερική	ANAMMOX	CANON	OLAND
παράγοντας	νιτροποίηση-	νιτροποίηση			
	απονιτροποίηση	(SHARON)			
Καταλληλότητα	•	••••	••••		•••
για πλούσια σε					
αμμώνιο					
λύματα					
Πιθανές	••••	•••	•	••	••
περιβαλλοντικές					
επιπτώσεις					
Απαίτηση σε	••••	••	•	••	••
ενέργεια					
Παραγωγή	••••	••	•	•	•
λάσπης					
Απαίτηση	••••	••	••	•	•
επιφάνειας					
Κατανάλωση	•••	Καμία	καμία	καμία	καμία
πόρων					
Εκπομπές	••••	πιθανόν	καμία	πιθανόν	πιθανόν
N2O, CO2					
Αξιοπιστια	••••	••••	••	••	•
Αποδοχή από το		•	•	•	•
κόσμο					
Αποδοχή από	••••	••••	••••	•••	••
τους ερευνητές					
Εφαρμογή σε	••	•••	••••	••••	••••
τοπικά					
συστήματα					

Διαβάθμιση: υψηλή ••••, μεσαία •••, χαμηλή ••, πολύ χαμηλή •

Πίνακας 6.5: Εκτίμηση κόστους για την επεξεργασία λυμάτων (υπερκείμενων), (Fux et al., 2003)

Καθοριστικοί	Νιτροποίηση-	Συνδυασμένη μερική	
παράγοντες για την	απονιτροποίηση	νιτροποίηση-anammox	
εκτίμηση κόστους	(Ευρώ / kg N)	(Ευρώ/ kg N)	
επένδυση	1.35	1.30	
Λειτουργία		$(60\% \text{ NH}_4^+ \sigma \epsilon \text{ NO}_2^-)$	
Ενέργεια	0.35	0.15	
Συντήρηση	0.70	0.70	
Έλεγχος- προσωπικό	0.30	0.30	
Χημικά	0.50	0.05	
	(0.2 ευρώ /kg CH3OH)		
Διάθεση ιλύος	0.30	αμελητέο	
Συνολικό κόστος	3.50	2.50	

Κεφάλαιο 7: Ιστορική εξέλιξη anammox-Εφαρμογές βιομηχανικής κλίμακας.

7.1 Ιστορική εξέλιξη anammox

Η διεργασία anammox προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Richards το 1965, μετά τις αναφορές ελλειμμάτων αμμωνίου σε ανοξικές θαλάσσιες λεκάνες (marine basins). Μάλιστα, κατά το μεγαλύτερο μέρος του 20ού αιώνα, επικράτησε η άποψη ότι η αμμωνία είναι βιολογικά αδρανής υπό ανοξικές συνθήκες. Το 1977 ο Broda υπέθεσε ότι υπάρχει ένα νέο είδος βακτηρίων που είναι υπεύθυνο για την αναερόβια οξείδωση αμμωνίας, τα «chemosynthetic» της βακτήρια που οξειδώνουν την αμμωνία σε άζωτο με Ο2 ή νιτρικά ως οξειδωτικό". Μόλις το 1995 επιβεβαιώθηκε πειραματικά η διεργασία anammox σε ρευστοποιημένο αντιδραστήρα για την επεξεργασία λυμάτων (Mulder et al., 1995). Έπειτα οι Strous et al. το 1999 επισήμαναν ότι η anammox αντίδραση είναι μια chemolithotrophic διαδικασία στην οποία 1 mol αμμωνίου οξειδώνεται από 1 mol νιτρωδών για την παραγωγή N₂ φυσικού αερίου με την απουσία οξυγόνου. Τα βακτήρια που είναι υπεύθυνα για τη διαδικασία αυτή και η μορφολογία τους αναγνωρίστηκαν αργότερα. Από τότε, πολλές μελέτες έγουν προσδιορίσει το anammox ως βασική διαδικασία στον παγκόσμιο κύκλο του αζώτου.

7.2. Εφαρμογές μεγάλης κλίμακας και πιλοτικές εφαρμογές

Έξι μεγάλης κλίμακας μονάδες SHARON έχουν κατασκευαστεί σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στις πόλεις Rotterdam, Utrecht, Zwolle, Beverwijk, Garmerwolde και Den Haag, στην Ολλανδία ενώ μια ακόμα βρίσκεται υπό κατασκευή στην Νέα Υόρκη, δυναμικότητας 3000000 ισοδύναμου πληθυσμού (Van Loosdrecht and Salem, 2005). Τα φορτία αζώτου που υποβάλλονται σε επεξεργασία στις μονάδες αυτές κυμαίνονται από 400 έως 2500kg N/ day. Το σύστημα αυτό έχει εφαρμοστεί σε αρκετές περιπτώσεις υγρών αποβλήτων (νερού από χώνευση ιλύος, στραγγίσματα από χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων, λύματα από διεργασίες κομποστοποίησης και συμπυκνώματα από ξήρανση ιλύος). Σε δύο από αυτές τις μεγάλες εφαρμογές θα αναφερθούμε στη συνέχεια.

7.2.1 Πρώτη μεγάλης κλίμακας εφαρμογή στο Rotterdam (Ολλανδία)

To 2006, οι Abma et al., δημοσίευσαν το άρθρο τους με θέμα την πρώτη μεγάλης κλίμακας εφαρμογή της anammox διεργασίας, κοκκώδους ιλύος. Επικεντρώθηκαν στο σχεδιασμό του αντιδραστήρα καθώς και στην επιτυχημένη περίοδο έναρξης της λειτουργίας του (start-up).

Όπως αναφέρουν στη δημοσίευση τους η μετατροπή των αμμωνιακών σε αέριο άζωτο, με τη χρήση των νιτρωδών ως δότη ηλεκτρονίων, αποτελεί προνομιακή μέθοδο επεξεργασίας των αστικών υγρών αποβλήτων, έναντι της συμβατικής μεθόδου νιτροποίησης απονιτροποίησης. Την διαπίστωση αυτή τη στηρίζουν στο γεγονός ότι δεν απαιτείται προσθήκη πηγής δότη ηλεκτρονίων, ενώ μπορεί επίσης να εξοικονομηθεί το 60% της καταναλισκόμενης ενέργειας, με αποτέλεσμα την σημαντική μείωση δαπανών όσον αφορά στο κόστος λειτουργίας. Στο σχήμα 7.1 παρουσιάζεται μία σύγκριση ης συμβατικής μεθόδου απομάκρυνσης αζώτου και της διεργασίας anammox. Ο ειδικός ρυθμός μετατροπής των βακτηρίων anammox είναι 1.4 kg N/ (kg VSS d) (Strous et al., 1999), ιδιαίτερα στην περίπτωση των συστημάτων βιοφίλμ μπορούν να επιτευχθούν υψηλές συγκεντρώσεις βιομάζας και επομένως μπορούν αν ληφθούν υψηλοί ρυθμοί φόρτισης. Το γεγονός αυτό εξοικονομεί χώρο και κόστος επένδυσης αλλά και εξασφαλίζει μεγαλύτερη βιωσιμότητα της μεθόδου.



Σχήμα 7.1: Σύγκριση μεταξύ της συμβατικής μεθόδου απομάκρυνσης αζώτου και της διεργασίας ANAMMOX, Abma et al., 2006.

Η ανάπτυξη της anammox ξεκίνησε με τον αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας διαλείποντος έργου, (Strous et al., 1998), ενώ στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν αρκετοί αντιδραστήρες βιοφίλμ. Στην περίπτωση της εφαρμογής μεγάλης κλίμακας των Abma et al. (2006), χρησιμοποιήθηκε βιοαντιδραστήρας κοκκώδους ιλύος. Εξαιτίας των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζει ο αντιδραστήρας κοκκώδους ιλύος έναντι των συστημάτων με βιοφίλμ. Αρχικά, στους αντιδραστήρες κοκκώδους ιλύος μπορεί να εφαρμοστεί μεγαλύτερος ογκομετρικός ρυθμός φόρτισης. Ο ρυθμός μετατροπής του αντιδραστήρα προσδιορίζεται από τη διάχυση και επομένως από την επιφάνεια της βιομάζας. Στην περίπτωση της κοκκώδους ιλύος αυτή η επιφάνεια είναι πολύ μεγαλύτερη συγκριτικά με το βιοφίλμ: τυπικά η τιμή για τους κόκκους είναι 3000 m²/m³ και για το βιοφίλμ 200 m²/m³. Ωστόσο απαιτείται κατάλληλη ρύθμιση του συστήματος για την κοκκοποίηση και την διατήρηση της βιομάζας.

Ένα επιπλέον πλεονέκτημα του αντιδραστήρα κοκκώδους ιλύος είναι η ευκολότερη και καλύτερη ανάμιξη του περιεχομένου του καθώς το φέρον υλικό δεν παρεμβαίνει στην ανάμιξη και τη διασπορά της κοκκώδους βιομάζας. Η ανάμιξη του αντιδραστήρα anammox είναι ιδιαίτερα σημαντική για την αποφυγή της αναστολής της διεργασίας anammox, που μπορεί να προκληθεί λόγω τοπικά υψηλών επιπέδων των νιτρωδών (Strous ,1999) ή τον σχηματισμό σουλφιδίων στις λεγόμενες νεκρές ζώνες.

Μια ζωτικής σημασίας παράμετρος, η οποία θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη κατά την εφαρμογή και λειτουργία ενός αντιδραστήρα κοκκώδους ιλύος, σύμφωνα με τους Abma et al. (2006), είναι η εξακρίβωση της παραγωγής των κόκκων καθώς και η εξασφάλιση της σταθερότητας του συστήματος μέσω της κατάλληλης διατήρησης της βιομάζας.

Ο anammox αντιδραστήρας στο Rotterdam (Ολλανδία), αποτελεί λοιπόν την πρώτη μεγάλης κλίμακας εφαρμογή στο είδος του (εικόνα 7.1) Κατασκευάστηκε στη μονάδα επεξεργασίας υγρών αστικών αποβλήτων της Waterboard Hollandse Delta (WHSD). Ο αντιδραστήρας αυτός αποτελεί το καταληκτικό επίτευγμα στην ανάπτυξη της τεχνολογίας anammox, η οποία ξεκίνησε από το Πανεπιστήμιο του Delft, ενώ η μεγέθυνση της κλίμακάς της έγινε από την εταιρεία Paques B.V. Ο αντιδραστήρας αυτός παρουσιάζει σταθερή λειτουργία, ακόμη και σε ρυθμούς φόρτωσης 10 kg N/m3.d.



Εικόνα 7.1: Ο πρώτος anammox αντιδραστήρας για την επεξεργασία υγρών λυμάτων, της Waterboard Hollandse Delta (WHSD), Rotterdam. (Abma et al., 2006).

Ο αντιδραστήρας anammox συνδέεται με τον προϋπάρχοντα αντιδραστήρα SHARON, μετά το στάδιο της καθίζησης της υπάρχουσας ιλύος στο σύστημα κεκλιμένων πλακών (Tilted Plate Settler), όπως φαίνεται και στο σχήμα 7.2. Η θερμοκρασία των λυμάτων κυμαίνεται στους 28° C και η συγκέντρωση των αμμωνιακών είναι ίση με 1000-1500 mg/L NH₄⁺-N. Η μετατροπή των αμμωνιακών στον αντιδραστήρα SHARON μειώθηκε στο 50%, μετά την προσθήκη του αντιδραστήρα anammox, και η αναλογία αμμωνιακών προς νιτρώδη έγινε ίση με 1:1.



Σχήμα 7.2: Διάγραμμα ροής των λυμάτων της μονάδας επεξεργασίας, (.Abma et al. ,2006).

Πριν την είσοδο των λυμάτων στον αντιδραστήρα anammox, περνούν διαμέσου μιας παχιάς μεμβράνης διαχωρισμού, για την αφαίρεση παραμένουσας ιλύος και για την αποφυγή εισροής στερεών στον αντιδραστήρα, προκειμένου να διατηρηθεί ο χρόνος παραμονής της ιλύος.

Ο αντιδραστήρας anammox αποτελείται από δύο θαλάμους, τοποθετημένους τον ένα πάνω στον άλλον. Τα λύματα εισέρχονται από τη βάση του αντιδραστήρα και αναμιγνύονται με το περιεχόμενο του αντιδραστήρα. Το κατώτερο μέρος περιέχει κλίνη κοκκώδους ιλύος για τη μετατροπή της μεγαλύτερης ποσότητας αμμωνίας και νιτρωδών.

Το παραγόμενο αέριο άζωτο συλλέγεται από τον κατώτερο διαχωριστή τριών φάσεων ενώ στην κορυφή όπου οδηγείται διαχωρίζεται από το νερό και φεύγει από το σύστημα. Η εκροή του πρώτου θαλάμου εισάγεται στο δεύτερο θάλαμο όπου αφαιρείται η παραμένουσα αμμωνία καθώς και τα νιτρώδη. Η εκροή αποβάλλεται από το σύστημα μέσω του ανώτερου διαχωριστή τριών φάσεων.

Start up

Εξαιτίας του ότι ήταν ο πρώτος αντιδραστήρας, δεν υπήρχε διαθέσιμη ιλύς για τον εμπλουτισμό της βιομάζας. Συνεπώς η έναρξη λειτουργίας του αντιδραστήρα χρειάστηκε πολύ καιρό, 3.5 χρόνια. Η καθυστέρηση αυτή είχε διάφορες αιτίες: τυχαία απώλεια βιομάζας, προβλήματα πάγου και τοξικότητας, λόγου υψηλών συγκεντρώσεων νιτρωδών, διαρροή μεθανόλης από τον αντιδραστήρα SHARON και απρόβλεπτες εκκενώσεις Dixi λυμάτων (από χημικές τουαλέτες) στο χωνευτή.

Τα προαναφερθέντα προβλήματα, τα οποία προκάλεσαν και τις καθυστερήσεις, λύθηκαν εύκολα, με τη βελτίωση του χειρισμού και τις μετατροπές στην εγκατάσταση. Ωστόσο οι επιπτώσεις στην πρόοδο της λειτουργίας ήταν σχετικά μεγάλες. Αυτό οφειλόταν στη μικρή αρχική συγκέντρωση των anammox βακτηρίων στον αντιδραστήρα. Κατά το πρώτο στάδιο της περιόδου έναρξης λειτουργίας η μετατροπή των βακτηρίων δεν μπορούσε να προσδιοριστεί από την ισορροπία μάζας. Χάρη στη χρήση των μετρήσεων πραγματικού χρόνου (PCR), ακολούθησε η ανάπτυξη του πληθυσμού anammox και οι συνθήκες μπόρεσαν να βελτιωθούν. Όταν οι συνθήκες έγιναν καταλληλότερες, ο αντιδραστήρας anammox εκπλήρωσε πλήρως τις προσδοκίες. Στο σχήμα 7.3, απεικονίζεται η εξέλιξη του ρυθμού φόρτισης και μετατροπής του αζώτου με το χρόνο. Παρατηρείται μια απότομη αύξηση του ρυθμού φόρτισης και μετατροπής αζώτου από την αρχή του 2006. Στα μισά του Φεβρουαρίου του 2006, ο ρυθμός φόρτισης έφτασε την τιμή σχεδιασμού, ενώ μετά την αποκατάσταση της εγκατάστασης απομάκρυνσης νερού ο ρυθμός φόρτισης έφτασε στα 750 kg/d, δηλαδή 50% πάνω από το φορτίο σχεδιασμού. Ο ογκομετρικός ρυθμός φόρτισης στο στάδιο αυτό ήταν πάνω από 10 kg/m³d. Η διεργασία anammox μετέτρεπε 90-95% του αζώτου της τροφοδοσίας.



Σχήμα 7.3: Διάγραμμα φορτίου αζώτου και % μετατροπής αζώτου συναρτήσει του χρόνου. (Abma et al., 2006).

Οι συγκεντρώσεις αζώτου της εισροής και της εκροής απεικονίζονται στο σχήμα 7.4. Η συγκέντρωση νιτρωδών της εκροής του αντιδραστήρα είναι χαμηλότερη από 5-10 mg/L από την αρχή του 2006, υποδεικνύοντας μια πλήρη μετατροπή από τη διεργασία anammox. Τις φορές που η συγκέντρωση των νιτρωδών αυξήθηκε αυτό οφειλόταν στην ταχεία αύξηση του φορτίου. Η συγκέντρωση αμμωνιακών της εκροής μεταβαλλόταν από 60 έως 130 mg/L. Η συγκέντρωση αυτή προσδιόρισε και την απόδοση απομάκρυνσης του αντιδραστήρα. Η απόδοση μπορούσε να αυξηθεί μέσω της βελτίωσης της αναλογίας αμμωνιακών/νιτρώδη (1:1) στην εκροή του αντιδραστήρα SHARON. Εκτός από τη μετατροπή των αμμωνιακών και των νιτρωδών παράχθηκαν και νιτρικά κατά την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας, όπως ήταν αναμενόμενο. Η εκροή του αντιδραστήρα περιείχε νιτρικά σε συγκέντρωση, κατά μέσο όρο, ίση με 130 mg/L.



Σχήμα 7.4: Συγκέντρωση αζώτου στην εισροή (influent) και την εκροή (effluent), (.Abma et al., 2006).

Η συμπεριφορά της λειτουργίας του αντιδραστήρα anammox δείχνει υψηλή σταθερότητα ακόμα και σε ογκομετρικούς ρυθμούς φόρτισης μεγαλύτερους από 10 kg/m³d. Η σταθερότητα μάλιστα διατηρείται ακόμα και με τις ουσιαστικές μεταβολές του ρυθμού φόρτισης. Από μέρα σε μέρα το φορτίο μπορεί να διέφερε από 300 έως 750 kg αζώτου ανά ημέρα. Παρόλα αυτά η διεργασία anammox ήταν επαρκής για τη μετατροπή.

Η αξιοπιστία και οι υψηλοί ρυθμοί μετατροπής αποτελούν αποτέλεσμα του σχηματισμού κόκκων υψηλής πυκνότητας και κατά συνέπεια καλή παραμονή βιομάζας. Η μετατροπή της flocky ιλύος σε κοκκώδη anammox ιλύ δεν προχώρησε χωρίς προβλήματα σε αρχικό στάδιο. Οι διακυμάνσεις στην ταχύτητα της ανοδικής ροής προκάλεσαν απώλειες στη βιομάζα. Από την άλλη πλευρά όμως ήταν απαραίτητο να αφαιρεθεί η flocky βιομάζα προκειμένου να προωθηθεί ο σχηματισμός της κοκκώδους βιομάζας. Με προσεκτική αύξηση της ταχύτητας της ανοδικής ροής του αντιδραστήρα επικράτησε η κοκκώδης βιομάζα. Στο στάδιο αυτό η συγκέντρωση της βιομάζας αυξήθηκε με ταχύτατο ρυθμό κάτι που ήταν δυνατό να συμβεί ανάλογα και για το φορτίο. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση της βιομάζας κυμάνθηκε



μεταξύ 300-1000 μm, γεγονός που επέτρεψε υψηλούς ρυθμούς καθίζησης, όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 7.5.

Σχήμα 7.5: Μέση ταχύτητα καθίζησης της anammox βιομάζας.

7.2.2 Πιλοτική εφαρμογή της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας σε δύο στάδια, Ζυρίχη.

Οι Fux et al. το 2002, δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της πιλοτικής εφαρμογής της συνδυασμένης μερικής νιτρωδοποίησης και αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, σε δύο αντιδραστήρες συνολικού όγκου 5 m³. Στόχος της εφαρμογής αυτής ήταν η αποτελεσματική επεξεργασία δύο διαφορετικών λυμάτων, με υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών ιόντων, προερχόμενων από την εκροή της χώνευσης ιλύος των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων του Werdhoelzli της Ζυρίχης και του Au του St. Gallen.

Η μερική νιτρωδοποίηση έλαβε χώρα σε αεριζόμενο και συνεχώς αναδευόμενο αντιδραστήρα όγκου 2.5 m³, με περιεχόμενο όγκο υγρού που δεν ξεπέρασε τα 2.1 m³. Ο αντιδραστήρας εμβολιάστηκε με 1 m³ ενεργού ιλύος από την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων του Werdhoelzli και στη συνέχεια προστέθηκε μια ποσότητα της δευτεροβάθμιας εκροής της εγκατάστασης έως ότου ο συνολικός όγκος φτάσει τα 2 m³.

Αντίστοιχα, στον αντιδραστήρα της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας (όγκου επίσης 2.5 m³ και μέγιστου όγκου υγρού 2.1 m³) πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός με 1000 g TSS που συλλέχθηκαν με σύστημα υφασμάτινου φίλτρου από την εκροή της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων του Koelliken. Η λάσπη αυτή περιείχε anammox βακτήρια συγγενικά του Candidatus Kuenenia Stuttgartiensis. Νέος εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε μετά από 11 ημέρες (1700 g TSS) προκειμένου να επιταχυνθεί η περίοδος εκκίνησης της διεργασίας. Η επιφάνεια του αντιδραστήρα καλύφθηκε με μπάλες πολυπροπυλενίου διαμέτρου 25mm, για τη μείωση της εισροής οξυγόνου.

Κατά τη διεργασία, τα νιτρώδη που παράγονται στον πρώτο αντιδραστήρα, μαζί με τα εναπομένοντα αμμωνιακά, αποτελούν την τροφοδοσία του ακόλουθου anammox αντιδραστήρα, όπως φαίνεται και στο σχήμα 7.9 που ακολουθεί. Ο χρόνος αντίδρασης έχει ρυθμιστεί μεταξύ 1.5-2 h και η προσθήκη της εισροής πραγματοποιείται τα πρώτα 2-10 λεπτά κάθε κύκλου. Τέλος η ανάδευση σταματάει και η βιομάζα καθιζάνει για 10 λεπτά προτού το υπερκείμενο μεταγγιστεί μέσω της επιπλέουσας αντλίας. Επίσης, μια επιπλέον παροχή ακατέργαστου λύματος εισάγεται στον αντιδραστήρα για την αποφυγή αυξημένων συγκεντρώσεων νιτρωδών, στο βαθμό που κρίνεται απαραίτητο (0-10% της παροχής από τον πρώτο αντιδραστήρα), για τη διατήρηση της συγκέντρωσης του αμμωνίου μεταξύ 10-50 g NH₄-N m⁻³. Το pH παραμένει σταθερό και ίσο με 7.52±0.07, με τη βοήθεια της προσθήκης διαλύματος υδροχλωρικού οξέος.



Σχήμα 7.9: Σχηματική διάταξη του αντιδραστήρα μερικής νιτρωδοποίησης (αριστερά) και της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας (δεξιά), Fux et al., 2002

Κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής εφαρμογής λοιπόν για την περίπτωση του λύματος από την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων του Werdhoelzli (πρώτες 165 ημέρες), οι αρχικές συγκεντρώσεις αζώτου στην είσοδο του anammox αντιδραστήρα κυμάνθηκαν μεταξύ 50 και 100 g N m⁻³ d⁻¹ και στην πορεία αυξάνονταν σταδιακά με την προϋπόθεση ότι η συγκέντρωση των νιτρωδών στην εκροή ήταν σχεδόν μηδέν. Η πρόσθετη παροχή λύματος στον αντιδραστήρα από μια διαφορετική αντλία οδήγησε σε πλεόνασμα του αμμωνίου στην εκροή του αντιδραστήρα anammox (38 ± 47 g NH₄ –N m⁻³). Η θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή στους 31.1 ± 0.7° C. Την 53^η ημέρα (φορτίο αζώτου 270 g N m⁻³ d⁻¹), η συγκέντρωση των νιτρωδών αυξήθηκε στα 60 g NO₂ –N m⁻³ με αποτέλεσμα την σημαντική αναστολή της διεργασίας. Για το λόγο αυτό το φορτίο της εισροής μειώθηκε κατά 50% τις ακόλουθες δύο βδομάδες προκειμένου το σύστημα να ανακάμψει εκ νέου. Ωστόσο, στη συνέχεια του πειράματος το φορτίο του αζώτου αυξήθηκε έως 650 g N m⁻³ d⁻¹ την 139^η ημέρα (με μικρές σύντομες μειώσεις τις ημέρες 85^η, 127^η και 137^η λόγω δυσλειτουργίας της αντλίας). Υπολογίστηκε ότι η συνολική εξάλειψη αζώτου ήταν 92 ± 7%, και εξαρτήθηκε σε πολύ μεγάλο βαθμό από την αναλογία νιτρώδη/αμμώνιο στην εισροή του αντιδραστήρα.

Για την περίπτωση του λύματος από την χώνευση της ενεργού ιλύος από την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων του Au, ημέρες 174-205, το συνολικό ποσοστό εξάλειψης αζώτου ήταν ελαφρώς αυξημένο και ίσο με 95%. Καταγράφηκαν ρυθμοί απομάκρυνσης αζώτου έως και 2.4 kg N m⁻³ d⁻¹. Η στοιχειομετρική αναλογία μάλιστα της κατανάλωσης αμμωνίου και νιτρωδών και της παραγωγής νιτρικών υπολογίστηκε 1:1.38:0.32 και μοιάζει πολύ με την αντίστοιχη του Strous et al., 1998 (1:1.32:0.26).



Σχήμα 7.10: Αμμώνιο και νιτρώδη στην εισροή (inf) και αμμώνιο στην εκροή (eff) του αντιδραστήρα anammox. $N_{total,inf}$ είναι το άθροισμα των $NH_{4,inf}$ και $NO_{2,inf}$. Το φορτίο νιτρικών της εισροής και το φορτίο νιτρωδών της εκροής δεν απεικονίζονται καθώς ήταν πολύ χαμηλά, Fux et al., 2002.

Κεφάλαιο 8: Σκοπός εργασίας

Στο εργαστήριο Σχεδιασμού Περιβαλλοντικών Διεργασιών του Πολυτεχνείου Κρήτης διερευνώνται εναλλακτικές μέθοδοι επεξεργασίας υγρών αστικών αποβλήτων για την μείωση του κόστους επεξεργασίας και την μείωση των ενεργειακών αναγκών. Κάποιες από τις μεθόδους στοχεύουν . Στην απομάκρυνση των στερεών και του BOD στα πρωτογενή υγρά αστικά απόβλητα, χωρίς ταυτόχρονη μείωση της συγκέντρωσης των αμμωνιακών (NH₄⁺), με συνέπεια την παραγωγή μερικώς επεξεργασμένων αποβλήτων με χαμηλές τιμές BOD και ανέπαφες τιμές αμμωνιακών. Το τελευταίο καθιστά την διεργασία anammox πιο ελκυστική για το πιο πάνω είδος υγρών αποβλήτων.

Η διεργασία anammox μέχρι στιγμής εφαρμόζεται, όπως έχουμε προαναφέρει και στη βιβλιογραφία, για μεγάλες συγκεντρώσεις αμμωνιακών, και σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις BOD. Σκοπός των πειραμάτων είναι η εφαρμογή της διεργασίας anammox σε υγρά απόβλητα με μικρότερες συγκεντρώσεις (N - $NH_4^+ < 50 \text{ mg/L}$) και η διατήρηση της σταθερότητας του συστήματος. Επίσης, στόχος είναι να υπολογιστεί η απόδοση του συστήματος, ο ρυθμός απομάκρυνσης των αμμωνιακών για λύματα με μικρές συγκεντρώσεις αυμωνιακών.

Ακόμη, θα πρέπει να υπολογιστεί ο χρόνος διπλασιασμού της βιομάζας, ώστε να παρατηρηθεί αν μπορεί να επιτευχθεί η παραγωγή και η αποθήκευση βιομάζας, ώστε να υπάρχει διαθέσιμη ιλύς για τον εμπλουτισμό βιομάζας σε μελλοντικές εφαρμογές.

Τέλος, σκοπός είναι και οι υπολογισμοί του ισοζυγίου αζώτου Ν, ώστε να υπολογιστεί τόσο η μείωση των συγκεντρώσεων αμμωνιακών όσο και η παραγωγή αέριου αζώτου.

Κεφάλαιο 9: Εξοπλισμός και αναλυτικές μέθοδοι

Το πειραματικό μέρος έλαβε χώρα στο εργαστήριο Σχεδιασμού Περιβαλλοντικών Διεργασιών του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης. Το πείραμα διήρκησε περίπου ένα εξάμηνο.

9.1 Μικροοργανισμοί

Ο αντιδραστήρας εμβολιάστηκε με λάσπη με anammox μικροοργανισμούς. Τη λάσπη μας την παραχώρησαν ο Dr. Udert και ο Dr. Joss από ερευνητικό ινστιτούτο νερού EAWAG, που εδρεύει στην Ζυρίχη της Ελβετίας, και προέρχεται από τον αντιδραστήρα anammox, που επεξεργάζεται τα υγρά απόβλητα του αναερόβιου χωνευτή της εγκατάστασης επεξεργασίας υγρών αποβλήτων της Ζυρίχης.

9.2 Υπόστρωμα ανάπτυξης

Ο αντιδραστήρας τροφοδοτούνταν με συνθετικό υγρό απόβλητο (πίνακας 9.1) (Van de Graaf et al. 1996) και με αρχική συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου 50 mg/ L. Αρχικά είχε δοκιμαστεί διαφορετικό συνθετικό υγρό απόβλητο, αλλά δεν παρουσιάστηκε αύξηση της βιομάζας των μικροοργανισμών, πράγμα το οποίο πιθανόν οφειλόταν στην έλλειψη ιχνοστοιχείων.

Συνθετικό υγρό απόβλητο:	Συνθετικό υγρό απόβλητο:		
Απιονισμένο νερό	1 L		
$(NH_4)_2SO_4$	330 mg (5mM)		
NaNO ₂	345 mg (5 mM)		
KHCO ₃	500 mg		
KH_2PO_4	27,1 mg		
MgSO ₄ .7H ₂ O	300 mg		
CaC1 ₂ .2H ₂ O	180 mg		
Διάλυμα Ι	1ml		
Διάλυμα ΙΙ	1 ml		
Διάλυμα Ι:			
Απιονισμένο νερό	1 L		
EDTA	5g		
FeSO ₄	5g		
Διάλυμα ΙΙ:	<u>.</u>		
Απιονισμένο νερό	1 L		
EDTA	15g		
ZnSO ₄ ,7H ₂ O	0,43g		
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,24g		
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,99g		
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25g		
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,22g		
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,19g		
NaSeO ₄ .10H ₂ O	0,21g		
H_3BO_4	0,014g		

Πίνακας 9.1: Σύσταση συνθετικού αποβλήτου:

9.3 Πειραματικός εξοπλισμός

9.3.1 Διάσταση αντιδραστήρα

Ο αντιδραστήρας κατασκευάστηκε από το προσωπικό του εργαστηρίου, από γυαλί και ατσάλι με τις κατάλληλες υποδοχές για τα όργανα μέτρησης. Ο αντιδραστήρας ήταν όγκου 2L.



Oi sundíkec pou epikpatoúsan ston antidrastípa útan $T = 30 \circ C (\pm 1^{\circ} C)$, pH 8,00 $(\pm 0,1)$ kai DO = 0 mg / L $(\pm 0,1)$, béltistec sundíkec gia touc anammox mikroorganismoúc ópwc anagrágetai sty bibliogragía. O antidrastúrac útan eqodiasménoc me nlektródia:

- μέτρησης του pH, Eutech, alpha pH 800, pH/ORP controller, H.Π.A.
- αγωγιμότητας, Eutech, alpha COND 500, Η.Π.Α.
- διαλυμένου οξυγόνου, Eutech, alpha DO 2000 PG, Disolved Oxygen Controller, Η.Π.Α.

Το pH ρυθμιζόταν αυτόματα, μέσω ενός ελεγκτή και δύο αντλιών, Bioflo 110, Ιταλία συνδεδεμένων με υδροχλωρικό οξύ (1M) και υδροξείδιο του νατρίου (1M). Η θερμοκρασία διατηρούνταν στους 30 ° C, μέσω ενός συστήματος θερμοστάτη και

θερμαντικού στοιχείου, Cal 9900, Η.Π.Α., που την κρατούσε σταθερή. Η ανάδευση γινόταν μέσω ενός μαγνητικού αναδευτήρα, notplate magnetic stirrer 34532, Η.Π.Α. Όλοι οι ρυθμιστές ήταν τοποθετημένοι σε ειδικά κατασκευασμένο πίνακα (Insula, A.E., Ελλάς).

Τα νιτρώδη προσθέτονταν με την μορφή υδατικού διαλύματος NaNO₂, με χρήση πιπέτας, φροντίζοντας ώστε η συγκέντρωση NO₂ – N να μην υπερέβαινε τα 20 mg / L ανά πάσα στιγμή, καθώς υψηλότερες συγκεντρώσεις θεωρούνται τοξικές για τους anammox μικροοργανισμούς, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Ένα αέριο μίγμα N₂ - CO₂ (80% -20%) χρησιμοποιούνταν για τη διατήρηση ανοξικών συνθηκών μέσα στον αντιδραστήρα, αλλά και σαν πηγή άνθρακα (ανόργανου) στο μίγμα.

9.3.2 Μετρήσεις

Η δειγματοληψία για την μέτρηση των νιτρωδών και αμμωνιακών γινόταν κάθε ώρα, ενώ των νιτρικών πιο σπάνια λόγο έλλειψης και κόστους αντιδραστηρίων. Στα δείγματα αρχικά γινόταν φυγοκέντριση (σε δείγμα 25 ml, για 3 λεπτά και σε στροφές 500rpm) και έπειτα αναλυόταν μέσω τυποποιημένων τεστ της Hach-Lange, H.Π.Α., για ενώσεις αζώτου Ν. Οι μετρήσεις για τα αμμωνιακά γινόταν με τη μέθοδο ammonium-Nessler με τα 2458200 Ammonia Reagent Set, για τα νιτρώδη με τα 181369 NitriVer και για τα νιτρικά με τα cuvette tests LCK 339 της Hach Lange. Όλες οι αναλύσεις γινόταν μέσω του DR 2800 φασματοφωτόμετρου της Hach Lange. Για τον προσδιορισμό των TSS λαμβάνονταν ποσότητα 4 ml από το υγρό του βιοαντιδραστήρα, περίπου κάθε δύο βδομάδες. Αρχικά γινόταν διήθηση σε φίλτρο 45μm, αφού πρώτα είχε ζυγιστεί. Έπειτα, γινόταν ξήρανση του φίλτρου στους 105° C για 24 h και στη συνέχεια ζύγισμα αυτού. Από τη διαφορά του βάρους του φίλτρου υπολογίζονται τα στερεά.

9.3.3 Πειραματική διεργασία

Κάθε αυτοτελές πείραμα συνίστατο στην αναερόβια αποδόμηση των αμμωνιακών που περιέχονταν στο συνθετικό υγρό απόβλητο. Για την αποδόμηση των αμμωνιακών απαιτούνταν η παρουσία νιτρωδών (Εξίσωση 2.8), τα οποία προστίθονταν περιοδικά, φροντίζοντας ώστε η συγκέντρωση τους να μην υπερβαίνει τα 20 mg/L. Κατά τεκμήριο, νιτρώδη προσθέτονταν όταν η συγκέντρωσή τους έπεφτε κάτω των 5 mg/L. Κατά την διεργασία της αναερόβιας απονιτροποίησης παράγεται μικρή ποσότητα νιτρικών, τα οποία σωρεύονταν στον αντιδραστήρα κατά την διάρκεια των πειραμάτων, αφού για τεχνικούς λόγους το υγρό του αντιδραστήρα δεν απομακρύνονταν μετά από κάθε αυτοτελές πείραμα.

Κεφάλαιο 10: Πειραματικά αποτελέσματα

Στην αρχή των πειραμάτων ο αντιδραστήρας εφοδιάστηκε με μικροοργανισμούς anammox (0,5L) και με το συνθετικό μέσο (1,5L). Στην αρχή κάθε πειραματικής διαδικασίας προσθέταμε 50 mg/L αμμωνιακού αζώτου.

Η ίδια πειραματική διαδικασία, με τις ίδιες συνθήκες επαναλήφθηκε αρκετές φορές, συγκεκριμένα 7, ώστε να παρατηρήσουμε την επαναληψιμότητα των ρυθμών κατανάλωσης των αμμωνιακών και νιτρωδών. Στο τέλος, πραγματοποιήθηκε και μία πειραματική διαδικασία με αρχική συγκέντρωση αμμωνιακών 100 mg/L, ώστε να παρατηρήσουμε τις τυχόν διαφορές σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αμμωνιακών.

10.1 Πείραμα 1

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 1 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.1. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο 0, 3, 8 και 12 h.



Διάγραμμα 10.1: Κατανάλωση NH₄-N και NO₂-N, παραγωγή NO₃-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται, ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι ταχύτερη στην αρχή του κύκλου, ενώ στη συνέχεια η κατανάλωση τους γίνεται με σχετικά πιο αργούς ρυθμούς. Συγκεκριμένα, οι ρυθμοί κατανάλωσης τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών παρουσιάζονται στον πίνακα 10.1.1:

Πίνακας 10.1.1	: Ρυθμοί	κατανάλωσης	αμμωνιακών	και νιτρωδών

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	$\operatorname{mg}\operatorname{NO}_2^\operatorname{N/}(\operatorname{L*h})$
0-3	3,06	5,33
3-8	2,08	2,2
8-12	2,34	3,75

Ακόμη, παρατηρώντας τους ρυθμούς κατανάλωσης μετά την προσθήκη νιτρωδών, βλέπουμε ότι η κατανάλωση τους γίνεται πιο γρήγορα στην αρχή, ενώ στη συνέχεια μειώνεται μέχρι την επόμενη προσθήκη. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης. Οι ρυθμοί κατανάλωσης των νιτρωδών αμέσως μετά την προσθήκη και στη συνέχεια παρουσιάζονται στον πίνακα 10.1.2.

h	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h)
0-1	5
2-3	6
3-6	2,66
6-8	1,5
8-10	4,5
10-12	3

Πίνακας 10.1.2 : Ρυθμοί κατανάλωσης νιτρωδών μετά την προσθήκη τους και στη συνέχεια.

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (34 mg/L, οφείλονταν σε προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,43: 0,25 (NH₄⁺-N : NO₂⁻⁻ N : NO₃⁻⁻-N) που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10). Ακόμη η συνολική ειδική δραστηρίοτητα anammox (specific anammox activity) υπολογίζεται στα 0.26 g N (g dry biomass d)⁻¹.

Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 50 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 104 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 73 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 76 mg/L

Άρα υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 60 mg/L NO₂⁻ -N παράγεται κατά μέσο όρο 76 mg/L αέριο άζωτο.

10.2 Πείραμα 2

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 2 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.2. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 2, 5 και 13h.



Διάγραμμα 10.2: Κατανάλωση NH₄-N και NO₂-N, παραγωγή NO₃-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται, ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι ταχύτερη στην αρχή του κύκλου, κυρίως στην κατανάλωση των νιτρωδών είναι αισθητή η διαφορά. Οι ρυθμοί κατανάλωσης παρουσιάζονται αναλυτικότερα στον πίνακα 10.2.1:
h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h),
0-2	2,90	7,50
2-5	2,86	5,0
5-13	2,81	2,14
13-16	2,80	3,67

Πίνακας 10.2.1: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

Ακόμη, παρατηρώντας τους ρυθμούς κατανάλωσης μετά την προσθήκη νιτρωδών, βλέπουμε ότι η κατανάλωση τους γίνεται πιο γρήγορα στην αρχή, ενώ στη συνέχεια μειώνεται μέχρι την επόμενη προσθήκη. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης. Οι ρυθμοί κατανάλωσης των νιτρωδών αμέσως μετά την προσθήκη και στη συνέχεια παρουσιάζονται στον πίνακα 10.2.1.

h	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h)
0-1	11
1-2	4
2-4	3
4-5	6
6-9	2,66
9-13	1,75
13-15	4
15-16	3

Πίνακας 10.2.2 : Ρυθμοί κατανάλωσης νιτρωδών μετά την προσθήκη τους και στη συνέχεια.

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται και εδώ η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (11,6 mg/L, οφείλονταν σε προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα).. Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,26: 0,30 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N), που είναι και αυτή αρκετά κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ2.10).

Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 56 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 82,3 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 44,4 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 83,4 mg/L

Άρα υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 56 mg/L NO₂₋N παράγει κατά μέσο όρο 83,4 mg/L αέριο άζωτο.

10.3 Πείραμα 3

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 3 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.3. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 8 και 13h.



Διάγραμμα 10.3: Κατανάλωση NH₄-N και NO₂-N, παραγωγή NO₃-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται και εδώ, ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι ταχύτερη στην αρχή του κύκλου, ενώ στη συνέχεια η κατανάλωση τους γίνεται με σχετικά πιο αργούς ρυθμούς. Οι ρυθμοί κατανάλωσης υπολογίζονται στον πίνακα 10.3.1:

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h),
0-3	2,66	4,67
3-8	2,52	3,2
8-13	2,16	3,0
13-17	2,10	3,0

Πίνακας 10.3.1: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

Ακόμη, παρατηρώντας τους ρυθμούς κατανάλωσης μετά την προσθήκη νιτρωδών, βλέπουμε ότι η κατανάλωση τους γίνεται πιο γρήγορα στην αρχή, ενώ στη συνέχεια μειώνεται μέχρι την επόμενη προσθήκη. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης. Οι ρυθμοί κατανάλωσης των νιτρωδών αμέσως μετά την προσθήκη και στη συνέχεια παρουσιάζονται στον πίνακα 10.3.1.

Πίνακας 10.3.2 : Ρυθμοί κατανάλωσης νιτρωδών μετά την προσθήκη τους και στη συνέ	χεια.

h	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h)
0-2	5,5
2-3	3
3-5	4,5
5-8	2,33
8-10	4
10-13	2,33

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (23 mg/L οφείλονταν σε

προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,42: 0,41 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N), που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10). Ακόμη η συνολική ειδική δραστηρίοτητα anammox (specific anammox activity) υπολογίζεται στα 0.20 g N (g dry biomass d)⁻¹.

Έπειτα, γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 57 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 96 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 59,6 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 81,4 mg/L

Οπότε υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 57 mg/L NO₂₋N παράγεται κατά μέσο όρο 81,4 mg/L αέριο άζωτο.

10.4 Πείραμα 4

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 4 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.4. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 3, 9 και 14h.



Διάγραμμα 4: Κατανάλωση NH4-N και NO2-N, παραγωγή NO3-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται, ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι ταχύτερη στην αρχή του κύκλου Συγκεκριμένα στον πίνακα 10.4.1:

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	$mg NO_2^N/(L^*h),$
0-3	2,06	4,33
3-9	1,93	2,33
9-14	2,52	2,60

Πίνακας 10.4.1: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

Ακόμη, παρατηρώντας τους ρυθμούς κατανάλωσης μετά την προσθήκη νιτρωδών, βλέπουμε ότι η κατανάλωση τους γίνεται πιο γρήγορα στην αρχή, ενώ στη συνέχεια μειώνεται μέχρι την επόμενη προσθήκη. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης. Οι ρυθμοί κατανάλωσης των νιτρωδών αμέσως μετά την προσθήκη και στη συνέχεια παρουσιάζονται στον πίνακα 10.4.2.

h	mg NO ₂ -N/ (L*h)
0-1	5
2-3	5
3-6	8
6-9	6
9-11	8
12-14	3

Πίνακας 10.4.2 : Ρυθμοί κατανάλωσης νιτρωδών μετά την προσθήκη τους και στη συνέχεια.

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (40,8 mg/L, οφείλονταν σε προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,38: 0,14 (NH₄⁺-N : NO₂⁻⁻ N : NO₃⁻⁻N), που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10). Ακόμη η συνολική ειδική δραστηρίοτητα anammox (specific anammox activity) υπολογίζεται στα 0.20 g N (g dry biomass d)⁻¹.

Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 73 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 112,8 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 72,8 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 85 mg/L

Άρα υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 73 mg/L NO₂₋N παράγεται κατά μέσο όρο 85 mg/L αέριο άζωτο.

10.5 Πείραμα 5

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 5 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.5. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 2, 7 και 12h.



Διάγραμμα 10.5: Κατανάλωση NH₄-N και NO₂-N, παραγωγή NO₃-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται, ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι ταχύτερη στην αρχή του κύκλου, ενώ στη συνέχεια η κατανάλωση τους γίνεται με σχετικά πιο αργούς ρυθμούς. Αναλυτικότερα στον πίνακα 10.5.

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	$mg NO_2 -N/(L*h),$
0-2	2,50	6,50
2-7	2,50	3,20
7-12	1,92	3,0

Πίνακας 10.5: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (18 mg/L, οφείλονταν σε

προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,55: 0,28 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N), που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10). Ακόμη η συνολική ειδική δραστηρίοτητα anammox (specific anammox activity) υπολογίζεται στα 0.18 g N (g dry biomass d)⁻¹.

Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 57 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 87 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 49,2 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) - τελικές= 82,8 mg/L

Άρα υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 57 mg/L NO₂₋N παράγεται κατά μέσο όρο 82,8 mg/L αέριο άζωτο.

10.6 Πείραμα 6

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 6 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.6. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 2, 7 και 12h.



Διάγραμμα 10.6: Κατανάλωση NH₄-N και NO₂-N, παραγωγή NO₃-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται, ότι η κατανάλωση των αμμωνιακών και των νιτρωδών στην αρχή του κύκλου είναι ταχύτερη. Οι ρυθμοί κατανάλωσης αναλυτικά παρουσιάζονται στον πίνακα 10.6.

Πίνακας 10.6: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h),
0-2	3,30	6,50
2-7	2,16	3,0
7-12	2,20	3,14
12-16	2,05	2,75

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (28 mg/L, οφείλονταν σε

προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης (NH₄⁺:1.32 NO₂⁻: 0.26 NO₃⁻) από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,49: 0,28 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N) , που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10). Ακόμη η συνολική ειδική δραστηρίοτητα anammox (specific anammox activity) υπολογίζεται στα 0.18 g N (g dry biomass d)⁻¹.

Έπειτα, υπολογίζεται το ισοζύγιο του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 57 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 100 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 60 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 85 mg/L

Άρα υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 57 mg/L NO₂₋N παράγεται κατά μέσο όρο 85 mg/L αέριο άζωτο.

10.7 Πείραμα 7

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 7 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.7. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 2, 7 και 12h.



Διάγραμμα 10.7: Κατανάλωση NH₄-N και NO₂-N, παραγωγή NO₃-N συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρείται, ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι ταχύτερη στην αρχή του κύκλου, ενώ στη συνέχεια η κατανάλωση τους γίνεται με σχετικά πιο αργούς ρυθμούς. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται στον πίνακα 10.7.1.

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h),
0-2	2,60	6,50
2-7	1,84	2,80
7-12	2,32	3,0

Πίνακας 10.7.1: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

Ακόμη, παρατηρώντας τους ρυθμούς κατανάλωσης μετά την προσθήκη νιτρωδών, βλέπουμε ότι η κατανάλωση τους γίνεται πιο γρήγορα στην αρχή, ενώ στη συνέχεια μειώνεται μέχρι την επόμενη προσθήκη. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης. Οι ρυθμοί κατανάλωσης των νιτρωδών αμέσως μετά την προσθήκη και στη συνέχεια παρουσιάζονται στον πίνακα 10.7.2.

Πίνακας 1	10.7.2 :	Ρυθμοί	κατανάλωσης	νιτρωδών	μετά την	[,] προσθήκη	τους και στη	συνέγεια.
		- 00000			p.0.0.0.0.1			e e reveren

h	mg NO ₂ ⁻ -N/ (L*h)
2-4	4
4-7	3

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (36 mg/L, οφείλονταν σε προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,48: 0,19 (NH₄⁺-N : NO₂⁻⁻ N : NO₃⁻⁻-N), που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10). Ακόμη η συνολική ειδική δραστηρίοτητα anammox (specific anammox activity) υπολογίζεται στα 0.20 g N (g dry biomass d)⁻¹.

Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 55 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 110,2 mg/L

Προσθήκη 45 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 72, 4 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 82,8 mg/L

Για την κατανάλωση 55 mg/L NO₂₋N παράγονται κατά μέσο όρο 82,8 mg/L αέριο άζωτο.

10.8 Πείραμα 8

Από τα αποτελέσματα του πειράματος 8 (παρουσιάζονται στο παράρτημα Ι) παρατηρούμε την κατανάλωση των αμμωνιακών (NH₄-N) και των νιτρωδών (NO₂-N) ως προς το χρόνο, καθώς και την παραγωγή νιτρικών (NO₃-N) συναρτήσει του χρόνου, όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα 10.8. Προσθήκη νιτρωδών έγινε σε χρόνο: 0, 4, 8, 13, 20, 25, 30, 35 και 40h.





Στο συγκεκριμένο διάγραμμα η αρχική συγκέντρωση αμμωνιακών είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τα προηγούμενα. Παρατηρείται και εδώ ότι η κατανάλωση τόσο των αμμωνιακών όσο και των νιτρωδών, είναι γενικά ταχύτερη στην αρχή του κύκλου. Αναλυτικότερα οι ρυθμοί κατανάλωσης υπολογίζονται στον πίνακα 10.8.1:

h	mg NH ₄ ⁺ -N /(L*h)	$\operatorname{mg}\operatorname{NO}_2^-\operatorname{-N/}(\operatorname{L*h}),$
0-4	1,75	3,50
4-8	3,25	3,75
8-13	2,0	2,80
13-18	2,30	2,40
18-25	1,93	1,85
25-30	2,0	3,0
30-35	3,10	2,80
35-37	2,0	1,50

Πίνακας 10.8.1: Ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών

Ακόμη, παρατηρώντας τους ρυθμούς κατανάλωσης μετά την προσθήκη νιτρωδών, βλέπουμε ότι η κατανάλωση τους γίνεται πιο γρήγορα στην αρχή, ενώ στη συνέχεια μειώνεται μέχρι την επόμενη προσθήκη. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης. Οι ρυθμοί κατανάλωσης των νιτρωδών αμέσως μετά την προσθήκη και στη συνέχεια παρουσιάζονται στον πίνακα 10.8.2.

h	$mg NO_2 -N/(L*h)$	
0-1	7	
1-4	2,33	
4-6	5	
6-8	2,5	
8-12	3	
12-13	2	
13-16	3,33	
16-17	2	
20-22	4	
24-25	3	
25-27	3,5	
27-30	2,66	
30-32	4	
33-35	2	

Πίνακας 10.8.2 : Ρυθμοί κατανάλωσης νιτρωδών μετά την προσθήκη τους και στη συνέχεια.

Επίσης, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγή νιτρικών. Η αρχική τιμή των νιτρικών (39,36 mg/L, οφείλονταν σε προγενέστερη συσσώρευση των νιτρικών στον αντιδραστήρα). Η στοιχειομετρία της αντίδρασης από το παραπάνω διάγραμμα υπολογίζεται 1: 1,17: 0,27 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N), που είναι κοντά στη θεωρητική στοιχειομέτρια 1:1,32:0,26 (εξ.2.10).

Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός του ισοζυγίου του αζώτου κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης των 125 mg/L NO₂₋N, ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό του αέριου αζώτου που παράγεται.

Ισοζύγιο αζώτου:

Αρχικές συγκεντρώσεις N (NH4⁺ -N, NO2⁻ -N, NO3⁻ -N): 185,6 mg/L

Προσθήκη 120 mg/L (NO₂⁻-N)

Τελικές συγκεντρώσεις N (NH₄⁺ -N, NO₂⁻ -N, NO₃⁻ -N): 88,75 mg/L

(Αρχικές συγκεντρώσεις +προσθήκη) – τελικές= 217,11 mg/L

Άρα υπολογίζεται ότι για την κατανάλωση 125 mg/L NO₂₋N παράγεται κατά μέσο όρο 217 mg/L αέριο άζωτο.

Κεφάλαιο 11: Συζήτηση

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας επιχειρήθηκε μια ολοκληρωμένη βιβλιογραφική επισκόπηση της αναερόβιας οξείδωσης της αμμωνίας, καθώς και μία πιλοτική εφαρμογή της, σε συνθετικά υγρά απόβλητα με χαμηλή συγκέντρωση αμμωνιακών.

Η βιβλιογραφική επισκόπηση βασίστηκε κυρίως σε δημοσιεύσεις ερευνητικών εργασιών σε επιστημονικά περιοδικά. Η διεργασία anammox βρίσκεται ακόμα σε πρώιμο στάδιο, αφού επιβεβαιώθηκε πειραματικά το 1995 για πρώτη φορά. Για το λόγο αυτό, δεν υπάρχει και βιβλιογραφικό υλικό στα ελληνικά.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι από την πρώτη καταγεγραμμένη υπόθεση για την ύπαρξη αυτής της διεργασίας (Richards et.al, 1965) έως την πειραματική της επιβεβαίωση (Mulder et.al, 1995) μεσολάβησε μια χρονική περίοδος τριάντα χρόνων. Το γεγονός αυτό είναι εμφανές ότι οφείλεται στη διστακτικότητα της πλειοψηφίας των επιστημόνων να δεχτούν την επαναστατική γνώση και την ανατροπή των διαμορφωμένων απόψεων σχετικά με τον μεταβολισμό του αζώτου.

Επίσης, μία άκρως ενδιαφέρουσα παράμετρο αποτελεί η ιδιαιτερότητα των anammox βακτηρίων, καθώς παρουσιάζουν μοναδική δομή, εναλλακτικό μεταβολισμό και πολύ μικρό ρυθμό ανάπτυξης.

Όσον αφορά στην αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας, το κύριο ζητούμενο μέχρι στιγμής είναι η εφαρμογή της διεργασίας στην επεξεργασία λυμάτων, και κυρίως λυμάτων με υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών, καθώς φαίνεται να δίνει τη δυνατότητα εξοικονόμησης σημαντικού κόστους λειτουργίας. Ωστόσο, για την επίτευξη της διεργασίας θα πρέπει να ληφθούν σοβαρά υπόψη οι παράγοντες (όπως θερμοκρασία, pH κ.α.) που επηρεάζουν τη διεργασία, καθώς επίσης και οι εισερχόμενες συγκεντρώσεις (νιτρώδη, αμμωνιακά), που θα μπορούσαν να την επιβραδύνουν ή να την αναστείλουν.

Κύριο μειονέκτημα της μεθόδου αυτής αποτελεί το μεγάλο χρονικό διάστημα που απαιτείται για την εκκίνηση της λειτουργίας ενός anammox αντιδραστήρα, εξαιτίας του χρόνου που χρειάζεται για την καλλιέργεια και ανάπτυξη του απαιτούμενου πληθυσμού βακτηρίων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η πρώτη μεγάλης κλίμακας εφαρμογή στο Rotterdam, όπου απαιτήθηκαν 3.5 χρόνια για την καλλιέργεια και ανάπτυξη του απαιτούμενου πληθυσμού βακτηρίων (Abma et al., 2006). Το μειονέκτημα αυτό μπορεί να εξαλειφθεί αν εξασφαλιστεί ο εμβολιασμός βιομάζας από προϋπάρχουσα μονάδα, καθώς ο χρόνος αυτός θα μειωθεί δραματικά.

Με την πειραματική εφαρμογή που ακολουθήθηκε στο εργαστήριο επιβεβαιώσαμε τη δυνατότητα απομάκρυνσης αζώτου από υγρά απόβλητα με χαμηλή συγκέντρωση αμμωνιακών, με χρήση μικροοργανισμών anammox σε έναν Batch αντιδραστήρα. Τη δυνατότητα απομάκρυνσης αζώτου σε υγρά απόβλητα με χαμηλή συγκέντρωση αμμωνιακών και σε διάφορες θερμοκρασίες, έχουν επαληθεύσει πειραματικά και οι Ma et al., 2013, σε UASB αντιδραστήρα.

Κατά την πειραματική μας διεργασία ερευνήθηκε η απόδοση απομάκρυνσης αζώτου από συνθετικά απόβλητα με συγκέντρωση αμμωνιακών περίπου 50 mg/L, σε έναν αντιδραστήρα batch με τη διεργασία anammox. Αλλάζοντας τη συγκέντρωση των αμμωνιακών, και συγκεκριμένα αυξάνοντας την, την τελευταία ημέρα. Στις εφτά πρώτες πειραματικές διαδικασίες, η αρχική συγκέντρωση νιτρωδών και αμμωνιακών στο λύμα ήταν 20,00±0,1 mg/L και 50,00±4,00 mg/L αντίστοιχα. Στην τελευταία πειραματική διαδικασία η συγκέντρωση αμμωνιακών αυξήθηκε στα 126 mg/L. Οι συνθήκες που επικρατούσαν στον αντιδραστήρα ήταν οι βέλτιστες για τους anammox μικροοργανισμούς, T=30°C, pH=8,0 και DO=0 (Strous M. et al., 1998). Ο ρυθμός απομάκρυνσης του αζώτου υπολογίστηκε γύρω στα 0,13 kg N/m³d σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες. Άρα, παρατηρείται ότι η αύξηση των αμμωνιακών δεν επηρέασε το ρυθμό απομάκρυνσης του αζώτου.

Οι Ma et al. (2013) κατάφεραν σταδιακά να επιτύχουν ρυθμό απομάκρυνσης του αζώτου 5,13 kg N/m³d στους 30°C, σε ένα βιοαντιδραστήρα UASB σε λύματα με χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών. Ο ρυθμός αυτός είναι και ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης που έχει παρατηρηθεί σε λύματα χαμηλών συγκεντρώσεων (De Clippeleir et al., 2011; Hendrickx et al., 2012; Ma et al., 2011). Αυτή η καλή απόδοση που παρατηρήθηκε, υποδεικνύει ότι το άζωτο μπορεί να απομακρυνθεί αποτελεσματικά από τα λύματα σε έναν anammox βιοαντιδραστήρα.

Στη συνέχεια, άλλαξαν τις συνθήκες στον UASB αντιδραστήρα, συγκεκριμένα η θερμοκρασία μειώθηκε στους 16 °C. Παρατηρήθηκε ότι η διεργασία anammox συνέχισε να λαμβάνει χώρα. Ο ρυθμός απομάκρυνσης του αζώτου μειώθηκε στα 2,28 kg N/m³d.

Τα πειραματικά αποτελέσματα των Ma et al. σε βιοαντιδραστήρα UASB με λύμα χαμηλών συγκεντρώσεων αζώτου, μας δείχνουν ότι οι μικροοργανισμοί anammox μπορούν να αναπτυχθούν στους 30 °C, και μπορούν να διατηρήσουν τη δραστηριότητα τους στους 16 °C. Έτσι, για την εφαρμογή της διεργασίας σε μία εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων, θα μπορούσε η διεργασία να ξεκινάει να λαμβάνει χώρα το καλοκαίρι (οι μικροοργανισμοί θα είχαν τη δυνατότητα να αναπτυχθούν), ενώ το χειμώνα, όπου οι θερμοκρασίες θα ήταν χαμηλότερες, η δραστηριότητα των μικροοργανισμών θα διατηρούνταν.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραματικών μας διαδικασιών που παρουσιάζονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 9, οι ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών εμφάνισαν ταχύτερο ρυθμό κατά την έναρξη του κύκλου, ενώ στη συνέχεια η κατανάλωση τους γίνεται με σχετικά πιο αργούς ρυθμούς.

Ακόμα, από τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας παρατηρήσαμε ότι γενικά ο ρυθμός είναι ταχύτερος μετά την προσθήκη νιτρωδών. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης, με ταχύτερους ρυθμούς όταν οι συγκεντρώσεις των νιτρωδών είναι κοντά στα 20 mg NO_2^- -N/ (L*h).

Επιπλέον, η παραγωγή νιτρικών αποδείχθηκε να είναι σε χαμηλότερες τιμές από τις θεωρητικές τιμές σε μερικές δοκιμές. Τέλος, η στοιχειομετρική αναλογία NO₃ - N /NH₄⁺ - N ήταν μεταξύ 0,17 έως 0,20 . Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί σε ετερότροφη απονιτροποίηση , όπως αναφέρεται από τους Van de Graaff et al. 2010.

Η στοιχειομετρία που παρατηρήθηκε και στις 8 πειραματικές διαδικασίες υπολογίστηκε από 1: 1,17: 0,27 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N) έως 1: 1,55: 0,28 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N), που είναι κοντά στη θεωρητική 1:1.32:0.26 (NH₄⁺-N : NO₂⁻-N : NO₃⁻-N), σύμφωνα με τους Van Dongen et al, 2002.

Μέχρι στιγμής η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας εφαρμόζεται κυρίως σε λύματα με υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακών, εξαιτίας της μικρότερης αναλογίας COD/N-NH₃, που έχουν τα συγκεκριμένα λύματα. Σύμφωνα με τους Gikas et al. (2013) ακολουθώντας συγκεκριμένες διεργασίες, αρχικά το λύμα διέρχεται από μία μονάδα microscreen και στη συνέχεια από μία μονάδα αμμόφιλτρου, επιτυγχάνεται μείωση του COD, χωρίς να επηρεάζεται η αρχική συγκέντρωση αζώτου των λυμάτων, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνουμε τη μείωση της αναλογίας COD/N-NH₃ σε λύματα με χαμηλές αρχικές συγκεντρώσεις αμμωνιακών και άρα να καθίσται πιο

εφικτή η εφαρμογή της διεργασίας anammox. Αυτό το μοντέλο θα μπορούσε ακολουθηθεί και σε μελλοντική έρευνα σε πραγματικά αστικό λύμα στο εργαστήριο.

Κεφάλαιο 12: Συμπεράσματα- προτάσεις

Με την πειραματική εφαρμογή επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα απομάκρυνσης αζώτου από υγρά απόβλητα με χαμηλή συγκέντρωση αμμωνιακών, με χρήση μικροοργανισμών anammox.

Η στοιχειομετρία που παρατηρήθηκε ήταν κοντά στη θεωρητική 1:1.32:0.26 (NH4+- N : NO2--N : NO3--N).

Οι ρυθμοί κατανάλωσης αμμωνιακών και νιτρωδών εμφάνισαν ταχύτερο ρυθμό κατά την έναρξη του κύκλου, ενώ στη συνέχεια η κατανάλωση τους γίνεται με σχετικά πιο αργούς ρυθμούς.

Από τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας παρατηρήσαμε ότι ο ρυθμός είναι ταχύτερος μετά την προσθήκη νιτρωδών. Άρα, παρατηρείται μία επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον ρυθμό τη αντίδρασης, με ταχύτερους ρυθμούς όταν οι συγκεντρώσεις των νιτρωδών είναι κοντά στα 20 mg NO2- -N/ (L*h).

Επιπλέον, η παραγωγή νιτρικών αποδείχθηκε να είναι σε χαμηλότερες τιμές από τις θεωρητικές τιμές σε μερικές δοκιμές.

Για την περαιτέρω εξέλιξη της μεθόδου προκειμένου να βελτιωθεί και να κερδίσει την απαιτούμενη αξιοπιστία ώστε να εφαρμοστεί ευρέως, όπως είναι προφανές, είναι απαραίτητη η μελλοντική έρευνα.

Αρχικά, σε πρώτη φάση ενδιαφέρον θα ήταν να διερευνηθεί η επίδραση των διάφορων παραγόντων (Τ, pH, COD κτλ) στους μικροοργανισμούς anammox και στην ίδια τη διεργασία.

Επίσης, σημαντικό θα ήταν να συνεχιστεί η έρευνα σε πραγματικά πλέον λύματα, και κυρίως σε αστικά, στα οποία δεν έχει εφαρμοστεί επαρκώς ακόμη. Αρχικά, θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε κάποια μικρής κλίμακας μονάδα και στη συνέχεια, έχοντας αποκτήσει τα κατάλληλα εφόδια, να συνεχιστεί σε κάποια μεγαλύτερη πιλοτική εγκατάσταση.

Βιβλιογραφία

- Abma, W.R., Schultz, C.E., Mulder, J.W., Van der Star, W.R.L., Strous, M., Tokutomi, T. and van Loosdrecht, M.C.M. Full-scale granular sludge anammox process. Water Sci. Technol., 55(8): 27–33, 2007.
- Ahn, J.H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. Process Biochemistry, 41 (8), 1709-1721, 2006.
- Ahn, Y.H. and Choi, H.C. Autotrophic nitrogen removal from sludge digester liquids in upflow sludge bed reactor with external aeration, Process Biochem 41:1945–1950, 2006.
- Arrigo, K.R. Marine microorganisms and global nutrient cycles, Nature 437, 349–355, 2005.
- Bagchi, S., Biswas, R. and Nandy, T. Alkalinity and dissolved oxygen as controlling parameters for ammonia removal through partial nitritation and ANAMMOX in a single-stage bioreactor, 26(8):1309–1318, 2010.
- Brandes, J.A. and Devol, A.H. A global marine-fixed nitrogen isotopic budget: Implications for Holocene nitrogen cycling. Global Biogeochem Cycles 16:1120–113, 2007.
- Brandes, J.A., Dapena-Mora, A., Fern'andez, I., Camposa, J.L., Mosquera-Corral, A.R., M'endeza and Jetten, M.S.M. Evaluation of activity and inhibition effects on anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production, Enzyme and Microbial Technology 40,859-865, 2007.
- Broda, E. Two kinds of lithotrophs missing in nature. Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie 17:491–493, 1997.
- Chamchoi, N. and Nitisoravut, S. Anammox enrichment from different conventional sludges, Chemosphere 66:2225–2232, 2007.
- Dalsgaard, T., Canfield, D.E., Petersen, J., Thamdrup, B. and Acuna-Gonzalez, J. N2 production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica. Nature 422:606–608, 2003.
- Dapena-Mora, A., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Jetten, M.S.M. and Méndez, R. Sta-bility of the ANAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR. Journal of Biotech., 110, 159-170, 2004.

- Dapena-Mora, A., Fernαndez, J., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Mundez, R. and Jetten, M.S.M. Evaluation of activity and inhibition effects on anammox process and batch tests based on the nitrogen gas production. Enz. Microb. Technol. 40,859–865, 2007.
- De Clippeleir, H., Yan, X.G., Verstraete, W., Vlaeminck, S.E. OLAND is feasibleto treat sewage-like nitrogen concentrations at low hydraulic residence times. Appl. Microbiol. Biot. 90 (4), 1537–1545, 2011.
- Dosta, J., Fern'andez, I., V'azquez-Pad'in, J.R., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Mata-A' lvarez, J. and Me'ndez, R. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. Journal of Hazardous Materials 154, 688–693, 2007.
- Egli, K., Fanger, U. and Alvarez, P.J.J. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate, Arch. Microbiol. 175, 198–207, 2001.
- Egli, K., Bosshard, F., Werlen, C., Lais, P., Siegrist, H., Zehnder, A.J.B. and van der Meer, J.R. Microbial Composition and Structure of a Rotating Biological Contactor Biofilm Treating Ammoniu-Rich Wastewater without Organic Carbon. Microbial Ecology 45, 419 – 432, 2003
- Fux, C., Marchesi, V., Brunner, I. and Siegrist, H. Anaerobic ammonium oxidation of ammonium-rich waste streams in fixed-bed reactors, Water Sci.Technol. 49 (11/12), 77–82, 2004.
- Ganigue, R., Lo'pez, H., Balaguer, M.D. and Colprim, J. Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban landfill leachates. Water Res 41:3317–3326, 2007.
- Gikas, P. and Stedman, K. Novel wastewater treatment configuration for zero energy requirements wastewater treatment plants. The Third Asian Conference on Sustainability, Energy and the Environment, June 6-9 2013, Osaka, Japan.
- Gong, Z., Yang, F., Liu, S., Bao, H., Hu, S. and Furukawa, K. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve singlestage autotrophic nitrogen removal based on anammox. Chemosphere 69:776–784, 2007.
- Grady, C.P., Daigger, G.T. and Lim, H.C. BiologicalWastewater Treatment, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, 1999.

- Hamersley, M.R., Lavik, G., Woebken, D., Rattray, J.E., Lam, P., Hopmans, E.C., Sinninghe Damste, J.S., Kruger, S., Graco, M., Gutierrez, D. and Kuypers, M.M.M. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone. Limnol Oceanogr 52:923–933, 2007.
- Guven, A., Dapena, B., Kartal, M.C., Schmid, B., Maas, K., Van de Pas Schoonen, S., Sozen, R., Mendez, H.J.M., Op den Camp, M.S.M., Jetten, M., Strous, I. and Schmidt, I. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 71, 1066– 1071, 2005.
- Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H.-C. and Jørgensen, S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the Environment – a review. Chemosphere, 36, 357-393, 1998.
- Hendrickx, T.L.G., Wang, Y., Kampman, C., Zeeman, G., Temmink, H., Buisman, C.J.N. Autotrophic nitrogen removal from low strength waste water at low temperature. Water Res. 46 (7), 2187–2193, 2012.
- Huang, C.H., Renew, J. E., Pinkston, K. and Sedlak, D. L. Occurrence and fate of antibiotics compounds in municipal wastewater and animal waste. In: Proceedings of the "74th Water Environment Federation Annual Conference and Exposition (WEFTEC.)", 13- 17 October 2001, Atlanta, USA.
- Huston, W. M., Harhangi, H.R., Leech, A.P., Butler, C.S., Jetten, M.S.M., Op den Camp, H.J.M and Moir, J.W.B. Expression and characterization of a major c-type cytochrome encoded by gene kustc0563 from Kuenenia stuttgartiensis as a recombinant protein in Escherichia coli. Protein Expr. Purif. 51:28–33, 2007.
- Imajo, U., Tokutomi, T. and Furukawa, K. Granulation of Anammox microorganisms in up-flow reactors. Water Sci Technol 49(5–6):155–163, 2004.
- Jetten, M.S.M., Strous, M., van de Pas-Schoonen, K.T., Schalk, J., van Dongen, U.G.J.M., van de Graaf, A.A., Logemann, S., Muyzer, G., van Loosdrecht, M.C.M. and Kuenene, J.G. The anaerobic oxidation of ammonium. FEMS Microbiol Rev 22:421–437, 1999.

- Jetten, M.S.M. The microbial nitrogen cycle Environmental Microbiology 10(11), 2903–2909, 2008.
- Jetten, M.S.M., Wagner, M., Fuerst, J., van Loosdrecht, M.C.M., Kuenen, G. and Strous, M. Microbiology and application of anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. Current Opinion in Biotechnology, 12, 283-288, 2001.
- Jetten, M.S.M., Sliekers, A.O. and Kuypers, M.M.M. Anaerobic ammonium oxidation by marine and fresh water plactomycete like bacteria. Appl.Microbiol.Biotechnol. 63 (2), 107-114, 2003.
- Jianlong, W. and Jing, K. The characteristics of anaerobic, ammonium oxidation (anammox) by granular sludge from anEGSB reactor. Process Biochem 40:1973–1978, 2005.
- Jung, J.Y., Kang, S.H, Chung, Y.C. and Ahn, D.H. Factors affecting the activity of anammox bacteria during start up in the continuous culture reactor,Water Sci. Technol. 55 (1/2) 459–468, 2007.
- Kadlec, R.H. and Knight, R.L. Treatment Wetlands, Lewis Publishers, Boca Raton, La Florida, 373–440, 1996.
- Kalyuzhnyi, S., Gladchenko, M., Mulder, A. and Versprille, B. DEAMOX-New biological nitrogen removal process based on anaerobic ammonia oxidation coupled to sulphidedriven conversion of nitrate into nitrite. Water Research, 40, 3637-3645, 2006.
- Kartal, B., Kuypers, M.M.M., Lavik, G., Schalk, J., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M. and Strous, M. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium. Environ Microbiol 9:635–642, 2007a.
- Kartal, B., Rattray, J., van Niftrik, L.A., van de Vossenberg, J., Schmid, M.C., Webb, R.I., Schouten, S., Fuerst, J.A., Sinninghe Damste, J., Jetten, M.S.M. and Strous, M. Candidatus "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. Syst Appl Microbiol 30:39–49, 2007b.
- Kartal, B., Geerts, W. and Jetten, M.S. Cultivation, Detection, and Ecophysiology of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria, Methods in Enzymology 108, 486-489, 2008.

- Kuai, L. and Verstraete, W., Ammonium removal by the oxygenlimited autotrophic nitrification–denitrification system. Appl Environ Microbiol 64:4500-4506, 1998.
- Kuai, L. and Verstraete, W. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrifi-cation-denitrification system. Appl. Environ. Microbiol., 64(11), 4500-4506, 1980.
- Kuypers, M.M.M., Sliekers, A.O., Lavik, G., Schmid, M., Jorgensen, B.B., Kuenen, J.G., Sinninghe Damste, J.S., Strous, M. and Jetten, M.S.M. Anaerobic ammonium oxidation by Anammox bacteria in the Black Sea. Nature 422:608–611, 2003.
- Li, B. and Irvin, S. The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification and denitrification in a sequencing batch reactor (SBR). Biochem Eng J 34:248–255, 2007.
- Dexiang, L., Xiaoming, L., Yang, Q., Zeng, G., Guo, L. and Yue, X. Effect of inorganic carbon on anaerobic ammonium oxidation enriched in sequencing batch reactor. Journal of Environmental Sciences 20, 940–944, 2008.
- Liu, S., Yang, F., Gong, Z., Meng, F., Chen, H., Xue, Y. and Furukawa K. Application of anaerobic ammonium-oxidizing consortium to achieve completely autotrophic ammonium and sulfate removal. Bioresour Technol 99(15):6817–6825, 2008.
- Ma, B., Zhang, S., Zhang, L., Yi, P., Wang, J., Wang, S., Peng, Y. The feasibility of a two-stage autotrophic nitrogen removal process treating sewage. Bioresour. Technol. 102 (17), 8331–8334, 2011.
- Ma, B., Peng, Y., Zhang, S., Wang, J., Gan, Y., Chang, J., Wang, S. and Zhu, G. Performance of anammox UASB reactor treating low strength wastewater under moderate and low temperatures. Bioresource Technology 129, 606–611, 2013.
- Makuch, A., Mędrzycka, K. and Płaza, E. Investigation of sulphonamides effect on anammox process, 2007.
- Molinuevo, B., Garcia, M.C., Karakashev, D. and Angelidaki, E. Anammox for ammonia removal from pig manure effluents: Effect of organic matter content on process performance Biores. Technol. 100 2171-2175, 2009.
- Metcalf & Eddy, Μηχανική Υγρών Αποβλήτων, επεξεργασία και επαναχρησιμοποίηση, Τζίολα, 4, Ελλάδα 2003.

- Mulder, A., van de Graaf, A.A., Robertson, L.A. and Kuenen, J.G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiol. Ecol. 1995, 16 (3), 177–184.
- Onay, T.T. and Pohland, F.G., Nitrogen and sulfate attenuation in simulated landfill bioreactors. Water Sci. Technol. 44(2–3), 367–372, 2001.
- Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M. and Strous, M. "Anammox" in: Biology of the nitrogen cycle. Edited by Bothe H., Ferguson S.J. Newton W.E., Elsevier B. V., Amsterdam, Netherlands, 245-262, 2007.
- Paredes, D., Kuschk, P., Stange, F., Müller, R. A. and Köser, H. Model experiments on improving nitrogen removal in laboratory scale subsurface constructed wetlands by enhancing the anaerobic ammonia oxidation. Water Science and Technology, 56 (3), 145 – 150, 2007a.
- Paredes, D., Kuschk, P., Mbwette, T.S.A., Stange, F., Mu⁻⁻ ller, R.A. and Ko⁻⁻ser, H. New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment—a review, Eng Life Sci 7(1):13–25, 2007b.
- Penton, C.R. and Tiedje, J.M. Molecular evidence for the broad distribution of anaerobic ammonium- oxidizing bacteria in freshwater and marine sediments. Appl Environ Microbiol 72:6829–6832, 2006.
- Pynaert, K., Wyffels, S., Sprengers, R., Boeckx, P., Van Cleemput, O. and Verstraete, W. Oxygen-limited nitrogen removal in a lab-scale rotating biological contractor treating an ammonium-rich wastewater. Wat. Sci. Tech., 45(10), 357-363, 2002.
- Pynaert, K., Smets, B.F., Beheydt, D. and Verstraete, W.Start-up of autotrophic nitrogen removal reactors via sequential biocatalyst addition, Environ Sci Technol 38(4):1228–1235, 2004.
- Rattray, J.E., van de Vossenberg, J., Hopmans, E.C., Kartal, B., van Niftrik, L., Rijpstra, W.I.C., Strous, M., Jetten, M.S.M., Schouten, S. and Damste, J.S.S. Ladderane lipid distribution in four genera of anammox bacteria. Arch Microbiol 190:51–66, 2008.
- Richards, F.A., Riley, J.P. and Skirrow, G. Anoxic basins and fjords. Chemical oceanography, vol 1. Academic Press, London, 611–645, 1965.

- Ryan Penton, C. Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox), Soil Biology 16, 149-158, 2009.
- Schalk, J., Oustad, H., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. The anaerobic oxidation of hydrazine: a novel reaction in microbial nitrogen metabolism. FEMS Microbiology Letters, 158, 61-67, 1998.
- Schmid, M., Walsh, K., Webb, R., Rijpstra, W.I.C., van de PasSchoonen, K., Verbruggen, M.J., Hill, T., Moffett, B., Fuerst, J., Schouten, S., Damste, J.S.S., Harris, J., Shaw, P., Jetten, M. and Strous, M. Candidatus "Scalindua brodae", sp nov., Candidatus "Scalindua wagneri", sp nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. Systematic and Applied Microbiology 26 (4), 529:538, 2003.
- Schmidt, I., Sliekers, O., Schmid, M., Bock, E., Fuerst, J., Kuenen, J., Jetten, M., and Strous, M., New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. FEMS Microbiol. Rev. 27, 481–492, 2003.
- Schmidt, J.E., Batstone, D.J. and Angelidaki, I. Improved nitrogen removal in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors by incorporation of Anammox bacteria into the granular sludge. Water Sci Technol 49:69–76, 2004.
- Schmid, M.C., Maas, B., Dapena, A., van de Pas-Schoonen, K., van de Vossenberg, J., Kartal, B., van Niftrik, L., Schmidt, I., Cirpus, I., Kuenen, J.G., Wagner, M., Sinninghe Damste, J.S., Kuypers, M., Revsbech, P., Mendez, R., Jetten, M.S.M. and Strous, M. Biomarkers for the in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria. Appl Environ Microbiol 71:1677–1684, 2005.
- Schmid, M.C., Risgaard-Petersen, N., van de Vossenberg, J., Kuypers, M.M.M., Lavik, G. and Petersen, J. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine environments: widespread occurrence but low diversity. Environ Microbiol 9: 1476–1486, 2007.
- Shimamura, M., Nishiyama, T., Shigetomo, H., Toyomoto, T., Kawahara, Y., Furukawa, K., and Fujii, T. Isolation of a multiheme protein with features of a

hydrazine-oxidizing enzyme from an anaerobic ammonium-oxidizing enrichment culture. Appl. Environ. Microbiol. 78:1065–1072, 2007.

- Sinninghe Damste, J. S., Strous, M., Rijpstra, W.I.C., Hopmans, E.C., Geenevasen, J.A.J., Van Duin, A.C.T., Van Niftrik, L.A. and Jetten, M.S.M. Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane. Nature 419, 708–712, 2002.
- Sinninghe Damste, J.S., Rijpstra, W.I.C., Schouten, S., Fuerst, J.A., Jetten, M.S.M. and Strous, M. The occurrence of hopanoids in planctomycetes: Implications for the sedimentary biomarker record. Org Geochem 35:561–566, 2004.
- Sliekers, A.O., Derwort, N., Gomez, J.L., Strous, M., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. Water Res 36:2475–2482, 2002.
- Strous, M., van Gerven, E., Zheng, P., Kuenen, JG. and Jetten, M.S.M. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) Process in different reactor configurations. Water Res 31:1955–1962. 1997.
- Strous, M., Pelletier, E., Mangenot, S., Rattei, T., Lehner, A., Taylor, M.W., Horn, M., Daims, H., Bartol-Mavel, D., Wincker, P., Barbe, V. and Fonknechten, N. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. Nature 440, 790–794., 2006.
- Strous, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H.M., Logemann, S., Muyzer, G., vandePas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. Missing lithotroph identified as new planctomycete, Nature 400 (6743), 446:449, 1999.
- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms, Appl Microbiol Biotechnol 50:589– 596. 1998.
- Szatkowska, B., Cema, G., Plaza, E., Trela, J. and Hultman, B. One-stage system with partial nitritation and Anammox processes in moving-bed biofilm reactor. Water Science and Technology,55 (8-9), 19-26., 2007a.Swatkowska Beata, PhD Thesis, Performance and control of biofilm systems with partial nitritation and Anammox for supernatant treatment. 2007, TRITA-LWR PhD

Thesis 1035, ISSN 1650-8602, ISRN KTH/LWR/PHD 1035-SE, ISBN 978-91-7178-729-3

- Thamdrup, B. and Dalsgaard, T. Production of N2 through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments. Appl Environ Microbiol 68:1312–1318, 2002.
- Third, KA., Sliekers, AO., Kuenen, JG. and Jetten, M.S.M. The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: interaction and competition between three groups of bacteria, Syst Appl Microbiol 24:588–596, 2001.
- Third, K.A. Oxygen management for optimisation of nitrogen removal in a sequencing batch reactor. PhD Thesis, School of Biological Sciences and Biotechnology, Murdoch University, Western Australia, 2003.
- Toh, S.K., Webb, R.I. and Ashbolt, N.J. Enrichment of the autotrophic anaerobic ammonium-oxidizing consortia from various wastewaters. Microb Ecol 43:154–167, 2002.
- Trimmer, M., Risgaard-Petersen, N., Nicholls, J.C. and Engstrom, P. Direct measurement of anaerobic ammonium oxidation (anammox) and denitrification in intact sediment cores. Mar Ecol Prog Ser 326:37–47, 2006.
- Tsushima, I., Kindaichi, T. and Okabe, S. Quantification of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in enrichment cultures by real-time PCR. Water Res 41:785–794, 2007.
- Vadivelu, VM., Keller, J. and Yuan, ZG. Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched Nitrosomonas culture, Biotechnol Bioeng 95:830–839. 2006.
- Van de Graaf, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M. and Kuenen, J.G. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. Microbiology (UK) ;142:2187–96, 1996.
- Van de Graaf, A.A., Mulder, A., de Bruijn, P., Jetten, M.S.M., Robertson, L.A. and Kuenen, J.G. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. Applied and Environmental Microbiology;61(4):1246–51, 1995

- Van der Star, J., van de Graaf, J., Karta, IB., Picioreanu, C., Jetten, M. and Loosdrecht, V. Response of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria to hydroxylamine. Appl. Environ. Microbiol. 74, 4417–4426, 2008.
- Van Dongen, U., Jetten, M.S.M. and Van Loosdrecht, M.C.M. The SHARON-ANAMMOX process for treatment of ammonium rich wastewater, Water Sci. Technol. 44 (1), 153–160, 2001.
- Van Loosdrecht, M.C.M. and Salem, S. Biological treatment of sludge digester liquids. In: Proceedings of the IWA Specialized Conference "Nutrient Management in Wastewater Treatment Proc-esses and Recycle Streams", 19-21 September 2005, Kraków, Poland, 13-22.
- Van Niftrik, L., Willie, J.C.Geerts, Elly, G., van Donselaar, Bruno, M. Humbel Richard, I. Webb, John, A. Fuerst, Arie, J. Verkleij, M., Jetten, M.S., and Strous, M. Linking Ultrastructure and Function in Four Genera of Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria: Cell Plan, Glycogen Storage, and Localization of Cytochrome c Proteins. JOURNAL OF BACTERIOLOGY 190 (2) 708-717, 2008.
- Van Niftrik, L. A., Fuerst, J. A., Sinninghe Damste, J. S., Kuenen, J. G., Jetten, M.S.M. and Strous, M. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 233:7–13, 2004.
- Verstraete, W. and Philips, S. Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts. Environmental Pollution, 102, S1, 717-726, 1998.
- Vlaeminck, S.E., Terada, A., Smets, B.F., van der Linden, D., Boon, N., Verstraete, W. and Carballa, M. Nitrogen removal from digested black water by one-stage partial nitritation and ANAMMOX. Environ Sci Technol 43:5035–5041, 2009.
- Waki, M., Tokutomi, T., Yokoyama, H. and Tanaka, Y. Nitrogen removal from animal waste treatment water by anammox enrichment. Biores. Technol. 98, 2775–2780, 2007.
- Yang, Q., Jia, Z., Liu, R. and Chen, J. Molecular diversity and Anammox activity of novel Planctomycete-like bacteria in the wastewater treatment system of a full-scale alcohol manufacturing plant. Process Biochem 42:180– 187, 2007.
- Yang, Y., Zuo, J.E., Shen, P. and Gu, X.S. Influence of temperature, pH value and organic substance on activity of ANAMMOX sludge, Huan Jing Ke Xue 27 (4) 691–695, 2006.
- Jiachun, Y., Zhang, L., Fukuzaki, Y., Hira, D. and Furukawa, K. High-rate nitrogen removal by the Anammox process with a sufficient inorganic carbon source. Bioresource Technology 101, 9471–9478, 2010.
- Zhang, H.G. and Zhou, S.Q. Treating leachate mixture with anaerobic ammonium oxidation technology. Journal of Central South University of Technology, 13 (6), 663 – 667, 2007.
- Τσώνης, Σ., Επεξεργασία λυμάτων, Εκδόσεις Παπασωτηρίου, Αθήνα 2004.

ПАРАРТНМА І

Στο παράρτημα Ι παρουσιάζονται οι πίνακες με τα αποτελέσματα των πειραματικών διαδικασιών.

31-Ιαν				
h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)	
0	50	20		
1	45	15	34	
2	43	10		
3	40,8	4		
3	40,8	20		
4	38,4	20	35	
5	36,2	15		
6	34,1	12		
7	32,8	10		
8	30,4	9		
8	30,4	20		
9	27,8	15		
10	25,2	11		
11	22	10		
12	21,02	5	40	
12	21,02	20		
13	18	15		

2-Φεβ				
h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)	
0	51,2	20	11,6	
1	47	9		
2	45,4	5		
2	45,4	20		
3	42	17	11,76	
4	40	11		
5	36,8	5		
5	36,8	20		
6	34,2	20	19	
7	32,2	15		
8	29,8	13		
9	27,8	12		
10	26,2	10		
11	24,8	10		
12	23,6	9		
13	21,8	5		
13	21,8	20		
14	18,6	16	22	
15	15	12		
16	13,4	9		

5-Φεβ				
h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)	
0	53	20	23	
1	48,6	14		
2	47	9		
3	45	6	28	
3	45	15		
4	42,8	16		
5	39,4	11		
6	37	9		
7	35	7	31,8	
8	32,4	4		
8	32,4	20		
9	30	15		
10	28,6	12		
11	26,4	9	36	
12	24,8	7		
13	21,6	5		
13	21,6	20		
14	19,8	16		
15	18,6	14		
16	15,8	11	38,4	
17	13,2	8		

6-Φεβ				
h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)	
0	52	20	40,8	
1	50	15		
2	47,8	12		
3	45,8	7		
3	45,8	20		
4	43,6	17		
5	41	14	42	
6	39,6	12		
7	37,8	11		
8	35,8	9		
9	34,2	6		
9	34,2	20		
10	31,4	16		
11	28,6	12		
12	26,8	10		
13	24,8	9		
14	21,6	7	46	
14	21,6	20		
15	19,6	14		
16	15,8	11		

h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)
0	49	20	18
2	44	7	
2	44	20	
6		8	
7	31,4	3	22,7
7	31,4	20	
12	21,8	5	
12	21,8	20	
16	13,2	8	

h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)
0	52	20	28
2	45,4	7	
2	45,4	20	
6		9	
7	34,6	5	30,4
7	34,6	20	
12	23,6	3	35,6
12	23,6	20	
16	15,4	9	

h	Αμμωνιακά (mg/L)	Νιτρώδη (mg/L)	Νιτρικά (mg/L)
0	54,2	20	36
2	49	7	36,8
2	49	20	
4	44,6	12	
6	41,6	9	
7	39,8	6	39,6
7	39,8	20	
9	36,4	13	9
11	30,4	9	41,2
12	28,2	5	
12	28,2	20	
14	22,6	16	
16	19,6	10	42,8

h	Αμμωνιακά	Νιτρώδη	Νιτρικά
0	126,5	20	39,36
1	124,5	13	
2	124,5	10	
3	121	8	
4	119,5	6	41,2
4	119,5	20	
5	117	14	
6	114	10	
7	110,5	9	
8	106,5	5	
8	106,5	20	
9	104	17	
10	101,5	14	
11	100	11	
12	98,5	8	44,4
13	96,5	6	
13	96,5	20	
14	93,5	16	
15	90,5	14	
16	88	10	
17	85	8	46,8
20	79	20	
21	75,5	15	
22	72,5	12	
23	70	11	
24	68	10	
25	65,5	7	53,6
25	65,5	20	
26	63	16	
27	60,5	13	

28	58,5	11	
29	56	8	
30	55,5	5	
30	55,5	20	
31	52,5	15	
32	50	12	
33	47	10	59
34	44	7	
35	40	6	
35	40	20	
36	36	17	
40	23	20	63
41	19,75	15	
42	17,25	13	
43	13,75	10	65