

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

**Biologické postupy čištění odpadních vod založené na
cíleném hromadění dusitanů**

doktorská disertační práce

Autor: **Ing. Mgr. Lukáš Pacek**
Školitel: **prof. Ing. Jiří Balík, CSc., dr. h. c.**
Konzultant: **Ing. Pavel Švehla, Ph.D.**

Praha 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma **Biologické postupy čištění odpadních vod založené na cíleném hromadění dusitanů** vypracoval pod vedením svých školitelů samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato disertační práce nebyla využita k získání jiného, či stejného akademického titulu.

V Praze, dne 26. 8. 2014

.....
Ing. Mgr. Lukáš Páček

Poděkování

V první řadě děkuji svým školitelům, prof. Ing. Jiřímu Balíkovi, CSc. a Ing. Pavlu Švehlovi, Ph.D., za odborné vedení, podporu a pomoc během mého doktorského studia. Dále bych rád poděkoval za spolupráci svým kolegům, doktorandům, Ing. Heleně Hrnčířové a Ing. Josefu Radechovskému. Poděkování patří i celé Katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin za umožnění celého studia a s ním spojeného vědeckého výzkumu.

Obsah

1	Přehled o současném stavu	6
1.1	Úvod	6
1.2	Biologické postupy založené na cíleném hromadění dusitanů	8
1.3	Faktory ovlivňující zastoupení oxidovaných forem dusíku	9
1.3.1	Teplota a stáří kalu	9
1.3.2	Hodnota pH	10
1.3.3	Toxické formy dusíku	11
1.3.4	Koncentrace rozpuštěného kyslíku	11
1.3.5	Další faktory podporující akumulaci dusitanů	13
1.4	Zkrácená nitrifikace odpadních vod s vysokou koncentrací N-amon	15
1.5	Zkrácená nitrifikace odpadních vod s nízkou koncentrací N-amon	15
1.6	Zpracování nitrifikačního reaktoru na úpravu koncentrované odpadní vody	16
1.7	Shrnutí současného stavu	17
2	Vědecké hypotézy a cíle práce	19
2.1	Hypotézy	19
2.2	Cíle	19
3	Materiál a metody	20
3.1	Metodika provozu modelových reaktorů	21
3.1.1	Provoz CSTR systémů	21
3.1.2	Provoz SBR systémů	21
3.2	Analytické metody	22
3.3	Analýza FISH	23
3.4	Charakter čištěné odpadní vody	24
4	Výsledky a diskuze	25
4.1	Publikované výsledky	25
4.1.1	Publikace č. 1	25
4.1.2	Publikace č. 2	25
4.1.3	Publikace č. 3	26
4.1.4	Publikace č. 4	26
4.1.5	Publikace č. 5	27
4.1.6	Publikace č. 6	27

4.2	Shrnutí výsledků a sumární diskuze	27
4.2.1	Iniciace zkrácené nitrifikace.....	27
4.2.2	Udržení dlouhodobé zkrácené nitrifikace.....	35
4.2.3	Účinnost odstranění N-amon.....	39
4.2.4	Environmentální rizika zkrácené nitrifikace	40
5	Závěry a doporučení.....	41
5.1	Závěry	41
5.2	Doporučení	42
6	Literatura.....	44
7	Přílohy.....	52
7.1	Publikace č. 1.....	53
7.2	Publikace č. 2.....	65
7.3	Publikace č. 3.....	74
7.4	Publikace č. 4.....	80
7.5	Publikace č. 5.....	86
7.6	Publikace č. 6.....	91

1 Přehled o současném stavu

1.1 Úvod

Minerální sloučeniny dusíku obsažené ve vodě jsou nepostradatelné pro tvorbu biomasy primárních producentů. Při nadměrné koncentraci se však dusík stává kontaminantem způsobujícím eutrofizaci vodních ploch a v některých svých formách (NH_3 , NO_2^- , HNO_2) vykazuje vysokou toxicitu. Vyšší zatížení vodních ekosystémů amoniakálním dusíkem (N-amon - suma disociovaného NH_4^+ a nedisociovaného NH_3) také může způsobit pokles koncentrace kyslíku, který je spotřebováván na nitrifikaci N-amon. Do čistíren odpadních vod (ČOV) se dusík dostává v odpadní vodě (OV) ve vysokých koncentracích zejména ve formě organické frakce rozpuštěných i nerozpuštěných látek a amoniakálního dusíku, což je primární produkt rozkladu organických dusíkatých látek (Pitter, 1999). Biologické odstraňování dusíku z odpadních vod pak probíhá při využití procesu nitrifikace/denitrifikace zajišťovaného v první fázi činností autotrofních a následně heterotrofních bakterií. Nejdříve je dusík v aerobních podmínkách chemolitotrofními nitrifikačními bakteriemi rodů *Nitrosomonas*, *Nitrosobacter*, *Nitrosococcus* a dalších oxidován na N-NO_2^- , následně bakteriemi rodů *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* ad. dále převáděn na N-NO_3^- (Chudoba et al., 1991; Grey, 2004). Vzhledem k tomu, že rodů bakterií schopných jedné, či druhé fáze nitrifikace, je celá řada, se pro technologické účely dělí do dvou základních skupin – Ammonium Oxidizing Bacteria (AOB) – bakterie prvního stupně nitrifikace a Nitrite Oxidizing Bacteria (NOB) – bakterie druhého stupně nitrifikace.

Při denitrifikaci je následně vzniklý N-NO_3^- v anoxických podmínkách a za přítomnosti organické hmoty redukován prostřednictvím anaerobní respirace na N_2 , případně N_2O . Tento proces je zajišťován pestrou škálou heterotrofních, fakultativně anaerobních bakterií jako např. *Escherichia*, *Shigella*, *Serratia* či *Proteus* (Chudoba et al., 1991; Grey, 2004).

Rychlost růstu nitrifikačních bakterií je řádově pomalejší než růst heterotrofních bakterií odstraňujících organické znečištění (Chudoba et al., 1991). Omezená rychlost nitrifikace spolu s potřebou vysoké účinnosti odstranění dusíkatého znečištění jsou hlavním faktorem limitujícím rychlost čištění OV a definujícím minimální objemy aktivačních nádrží (Grey, 2004; Švehla et Jeníček, 2005). Odstraňování dusíkatého znečištění konvenčním procesem nitrifikace/denitrifikace (N/D) je v nitrifikační fázi spojeno také s velkou spotřebou

kyslíku (stechiometricky připadá na 1 gram zoxidovaného dusíku 4,57 g kyslíku), což dále navyšuje nároky na energii nutnou k zajištění dostatečně intenzivní aerace aerobní části aktivační nádrže. Pro efektivní průběh následné denitrifikace je nutné zajistit dostatek dobře rozložitelné organické hmoty, obvykle se udává poměr C:N 4 – 5:1 (Chudoba et al, 1991). Pokud není v čištěné odpadní vodě dostatek pro mikroorganismy dostupných organických látek, je nutné je pro zvýšení účinnosti denitrifikace dodávat externě, obvykle v podobě jednoduchých organických sloučenin jako např. metanolu (Grey, 2004). To může dále navyšovat náklady na čištění OV. I přesto jsou výše popsané biochemické metody odstraňování dusíku pro většinu typů OV z ekonomického hlediska vhodnější než v současnosti používané fyzikálně-chemické metody jako např. stripování, rážení solemi Mg_2^+ , PO_4^{3-} , aplikace iontoměničů, oxidace, či sorpce (Grey, 2004).

V rámci intenzivního výzkumu biologických a technologických aspektů biochemického odstraňování dusíku směřujících ke snížení nákladů na odstraňování dusíku z OV bylo vyvinuto několik alternativ ke konvenční N/D metodě. Jedná se zejména o zkrácenou nitrifikaci/denitrifikaci (Turk et Mavinic, 1987), či anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku - deamonifikaci (van Graaf et al., 1995), pod níž lze zařadit několik typů procesů jako je Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) (Jetten et al., 1999), Completely Autotrophic Nitrogen Removal over Nitrite (CANON) (Dijkman et Strous, 1999), nebo Oxygen Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification (OLAND) proces (Kuai et al., 1998). Metody založené na deamonifikaci mají řadu nesporných výhod, zejména až 60% snížení spotřeby kyslíku na jednotku odstraněného N-amon a nulovou, či minimální spotřebu organických látek na redukcí oxidované formy dusíku (Jetten et al., 1999). Jejich širšímu rozmachu nicméně zatím brání jejich omezená aplikovatelnost, citlivost procesu vůči změnám fyzikálně-chemických faktorů a při nižších teplotách i omezená nízká odstranění N-amon (Zhu et al., 2008).

Prohloubení znalostí o okrajových biochemických procesech hrajících určitou roli v koloběhu dusíku vedlo v posledních letech k objevům dalších potenciálně zajímavých metod jako je např. proces Denitrification coupled to anaerobic methane oxidation (DAMO) (Ettwig et al., 2008).

1.2 Biologické postupy založené na cíleném hromadění dusitanů

Jak již bylo uvedeno, během konvenční nitrifikace je N-NO_2^- vznikající činností AOB prakticky okamžitě převáděn prostřednictvím NOB na finální N-NO_3^- , takže reálná koncentrace N-NO_2^- v čištěné vodě obvykle nedosáhne ani jednotek procent z celkového množství oxidovaných forem dusíku. Principem zkrácené nitrifikace (ZN) je naopak akumulace N-NO_2^- , který není již dále oxidován a může být následně redukován konvenční denitrifikací, či alternativním procesem deamonifikace. Proces, při níž na ZN navazuje denitrifikace má ve srovnání s konvenčním N/D procesem několik ekonomických a technologických výhod – vzhledem k reakční stechiometrii je při ZN spotřebováno přibližně o 25 % méně kyslíku. Při následné denitrifikaci klesá spotřeba organických látek až o 40 % (Abeling et Seyfried, 1992) a samotná reakce probíhá 1,5x až 2x rychleji než v případě redukce N-NO_3^- (Peng et Zhu, 2006). Významné může být také cca 20% snížení emisí CO_2 (pokud předpokládáme, že organický substrát byl cíleně dodáván) a až o 30 % nižší produkce denitrifikační heterotrofní biomasy (Turk et Mavinic, 1987; Peng et Zhu, 2006). Zatímco denitrifikace může probíhat s oběma oxidovanými formami (N-NO_2^- i N-NO_3^-), pro další alternativní postupy jako je ANAMMOX či DAMO je akumulace dusitanů klíčová.

Ačkoli má ZN řadu výhod, samotné zastavení nitrifikace na dusitanovém stupni je technologicky relativně náročný proces závisející na řadě fyzikálně-chemických a technologických parametrů. Je založen na rozdílných nárocích AOB a NOB a jejich citlivosti vůči některým faktorům, z nichž k nejvýznamnějším patří teplota, hodnota pH čištěné vody, koncentrace rozpuštěného O_2 , zastoupení a koncentrace různých forem dusíku, doba zdržení aktivovaného kalu a zatížení reaktoru N-amon. AOB a NOB mají odlišné nároky na optimální podmínky prostředí, limitní hodnoty pH (Ruiz et al., 2003), afinitu k rozpuštěnému O_2 (Guisasola et al., 2005), různou citlivost k toxickým formám dusíku (NH_3 , HNO_2 , NO_2^-) (Anthonisen et al., 1976; Buday et al., 1999, Park et Bae, 2009) a rozdílnou generační dobu, respektive rychlost nárůstu biomasy (Hellings et al., 1998). Na základě těchto odlišností je možné zajistit zachování aktivity AOB při souběžném potlačení růstu a činnosti NOB.

1.3 Faktory ovlivňující zastoupení oxidovaných forem dusíku

V následujícím textu jsou popsány podrobněji jednotlivé faktory, které ovlivňují průběh procesu nitrifikace a zastoupení jeho konečných produktů (dusitanů a dusičnanů). Jejich studium tvoří stěžejní část předkládané práce.

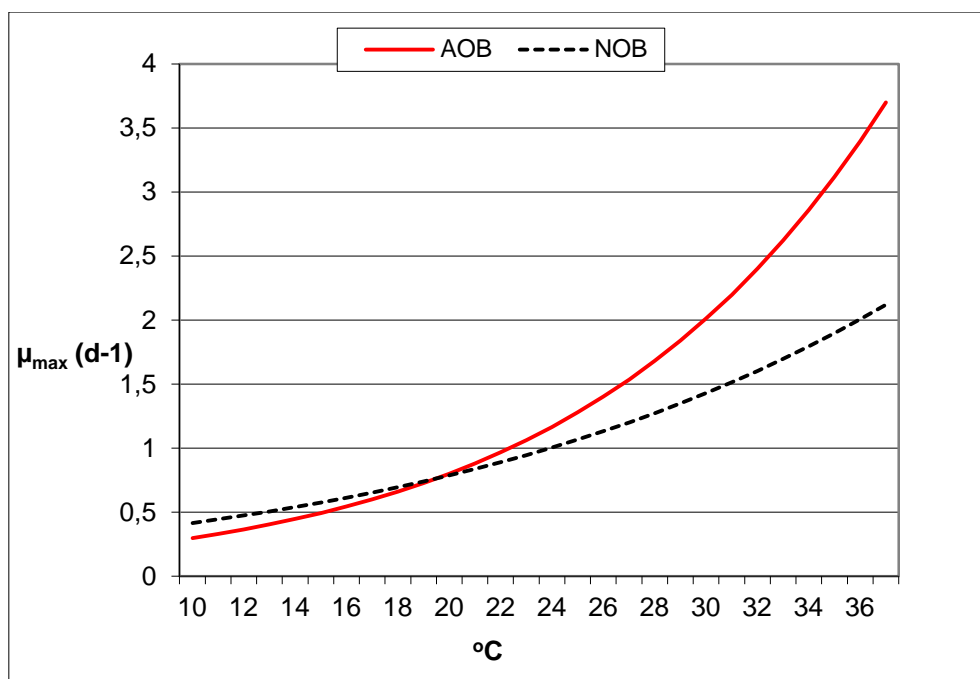
1.3.1 Teplota a stáří kalu

Teplota zásadně ovlivňuje rychlost biochemických procesů. Pro procesy spojené s čištěním odpadní vody leží optimum v mezofilních hodnotách, tedy mezi 25 – 40 °C (Grey, 2004). Nitrifikační aktivita je obecně nejvyšší v intervalu 30 – 35 °C, nižší teploty ji výrazně zpomalují (při poklesu o 10 °C se rychlost růstu nitrifikačních bakterií sníží přibližně o polovinu). Teploty pod 5 °C, ale stejně tak i přes 40 °C nitrifikaci v podstatě zastavují (Chudoba et al., 1992; Hellinga et al., 1999). Se snížením teploty razantně klesá také rychlost oxidace N-amon. Švehla et al. (2008) uvádí při experimentech prováděných s kalovou vodou pokles rychlosti oxidace N-amon z 1,6 kg/(m³·den) na 0,25 kg/(m³·den) při snížení teploty z 25 °C na 10 °C.

Pro obě skupiny nitrifikačních bakterií platí, že jejich aktivita a rychlost růstu s vyšší teplotou narůstá rozdílným tempem. S využitím jednoduchého modelu Monodovy kinetiky bylo zjištěno, že rychlost růstu AOB značně převyšuje NOB při teplotách nad 20 °C, zatímco NOB naopak rostou o něco rychleji při teplotách pod 15 °C (Hao et al., 2002; Hellinga et al., 1999) (obr. 1). Pro dosažení ZN je však nutné kombinovat vyšší teplotu s limitací stáří kalu.

Stáří kalu významně ovlivňuje strukturu a druhové složení aktivovaného kalu a je důležité i z hlediska efektivity odstraňování dusíku z OV. Rychlost růstu bakterií se odvíjí od dostupnosti substrátů, koncentrace toxických forem, teploty, koncentrace kyslíku atd. Je-li tedy stáří kalu dlouhodobě udržováno nad generační dobou AOB, ale níže než je generační doba NOB, je možné NOB postupně vyplavit ze systému a dosáhnout akumulace dusitanů (Hellinga et al., 1999; Regmi et al., 2014). Uvedený princip byl využit např. patentovaným procesem Single reactor system for High Activity Removal Over Nitrite (SHARON) využívajícím vyšší teploty cca 35 °C a nízké doby zdržení OV k postupnému odstranění NOB, přičemž rychleji rostoucí AOB v reaktoru přetrvávají. Vzhledem k jeho teplotním nárokům je využití SHARON procesu omezeno na okamžitou aplikaci pro čištění tzv. kalové vody, která vzniká po odvodnění anaerobně stabilizovaného kalu a je charakteristická vysokou koncentrací N-amon, nízkým poměrem C:N a vyšší teplotou danou mezofilní, či termofilní anaerobní úpravou.

Teplota spolu s hodnotou pH ovlivňuje také poměry mezi disociovanými a nedisociovanými formami sloučenin dusíku a tím také může sekundárně ovlivňovat aktivitu AOB a NOB a následně tedy i poměr zastoupení konečných produktů nitrifikace (viz kap. 1.3.2 a 1.3.3).



Obr. 1 – Maximální rychlost růstu (μ_{max}) AOB a NOB v závislosti na teplotě (Hao et al., 2002)

1.3.2 Hodnota pH

Obě skupiny bakterií mají mírně odlišnou optimální hodnotu pH. Například pro rod *Nitrosomonas* (AOB) je uváděno růstové optimum mezi pH 7,9 – 8,2, pro zástupce NOB, rod *Nitrobacter* jsou to hodnoty blíže k neutrálnímu pH, 7,2 – 7,7 (Alleman, 1984). Park et al. (2007) pak uvádí hodnoty o něco vyšší, $8,2 \pm 0,3$ pro AOB a $7,9 \pm 0,4$ pro NOB. Ruiz et al. (2003) pozoroval, že OV s vysokou koncentrací N-amon cca 600 mg/l probíhá při pH v rozsahu 6,5 – 8,5 a mimo toto rozmezí byl proces nitrifikace zastaven. V přírodních podmínkách nicméně proces probíhá v širším rozmezí pH (Grey, 2004). Z toho lze usuzovat, že faktor, který vede k inhibici nitrifikace, není přímo hodnota pH, ale spíše způsob, jakým pH ovlivňuje zastoupení disociovaných a nedisociovaných forem dusíku (včetně toxického NH_3 a HNO_2) a dalších látek obsažených v čištěné OV (Pitter, 1999) (viz kap. 1.3.3).

1.3.3 Toxické formy dusíku

Hojně citovaná práce Anthonisen et al. (1976) uvádí jako inhibiční hodnoty pro NH_3 0,1 – 1 mg/l pro NOB a výrazně vyšší, 10 – 150 mg/l, pro AOB. I řada pozdějších studií, např. Kin et al. (2006), Park et Bae (2009) potvrzuje možnost inhibice NOB v koncentrovaných OV typu kalové vody, či skládkových výluhů při koncentracích N-NH_3 pod 1 mg/l. Na druhou stranu, řada jiných experimentů prokázala schopnost NOB přizpůsobit se koncentracím v řádech jednotek až několika desítek mg N-NH_3 /l (Turk et Mavinac, 1989; Villaverde et al., 2000; Vadivelu et al., 2007, Rongsayamanont et al., 2010) a inhibiční vliv NH_3 na NOB sám o sobě z dlouhodobého hlediska pro akumulaci dusitanů tedy nemusí být dostačující (Rongsayamanont et al., 2010). Je možné jej nicméně využít jako spouštěcí mechanismus pro ZN, kdy jsou NOB krátkodobě inhibované působením NH_3 následně dále limitovány jinými faktory jako např. koncentrace O_2 , kombinace s inhibičním vlivem HNO_2 , vyšší teplotou, střídání oxických a anoxických fází, regulace stáří kalu atd. (Jubany et al., 2009, Wei et al., 2014).

Na aktivitu nitrifikačních bakterií má významný inhibiční vliv také nedisociovaný produkt prvního stupně nitrifikace, HNO_2 , který působí inhibičně na nitrifikační bakterie již při koncentracích v řádech setin, až desetin mg/l. I v tomto případě se NOB jeví jako citlivější vůči působení HNO_2 , udávané inhibiční hodnoty pro NOB podle různých zdrojů 0,02 – 0,45 mg N-HNO_2 /l (Anthonisen et al., 1976; Vadivelu et al., 2006; Jubany et al., 2009; Park et Bae, 2009, Zhang et al., 2010). AOB jsou pravděpodobně tolerantnější s rozpětím mezi 0,21 – 0,60 mg N/l (Hellings et al., 1999; Park et Bae, 2009; Vadivelu et al., 2006). Ačkoli se v literatuře často uvádí, že pro dosažení inhibice NOB při zachování aktivity AOB je vhodné využít toxicitu NH_3 (Zhu et al., 2008), poslední výsledky některých studií (Park et Bae, 2009, Rongsayamanont et al., 2010; Yammamoto et al., 2011; Pacek et al., 2014a; Švehla et al., 2014) upozorňují, že pro dosažení účinné inhibice druhého stupně nitrifikace prostřednictvím inhibice NOB je důležitější role nedisociované HNO_2 , případně disociovaných iontů NO_2^- , jsou-li přítomny ve vysokých koncentracích (Buday et al., 1999).

1.3.4 Koncentrace rozpuštěného kyslíku

Dostupnost a koncentrace rozpuštěného kyslíku je zcela zásadním faktorem ovlivňujícím nitrifikaci. Aerobní podmínky jsou nutné, koncentrace kyslíku v čištěném médiu následně ovlivňuje účinnost nitrifikace a aktivitu AOB a NOB (Zhu et al., 2008). Kyslíkové saturační konstanty (K_{DO}) vyjadřují koncentraci kyslíku, kdy je při nelimitované dostupnosti

dalších substrátů rychlost růstu bakterií poloviční oproti μ_{\max} . Hodnota K_{DO} se se různí v závislosti na informačním zdroji. Je to dáno zejména rozdílnými podmínkami měření, složením analyzované biomasy a velikostí kalových vloček. Obecně však platí, že AOB mají nižší saturační konstantu než NOB, a jsou tedy schopny za stejných podmínek lépe využít dostupný rozpuštěný kyslík. Několik údajů je sumarizováno v tab. 1.

Tab. 1. Hodnoty K_{DO} podle různých autorů

Autor	AOB ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NOB ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
Guisasola et al., 2005	0,74	1,75
Blackburne et al. 2007	0,03	0,4
Weismann, 1994	0,3	1,1
Schramm et al., 1999	0,5	1,9

Různá afinita obou skupin bakterií ke kyslíku je proto jedním z faktorů, který může být považován za relativně spolehlivý pro dosažení ZN. Je-li koncentrace kyslíku výrazně nižší, než K_{DO} pro NOB, ale stále dostatečná pro AOB, může docházet za daných podmínek k akumulaci dusitanů (Blackburne et al., 2007; Guisasola et al., 2005; Ruiz et al., 2003). Kyslík je totiž využíván přednostně a rychleji pro oxidaci N-amon, což zejména v kombinaci s vyšším objemovým zatížením znevýhodňuje NOB (Okabe et al., 2011). Akumulace dusitanů v kontinuálních systémech odpovídajících hydraulickou charakteristikou směšovací aktivaci, tzv. Completely Stirred Tank Reactors (CSTR) zpracovávajících OV s vysokou koncentrací N-amon byla pozorována obvykle při koncentracích rozpuštěného kyslíku pod 1,5 mg/l (Blackburne et al., 2007; Jubany et al., 2009; Ruiz et al., 2003; Wang et al., 2004; Wang et al., 2014). Například Blackburne et al. (2007) uvádějí hodnotu 0,4 mg/l jako dostačující pro ZN s vysokou účinností. Ruiz et al. (2003) oproti tomu zmiňují koncentraci 0,7 mg/l jako optimální, přičemž hodnoty kolem 0,5 mg/l již měly negativní efekt na účinnost oxidace N-amon při objemovém zatížení pod 1 kg N/($\text{m}^3\cdot\text{den}$) a teplotě 30°C. Další autoři popisují akumulaci dusitanů v OV s vysokou koncentrací N-amon při vyšších hodnotách 1,2 – 2 mg/l (Jubany et al., 2009; Wang et al., 2004; Wang et al., 2014). Jak již bylo naznačeno, účinek limitace kyslíku může být pro dosažení ZN efektivně kombinován s dalšími, již zmíněnými faktory jako je regulace stáří kalu nebo vyšší koncentrace toxických forem dusíku (Jubany et al., 2009, Zekker et al., 2011). Zřejmou výhodou využití limitace kyslíku pro dosažení ZN je úspora v energii nutné pro zajištění aerace. Na druhou stranu, nízké koncentrace kyslíku

mohou vést k technologickým obtížím jako je lokální nedostatek kyslíku způsobující výpadky v účinnosti, bytnění kalu (Blackburne et al., 2007) a vyšší produkci oxidu dusného (Kampschreur et al., 2009).

1.3.5 Další faktory podporující akumulaci dusitanů

Vedle využití výše zmíněných, hlavních fyzikálně-chemických faktorů majících vliv na průběh nitrifikace a její finální produkty jsou v posledních letech v literatuře prezentovány i další metody, které mohou za určitých okolností vést k dosažení ZN.

Jedním z těchto faktorů je objemové zatížení N-amon. Z empirických pozorování vyplývá, že vyšší objemové zatížení reaktoru N-amon (nad 1 kg N-amon/(m³·den)) podporuje u koncentrovaných OV i při teoreticky dostatečném množství rozpuštěného O₂ dosažení ZN (Quio et al., 2010; Okabe et al., 2011), nicméně autorovi zatím není znám literární zdroj, který by princip uvedeného vlivu vysvětloval.

Vedle NH₃ a HNO₂ je v literatuře zmiňován i inhibiční vliv hydroxylaminu (NH₂OH), meziprojektu prvního stupně nitrifikace, na aktivitu NOB. Při aplikaci hydroxylaminu o koncentracích cca 4 mg/l N-NH₂OH do biofilmových reaktorů byly zjištěny vyšší rychlosti oxidace N-amon a inhibice aktivity NOB (Kindaichi et al., 2004). Ve studii Xu et al. (2012) vedly opakované dávky hydroxylaminu (1x za 2 dny) o koncentracích 10 mg/l N-NH₂OH k dosažení stabilní ZN v reaktoru s granulovanou biomasou upravujícího syntetickou OV s koncentrací N-amon 100 mg/l. Spíše protichůdných výsledků dosáhli Harper et al., (2009), kteří pozorovali při jednorázové dávce 10 – 40 mg/l N-NH₂OH nárůst rychlosti oxidace N-amon až o 1,5 násobek (koncentrace N-amon v čištěné OV odpovídala 200 mg/l), ale dlouhodobé dávkování hydroxylaminu vedlo k snížení účinnosti odstranění N-amon z původních více než 90 % na 17 – 75 % (v závislosti na množství dávkovaného NH₂OH), přičemž negativní vliv na hustotu populací AOB a NOB byl srovnatelný. Dalším důsledkem dávkování hydroxylaminu je změna struktury AOB biomasy z převážně agregovaného stavu na disperzní.

Dalším faktorem, u něž byl pozorován vliv nejen na průběh nitrifikace, ale i na poměr mezi oxidovanými formami je koncentrace anorganického uhlíku, respektive HCO₃⁻ iontu v čištěné OV. Vzhledem k tomu, že nitrifikační bakterie jsou autotrofní, anorganický uhlík pro ně představuje substrát a jeho nedostatkem je aktivita obou skupin nitrifikantů limitována, přičemž náročnější na koncentraci HCO₃⁻ jsou v tomto případě AOB (3 mmol HCO₃⁻/l), než NOB (<0,1 mmol HCO₃⁻/l) (Guisasola et al., 2007). Vyšší koncentrace hydrogenuhličitanu

mají mít však podle některých autorů inhibiční vliv na aktivitu NOB (Torá et al., 2010; Zekker et al., 2011). V obou případech nicméně autoři popisují působení inhibice HCO_3^- při vysokém pH vyvolaném dávkováním HCO_3^- v řádech stovek mg/l, respektive přímo vyšších koncentrací NH_3 . Není tedy zcela jasné, zda dochází k inhibici přímo působením uvedeného iontu, či spíše navýšením hodnoty pH v kombinaci s přítomností N-amon.

K akumulaci dusitanů v různých typech reaktorů může přispět také navýšení salinity OV. Experimenty prováděné s komunální OV s uměle navýšeným obsahem soli prokázaly nižší inhibiční hodnoty NaCl pro NOB běžně přítomné v aktivovaném kalu (cca 5 g/l), přičemž AOB jsou schopné udržet aktivitu i při koncentracích kolem 10 g/l. Autoři nicméně uvádí, že dlouhodobé působení OV se salinitou vyšší než 10 g/l je inhibiční i pro AOB (Ye et al., 2009).

Další popisovanou možností je inhibice NOB prostřednictvím dávek chlorečnanů. V experimentu autoři Xu et al. (2011) vystavili semikontinuální Sequencing Batch Reactor (SBR) na čištění komunální OV opakovaným dávkám 5 mM KClO_3 /l jednou na každých 8 až 20 cyklů, což postupně vedlo k akumulaci dusitanů až 93 % z celkových oxidovaných forem (Xu et al., 2011).

Pro dosažení ZN jsou experimentálně využívány také specifické fyzikální metody. Využití ultrazvuku, tedy akustického vlnění vyššího než cca 20 kHz, je technologicky zajímavé z hlediska zpracování přebytečného kalu pro svou schopnost narušovat jak vločky, tak i membrány jednotlivých buněk a tím významně zvyšovat rozložitelnost kalu (Pilli et al. 2011). Testy provedené s komunální OV upravovanou v SBR reaktoru prokázaly, že dvouhodinové působení ultrazvuku o frekvenci 40 kHz na začátku každého cyklu vedlo k úbytku populace NOB, zatímco AOB zůstaly téměř nedotčeny, což mělo za následek akumulaci dusitanů. Autoři předpokládají, že uvedená skutečnost je způsobena menší odolností buněčných membrán NOB ve srovnání s AOB (Zheng et al., 2013).

Opačný dopad, tedy stimulace obou skupin nitrifikačních bakterií a pozitivní vliv na tvorbu granulované biomasy, byl popsán při působení stejnosměrného proudu o napětí cca 5 V na průběh nitrifikace v SBR reaktoru upravujícím syntetickou kalovou vodu (Huang et al., 2014).

Principu inhibice NOB teplotním šokem využili Isaka et al. (2008), kteří zjistili, že populace AOB jsou schopny odolat teplotám převyšujícím 80 °C po dobu až jedné hodiny, zatímco populace NOB hynou při zahřátí na 60 °C již po 20 min. V experimentálním modelu zpracovávajícím kalovou vodu proto imobilizovali biomasu na speciálních gelových nosičích, které pak oddělili od čištěného média a vystavili uvedeným teplotám. Nitrifikační reaktor

následně pracoval v režimu ZN po 77 dní, než došlo k znovuoobnovení populace NOB. Následně bylo možné dosáhnout akumulace dusitanů opětovným oddělením a zahřátím imobilizované biomasy.

1.4 Zkrácená nitrifikace odpadních vod s vysokou koncentrací N-amon

Koncentrace N-amon v těchto typech OV dosahuje stovek až tisíců mg/l. Jedná se o kalové vody vznikající anaerobní stabilizací kalu na ČOV, v bioplynových stanicích, v tělesech skládky jako tzv. skládkový výluh (Van Hulle et al., 2010) a ve specifických provozech jako je např. kožedělný průmysl (Szpyrkowicz et al., 2005), jatka (Debik et Coskun, 2009) nebo lihovary (Searmsirimongkol et al., 2011).

Odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon jsou relativně vhodné pro aplikaci ZN. Literatura popisuje dlouhodobou a stabilní akumulaci dusitanů dosaženou zejména prostřednictvím vyšších teplot (Abeling et Seyfried, 1992; Hellinga et al., 1999;), limitace dostupnosti rozpuštěného kyslíku (Blackburne et al., 2008; Jubany et al., 2009, Ruiz et al., 2003; Wang et al., 2014), či vlivem vyšších hodnot pH, které ovlivní poměr mezi $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ směrem k nedisociované molekule. Toxický NH_3 následně způsobí inhibici citlivějších NOB, zatímco AOB zůstanou i nadále aktivní (Yoo et al., 1999; Qiao et al., 2010).

I přes řadu zmíněných výsledků je většina stávajících provozních systémů technologicky relativně komplikovaná (Guo et al., 2009; Jubany et al., 2009; Antileo et al., 2013; Zheng et al., 2013), či omezená na aplikace pouze na OV s relativně úzkým rozpětím fyzikálně-chemických vlastností (Hellinga et al., 1998). Přetrvávajícím problémem je také schopnost postupné adaptace NOB na podmínky, které v počáteční fázi provozu reaktoru působily inhibici druhého stupně nitrifikace (Villaverde et al., 2000; Rongsayamanont et al., 2010), která v mnoha případech vede i po relativně dlouhé době k samovolnému převedení aktivity v reaktoru zpět na úplnou nitrifikaci (Švehla et al., 2014).

1.5 Zkrácená nitrifikace odpadních vod s nízkou koncentrací N-amon

Koncentrace N-amon v řádu desítek mg/l je typická zejména pro komunální OV tvořící naprostou většinu produkce OV. Aplikace ZN na tento typ vod je výrazně náročnější než v případě vysoce koncentrovaných OV. Je to způsobeno zejména malou koncentrací N-amon v čištěné vodě, což komplikuje využití toxických forem dusíku pro inhibici NOB (Anthonisen et al., 1976). Vzhledem k povaze komunální OV obvykle není možné využít ani vyšší teplotu

v kombinaci s limitovaným stářím kalu jako v případě SHARON procesu (Hellings et al., 1998), či vysoké objemové zatížení (Okabe et al., 2011). Realističtější je možnost aplikace limitované koncentrace kyslíku, kdy je možné i při nižší teplotě využít rozdílné rychlosti růstu obou skupin nitrifikačních bakterií (Weismann, 1994; Guisasola et al., 2005; Blackburne et al., 2007). Jako úspěšná se jeví technologicky relativně náročná metoda, při níž je reaktor provozován semikontinuálně, jako tzv. Sequencing Batch Reactor (SBR) a v reálném čase jsou sledovány parametry jako koncentrace kyslíku, hodnota pH, oxidačně-redukční potenciál atd. Na základě změny hodnot jednotlivých faktorů (zejména poklesu pH a nárůstu ORP) je pak určen vhodný čas k ukončení cyklu a odebrání části znitřifikované OV. Podle autorů, Peng et al. (2007) a Guo et al. (2007), dochází nejprve k oxidaci N-amon a následné převedení N-NO_2^- na N-NO_3^- je NOB realizováno až ve fázi, kdy je téměř veškerý N-amon vyčerpán, což umožňuje včas přerušit cyklus a odebrat OV s akumulovanými dusitany. Autoři uvádějí více než 90% účinnost akumulace dusitanů při zpracovávání komunální OV a koncentraci kyslíku v průběhu cyklu 0,5 – 2,5 mg/l jak v laboratorním měřítku, tak i v poloprovozu (Yang et al., 2007) a to při teplotách 10 – 20 °C (Wu et al., 2007; Guo et al., 2009).

Úspěšné převedení nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího OV s koncentrací N-amon 100 mg/l na ZN zmiňuje i Zekker et al. (2011). Využívá kombinaci limitované koncentrace kyslíku, vyšší koncentrace NH_3 způsobené navýšením pH a kratší hydraulické doby zdržení v biofilmovém reaktoru. Oproti předchozí variantě jako médium využil ředěnou kalovou vodu, jejíž složení je i přes výrazné ředění (100 mg N-amon/l) pro dosažení akumulace dusitanů vhodnější než v případě komunální OV.

1.6 Zpracování nitrifikačního reaktoru na úpravu koncentrované odpadní vody

Zpracování nitrifikačního reaktoru čistícího komunální OV je v zásadě triviální proces, který probíhá přirozeně při provzdušňování OV, či po přidání inokula tvořeného aktivovaným kalem z ČOV (Grey, 2004). Oproti tomu je efektivní zpracování reaktorů zajišťujících úplnou, či zkrácenou nitrifikaci kalové vody nebo jiné odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon vnímáno jako náročný, déletrvající proces (Jubany et al., 2008, Vallés-Morales et al., 2004).

Problémem může představovat zejména iniciace nitrifikace v anaerobně stabilizovaných OV s vysokou koncentrací N-amon, které mají pH často vyšší než 8, a kde se

může koncentrace FA pohybovat v řádu jednotek až desítek mg/l. Při prokysličování kalové vody dochází stripování ke CO_2 nahromaděného v kalové vodě během anaerobní stabilizace, což dále navyšuje hodnotu pH a tím i koncentraci NH_3 (Cohen et Kirchmann, 2004). Podíl NH_3 v rámci N-amon tak může dosáhnout i desítek procent, což dopovídá koncentraci v řádu stovek mg/l. Takové hodnoty působí inhibiči nejen citlivějších NOB, ale i relativně rezistentnějších AOB (Anthonisen, 1976, Park et Bae, 2009).

Rychlé zapracování nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího OV s vysokou koncentrací N-amon může v závislosti na aktuálním zatížení reaktoru znesnadňovat také relativně nízké zastoupení nitrifikačních bakterií v běžném aktivovaném kalu (Chudoba et al., 1991). Tyto faktory pak komplikují iniciaci nitrifikace dusíkem silně zatížených OV a mohou vést ke zbytečnému prodlužování zapracování reaktoru při velmi nízké počáteční účinnosti (Carrera et al., 2003).

Uvádí se dokonce, že pro čištění odpadních vod s koncentrací N-amon převyšující 1000 mg/l je v případě použití klasické suspendované biomasy či běžných biofilmových nosičů nutno odpadní vodu ředit nebo provozovat systém při poměrně nízkém objemovém zatížení. Jako optimální varianta je pak z těchto důvodů zmiňována speciální technologie imobilizace biomasy založená na enkapsulaci nitrifikačních organismů do pelet, jejichž chemickou podstatou je polyvinylalkohol – PVA (Boušková et al., 2011).

Obvyklá doba nutná k zapracování experimentálních i poloprovozních jednotek pro čištění OV s extrémním obsahem N-amon na plnou výkonnost jsou obvykle tři až čtyři měsíce (Chen et al., 1996; Vallés-Morales et al., 2004, van Hulle et al., 2005). Někteří autoři zmiňují různé možnosti urychlení procesu zapracování. Jubany et al. (2008) použili metodu založenou na kontrole a regulaci provozu v reálném čase na základě měření fyzikálně-chemických charakteristik čištěného média, čímž zkrátil dobu zapracování ze 100 na 30 – 40 dní. Další možností může být bioaugmentace kulturou aktivovaného kalu odebraného z již déle provozovaného reaktoru nitrifikujícího koncentrovanou OV (Bartrolí et al., 2011). Takto bylo možné navýšit objemové zatížení reaktoru z úvodních 0,1 kg N-amon/($\text{m}^3 \cdot \text{den}$) na 0,7 kg N-amon/($\text{m}^3 \cdot \text{den}$) za 25 dní namísto 100 dní v reaktoru zaočkovaným pouze aktivovaným kalem (Bartrolí et al., 2011).

1.7 Shrnutí současného stavu

Do dnešního dne bylo publikováno množství experimentálních postupů, které za určitých okolností mohou vést k akumulaci dusitanů v odděleně čištěných koncentrovaných

OV. V naprosté většině případů využívají k akumulaci dusitanů simulaci v reálu technologicky náročných postupů, např. metody využívající nelineárních regulačních provozních modelů (Antileo et al., 2013; Bournazou et al., 2013, Guo et al., 2009), specifických biofilmových reaktorů (Bartolí et al., 2011) nebo jiných typy imobilizovaných nosičů (Boušková et al., 2011). U jiných by pak mohla být v případě praktického využití problematická ekonomika provozu (viz kap. 1.3.5).

Praktická aplikace ZN na úpravu kalové vody na ČOV je stále omezená – aktuálně je ve světě v provozu pouze kolem stovky technologických celků na bázi patentovaných procesů SHARON, SHARON-ANAMMOX, DEMON (DEaMONification), ANITA Mox apod. (Lackner et al., 2014). Mezi hlavní důvody tohoto stavu bude nejspíše spadat relativní technologická náročnost procesů ve srovnání s konvenčními postupy, omezené možnosti využití (např. aplikace systému SHARON je omezena pouze na OV s vysokou teplotou a koncentrací N-amon) a také určitá konzervativnost technologů, kteří si při implementaci nových metod nemohou dovolit riskovat nestabilitu ukazatelů znečištění na odtoku z ČOV.

Experimentální část předkládané práce proto cílí na nalezení provozně jednoduchých a robustních postupů iniciace a stabilního provozu ZN v koncentrovaných OV, který by byl prakticky využitelný i v podmínkách běžných ČOV na území ČR.

2 Vědecké hypotézy a cíle práce

2.1 Hypotézy

Základní hypotézou práce je předpoklad možnosti účelného využití biologických metod odstraňování amoniakálního dusíku založených na akumulaci dusitanů v průběhu nitrifikace pro čištění kalové vody vznikající při odvodňování anaerobně stabilizovaného kalu na velkých ČOV a podobných typů odpadních vod.

Předpokladem práce je, že regulace klíčových faktorů, zejména koncentrace kyslíku, umožní dosažení ZN i při relativně nízkých teplotách a bez regulace stáří kalu a při zachování ekonomicky realistických nákladů a technologických nároků procesu. Dalším předpokladem je, že provoz nitrifikačního reaktoru v SBR režimu může indukovat změny koncentrací toxických forem dusíku, což následně umožní inhibici druhého stupně nitrifikace.

2.2 Cíle

Cílem práce bylo identifikovat podmínky umožňující dosažení a udržení ZN v kalové vodě a ze získaných výsledků vyhodnotit, za jakých podmínek snadno realizovatelných na většině stávajících velkých městských ČOV v ČR je možno využít akumulaci dusitanů při odděleném čištění kalové vody. Dílčím cílem bylo studium vlivu jednotlivých faktorů (koncentrace toxických forem dusíku, koncentrace rozpuštěného kyslíku, objemové zatížení N-amon a způsobu průtoku (CSTR či SBR) na průběh a efektivitu ZN.

3 Materiál a metody

Pokusy byly realizovány s využitím experimentálních modelových reaktorů. Testy byly prováděny s kalovou vodou z Ústřední čistírny odpadních vod v Praze.

Základem prezentovaného výzkumu bylo sledování vlivu různých faktorů na průběh procesu biologického odstraňování dusíkatých látek z odpadní vody. Byl sledován vliv koncentrace jednotlivých forem dusíku, koncentrace rozpuštěného kyslíku, teploty, zatížení reaktoru dusíkem a dalších parametrů na průběh čištění testované kalové vody. Následně probíhalo vyhodnocení vlivu posuzovaných faktorů na účinnost hromadění dusitanů v průběhu nitrifikace a na rychlost oxidace N-amon. V laboratorních podmínkách byly provozovány systémy simulující aktivační proces v různých typech aktivačních systémů s SBR či CSTR provozem. Jednalo se o válce s pracovním objemem 1,5 litru, vyrobené z plexiskla. Do nich byla soustavou silikonových hadic přiváděna kalová voda. Zpracovaná voda byla poté odváděna v případě CSTR modelů do dosazovacích nádržek, u SBR do sběrných nádob. Transport kapalin zajišťovaly peristaltická čerpadla s nastavitelným režimem průtoku. Okysličování reaktorů bylo prováděno akvarijními vzduchovacími motorky různého výkonu (obr. 2).



Obr. 2 – Modelový reaktor CSTR: 1) nitrifikační reaktor, 2) dosazovací nádrž, 3) vstup, 4) čerpadlo přivádějící kalovou vodu, 5) čerpadlo recirkulace aktivovaného kalu 6) aerace

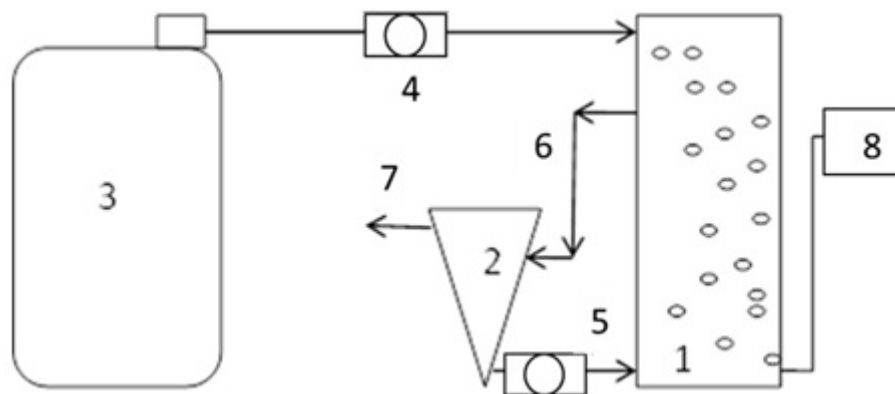
3.1 Metodika provozu modelových reaktorů

Provoz modelových reaktorů byl dlouhodobý, délka jednotlivých experimentů se obvykle pohybovala od jednoho měsíce do dvou let. Všechny modelové systémy byly provozovány při laboratorní teplotě $22 \pm 1,5$ °C.

Laboratorní simulace biologických reaktorů na čištění odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon probíhala ve dvou provozních režimech – reaktor se směšovací aktivací v CSTR režimu a vratným kalem a reaktor v SBR režimu. V následujícím textu budou vysvětleny základní provozní rozdíly obou systémů a jejich vlivy na chemismus čištěného média.

3.1.1 Provoz CSTR systémů

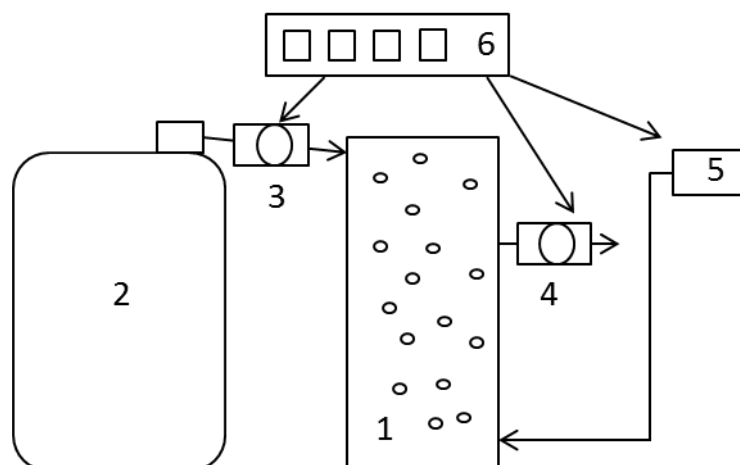
Přítok OV do reaktoru je kontinuální, odtok je realizován přepadem z nádrže reaktoru do dosazovací nádrže, z níž je usazený kal recirkulací vracen zpět a vyčištěná odpadní voda odtéká ze systému opět přepadem (schématický náčrt – viz obr. 3). Přebytečný kal nebyl odváděn.



Obr. 3 – Provozní schéma CSTR: 1) nitrifikační reaktor, 2) dosazovací nádrž na sedimentaci kalu, 3) vstupní kalová voda, 4) čerpadlo přítoku do reaktoru, 5) čerpadlo recirkulace aktivovaného kalu, 6) odtok přepadem z reaktoru do dosazovací nádrže, 7) odtok přepadem z dosazovací nádrže, 8) aerace

3.1.2 Provoz SBR systémů

Funkce SBR je založen na principu střídání fází a řízeného přítoku a odtoku vody probíhajícího jednorázově rámci každého cyklu (schématický náčrt – viz obr. 4).



Obr. 4 – Provozní schéma SBR: 1) nitrifikační reaktor, 2) vstupní kalová voda, 3) čerpadlo přítoku do reaktoru, 4) čerpadlo odtoku, 5) aerace, 6) časové spínače regulující fáze přítoku odtoku a aerace

Délka jednotlivých cyklů a objem vyměněné vody určuje velikost objemového zatížení. Každý cyklus v rámci nitrifikačních reaktorů sestává z krátké fáze načerpání daného objemu surové odpadní vody, následně hlavní fáze, kdy je spuštěna aerace. Po ukončení aeračního cyklu je kal sedimentován přímo v reaktoru a následně je z horní části nádrže odebrán daný objem vyčištěné odpadní vody. Reaktory byly provozovány v cyklech po 6 nebo 12 hodinách. Schématický náčrt průběhu šestihodinového cyklu je na obr. 5.



Obr. 5 – Průběh SBR cyklu: A) přítok, B) aerace, C) sedimentace, 4) odtok

3.2 Analytické metody

Z reaktorů byly pravidelně odebírány vzorky, u nichž byly zjišťovány koncentrace jednotlivých forem dusíku, hodnoty CHSK, hodnoty pH a dalších parametrů (např. koncentrace rozpuštěných a nerozpuštěných látek, teplota a další). Porovnávala byla také objemová a specifická rychlost odstraňování amoniakálního dusíku v různých podmínkách.

Tyto hodnoty byly dlouhodobě monitorovány a na jejich základě byl sledován vliv jednotlivých faktorů na průběh aktivačního procesu. Odběry vzorků probíhaly obvykle 1x týdně pro hodnoty koncentrací forem dusíkatých sloučenin, koncentrace rozpuštěného kyslíku a hodnota pH byla měřena kontinuálně. Za účelem kvantifikace organických látek a biomasy v reaktoru byly sledovány také hodnoty CHSK, koncentrace rozpuštěných, nerozpuštěných látek a dalších parametrů.

Popisované experimenty probíhaly na laboratorním pracovišti KAVR. Pro zjišťování uvedených hodnot byla laboratoř vybavena kromě jiného zejména spektrofotometrem HACH DR/4000, s nímž je možné při použití specifických činidel analyzovat koncentrace různých chemických látek ve vodě. Dále muflovou pecí a topnou deskou na stanovení sušiny, rozpuštěných a nerozpuštěných látek, analytickými vahami, digitálními pH metry a oximetry WTW 340i, automatickými pipetami a dalším laboratorním vybavením. Průběh biologických procesů bylo možné v laboratorních modelech regulovat také pomocí automatického měřicího systému GRYF Magic XBC vybaveného sondami, který spolu s notebookem, na nějž je napojený, umožňuje okamžité i kontinuální měření a zaznamenávání sledovaných hodnot i jejich nastavitelnou regulaci (využíváno zejména pro regulaci koncentrace O₂ a hodnoty pH v reaktorech) v prostředí počítačového programu.

3.3 Analýza FISH

Metoda Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) byla v rámci dizertační práce v omezené míře využita k identifikaci mikrobiálních konsorcií zajišťujících nitrifikaci v experimentálních reaktorech a její výsledky jsou prezentovány v příložených publikacích. Vzhledem k tomu, že potřebné vybavení nebylo dostupné v rámci naší laboratoře, byly analýzy prováděny externě na Ústavu technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha.

Skupiny AOB byly identifikovány sondou NSO mix (NSO190 + NSO1225) detekující β -proteobakteriální AOB a ve vzorcích obarveny zeleným barvivem Fluos. NOB byly kvantifikovány sondou Ntspa mix (Ntspa712 + Ntspa662) detekující kmen Nitrospirae a NIT3 detekující zástupce rodu Nitrobacter. Ve vzorcích byly skupiny obarveny červeným barvivem Cy3. Snímky byly pořizovány epifluorescenčním mikroskopem Olympus BX51-RFAA vybaveným CCD kamerou. Kvantifikace jednotlivých skupin bakterií byla provedena v souladu s metodikou Daims et al. (2006). Výsledné číslo je vyjádřeno jako procentuální podíl celkové plochy záběru (vločky) osídlený sledovanou skupinou bakterií.

3.4 Charakter čištěné odpadní vody

Pro účely popisovaných experimentů byla využívána zejména kalová voda voda dovážená z Pražské ústřední ČOV (ÚČOV). Její dlouhodobé fyzikálně – chemické charakteristiky jsou popsány v tab. 2.

Tab. 2. – Průměry a rozsahy hodnot hlavních fyzikálně – chemických parametrů kalové vody. CHSK_{VL} – CHSK veškerých látek, CHSK_{RL} – CHSK rozpuštěných látek, VL – koncentrace veškerých látek, NL_{org} – koncentrace nerozpuštěných organických látek

	Průměr
pH	8,42±0,22
N-amon (mg/l)	1450±165
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	34±8
KNK _{4.5} (mmol/l)	97±6,3
CHSK _{VL} (mg/l)	2675±770
CHSK _{RL} (mg/l)	1665±510
VL (g/l)	1,14±0,50
NL _{org} (g/l)	1,00±0,48

4 Výsledky a diskuze

Výsledková část předkládané práce je rozdělena na dvě kapitoly. V první jsou formou citací a stručných obsahů prezentovány publikované vědecké práce, jejichž úplné verze jsou doloženy ve formě příloh k disertační práci. Následující kapitola je pak věnována shrnutí zásadních výsledků dosažených v rámci doktorského studia autora a z větší části publikovaných v rámci zmíněných článků.

4.1 Publikované výsledky

Autor předkládá k obhajobě šest článků, z čehož jeden je v současné době publikován online ve vědeckém časopisu s IF (Desalination and Water Treatment), jeden byl publikován v časopisu s IF (Chemical Papers), a čtyři byly otištěny v recenzovaných vědeckých časopisech (Vodní hospodářství, SOVAK). Vědecké práce jsou doloženy ve formě příloh (kap. 7)

4.1.1 Publikace č. 1

- Pacek, L., Švehla, P., Bartáček, J., Radechovský, J., Hrnčířová, H., Shejbalová, Š., Balík, J., Jeníček, P. 2014. Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment. *Desalination and Water Treatment* (přijato do tisku, publikováno online):

http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19443994.2014.950336#.U_zNjvl_vy0

Článek č. 1 diskutuje přímé a nepřímé vlivy limitace kyslíku na průběh nitrifikace a možnosti dosažení ZN v reaktoru upravujícím kalovou vodu. Reaktor provozovaný v režimu CSTR využívá limitace kyslíku k omezení aktivity NOB a popisuje následný nepřímý vliv limitace O₂ na průběh a finální produkty nitrifikace spočívající v sekundárním inhibičním působení HNO₂ a NO₂⁻. Uvedený článek ve své metodice vychází z poznatků popsaných v kap. 1.3.3. a 1.3.4 teoretické části dizertace.

4.1.2 Publikace č. 2

- Švehla, P., Bartáček, J., Pacek, L., Hrnčířová, H., Radechovský, J., Hanč, A., Jeníček, P. 2014. Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid on nitrite-oxidising

bacteria during sludge liquor treatment: influence of feeding strategy. Chemical Papers. 68. 871–878

Tento příspěvek je zaměřen na posouzení možnosti dosažení ZN prostřednictvím působení toxických forem dusíku (NH_3 , HNO_2) v závislosti na provozním režimu reaktoru (CSTR, SBR). Principy využití zmíněných toxických forem jsou popsány v kap. 1.3.2 a 1.3.3 teoretické části práce.

4.1.3 Publikace č. 3

- Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H. Balík, J. 2013. Efektivní zpracování nitrifikačního reaktoru pro čištění odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon. Vodní hospodářství. 63. 32–36.

Uvedená publikace se věnuje možnostem rychlého zpracování úplné, či zkrácené nitrifikace v OV s vysokou koncentrací N-amon. V experimentální části porovnává různé metody zpracování reaktoru v závislosti na počáteční koncentraci aktivovaného kalu, zatížení, či vstupní koncentraci N-amon. Další část diskuze je věnována možnostem dosažení ZN prostřednictvím NOB inhibujících počátečních podmínek v reaktoru.

4.1.4 Publikace č. 4

- Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H. 2014b. Emise oxidu dusného při čištění odpadních vod. Vodní hospodářství. 4. 121 – 126.

Rešeršní článek č. 4 shrnuje výsledky odborných publikací zabývajících se biochemií vzniku a riziky emisí oxidu dusného na ČOV. V textu jsou popisovány možné biochemické cesty přeměn jednotlivých forem dusíku, u nichž může docházet k emisím N_2O , v literatuře zmiňované fyzikálně-chemické faktory podporující tvorbu N_2O při čistírenských procesech a publikované odhady emisí N_2O na komunálních ČOV. Samostatná kapitola je věnována také rizikům emisí N_2O u alternativních procesů odstraňování dusíku z OV s vysokou koncentrací N-amon založených na cílené akumulaci dusitanů.

4.1.5 Publikace č. 5

- Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H., Balík, J. 2013. Zkrácená nitrifikace odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon. SOVAK. 22 (4). 2-6.

Článek č. 5 shrnuje možnosti dosažení ZN při zachování technologicky jednoduchých a ekonomicky nenáročných postupů realizovatelných na většině ČOV. Dlouhodobé a stabilní akumulace dusitanů bylo dosaženo změnou provozu z CSTR do SBR režimu.

4.1.6 Publikace č. 6

- Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Vašák, F., Balík, J. 2011. Možnosti využití regulace koncentrace kyslíku při nitrifikaci kalové vody. Vodní hospodářství. 2011. 10. 372–376.

Článek 6 je věnován možnostem dosažení akumulace dusitanů prostřednictvím limitace koncentrace rozpuštěného kyslíku v reaktoru provozovaném v režimu CSTR. Uvedený článek ve své metodice vychází z poznatků popsaných v kap. 1.3.4 teoretické části dizertace.

4.2 Shrnutí výsledků a sumární diskuze

V následujícím textu jsou shrnuty a diskutovány vybrané výsledky experimentů realizovaných v průběhu studia a publikovaných v příkládaných odborných příspěvcích. První část kapitoly je věnována možnostem iniciace ZN při odděleném čištění kalové vody, ve druhé jsou pak prezentovány postupy umožňující ZN v systému udržet dlouhodobě. U popisovaných experimentů je vždy odkazováno na vědecké práce (přiložené jako kap. 7), v nichž byla daná problematika diskutována.

4.2.1 Iniciace zkrácené nitrifikace

Nastartování akumulace dusitanů v nitrifikačním reaktoru je v zásadě realizovatelné dvěma experimentálně ověřenými způsoby:

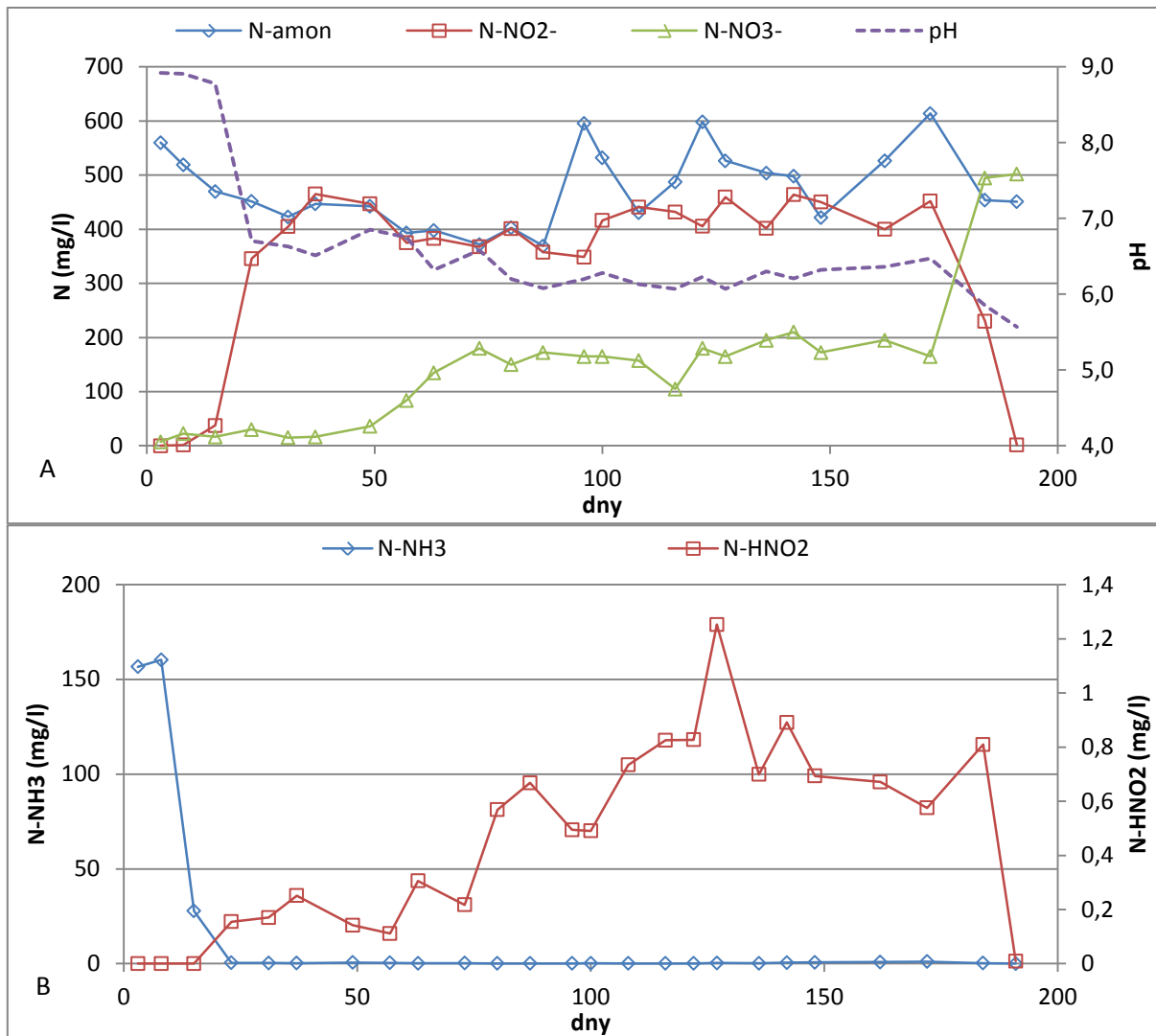
- Zapracování reaktoru v extrémních podmínkách
- Iniciace ZN v již zapracovaném reaktoru s úplnou nitrifikací

Uvedené metody budou podrobněji popsány v následujícím textu.

4.2.1.1 Zapracování reaktoru v extrémních podmínkách

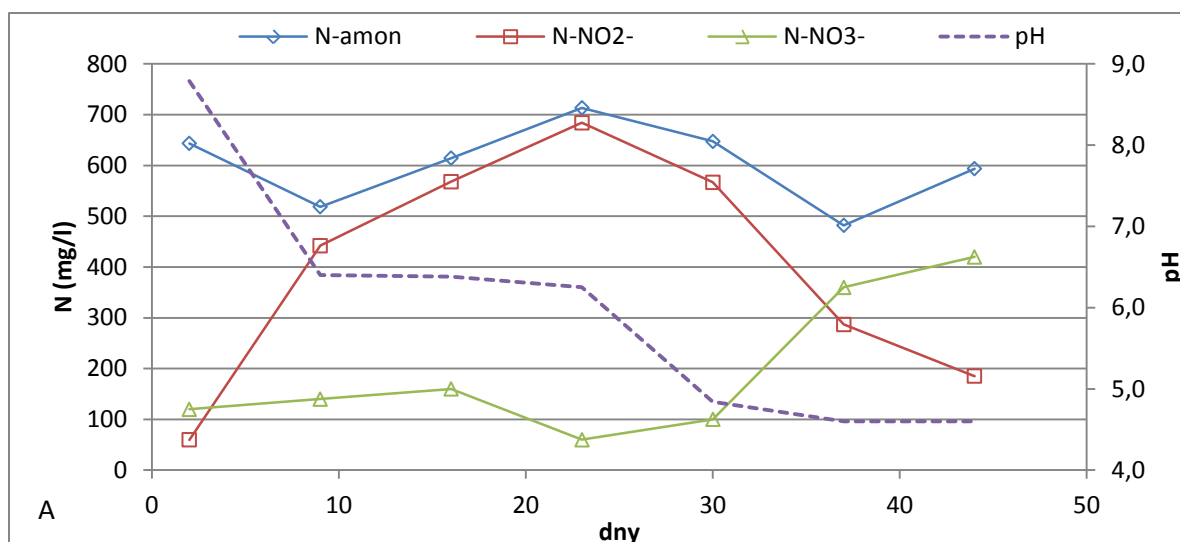
Modelové reaktory M1 a M2 byly provozovány v CSTR režimu, objemovým zatížením 0,20 kg N-amon/(m³·d), bez odběru přebytečného kalu a s koncentrací O₂ 3 – 6 mg/l, což nijak nelimituje aktivitu AOB ani NOB. Experimenty byly zaměřeny na studium vlivu podmínek při zapracování nitrifikace a na možnost dosažení následné akumulace dusitanů.

Reaktor M1 byl provozován bez zaočkování, tedy s minimálním množstvím aktivní biomasy při zapracování. Stripování CO₂ vyvolané aerací reaktoru (Khin et Anchantre, 2004) vedlo v prvních dnech jeho provozu k nárůstu pH až na 8,9. Při koncentraci N-amon cca 550 mg/l tvořil N-NH₃ cca 150 mg/l (obr. 6 B). To je hodnota převyšující v literatuře uváděný inhibiční limit nejen pro NOB, ale i pro AOB (Anthonisen et al., 1976; Park et Bae, 2009). Postupný nárůst koncentrace N-NO₂⁻ po cca 15 dnech přesto svědčí o přítomnosti AOB v surové kalové vodě. Postupně se zvyšující aktivita AOB způsobila rychlý pokles pH na hodnotu cca 6,5, což vedlo ke snížení koncentrace NH₃ na 0,5–1,0 mg/l (obr. 6 B). Oproti činnosti AOB byla aktivita NOB projevující se navýšením koncentrace N-NO₃⁻ v systému zaznamenána až od cca 50. dne, přičemž dosažení úplné nitrifikace na N-NO₃⁻ jako finálního produktu nitrifikace trvalo cca 180 dní (obr. 6 A). Dlouhodobá akumulace dusitanů byla pravděpodobně v reaktoru udržena díky zvýšené koncentraci HNO₂, která vyvíjela určitý inhibiční tlak na NOB i poté, co koncentrace NH₃ poklesla pod 1 mg/l (23. den).



Obr. 6 A – Vývoj nitrifikační aktivity M1, **B** – Vývoj koncentrace toxických forem v M1

Způsob zaočkování M2, kdy byl reaktor naplněn směsí aktivovaného kalu a kalové vody v poměru 1:1, připravil odlišné počáteční podmínky pro rozvoj nitrifikace než v případě M1. Vyšší hodnota pH kalové vody, vysoká počáteční koncentrace N-amon a stripování CO₂ sice opět vedly k nárůstu pH reakční směsi až k hodnotě 8,9 a koncentraci N-NH₃ cca 160 mg/l, ale přítomnost velkého množství aktivovaného kalu (specifické zatížení 0,074 kg N-amon/(kg NL_{org}·d) zahájení nitrifikace ve srovnání s M1 výrazně urychlila (obr. 7). AOB se na podmínky vysoké koncentrace NH₃ adaptovaly rychleji, což vedlo k nárůstu koncentrace dusitanů v čištěné kalové vodě již mezi 2. a 9. dnem experimentu a zároveň k poklesu hodnoty pH a tedy i koncentrace NH₃. Výrazně kratší ve srovnání s M1 byla i adaptace NOB, která se projevila nárůstem koncentrace dusičnanového dusíku už po cca 35 dnech od zahájení provozu reaktoru.



Obr. 7 – Vývoj nitrifikační aktivity M2

Vysoká počáteční koncentrace N-amon spolu s vyšší hodnotou pH vedla u obou popisovaných reaktorů, M1 i M2, k extrémnímu nárůstu podílu nedisociovaného NH_3 , což ve fázi zpracování spolehlivě vede k inhibici NOB. Nevýhodou tohoto způsobu iniciace ZN je delší doba zpracování reaktoru při nutnosti nízkého počátečního zatížení reaktoru. V již zapracovaném reaktoru při nitrifikaci (bez ohledu na to, zda úplné, či zkrácené) dochází k uvolňování H^+ iontů, což zapříčiní pokles hodnoty pH v čištěné kalové vodě a tím pádem i výrazné oslabení inhibičního tlaku NH_3 (obr. 6 B - při pH 6,5 a koncentraci 500 mg/l N-amon odpovídá koncentrace NH_3 v reaktoru v závislosti na teplotě cca 1 mg/l). V případě, že akumulace dusitanů v tomto období není podpořena dalšími faktory (limitace O_2 , vysoké objemové zatížení - Ruiz et al., 2003, Blackburne et al., 2008; Jubany et al., 2009; Pacek et al., 2014a;), dochází dříve, či později i přes přítomnost vysokých koncentrací NO_2^- a dle literatury inhibičních koncentrací HNO_2 (Anthonisen et al., 1976; Vadivelu et al., 2006) k samovolnému převedení systému do úplné nitrifikace.

Na možnosti dosažení akumulace dusitanů prostřednictvím limitace NOB toxickými formami dusíku jsou zcela nebo částečně zaměřeny **publikace č. 1, č. 2, č. 3 a č. 5** (kap. 7.1; 7.2; 7.3; 7.5).

Problematika zpracování nitrifikačních reaktorů je dále řešena v **publikaci č. 3** (kap. 7.3).

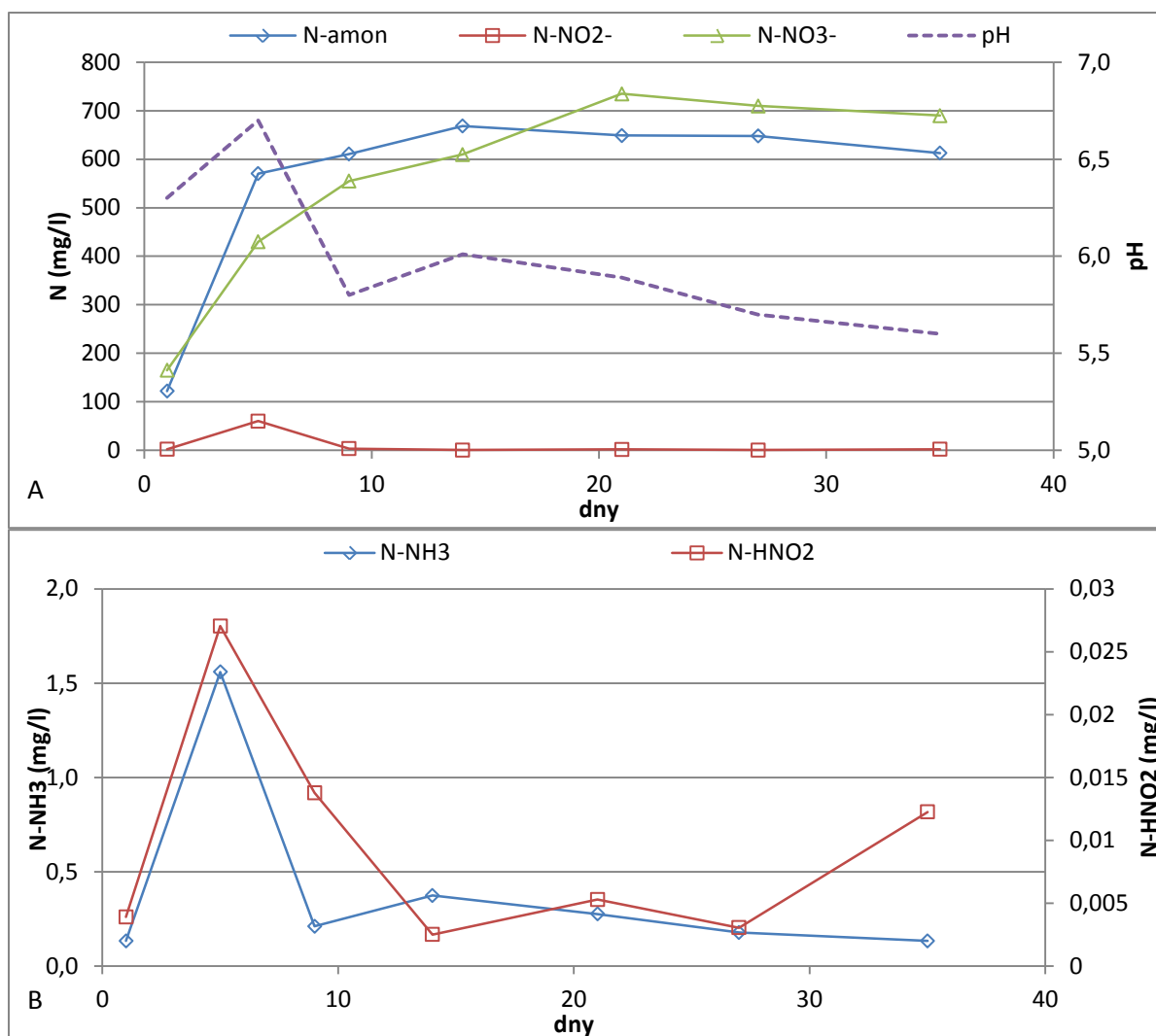
4.2.1.2 Iniciace zkrácené nitrifikace v již zapracovaném reaktoru s úplnou nitrifikací

Další možností, jak dosáhnout akumulace dusitanů, je rychlé a efektivní zapracování úplné nitrifikace na dusičnany a následné převedení systému na ZN. Uvedený postup byl demonstrován na provozu následujících modelů:

Rychlé zapracování úplné nitrifikace

Reaktor M3 provozovaný jako CSTR byl naplněn (zaočkován) pouze aktivovaným kalem. Oproti M1 a M2 tedy nepřevyšovala koncentrace N-amon v době zahájení provozu reaktoru 1 mg/l. I při relativně vysokém počátečním objemovém zatížení 0,60 kg N-amon/(m³·d) bylo při dostatečné koncentraci kalu (koncentrace NL_{org} 5,5 g/l; specifické zatížení 0,091 kg N-amon/(kg NL_{org}·d)) dosaženo úplné nitrifikace prakticky okamžitě. Vzhledem k tomu, že koncentrace N-amon na počátku experimentu byla zanedbatelná a hodnota pH nepřevýšila 6,7, nedošlo v důsledku působení NH₃ k inhibici aktivity ani senzitivnějších NOB a finálním produktem reakce byl proto od první chvíle N-NO₃⁻ (obr. 8 A) a to i přes to, že koncentrace N-NH₃ v prvních dnech experimentu převyšovala 1 mg/l, hodnotu, u níž je již udáván inhibiční vliv na NOB (Anthonisen et al., 1976; Vadivelu et al., 2007; Park et Bae, 2009). Koncentrace HNO₂ byla při omezené produkci dusitanů minimální (obr. 8 B).

Téměř okamžité dosažení nitrifikace při zaočkování běžným aktivovaným kalem a bez jakékoli následné regulace provozních podmínek bylo umožněno minimální koncentrací N-amon v okamžiku zahájení provozu reaktoru. Výsledky provozu M3 jsou v kontrastu se závěry Jubany et al. (2008), Bartrolí et al. (2011) a dalších, kteří popisují nutnost až několikaměsíční fáze zapracování k dosažení srovnatelného objemového zatížení.



Obr. 8 A -Vývoj nitrifikační aktivity M3, **B** – Vývoj koncentrace toxických forem v M3

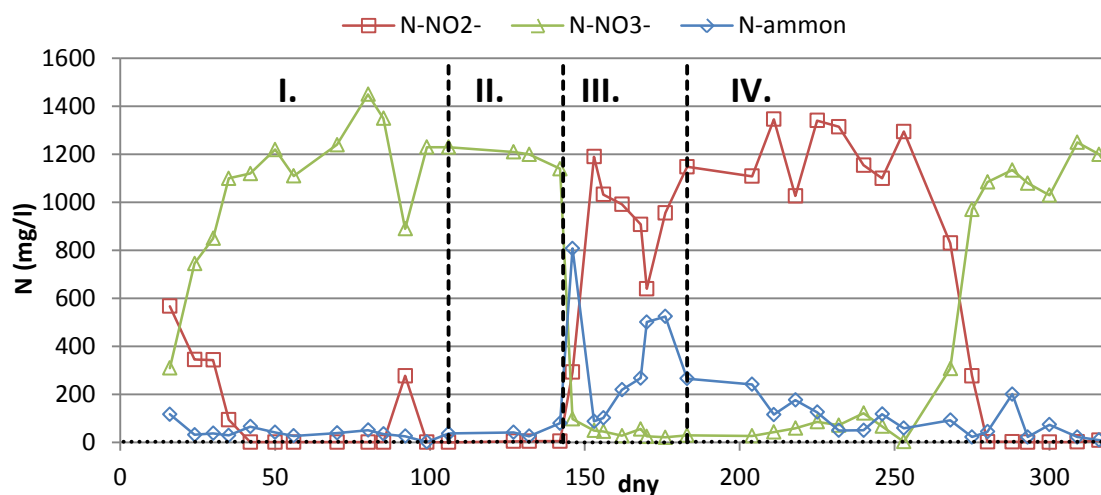
Takto, či podobně zapracovaný nitrifikační reaktor je poté možno převést do režimu ZN nastavením podmínek omezujících aktivitu NOB. Jednou z těchto možností je limitace koncentrace O₂.

Iniciace zkrácené nitrifikace prostřednictvím limitace kyslíku

Pro ověření možnosti dosažení ZN prostřednictvím limitace kyslíku v reaktoru s úplnou nitrifikací byl po 330 dnů provozován modelový reaktor M4. Provoz byl rozdělen do čtyř etap lišících se v kyslíkovém režimu.

V první etapě do cca 100. dne probíhalo pozvolné zvyšování zatížení z 0,15 kg N-amon/(m³·den) na cca 1,5 kg N-amon/(m³·den). Průměrné specifické zatížení v průběhu experimentu pak odpovídalo 0,25 kg N-amon/(kg NL_{org}·d). Účinnost nitrifikace kromě krátkého období po zahájení provozu kolísala v rozmezí 95–99 %, což bylo umožněno

dávkováním zásaditého činidla vyrovnávajícího pokles hodnoty pH (viz kap. 4.2.3). Koncentrace kyslíku byla automaticky udržována na hodnotě $3,0 \pm 1,0$ mg/l, což nelimitovalo aktivitu AOB ani NOB. Hodnota pH byla v průběhu experimentu automaticky udržována na $7,0 \pm 0,1$ přidáváním NaOH. Ve druhé etapě bylo navyšování průtoku ukončeno a objemové zatížení bylo udržováno na $1,42 \pm 0,06$ kg N-amon/($m^3 \cdot den$), specifické zatížení v této době odpovídalo $0,25$ kg N-amon/(kg $NL_{org} \cdot d$).



Obr. 9 – Průběh nitrifikace v rámci jednotlivých etap provozu M4, I., II. a IV. etapa – koncentrace rozpuštěného kyslíku 3 mg/l, III. etapa – 0,7 mg/l

Výsledným produktem nitrifikace byl ve větší části první etapy a v celé druhé etapě při stabilních podmínkách takřka výhradně dusičnanový dusík. Třetí etapa byla zahájena snížením hladiny O_2 na hodnotu $0,7$ mg/l, což odpovídá K_{DO} pro AOB (Guisasola et al., 2005). Během několika následujících dní rapidně vzrostla koncentrace dusitanů v reaktoru na úkor dusičnanů, jejichž zastoupení kleslo pod 10 %, následně během dalšího týdne pod 5 % a pod touto hranicí se pohybovalo po celou dobu třetí etapy (obr. 9).

Nízká koncentrace kyslíku sice vedla k potlačení činnosti NOB, nicméně měla za následek při stávajícím zatížení pohybujícím se okolo $1,5$ kg N-amon/($m^3 \cdot d$) i postupný pokles účinnosti oxidace N-amon z původních více než 90 % na začátku etapy na hodnoty kolem 60 % na jejím konci. Čtvrtá etapa byla zahájena opětovným navýšením koncentrace O_2 na cca 3 mg/l, což během týdne zvýšilo účinnost konverze N-amon na hodnoty přesahující 90 %, přičemž téměř veškerý N-amon byl i nadále převáděn pouze na $N-NO_2^-$. ZN s vysokou účinností odstranění N-amon probíhala následujících 90 dní, teprve poté došlo k opětovnému nárůstu aktivity NOB a tím pádem i navýšení koncentrace $N-NO_3^-$ na úkor $N-NO_2^-$. K velmi

podobným výsledkům dospěli v rámci svých experimentů s kalovou vodou Isaka et al. (2008), kteří k prvotní inhibici NOB využili teplotní šok (viz kap. 1.3.5).

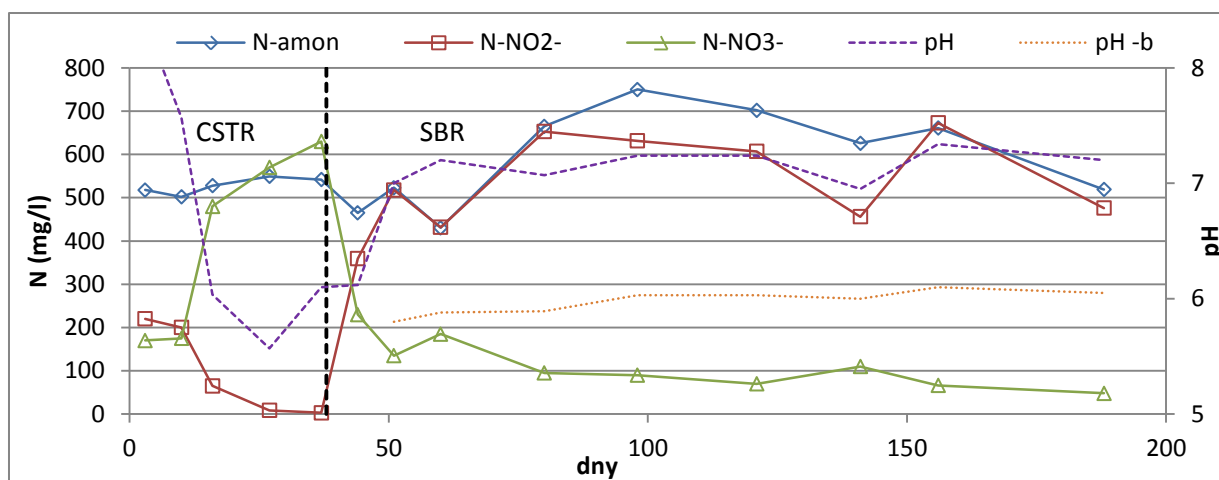
Prostřednictvím limitace O_2 v reaktoru bylo dosaženo ZN, nicméně nízká koncentrace kyslíku vedla také k poklesu účinnosti odstraňování N-amon. Tento problém byl vyřešen navýšením hladiny O_2 (počátek etapy IV), aniž by se po následujících 90 dnů výrazně změnil poměr oxidovaných forem. Udržení ZN bez selektivního tlaku nízké hladiny O_2 , či vyšší koncentrace NH_3 lze vysvětlit inhibičním působením nedisociované HNO_2 , jejíž koncentrace i přes neutrální pH vlivem akumulace $N-NO_2^-$ převyšující 1 g/l dosáhla 0,2 – 0,6 mg/l $N-HNO_2$, přičemž jako inhibiční pro NOB je udávaná hodnota 0,02 – 0,45 mg/l $N-HNO_2$ (Anthonisen et al., 1976; Vadivelu et al., 2006; Park et Bae, 2007; Jubany et al., 2009). Dalším z rozhodujících faktorů mohla být i přítomnost disociovaného $N-NO_2^-$, která je v takto vysokých koncentracích zmiňována jako další možný inhibitor aktivity NOB (Buday et al., 1999).

Vliv limitace koncentrace kyslíku na průběh a finální produkty nitrifikace byl autorem podrobně diskutován v **publikacích č. 1 a č. 6** (kap. 7.1; 7.6).

Iniciace zkrácené nitrifikace změnou provozního režimu

Další možnost, jak iniciovat ZN v reaktoru stabilně nitrifikujícím na dusičnany je změna provozního režimu. Uvedený postup byl experimentálně demonstrován při provozu reaktoru M5.

Reaktor byl zaočkován biomasou z již dříve provozovaného modelu nitrifikujícího na dusičnany, objemové zatížení odpovídalo 0,3 kg N-amon/($m^3 \cdot den$). Po dobu 38 dnů od zahájení byl reaktor provozován v CSTR režimu s NO_3^- jako finálním produktem nitrifikace. Záhy po převedení systému do SBR došlo k výrazné akumulaci dusitanů a rychlému poklesu koncentrace dusičnanů z 630 mg/l ve 38. dni na 135 mg/l v 51. dni provozu reaktoru. Poté koncentrace dusičnanů pozvolna klesala až k 48 mg/l v závěru provozu reaktoru (obr. 10). Hodnota pH v reaktoru se měnila v závislosti na průběhu jednotlivých cyklů. Na začátku každého cyklu došlo k jednorázovému přivedení kalové vody do reaktoru, v důsledku čehož hodnota pH stoupla na cca 7,2, což vedlo ke koncentraci NH_3 cca 7 mg/l, na konci cyklu pak klesala k hodnotě kolem 6 (obr. 10), což v přítomnosti dusitanů naopak navýšilo koncentraci $N-HNO_2$ až na 1,5 mg/l.



Obr. 10 – Vývoj nitrifikační aktivity reaktoru M5 (přerušovaná vertikální linie odděluje fáze CSTR – kontinuální režim a SBR – semikontinuální režim, pH – hodnota pH v CSTR a v SBR na začátku cyklu, pH-b – hodnota pH na konci cyklu M6)

Šokové působení vysokých koncentrací NH_3 a HNO_2 v průběhu cyklu negativně působí na NOB, a tím dochází k opakované inhibici a následnému postupnému potlačení jejich aktivity (Radechovský et al., 2013).

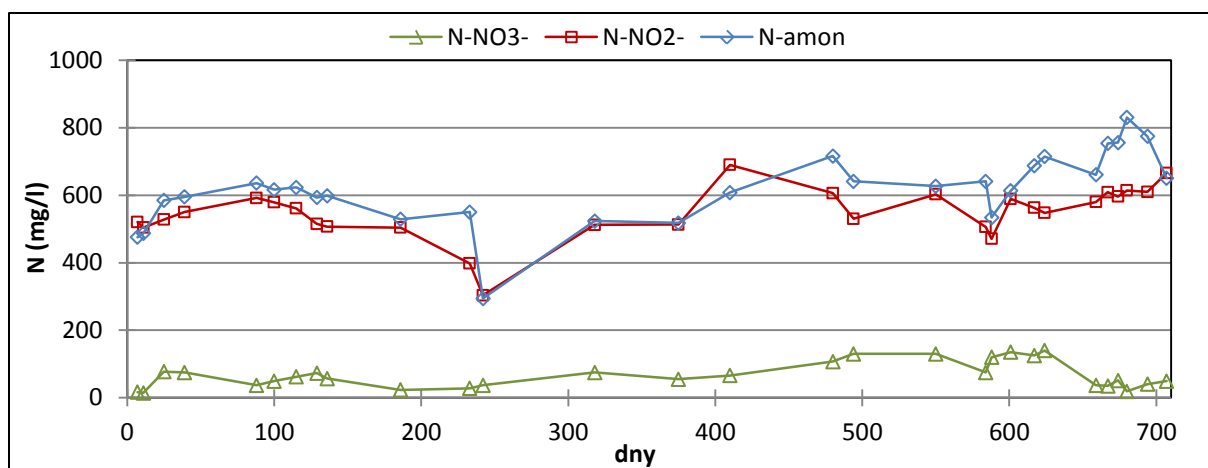
Aplikace SBR provozních režimů na úpravu kalové vody a jejich vliv na zastoupení finálních produktů nitrifikace jsou popisovány v publikacích č. 2 a č. 5 (kap. 7.2; 7.5).

4.2.2 Udržení dlouhodobé zkrácené nitrifikace

Nastartování ZN je jednoduše technologicky řešitelné řadou způsobů, jak již bylo popsáno v předchozí kapitole. Poněkud komplikovanější je nicméně její dlouhodobý stabilní provoz, při němž je nutné zabránit přirozené tendenci biomasy k obnově úplné nitrifikace, jako tomu bylo u experimentů s reaktory M1, M2 i M4. Z hlediska dosažení a dlouhodobého udržení ZN v reaktoru upravujícím kalovou vodu nebo OV podobných vlastností je technologicky pravděpodobně nejspolehlivější metoda provozu reaktoru v SBR.

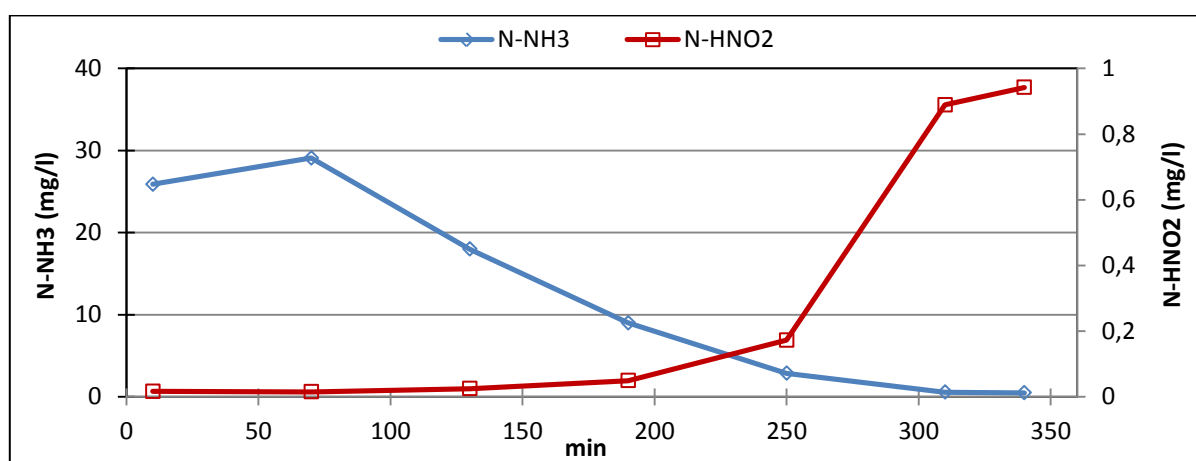
4.2.2.1 Stabilní zkrácená nitrifikace prostřednictvím SBR režimu

SBR provoz je velmi vhodný z hlediska dosažení a udržení stabilní ZN bez dalších vnějších zásahů. Dokladuje to i M6, který byl provozován v SBR režimu při objemovém zatížení $0,8 \text{ kg N-amon}/(\text{m}^3 \cdot \text{den})$ po dobu téměř dvou let, přičemž podíl N-NO_3^- v reaktoru za celou dobu nepřekročil 25 % z celkového množství oxidovaných forem dusíku (obr. 11).



Obr. 11 – Vývoj nitrifikační aktivity reaktoru M6

Zejména zde je zjevný zásadní rozdíl mezi udržením stabilního provozu ZN v CSTR a SBR režimu. V obou případech není nijak komplikované docílit akumulace dusitanů, u CSTR bez dalších zásahů však obvykle dříve, či později dojde k obnovení úplné nitrifikace na N-NO_3^- . Dlouhodobá stabilní akumulace je v případě CSTR podmíněna kontinuálním, či opakovaným působením dalších faktorů limitujících, či inhibujících aktivitu NOB. U systémů provozovaných jako SBR je ZN kalové vody a podobných typů OV za daných podmínek možné udržet dlouhodobě pouze vlivem samotného střídání vyšší koncentrace toxických forem v průběhu jednotlivých cyklů (obr. 12) a jiné zásahy do provozu reaktoru nejsou nutné. Bylo experimentálně ověřeno, že stabilní akumulace dusitanů lze tímto způsobem docílit i při koncentraci N-amon 300 mg/l a objemovém zatížení 0,2 kg N-amon/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$) (Radechovský et al., 2013).



Obr. 12 – Typický průběh změn koncentrace NH_3 a HNO_2 v průběhu SBR cyklu

4.2.2.2 *Stabilní zkrácená nitrifikace v CSTR režimu*

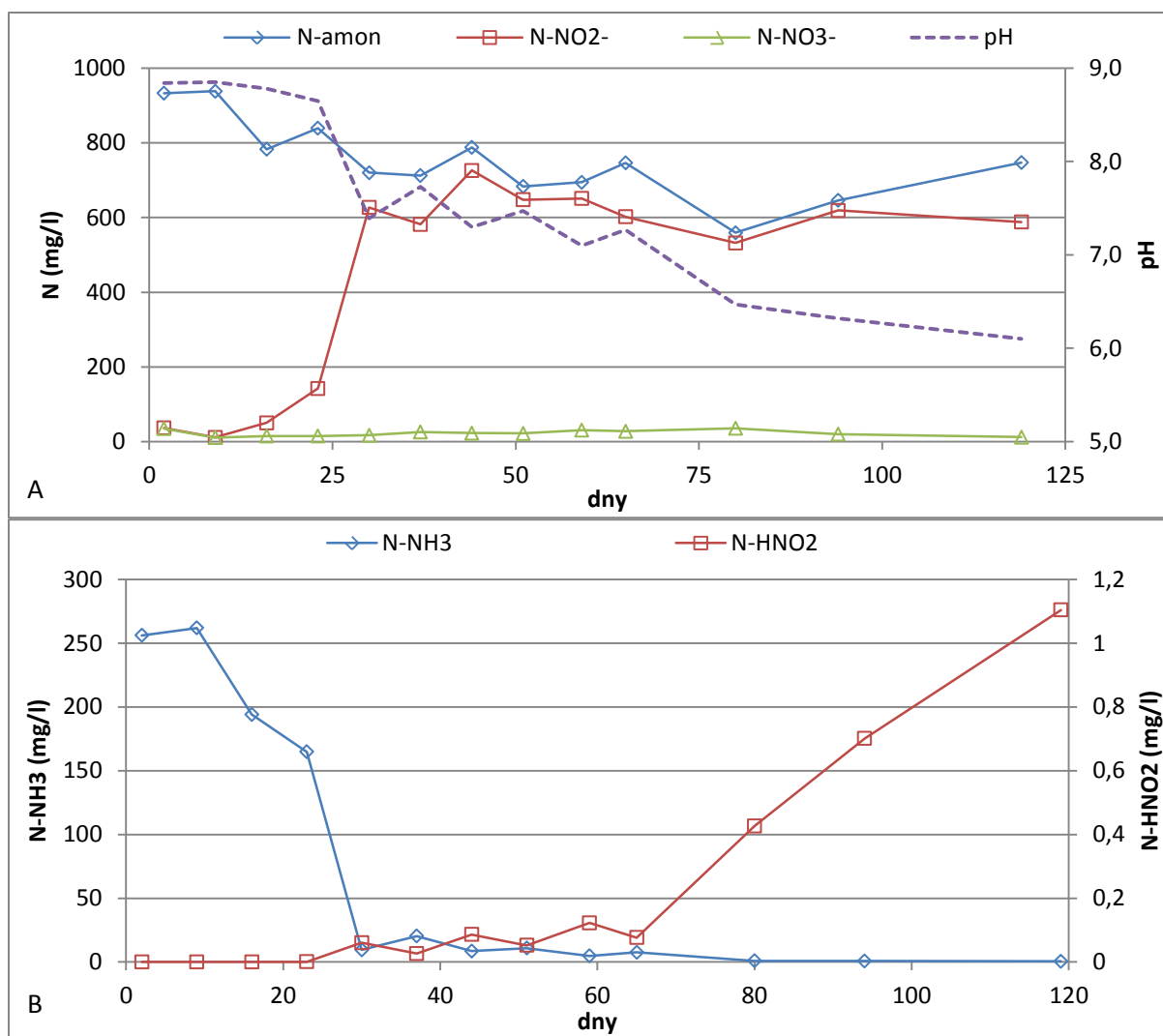
Limitace O₂

Provozem reaktoru M4, který byl zmíněn již v rámci kap. 4.2.1.2, byla prezentována možnost stabilní akumulace dusitanů v CSTR režimu při nízké koncentraci O₂. Omezená dostupnost kyslíku nicméně vedla při daném, relativně vysokém zatížení 1,5 kg N-amon/(m³·den) k postupnému poklesu účinnosti oxidace N-amon. Není vyloučeno, že by při uvedeném objemovém zatížení bylo možné najít takovou koncentraci O₂, které by umožnila akumulaci dusitanů a zároveň nevedla k omezení účinnosti oxidace. Možnost praktické aplikace tohoto postupu při zachování vysoké účinnosti nitrifikace pak může spočívat ve střídání fází s limitovanou a nelimitovanou koncentrací kyslíku v reaktoru. Podrobněji viz **publikace č. 1 a č. 6**.

Vysoké objemové zatížení

Dalším faktorem, který podporuje akumulaci dusitanů je i vysoké objemové zatížení, jak do určité míry demonstruje provoz reaktoru M7.

Uvedený modelový reaktor byl provozovaný jako CSTR byl naplněn (zaočkován) pouze aktivovaným kalem. Podobně jako u M3 (viz kap. 4.2.1.2), koncentrace N-amon v okamžiku zahájení jeho provozu nepřevyšovala 1 mg/l. Následně byl reaktor M7 vystaven velmi vysokému objemovému zatížení 1,75 kg N-amon/(m³·den), což způsobilo jeho přetížení a nárůst koncentrace NH₃ až na cca 260 mg/l N-NH₃ (obr. 13 B). Tato extrémní koncentrace zapříčinila inhibici nejen vůči toxicitě amoniaku citlivějších NOB, ale i relativně tolerantních AOB. Následně bylo objemové zatížení sníženo na 1,3 kg N-amon/(m³·den). Výraznější biochemická oxidace N-amon byla zjištěna kolem 25. dne a rychle narostla během následujících 5 dnů. Po celou dobu provozu M7 (119 dní) byl hlavním produktem nitrifikace N-NO₂⁻, koncentrace N-NO₃⁻ se pohybovala v řádech jednotek mg/l (obr. 13 A).



Obr. 13 A -Vývoj nitrifikační aktivity M5, **B** – Vývoj koncentrace toxických forem v M5

V období po přetížení byl vývoj nitrifikace v M7 velmi podobný modelům M1 (obr. 6) naplněného pouze kalovou vodou (bez zaočkování) a M2 (obr. 7), kdy byl reaktor zaočkován kombinací aktivovaného kalu a kalové vody. Počáteční koncentrace NH₃ (ve všech případech více než 150 mg/l N-NH₃) byla rapidně snížena vlivem zahájení nitrifikační aktivity spojené s poklesem hodnoty pH. Nárůst koncentrace N-NO₂⁻ při hodnotě pH 6 - 7 způsobil navýšení koncentrace HNO₂ (u všech tří modelů se pohybovala mezi 0,2 a 1,2 mg/l N-HNO₂), což mohlo vést k následné inhibici NOB prostřednictvím kyseliny dusité. Až později se patrně projevila adaptace NOB na podmínky panující v reaktoru (Yusof et al., 2010) a došlo k obnovení úplné nitrifikace.

Na základě výsledků z reaktoru M7 je možno předpokládat, že jedním z faktorů podporujících hromadění dusitanů i po odeznění inhibičního vlivu NH₃ by mohlo být vysoké objemové zatížení reaktoru, výrazně vyšší než v případě M1 a M2. Zatím není zcela jasné,

jakým způsobem vyšší objemové zatížení napomáhá udržet vyvolanou akumulaci dusitanů. Lze předpokládat, že úroveň zatížení může ovlivnit koncentraci toxických meziproductů nitrifikace (např. hydroxylaminu, Xu et al. 2012). Vysoké zatížení N-amon vede také k intenzivnější okamžité spotřebě kyslíku bakteriemi. To může i při relativně vysoké koncentraci kyslíku v médiu způsobit jeho nedostatek například v podpovrchových částech kalové vložky vzhledem k omezené rychlosti difúze vrstvou vložky, či biofilmu. V případě, kdy jsou v povrchových partiích vložky přítomny zejména AOB (de Sousa Carvalho et al., 2006), dochází k limitaci druhého stupně nitrifikace. Objemové zatížení jako jeden z faktorů vedoucích k akumulaci N-NO₂⁻ zmiňují i Okabe et al. (2011). V jejich biofilmovém reaktoru byla při teplotě 35 °C a při objemovém zatížení vyšším než 1 kg N-amon/(m³·d) udržována stabilní ZN, která přešla v úplnou nitrifikaci po snížení zatížení na hodnotu 0,25 kg N-amon/(m³·d).

Z provedených experimentů vyplývá, že za technologicky udržitelných podmínek, tzn. bez umělého navyšování hodnoty pH např. dávkováním činidel, není reálné v systému pracujícím na principu CSTR dosáhnout trvalé akumulace N-NO₂⁻ pouze na základě působení toxických forem dusíku. Jejich inhibiční tlak na NOB bude v takto provozovaném reaktoru nutno kombinovat s dalšími zásahy do systému.

4.2.3 Účinnost odstranění N-amon

Účinnost odstranění N-amon při nitrifikaci kalové vody se po úvodní fázi zapracování u všech modelů vyjma M4 v zásadě nelišila a pohybovala se kolem 50 %. Limit účinnosti odpovídající oxidaci přibližně jedné poloviny celkové koncentrace N-amon v surové kalové vodě je dán jejím molárním poměrem NH₄⁺/HCO₃⁻ zhruba 1,1/1. Pufrační kapacita čištěné vody proto umožňuje odstranění cca 50 % N-amon, poté pH klesá na hodnotu inhibující další nitrifikační aktivitu (Khin et Anchantre, 2004). Pokud by byl pokles hodnoty pH kompenzován např. současně probíhající denitrifikací, která by vlivem uvolňování OH⁻ pokles hodnoty pH eliminovala, či přidáváním zásaditého činidla jako tomu bylo v případě M4, bylo by možné dosáhnout výrazně vyšší účinnosti (Pacek et al., 2014a).

4.2.4 Environmentální rizika zkrácené nitrifikace

S širší aplikací čistírenských procesů založených na ZN musí být věnována pozornost i riziku vysokých emisí N_2O , které zatím bylo ve vztahu k technologiím ČOV diskutováno jen omezeně. N_2O je silný skleníkový a ozonovou vrstvu narušující plyn a ČOV jsou jeho významným antropogenním emitorem (IPCC, 2007).

Rizika vyšších emisí N_2O v průběhu čištění vod jsou dávány do souvislosti zejména se stresem bakteriálních kultur vyvolaným nestabilitou podmínek. Z tohoto hlediska je proto více rizikový provoz reaktorů v režimu SBR vyznačujícím se proměnlivou hodnotou pH a koncentrací kyslíku, různou dostupností substrátů, prudkou změnou redox potenciálu atd. v rámci každého cyklu. Významné riziko vyšších emisí N_2O je však spojováno i s limitací dostupnosti O_2 a působením dalších faktorů využívaných při potlačení aktivity NOB v CSTR systémech (Kampschreur et al., 2008; Law et al., 2012; Pacek et al., 2014b).

Rizikům emisí N_2O při praktickém využití alternativních metod odstraňování N-amon z OV se podrobněji věnuje **publikace č. 4** (kap. 7.4).

5 Závěry a doporučení

Následující text stručně shrnuje výsledky prezentovaného výzkumu a formou doporučení vymezuje možný směr dalšího výzkumu.

5.1 Závěry

Výsledky popsaných experimentů potvrzují, že stabilní ZN při zachování vysoké účinnosti odstranění N-amon může být realizována prostřednictvím technologicky nenáročných reaktorů v režimu CSTR i SBR zaočkovaných běžným aktivovaným kalem v suspenzi při laboratorní teplotě.

Bylo prokázáno, že zapracování nitrifikačního reaktoru na čištění kalové vody je možné zrealizovat i při relativně vysokém počátečním zatížení během několika dnů s využitím běžného aktivovaného kalu. Iniciace nitrifikace je možná i bez zaočkování, pouhým provzdušňováním kalové vody.

Limitace koncentrace kyslíku je spolehlivým faktorem umožňujícím potlačení aktivity NOB v OV s vysokou koncentrací N-amon. Prostřednictvím limitace O_2 v reaktoru bylo dosaženo ZN, nicméně nízká koncentrace kyslíku vedla také k poklesu účinnosti odstraňování N-amon. Takto vyvolaná ZN nicméně vykazuje efekt setrvačnosti i po pominutí původní limitace aktivity NOB nízkou hladinou O_2 způsobený pravděpodobně inhibičním působením HNO_2 , či vysokých koncentrací NO_2^- . Z výsledků experimentů je evidentní, že inhibiční tlak akumulovaných dusitanů bez spolupůsobení dalších faktorů (O_2 , NH_3 , objemové zatížení N-amon) není sám o sobě dostačující pro dlouhodobou ZN a v takto provozovaném systému vždy, dříve, či později, dojde k opětovnému obnovení úplné nitrifikace na dusičnany. Na druhou stranu, délka fáze provozu reaktoru předcházející obnovení úplné nitrifikace je různá a často přesahuje i několik měsíců. Z toho vyplývá možnost, že pro dosažení stabilní ZN by postačovalo vystavit reaktor vlivu zmíněných inhibičních faktorů pouze periodicky, čímž by došlo k opětovnému potlačení růstu NOB a přetrvání akumulace dusitanů.

Z hlediska stability a nenáročnosti provozu se jako velmi vhodný projevil provozní režim SBR. Časté střídání zvýšené koncentrace obou toxických forem dusíku dané opakováním cyklů vede k účinné inhibici NOB, zatímco aktivita AOB není výrazněji limitována. To umožňuje dosažení ZN bez jakékoli regulace dalších faktorů (O_2 , stáří kalu atd.), což bylo potvrzeno stabilním provozem SBR reaktoru v režimu ZN po dobu dvou let.

Alternativní metody odstraňování dusíku z koncentrovaných OV umožňují výrazné ekonomické úspory a při odděleném čištění kalové vody snižují zatížení hlavní čistírenské linky. Negativním a zatím poněkud opomíjeným rysem těchto metod jsou obvykle výrazně vyšší emise N_2O na jednotku odstraněného dusíku ve srovnání s konvenčními biochemickými procesy.

5.2 Doporučení

Popsané experimenty byly prováděny s neředěnou kalovou vodou z ÚČOV Praha, u níž koncentrace N-amon převyšuje 1 g/l. Za těchto podmínek lze v SBR režimu relativně snadno dosáhnout takové koncentrace toxických forem dusíku, které inhibují aktivitu NOB. Zatím však není jasné, zda je možné aplikovat uvedenou metodu i na kalové vody s menší koncentrací N-amon v řádu stovek mg/l, či anaerobně předčištěné komunální OV s koncentrací v řádu desítek mg/l. Další výzkum by v tomto případě měl být směřován k popsání koncentrací, za nichž je prostřednictvím SBR metody stále možné realizovat ZN.

Střídání vyšších koncentrací toxických forem v SBR systémech upravující neředěnou kalovou vodu je spolehlivým faktorem umožňujícím akumulaci dusitanů, účinnost oxidace N-amon je však omezena. Další výzkum by měl být směřován na možnosti realizace uvedeného postupu i při vyšší účinnosti, které lze dosáhnout pouze navýšením hodnoty pH (ať už přirozeně – denitrifikací, či uměle přidáváním zásaditých činidel) a tím také omezením inhibičního vlivu HNO_2 .

Realizace ZN v CSTR provozech je možná prostřednictvím limitace kyslíku. Jeho nízká hladina však omezuje výkon reaktoru. Další pokusy by měly být směřovány k identifikaci vhodných podmínek objemového zatížení a koncentrace kyslíku, které by zachovaly ZN a zároveň nesnižovaly výkon reaktoru, případně k nalezení optimální frekvence střídání fází s limitovanou a neimitovanou koncentrací kyslíku.

Během provozu experimentálních reaktorů bylo dosahováno stabilní ZN při laboratorních teplotách, což je výrazně méně, než například v případě provozně využívaného SHARON procesu. Není však jasné, jaká bude stabilita akumulace dusitanů při poklesech teploty hlouběji pod 20 °C, kdy rychlost růstu NOB převyšuje AOB. Následný výzkum by se

proto měl zaměřit i na provoz CSTR a SBR reaktorů při nižších teplotách, případně při teplotních skocích způsobených v provozních podmínkách například změnou počasí v chladných měsících.

V souvislosti s čím dál větším rozšířením provozních aplikací popsaných alternativních procesů by měl být zvýšený zájem věnován i analýzám a modelům kvantifikujícím emise N_2O z těchto provozů. Výzkum by měl být směřován zejména k popisu množství emisí z jednotlivých provozních variant. Na jejich základě pak bude možné stanovit vhodné technologické postupy a doporučení, které případné emise N_2O minimalizují.

6 Literatura

1. Antileo, C., Medina, H., Bornhardt, C., Muñoz, C., Jaramillo, F., Proal, J. 2013. Actuators monitoring system for real-time control of nitrification–denitrification via nitrite on long term operation. *Chemical Engineering Journal*. 223. 467-478
2. Abeling, U., Seyfried, C.F. 1992. Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonium wastewater - nitrogen removal via nitrite. *Water Science and Technology*. 26, 1007–1015.
3. Alleman, J.E. 1984. Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Science and Technology*. 17. 409–419.
4. Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S., Srinath, E.G. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of the Water Pollution Control Federation*. 48. 835–852.
5. Bartrolí, A., Carrera, J., Pérez, J. 2011. Bioaugmentation as a tool for improving the start-up and stability of a pilot-scale partial nitrification biofilm airlift reactor. *Bioresource Technology*. 102. 4370–4375.
6. Blackburne, R., Yuan Y.G., Keller, J. 2007. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation*. 19. 303–312.
7. Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J. 2008. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation*. 19. 303–312.
8. Bournazou, M.N.C., Hooshiar, K., Arellano-Garcia, H., Wozny, G., Lyberatos, G. 2013. Model based optimization of the intermittent aeration profile for SBRs under partial nitrification. *Water Research*. 47. 3399–3410.
9. Boušková, A., Mrákota, J., Smrčka, J., Stloukal, R., Batěk, J. 2011. Problematika a nové poznatky z provozování technologií s imobilizovanou biomasou. *Vodní hospodářství*. 397–403.
10. Buday, J., Drtil, M., Hutňan, M., Derco, J. 1999. Substrate and product inhibition of nitrification. *Chemical Papers*. 53. 379-383.
11. Carrera, J. A., Baeza, T., Vicent, J., Lafuente. 2003. Biological nitrogen removal of high strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system. *Water Research*. 37. 4211–4221.
12. de Sousa Carvalho, G., Meyer, R. L., Yuan, Z., Keller, J. 2006. Differential distribution of ammonia- and nitrite-oxidising bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor. *Enzyme and Microbial Technology*.

39(7). 1392-1398

13. Chen, S., Chen, C., Shen, Y., Chiu, C., Cheng, H.H.J. 1996. Treatment of high-strength nitrate wastewater by biological methods—operational characteristics study. *Water Science and Technology*. 34. 269–276.
14. Cohen, Y., Kirchmann, H. 2004. Increasing the pH of Wastewater to High Levels with Different Gases—CO₂ Stripping. *Water, Air, and Soil Pollution*. 159. 265–275.
15. Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. 1991. *Biologické čištění odpadních vod*, SNTL Praha.
16. Daims, H., Lucker, S., Wagner, M. 2006. Daime, a novel image analysis program for microbial ecology and biofilm research. *Environmental Microbiology*. 22. 200–213.
17. Debik, E., Coskun, T. 2009 Use of the Static Granular Bed Reactor (SGBR) with anaerobic sludge to treat poultry slaughterhouse wastewater and kinetic modeling. *Bioresource Technology*. 100. 2777 – 2782.
18. Dijkman, H., Strous. M. 1999. Process for ammonia removal from wastewater. Patent PCT/NL99/00446.
19. Ettwig, K.F., Shima, S., van de Pas-Schoonen, K.T., Kahnt, J., Medema, M.H., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M., Strous, M. 2008. Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of Archaea. *Environmental Microbiology* 10. 3164–3173
20. Fux, C., Bohler, M., Huber, P., Brunner, I., Siegrist, H. 2002. Biological treatment of ammonium-rich wastewater by partial nitrification and subsequent anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in a pilot plant. *Journal of Biotechnology*. 99.295–306.
21. Guisasola, A., Jubany, I., Baeza, J.A., Carrera, J., Lafuente, J. 2005. Respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80. 388–396.
22. Guisasola, A., Petzet, S., Baeza, J.A., Carrera, J., Lafuente, J. 2007. Inorganic carbon limitations on nitrification: experimental assessment and modelling. *Water Research*. 41(2). 277-286.
23. Guo, J. H., Yang, Q., Peng, Y. Z., Yang, A. M., Wang, S. Y. 2007. Biological nitrogen removal with real-time control using step-feed SBR technology. *Enzyme Microbial Technology*. 40. 1564–1569.
24. Guo, J. H., Peng, Y. Z., Wang, S.Y., Zheng, Y.N. 2009. Effective and robust partial nitrification to nitrite by real-time aeration duration control in an SBR treating domestic wastewater. *Process Biochemistry*. 44. 979-985.
25. Grey, N.F. 2004. *Biology of wastewater treatment* (2nd Edition). Imperial College Press

26. Hao, X., Heijnen, J.J., van Loosdrecht, M.C.M. 2002. Model-based evaluation of temperature and inflow variations on a partial nitrification-ANAMMOX biofilm process. *Water Research*, 36. 4839–4849.
27. Harper, W.F., Terada, A., Poly, F., Le Roux, X., Kristensen, K., Mazher, M., Smets, B. F. 2009. The Effect of Hydroxylamine on the Activity and Aggregate Structure of Autotrophic Nitrifying Bioreactor Cultures. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*. 102(3). 714-724.
28. Hellinga, C., Schellen, A.A.J.C., Mulder, J.W., van Loosdrecht, M.C.M. Heijnen, J.J. 1998. The SHARON process: an inovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Science and Technology*. 37. 135–142.
29. Hellinga, C., Van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J. 1999. Model based design of a novel process for Nitrogen Removal from concentrated flows. *Mathematical and Computer Modeling of Dynamical Systems*. 5. 351–371.
30. Huang, W., Wang, W., Shi, W., Lei, Z., Zhang, Z., Chen, R., Zhou, B. 2014. Use low direct current electric field to augment nitrification and structural stability of aerobic granular sludge when treating low COD/NH₄⁻-N wastewater. *Bioresource Technology*. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.08.043
31. Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate change 2007. <http://www.ipcc.ch/>
32. Isaka, K., Sumino, T. and Tsuneda, S. 2008. Novel nitrification process using heat-shocked nitrifying bacteria entrapped in gel carriers. *Process Biochemistry*. 43(3). 265-270.
33. 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., Kuenen, J. G. 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology Reviews*. 22. 421- 437.
34. Jubany, I., Carrera, J., Lafuente, J., Baeza, J. A. 2008. Start-up of a nitrification system with automatic control to treat highly concentrated ammonium wastewater: Experimental results and modeling. *Chemical Engineering Journal*. 144. 407–419.
35. Jubany, I., Lafuente, J., Baeza, J., Carrera, J. 2009. Total and stable washout of nitrite oxidizing bacteria from a nitrifying continuous activated sludge system using automatic control based on oxygen uptake rate measurements. *Water Research*. 43. 2761–2772.
36. Kampschreur, M.J., van der Star, W.R.L., Wiolders, H.A., Mulder, J.W., Jetten, M.S.M., van Loosdrecht, M.C.M. 2008. Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. *Water Research*. 42. 812–826.

37. Khin, T., Annachhatre, A.P. 2004. Novel Microbial Nitrogen Removal Processes. *Biotechnology Advances*. 22. 519-532.
38. Kim, D.J., Lee, D.I., Keller, J. 2006. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*. 97. 459–468.
39. Kindaichi, T., Okabe, S., Satoh, H., Watanabe, Y. 2004. Effects of hydroxylamine on microbial community structure and function of autotrophic nitrifying biofilms determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Water Science and Technology*. 49 (11-12). 61-68.
40. Kuai, L. P., Verstraete, W. 1998. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. *Applied and Environmental Microbiology*. 64. 4500–4506.
41. Lackner, S., Gilbert, E. M., Vlaeminck, S. E., Joss, A., Horn, H., van Loosdrecht, M. C. M. 2014. Full-scale partial nitritation/anammox experiences – An application survey. *Water Research*. 55. 292-303.
42. Law, Y., Lant, P., Zhiguo, Y. 2011. The effect of pH on N₂O production under aerobic conditions in partial nitritation system. *Water Research*. 45. 5934–5944.
43. Okabe, S., Oshiki, M., Takahashi, Y., Satoh, H. 2011. Development of long-term stable partial nitrification and subsequent anammox process. *Bioresource Technology*, 102, 6801–6807.
44. Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Vašák, F., Balík, J. 2011. Možnosti využití regulace koncentrace kyslíku při nitrifikaci kalové vody. *Vodní hospodářství*. 2011. 10. 372–376.
45. Pacek, L., Švehla, P., Bartáček, J., Radechovský, J., Hrnčířová, H., Shejbalová, Š., Balík, J., Jeníček, P. 2014a. Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment. *Desalination and water treatment* (online: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19443994.2014.950336#.U_zNJvl_vy0)
46. Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H. 2014b. Emise oxidu dusného při čištění odpadních vod. *Vodní hospodářství*. 4. 121 – 126.
47. Park, S. J., Bae, W., Chung, J. W., Baek, S. C. 2007. Empirical model of the pH dependence of the maximum specific nitrification rate. *Process Biochemistry*. 42. 1671–1676.
48. Park, S., Bae, W., 2009. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. *Process*

Biochemistry. 44(6). 631-640.

49. Peng, Y. Z., Gao, S.Y., Wang, L., Bai, 2007. Partial nitrification from domestic wastewater by aeration control at ambient temperature. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 15. 115-121.
50. Pilli, S., Bhunia, P., Yan, S., LeBlanc, R.J., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. 2011. Ultrasonic pretreatment of sludge: a review. *Ultrasonics Sonochemistry* 18. 1–18.
51. Pitter, P. 1999. *Hydrochemie*. SNTL, Praha, 565 s.
52. Qiao, S., Matsumoto, N., Shinohara, T., Nishiyama, T., Fujii, T., Bhatti, Z., Furukawa K. 2010. High-rate partial nitrification performance of high ammonium containing wastewater under low temperatures. *Bioresource Technology*. 101. 111-117
53. Radechovský, J., Švehla, P., Hrnčířová, H., Páček, L., Balík, J. 2013. Inhibiční působení sloučenin dusíku při nitrifikaci odpadních vod. *Chemické listy*. 107. 892-896.
54. Regmi, P., Holgate, B., Miller, M.W., Bunce, R., Park, H., Chandran, K., Wett, B., Murthy, S., Bott, C.B. 2014. Control of aeration, aerobic SRT and COD input for mainstream nitrification/denitrification. *Water Research*. 57. 162–171
55. Rongsayamanont, C., Limpiyakorn, T., Law, B. Khan, E. 2010. Relationship between respirometric activity and community of entrapped nitrifying bacteria: implications for partial nitrification. *Enzyme and Microbial Technology*. 46. 229–236.
56. Ruiz, G., Jeison, D., Chamy, R. 2003. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*. 37. 1371–1377.
57. Schramm, A., de Beer, D., Heuvel, J.C., Ottengraf, S., Amann, R. 1999. Microscale distribution of populations and activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. along a macroscale gradient in a nitrifying bioreactor: quantification by in situ hybridization and the use of microsensors. *Applied Environmental Microbiology*. 65. 3690–3696.
58. Searmsirimongkol, P., Rangsunvigit, P., Leethochawalit, M., Chavadej, S. 2011. Hydrogen production from alcohol distillery wastewater containing high potassium and sulfate using an anaerobic sequencing batch reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*. 36. 12810–12821.
59. Švehla, P., Jeníček, P., 2005. Nitritace/denitritace kalové vody jako prostředek vedoucí ke snížení koncentrace dusíku v odtoku z ČOV s anaerobní stabilizací kalu. Sborník conference Odpadní vody – Wastewater symposium Teplice. 191–198.
60. Švehla P., Jeníček P., Kocourková, L., Habart J., Hanč, A. 2008. Vliv teploty na průběh nitrifikace odpadní vody s vysokým obsahem amoniakálního dusíku. Sborník conference

Odpadové vody. Štrbské Pleso. 238–245.

61. Švehla, P., Bartáček, J., Páček, L., Hrnčířová, H., Radechovský, J., Hanč, A., Jeníček, P. 2014. Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid on nitrite-oxidising bacteria during sludge liquor treatment: influence of feeding strategy. *Chemical Papers*. 68. 871–878
62. Szpyrkowicz, L., Kaul, S. N., Neti, R. N., Satyanarayan, S. 2005. Influence of anode material on electrochemical oxidation for the treatment of tannery wastewater. *Water Research*. 39. 1601 – 1613.
63. Torà, J.A., Lafuente, J., Baeza, J.A., Carrera, J. 2010. Combined effect of inorganic carbon limitation and inhibition by free ammonia and free nitrous acid on ammonia oxidizing bacteria. *Bioresource Technology*. 101(15). 6051-6058
64. Turk, O., Mavinic, D.S. 1987. Benefits of using selective inhibition to remove nitrogen from highly nitrogenous wastes. *Environmental Technology Letters*. 8. 419–426.
65. Turk, O., Mavinic, D.S. 1989. Maintaining nitrite build-up in a system acclimated to free ammonia. *Water Research*. 23. 1383–1388.
66. Vadivelu, V.M., Yuan, Z., Fux, C., Keller, J. 2006. The inhibitory effects of free nitrous acid on the energy generation and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Environmental Science and Technology*. 40. 4442–4428.
67. Vadivelu, V.M., Keller, J., Yuan, Z. 2007. Effect of free ammonia on respiration and growth process of an enriched *Nitrobacter* culture. *Water Resrarch*. 41. 826–834.
68. Vallés-Morales, M., Mendoza-Roca, J., Bes-Pia, A., Iborra-Clar, A. 2004. Nitrogen removal from sludge water with SBR process: start-up of a full-scale plant in the municipal wastewater treatment plant at Ingolstadt, Germany. *Water Sci. Technol*. 50. 51–58.
69. van Dongen, L.G.J.M., Jetten, M.S.M., van Loosdrecht, M.C.M., 2001. The combined Sharon/Anammox Process. A sustainable method for N-removal from sludge water. STOWA Report, IWA Publishing, London, UK.
70. van Graaf, A.A., Mulder, A., Bruijn, P., Jetten, M.S.M., Robertson, L.A., Kuenen, J.G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation is a biologically mediated process. *Applied Environmental Microbiology*. 61. 246–1250.
71. van Hulle, S., Van Den Broeck, S., Maertens, J., Villez, K., Donckels, B., Schelstraete, G., Volcke, E., Vanrolleghem, P. 2005. Construction, start-up and operation of a continuously aerated laboratory scale SHARON reactor in view of coupling with an Anammox reactor. *Water SA*. 31. 327–334.

72. Wang J.L., Yang, N. 2004. Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions, *Process Biochemistry*. 39. 1223–1229.
73. Wang, L., Zeng, G., Yang, Z., Luo, L., Xu, H., Huang, J. 2014. Operation of partial nitrification to nitrite of landfill leachate and its performance with respect to different oxygen conditions. *Biochemical Engineering Journal*. 23. 212–221.
74. Wei, D., Xue, X., Yan, L., Sun, M., Zhang, G., Shi, L., Du, B. 2014. Effect of influent ammonium concentration on the shift of full nitrification to partial nitrification in a sequencing batch reactor at ambient temperature. *Chemical Engineering Journal*. 235. 19–26.
75. Wiesmann, U. 1994. Biological nitrogen removal from wastewater. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 51. 113–154.
76. Wu, C., Chen, Z., Liu, X., Peng, Y. 2007. Nitrification-denitrification via nitrite in SBR using real-time control strategy when treating domestic wastewater. *Biochemical Engineering Journal*. 36. 87–92.
77. Xu, G.J., Xu, X.C., Yang, F.L., Liu, S.T. 2011. Selective inhibition of nitrite oxidation by chlorate dosing in aerobic granules. *Journal of Hazardous Materials*. 185. 249-254.
78. Xu, G. J., Xu, X. C., Yang, F. L., Liu, S. T., Gao Y. 2012. Partial nitrification adjusted by hydroxylamine in aerobic granules under high DO and ambient temperature and subsequent Anammox for low C/N wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*. 213. 338-345.
79. Yang, Q., Peng, Y. Z., Liu, X. H, Zeng, W., Mino, T., Satoh, H. 2007. Nitrogen removal via nitrite from municipal wastewater at low temperatures using real-time control to optimize nitrifying communities. *Environmental Science and Technology*. 41. 8159–8164.
80. Yamamoto, T., Wakamatsu, S. Qiao, S., Hira, D., Fujii, T., Furukawa, K. 2011. Partial nitrification and anammox of a livestock manure digester liquor and analysis of its microbial community. *Bioresource Technology*. 102(3). 2348–2351
81. Ye, L., Peng, C.Y., Tang, B., Wang, S.Y., Zhao, K.F., Peng, Y.Z. 2009. Determination effect of influent salinity and inhibition time on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating saline sewage. *Desalination*. 246. 556–566.
82. Yoo, H., Ahn, K. H., Lee, H. J., Kwak, Y. J., Song, K. G. 1999. Nitrogen removal from nitric wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. *Water Science Technology*. 33. 145-154.
83. Yusof, N., Hassan, M. A., Phang, L. Y., Tabatabaei, M., Othman, M. R., Mori, M., Wakisaka, M., Sakai, K., Shirai, Y. 2010. Nitrification of ammonium-rich sanitary landfill

- leachate. *Waste Management*. 30. 100–109.
84. Zekker, E., Rikmann, T., Tenno, A., Menert, V., Lemmikso, A., Saluste, T., Tomingas, M. 2011. Modification of nitrifying biofilm into nitritating one by combination of increased free ammonia concentrations, lowered HRT and dissolved oxygen concentration. *Journal of Environmental Science*. 23. 1113–1121.
85. Zhang, L., Yang, J., Furukawa, K. 2010. Stable and high-rate nitrogen removal from reject water by partial nitrification and subsequent anammox. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 110. 441–448
86. Zheng, M., Yan-chen, L., Kang-ning, X., Cheng-wen, W, He. H., Wei, Z., Qian, D. 2013. Use of low frequency and density ultrasound to stimulate partial nitrification and simultaneous nitrification and denitrification. *Bioresource Technology*. 146. 537–542
87. Zhu, G., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q. 2008. Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*. 192. 159–195

7 Přílohy

Vědecké práce jsou přiloženy ve formě kopií publikovaných článků. Přílohy jsou řazeny do kapitol 7.1 až 7.6, pořadí příloh odpovídá výsledkové části práce (kap. 4.1).

7.1 Publikace č. 1

Pacek, L., Švehla, P., Bartáček, J., Radechovský, J., Hrnčířová, H., Shejbalová, Š., Balík, J., Jeníček, P. 2014. Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment. *Desalination and Water Treatment* (přijato do tisku, publikováno online):

http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19443994.2014.950336#.U_zNJvl_vy0

This article was downloaded by: [Ceska zemedelska Univerzita], [Lukas Pacek]

On: 01 September 2014, At: 08:26

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Desalination and Water Treatment

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/tdwt20>

Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment

Lukas Pacek^a, Pavel Svehla^a, Jan Bartacek^b, Josef Radechovsky^a, Helena Hrnčirova^a, Sarka Shejbalova^a, Jiri Balik^a & Pavel Jenicek^b

^a Department of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition, Czech University of Life Sciences Prague, Kamycka 129, Prague 6, 165 21, Czech Republic, Tel. +420 2438 2577, Tel. +420 224382387; Fax: +420 224382535, Tel. +420 22438 2731, Tel. +420 22438 2387, Tel. +420 22438 2816, Tel. +420 22438 4081

^b Department of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology, Technická 5, Prague 6, 166 28, Czech Republic, Tel. +420 220 444 374, Tel. +420 220 443 105

Published online: 22 Aug 2014.

To cite this article: Lukas Pacek, Pavel Svehla, Jan Bartacek, Josef Radechovsky, Helena Hrnčirova, Sarka Shejbalova, Jiri Balik & Pavel Jenicek (2014): Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment, *Desalination and Water Treatment*, DOI: [10.1080/19443994.2014.950336](https://doi.org/10.1080/19443994.2014.950336)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/19443994.2014.950336>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>



Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment

Lukas Pacek^{a,*}, Pavel Svehla^a, Jan Bartacek^b, Josef Radechovsky^a, Helena Hrnčirova^a, Sarka Shejbalova^a, Jiri Balik^a, Pavel Jenicek^b

^aDepartment of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition, Czech University of Life Sciences Prague, Kamycka 129, Prague 6, 165 21, Czech Republic, Tel. +420 2438 2577, +420 224382387; Fax: +420 224382535; emails: lukas.pacek@seznam.cz, pacek@af.czu.cz (L. Pacek), Tel. +420 22438 2731; email: svehla@af.czu.cz (P. Svehla), Tel. +420 22438 2387; emails: radechovsky@af.czu.cz (J. Radechovsky), hrncirovah@af.czu.cz (H. Hrnčirova), Tel. +420 22438 2816; email: shejbalova@af.czu.cz (S. Shejbalova), Tel. +420 22438 4081; email: balik@af.czu.cz (J. Balik)

^bDepartment of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology, Technická 5, Prague 6, 166 28, Czech Republic, Tel. +420 220 444 374; email: jan.bartacek@vscht.cz (J. Bartacek), Tel. +420 220 443 105; email: pavel.jenicek@vscht.cz (P. Jenicek)

Received 7 November 2013; Accepted 21 June 2014

ABSTRACT

The direct and indirect influence of temporary oxygen limitation on the nitrification of reject water was investigated using a continuous stirred tank bioreactor operated for 330 d at laboratory temperature ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). A decrease in dissolved oxygen (DO) concentration from 3 to 0.7 mg L^{-1} lasted for 38 d and led to effective nitrite accumulation—more than 95% of total oxidized nitrogen was present as nitrite. The drop of DO concentration, at the same time, caused a decrease in the nitrogen oxidation rate from 1.36 to $0.73 \text{ kg N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. After a subsequent DO concentration increase to 3 mg L^{-1} , the nitrite accumulation remained stable for another 90 d. This development was caused mainly by the indirect effects of DO limitation, consisting especially in the change of nitrogen species represented. A significant increase in free nitrous acid concentration induced by temporary DO limitation seems to be the key factor in this respect. The results of Fluorescence *in situ* hybridization analysis confirmed a washout of nitrite-oxidizing bacteria (NOB) during the period with high nitrite accumulation. The representation of NOB in total biomass decreased from 6.4% to less than 1% as a consequence of temporary DO limitation.

Keywords: Ammonia-oxidizing bacteria; Free ammonia; Free nitrous acid; Nitrite-oxidizing bacteria; Oxygen limitation; Partial nitrification; Reject water

1. Introduction

The separate treatment of water rejected from anaerobic digestion of sewage sludge represents the possibility to achieve highly efficient nitrogen removal

with a low cost per volume unit of wastewater [1]. Nitrogen compounds in the form of ammonium nitrogen (expressed as total ammonium nitrogen— [TAN]) are commonly eliminated from wastewater by a combination of two processes: nitrification and denitrification. The specific composition of reject water (high

*Corresponding author.

TAN concentration, low chemical oxygen demand/nitrogen— [COD/N]— ratio) enables new alternatives in the biological nitrogen removal processes based on partial nitrification, converting TAN to nitrite (NO_2^-) instead of nitrate (NO_3^-), followed by subsequent nitrogen reduction via denitrification (denitrification of N-NO_2^-) [2] or anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX technology) [3,4]. Benefits of both methods were thoroughly described in the literature [5] and are generally known.

Partial nitrification is based on the limitation of nitrite-oxidizing bacteria (NOB) activity while maintaining the activity of ammonia-oxidizing bacteria (AOB). AOB and NOB prefer different pH values [6] and temperature [7], and they are not equally sensitive to low dissolved oxygen (DO) concentrations [8,9], changes of oxic conditions from anaerobic to aerobic [10,11], low sludge retention time (SRT) [7], toxic nitrogen compounds (free ammonia—[FA] and free nitrous acid—[FNA]) [12–15] or elevated HCO_3^- concentrations [16]. Through the different selective factors, it is possible to keep AOB active, while the growth of NOB is suppressed and its activity restricted.

The method of DO control may be considered as one of the most reliable and relatively “low-cost” NOB washout strategies. The exact conventional Monod-type half-saturation constant for DO concentration (K_{DO}) differs according to the conditions applied in given experiments described in the literature (Table 1), but it is generally accepted that the saturation constant for AOB is lower than that for NOB [8], that is, if the DO value is set higher than K_{DO} for AOB, but still lower than K_{DO} for NOB, partial nitrification can occur under certain conditions [8,17,20]. Oxygen is used preferentially for TAN oxidation, which could disadvantage NOB in the case of DO insufficiency. N-NO_2^- accumulation in continuous stirred systems with biomass in suspension, treating wastewater with high TAN concentration, was usually observed at concentrations below 1.5 mg L^{-1} [17,20–23]. Blackburne et al. [17] mentioned a concentration of 0.4 mg L^{-1} to be sufficient for an efficient partial nitrification. Ruiz et al. [20] reported the optimal DO concentration for achieving

partial nitrification together with high conversion efficiency was 0.7 mg L^{-1} , but a concentration lower than 0.5 mg L^{-1} had an adverse effect on TAN oxidation efficiency, while Wang and Yang [21] found the optimal DO value for N-NO_2^- accumulation at 1.5 mg L^{-1} . Jubany et al. [22] applied partial nitrification within a range between 1.2 and 1.9 mg L^{-1} , while Wang et al. [23] achieved the best performance of a nitrification reactor treating landfill leachate at DO concentrations between 1 and 2 mg L^{-1} . The effects of DO control could be effectively combined with other factors inhibiting NOB activity (lowered HRT, toxic effect of FA, etc.) in order to achieve efficient nitrite accumulation, even during the nitrification process of wastewater with a TAN concentration lower than 100 mg L^{-1} [24].

The direct effects of oxygen limitation on NOB activity has been thoroughly studied recently and is currently described well. The effective partial nitrification of TAN-concentrated water achieved through DO control has been reported by many authors [6,9,17,20–23]. Concurrently, the secondary effects of oxygen limitation consisting in the lag phase of NOB activity after switching the anoxic/anaerobic conditions to aerobic conditions has been discussed in the past [25]. As a result of these findings, many authors applied a strategy based on intermittent aeration, where the crucial principle is to operate the system at an optimal length of aerobic phases in the reactors, combining the anoxic and aerobic processes. Most frequently, wastewater with a relatively low TAN concentration has been treated on this principle in SBR reactors [9,10]. However, additional indirect effects of oxygen limitation could be expected in the case that wastewater with an extremely high TAN concentration (such as reject water) is treated in a fully aerobically operated nitrification reactor without anoxic/anaerobic phases. The change of the $\text{N-NO}_3^-/\text{N-NO}_2^-$ ratio and, alternatively, the decrease of TAN removal efficiency caused by limited DO availability [20] lead to the increase of FNA and FA concentration in the reactor [26]. Therefore, the simultaneous inhibition of NOB caused by a limited DO concentration together with high FNA and, potentially, FA should be expected when treating reject water if DO limitation is applied as the main primary factor used for the selection of nitrifying bacteria. This aspect of DO limitation has not been seriously evaluated yet.

Within this paper, DO limitation during separate reject water treatment realized in continuously stirred tank reactor (CSTR) with flocculent biomass was applied as a primary factor inhibiting NOB activity in a lab scale. The main objective of this study was to evaluate the indirect effect of DO limitation on nitrite

Table 1
 K_{DO} according to different authors

Reference	AOB (mg L^{-1})	NOB (mg L^{-1})
[8]	0.74	1.75
[17]	0.03	0.4
[18]	0.3	1.1
[19]	0.5	1.9

and nitrate accumulation in the reactor and long-term restriction of NOB activity.

2. Experimental

The experiment was performed at Czech University of Life Sciences Prague, Department of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition from September 17, 2011 to July 28, 2012. The Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) analyses were conducted at the Institute of Chemical Technology in Prague, Department of Water Technology and Environmental Engineering.

2.1. Influent

Raw reject water obtained from the Prague Central Wastewater Treatment Plant was used as the influent substrate for the experiment. The chemical characteristics are shown in Table 2.

2.2. Reactor setup

The model reactor was designed as a CSTR with an attached settler, enabling sludge recirculation (Fig. 1). The operating reactor volume was 1.5 L. Activated sludge from another experimental reactor treating reject water to the final nitrification product N-NO₃⁻ was used as the inoculum. The reactor was filled with 0.5 L of the sludge (volatile suspended solids [VSS] 5.35 g L⁻¹) and 1 L of tap water. The influent was fed into the reactor by a peristaltic pump (Kouril PCD 21, Czech Republic). Reactor mixing as well as basic coarse bubble aeration was provided continuously by a small aquarium air pump (Tetratex APS 400, Germany). Based on similar conditions applied during the experiment described by Ruiz et al. [20], a DO concentration of 0.7 mg L⁻¹ was applied in order

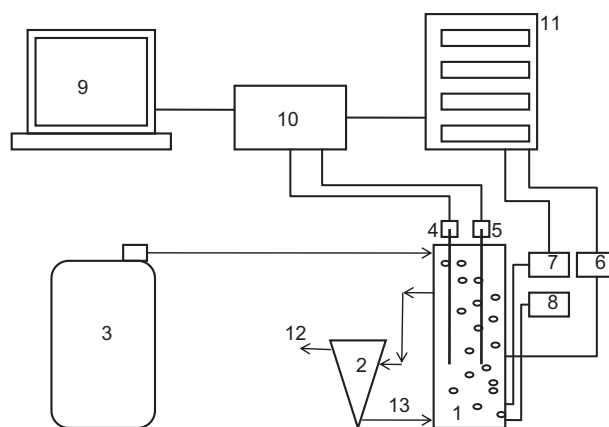


Fig. 1. Schematic diagram of a setup with attached DO and pH control unit.

Notes: (1) nitrification CSTR reactor, (2) settler, (3) reject water tank, (4) pH electrode, (5) DO electrode, (6) pH regulation pump, (7) aeration, (8) reactor mixing via air bubbles, (9) PC, (10) interface, (11) automatic switches controlled by PC, (12) effluent, and (13) sludge recirculation.

to initiate partial nitrification. The DO concentration was kept within the adjusted interval by the intermittent aeration of an additional aquarium air pump controlled by a computer with an attached DO sensor. In order to achieve maximum nitrogen oxidation efficiency (NOE), it was necessary to compensate HCO₃⁻ deficiency, or more precisely, the insufficient ratio between inorganic carbon and TAN [27,28] followed by a pH decline induced by AOB activity via the dosing of an NaOH solution. In this way, the pH value was set to 7 (with a hysteresis of 0.05). The experiment was performed at laboratory temperature (23 ± 1 °C). SRT was not purposely limited, and no excess sludge was taken from the reactor, excluding the biomass lost from the reactor with the effluent from secondary sedimentation. Thanks to this fact, very long SRT (at least 25 d) was applied during the experiment. The actual SRT value could not be exactly measured due to a high and variable concentration of VSS and total suspended solids (TSS) in the influent.

2.3. Operational phases

The operation period of the reactor was divided into four phases (Table 3).

The NLR value was intentionally regulated only during Phase I by a gradual increase of the flow rate. During Phases II–IV, the flow rate was kept stable, so the fluctuations of NLR were caused only by variable TAN concentrations in the influent reject water. Average values of NLR were comparable for Phases II–IV.

Table 2

Chemical characteristics of the influent reject water. Chemical oxygen demand of total solids (COD_{TS}); chemical oxygen demand of dissolved solids (COD_{DS})

	Average
pH	8.42 ± 0.22
TAN (mg L ⁻¹)	1.450 ± 165
P-PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	34 ± 8
Alkalinity (mmol L ⁻¹)	97 ± 6.3
COD _{TS} (mg L ⁻¹)	2.675 ± 770
COD _{DS} (mg L ⁻¹)	1.665 ± 510
TSS (g L ⁻¹)	1.14 ± 0.50
VSS (g L ⁻¹)	1.00 ± 0.48

Table 3
Reactor conditions and operation length of the experimental phases

Phase number	Operational period (d)	Average NLR* (kg TAN m ⁻³ d ⁻¹)	Set DO conc. (mg L ⁻¹)
I	1–105	0.13 – 1.50**	3.0
II	106–142	1.42 ± 0.06	3.0
III	143–182	1.32 ± 0.12	0.7
IV	183–330	1.13 ± 0.24	3.0

*NLR—nitrogen loading rate

**NLR gradually increased from 0.13 to 1.50 kg TAN/(m³ d).

The start-up phase (Phase I) lasted for 105 d with the aim to achieve an NLR value approaching 1.65 kg N m⁻³ d⁻¹, the maximum achievable under given conditions [27]. Phase II lasted for 36 d with the aim to stabilize the system operated under high NLR with unlimited DO. Phase III lasted for 39 d in order to operate the system under limited DO for a period of time comparable with Phase II. Phase IV lasted for 147 d with the aim to evaluate the characteristics of the system after the termination of DO limitation.

2.4. Analytical methods

The following basic physical and chemical analyses were performed during the experiment: pH value, DO concentration, temperature, and the concentration of TAN, and N-NO₂⁻ and N-NO₃⁻, COD, TSS, and VSS.

The pH value, DO concentration, and temperature were monitored continuously online (Gryf Magic XBC device, Gryf HB company, Czech Republic). The pH value was measured by an ISE electrode PCL 321 XB2, and DO was measured by a membrane electrode KCL 24 XB4. Both types of electrodes were equipped with temperature sensors. The concentration of observed nitrogen compounds, COD_{TS}, and COD_{DS} was measured weekly using a HACH DR/4000 spectrophotometer (HACH LANGE GmbH). The analysis of TAN, N-NO₂⁻, and COD was performed in accordance with standard methods [29], and N-NO₃⁻ was analyzed according to the HACH 2511 method with the application of HACH test kits purchased at HACH LANGE GmbH. The samples were taken from the input reject water and from the settler once a week. Alkalinity was determined by titration of the sample with hydrochloric acid (0.1 mol L⁻¹) up to pH 4.5.

Analyses of VSS were performed every week according to the standard methods [29] in order to quantify the activated sludge biomass. The samples were taken from the nitrification CSTR reactor, where the homogeneity of suspension was guaranteed by a continuous aeration of the reactor (see above).

2.5. Microbial analyses

In order to reveal the microbial structure of the nitrifying biomass, the FISH analysis was performed. AOB communities were examined with the NSO mix (NSO190 + NSO1225) probe, detecting (β -proteobacterial AOB), dye Fluos, stained green in color. NOB were quantified with the Ntspa mix (Ntspa712+Ntspa662) probe, detecting whole phylum *Nitrospirae* species, and NIT3, detecting *Nitrobacter* species, dye Cy3, stained red in color. FISH images were collected using an Olympus BX51-RFAA epifluorescence microscope with a charge-coupled device camera. FISH quantification was performed according to Daims et al. [30], where the relative abundance of each group was determined in triplicate as mean percentage of the target bacteria. The result determines the percentage expression of the area occupied by nitrifying bacteria from the area of total biomass.

2.6. Calculations

The following formulas were used to quantify indicators describing the process conditions.

Nitrogen oxidation efficiency (NOE, %)

$$\text{NOE} = \frac{C_{\text{N-NO}_2^-} + C_{\text{N-NO}_3^-}}{C_{\text{TAN-in}}} \cdot 100\% \quad (1)$$

$C_{\text{TAN-in}}$ (mg L⁻¹)—TAN concentration measured in the influent.

$C_{\text{N-NO}_2^-}$ (mg L⁻¹)—N-NO₂⁻ concentration measured in the effluent.

$C_{\text{N-NO}_3^-}$ (mg L⁻¹)—N-NO₃⁻ concentration measured in the effluent.

Nitrogen oxidation rate (NOR, kg TAN m⁻³ d⁻¹).

$$\text{NOR} = \frac{\text{NLR} \cdot \text{NOE}}{100} \quad (2)$$

NLR (kg TAN m⁻³ d⁻¹)—nitrogen loading rate.

Specific nitrogen oxidation rate ([sNOR], mg N g VSS⁻¹ d⁻¹).

$$s\text{NOR} = \frac{\text{NOR}}{\text{VSS}} \cdot 1,000 \quad (3)$$

VSS (g/L)—concentration of activated sludge expressed as VSS.

FA and FNA nitrogen were calculated according to Anthonisen et al. [12] and modified in order to express only the concentration of nitrogen occurring in the form of FA or FNA ($C_{\text{N-FA}}$, $C_{\text{N-FNA}}$, mg L⁻¹).

$$C_{\text{N-FA}} = \frac{C_{\text{TAN}} \cdot 10^{\text{pH}}}{\exp(6,334/(273+t)) + 10^{\text{pH}}} \quad (4)$$

C_{TAN} (mg L⁻¹)—TAN concentration measured in the reactor.

t (°C)—temperature.

$$C_{\text{N-FNA}} = \frac{C_{\text{N-NO}_2^-}}{[\exp(-2,300/(273+t)) + 10^{\text{pH}}] + 1} \quad (5)$$

$C_{\text{N-NO}_2^-}$ (mg L⁻¹)—N-NO₂⁻ concentration measured in the reactor.

t (°C)—temperature.

2.7. Statistical analyses

Data and statistical analyses were calculated using STATISTICA 12.0 software (StatSoft, Tulsa, USA) and MS Excel 2010. The homogeneity of group variances were checked using the *F*-test, and NOE and NOR values were examined by Kruskal–Wallis' one-way analysis of variance. The level of significance was set at $\alpha < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Fluctuation of DO concentration

DO concentration during Phase I, II, and Phase IV was kept at an average level of 2.85 ± 0.48 mg L⁻¹, with 90% of continuously recorded values within the interval of 2.3–3.8 mg L⁻¹. Typical DO oscillation during Phase I, II, and Phase IV is shown in Fig. 2(A). The decrease of DO concentration caused by nitrification activity was always followed by an increase of DO concentration when the automatic switch turned on additional aeration.

Phase III was initiated on day 146 with the adjusted decline of DO concentration from 3.0 to

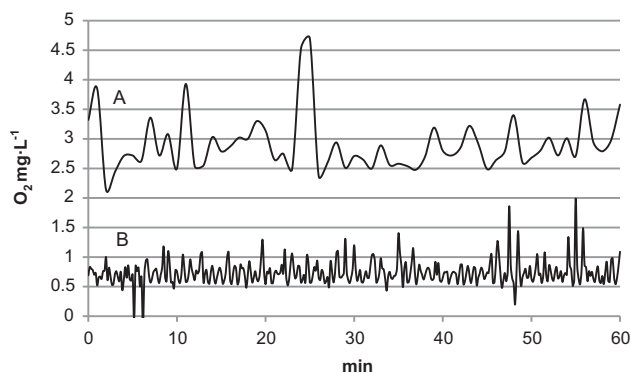


Fig. 2. Typical DO level oscillation during Phases I, II, and IV (A) and Phase III (B).

0.7 mg L⁻¹. Fig. 2(B) covers a 1-h period of DO oscillation during Phase III. The changes in DO concentration were considerably faster during Phase III compared to Phases I, II, and IV. This development was caused by the narrower hysteresis interval together with the rapid change of DO concentration when the aeration was set on. Although maintaining a stable DO concentration in the oxygen limited conditions of the reactor with the volume of 1.5 L by conventional bubble aeration was challenging, the average value was 0.73 ± 0.20 mg L⁻¹.

3.2. Phases I and II—nitrification activity without DO limitation

During Phase I, NLR was gradually increased from 0.13 to 1.5 kg TAN m⁻³ d⁻¹ from day 1 to 105 (Fig. 3(A)). NOE fluctuated between 94.4 and 99.8%, except for a short, initial 30-d period (Fig. 3(A)). N-NO₃⁻ was the main product of nitrification starting on day 24, and the N-NO₂⁻/N-NO_x⁻ concentration ratio did not exceed 1% (except the short aeration failure around the day 90—Fig. 3(B)).

Phase II was characterized by stable NLR (average 1.42 ± 0.06 kg TAN m⁻³ d⁻¹) and a DO concentration within the same range as in Phase I. NOR at the highest NLR reached 1.47 kg TAN m⁻³ d⁻¹. The average sNOR reached 192.6 ± 8.5 mg N g VSS⁻¹ d⁻¹. Similarly as in Phase I, N-NO₃⁻ was the main nitrification product during Phase II (Fig. 3(B)).

3.3. Phase III—direct effect of DO limitation

The low DO concentration of 0.7 mg L⁻¹ maintained during Phase III was close to the half-saturation constant of AOB reported by Guisasola et al. [8]. The ratio between oxidized nitrogen forms switched

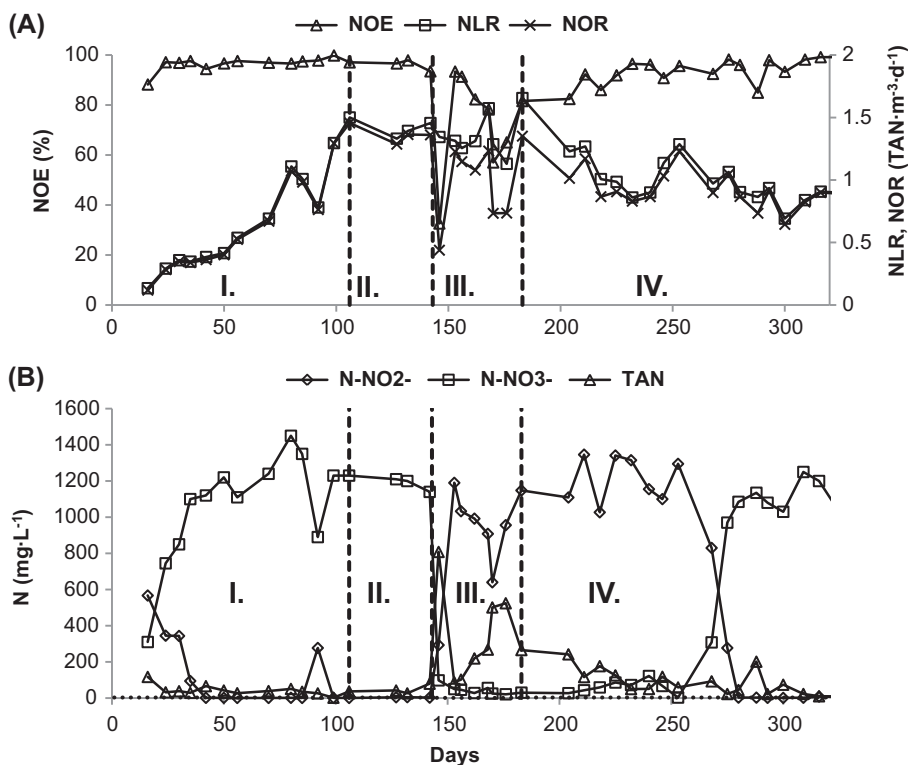


Fig. 3. (A)—NOE, NLR, and NOR during the whole reactor operation period. (B)—Concentration of TAN and oxidized nitrogen compounds during the whole operation period. Vertical dashed lines in figures (A) and (B) indicate transitions between phases with various DO concentrations.

completely within 10 d after the decrease of DO concentration. While the activity of AOB remained relatively high (sNOR 167 mg N g VSS⁻¹ d⁻¹), NOB activity declined significantly, inducing an increase of the N-NO₂⁻/N-NO_x⁻ concentration ratio to 94.2–97.9% during all of Phase III (Fig. 4(A)).

However, the NOB suppression, together with the decrease in DO, resulted in NOE instability. NOE fluctuated between 65.1 and 93.4% during Phase III, when a significantly lower value (32.6%) was registered within the first measurement performed on day 146 (Fig. 3(A)). These results are in agreement with the observation of Wang et al. [23], who mentioned significant NOE decline with DO below 1.0 mg L⁻¹ during the treatment of concentrated landfill leachates. The opposite development was observed by Ruiz et al. [20]. Under comparable DO and NLR conditions and a higher temperature of 30°C, the authors did not detect any decrease of NOE as a consequence of DO limitation.

3.4. Phase IV—indirect effect of DO limitation

Phase IV started on day 183 with an increase of DO concentration up to the original 3 mg L⁻¹. As a

result, NOE increased to the average value of $93.5 \pm 5.5\%$ during this phase (Fig. 3(A)).

The termination of DO limitation did not result in increased NOB activity followed by an increase of N-NO₃⁻ concentration in the reactor. On the contrary, almost all oxidized nitrogen was present as N-NO₂⁻ during the subsequent 90 d (Fig. 4(A)), while the N-NO₂⁻/N-NO_x⁻ concentration ratio did not fall below 90%. Such observations contradict the studies of Ciudad et al. [6], Bae et al. [31], Peng et al. [32], and Wang et al. [23] who all reported that high DO decreases or completely disrupts the stable process of N-NO₂⁻ accumulation in TAN-concentrated wastewater, even after a long-term operation of several days or up to weeks at a maximum. The effective washout of NOB during Phase III and the consequent very long period of their recovery of activity are indicated by these findings. Certain indirect effects of oxygen limitation seem to be responsible for a significant extension of the period with effective nitrite accumulation observed in Phase IV. This phenomenon consists especially in the change of nitrogen species represented in the reactor, induced primarily by DO limitation in Phase III.

An increase of N-NO₂⁻ concentration in the reactor from several units of mg L⁻¹ at a maximum during

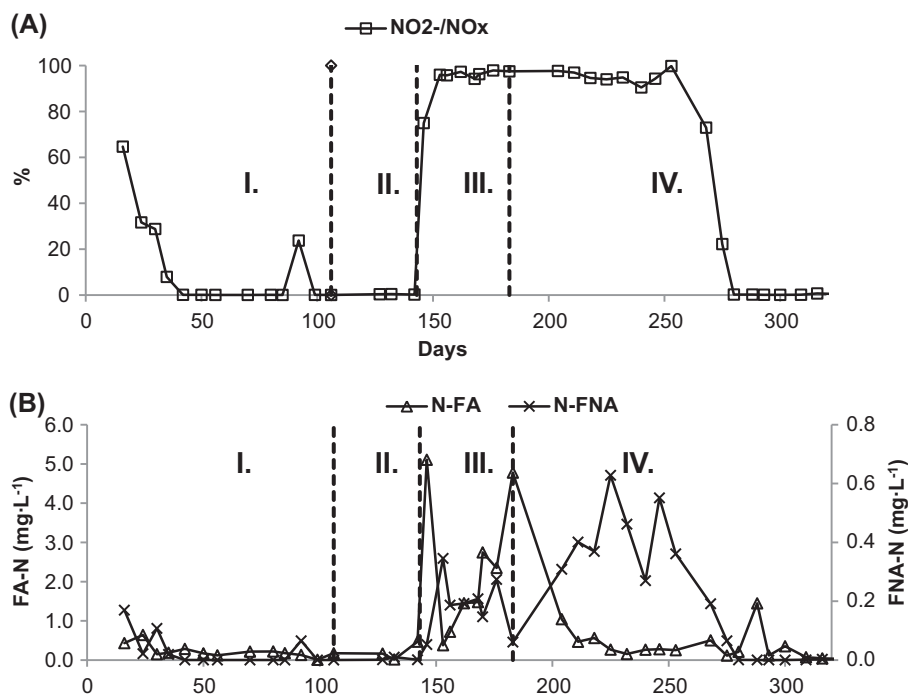


Fig. 4. (A)— $\text{N-NO}_2^-/\text{N-NO}_x$ performance during the whole operation period. (B)—Concentration of FA and FNA during the whole operation period. Vertical dashed line indicates transition between phases with various DO concentrations.

Phase II to more than a thousand $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ registered during Phase III, as well as a substantial part of Phase IV (Fig. 3(B)), resulted in a significant raise of FNA concentration, which formed $0.06\text{--}0.63\text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ between days 153 and 268 (Fig. 4(B)). This situation very probably prolonged the period of the recovery of NOB activity, because the concentration of FNA causing NOB inhibition presented in the literature ranges between 0.02 and $0.45\text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ [12–14,22,33]. Furthermore, even dissociated N-NO_2^- itself, present in extremely high concentrations in the reactor during the initial 90 d of Phase IV (Fig. 3(A)), was mentioned as an NOB inhibitor [34]. Simultaneously, the DO limitation caused an NOE decline during Phase III (see above) resulting in an increase of FA concentration up to $5\text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ during this phase of the reactor operation, which is also considered to be inhibiting for NOB [12,35]. However, the FA concentration did not exceed $1.5\text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ during all of Phase IV, while the maximum was registered at day 288 within the period with complete nitrification to N-NO_3^- (Fig. 3(B)). In addition, Rongsayamanont et al. [36] found that FA at concentrations between 4 and $9\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ N}$, as a sole factor, does not lead to the long-term suppression of NOB activity during the treatment of TAN-concentrated wastewater. As a consequence, the influence of FNA seems to be significantly stronger compared to

the effects of FA under the conditions applied during this experiment.

3.5. Concentration of suspended solids

The average TSS concentration in the reactor during the experiment reached $8.6 \pm 0.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, and the average sludge concentration expressed as VSS was $7.1 \pm 1.7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ during the whole experimental period, except Phase I (the start-up process of the reactor).

3.6. Evaluation of NOE, NOR, and sNOR during the experiment

The changes of DO supply strategy significantly influenced not only the representation of the final nitrification products during the individual phases of reactor operation, but also the performance of TAN removal expressed by NOE and NOR. The average values of these parameters achieved within individual phases are summarized in Table 4.

In order to evaluate the variability of NOE and NOR during the individual phases, statistical analysis was performed. NOE shows a difference with a level of significance of $\alpha < 0.05$ between NOE in Phase II and III as well as in III and IV. NOR and sNOR show

Table 4
Reactor conditions and operation length of the experimental phases

Phase	NOE (%)	NOR (kg N m ⁻³ d ⁻¹)	sNOR (mg N g VSS ⁻¹ d ⁻¹)
II	96.3 ± 1.7	1.37 ± 0.06	193 ± 9
III	71.4 ± 20.0	0.94 ± 0.28	133 ± 40
IV	93.5 ± 5.5	1.04 ± 0.15	147 ± 23

statistical differences between Phases II and III, III and IV, and II and IV. As a consequence of this finding, it is possible to conclude that DO limitation had a negative impact on the effectiveness of TAN removal under given conditions.

Considerably high NOR (1.12 kg TAN m⁻³ d⁻¹ on average) was achieved steadily during the partial nitrification period of Phase IV. For example, under similar conditions (partial nitrification of TAN-concentrated wastewater in CSTR regime, controlled pH value, 25°C), Jubany et al. [22] reported a maximum NOR of 0.8 kg TAN m⁻³ d⁻¹. Blackburne et al. [17] applied limited DO conditions leading to 70% of nitrite accumulation with a maximum NOR around 0.25 kg TAN m⁻³ d⁻¹ at a temperature between 19 and 23°C. The common NOR value for the SHARON process ranges between 0.5 and 0.8 kg TAN m⁻³ d⁻¹ at significantly elevated temperature of 35°C [7]. The limits for NOR in the first two setups were probably based on continuous DO limitation, while the third process was limited by a short SRT, which would not allow feeding with higher NLR [37]. The high NOE levels reached during the phases without DO limitation (Phase III and IV) were enabled by pH control in accordance with Jenicek et al. [27].

The practical implementation of the observations presented in this paper could be based on switching between both phases (high and low DO) with the aim to achieve a high level of N-NO₂⁻ accumulation (application of temporary DO limitation) and maximum NOE and NOR (operating the reactor without DO limitation during the rest of operational time) at the same time. The evaluation of the optimal length for both phases is needed to be studied further.

3.7. Microbial communities—FISH analysis

The first sample was taken during Phase II (day 127) under full nitrification conditions, while the second analyzed sample was prepared in the beginning of Phase IV (day 204) under conditions with intensive nitrite accumulation (97.6%). The sample taken in Phase II contained a sufficient amount of both AOB and NOB biomass (20.4 and 6.4% from the total

biomass) (Fig. 5(A)). More than ¼ of the total biomass was formed by nitrifiers, which indicates adaptation of the biomass in specific characteristics of reject water (low easily degradable COD, high TAN content) compared to a standard amount of nitrifying bacteria in common activated sludge between 3 and 10% [38]. The second sample (taken during Phase IV) shows a significant predominance of AOB (accounting for 27.2%) over NOB (below 1%) from the total biomass (Fig. 5(B)). The FISH results supplementary to the observations from regular physical–chemical analyses performed during the experiment confirm AOB predominance. The NOB ratio of total biomass went

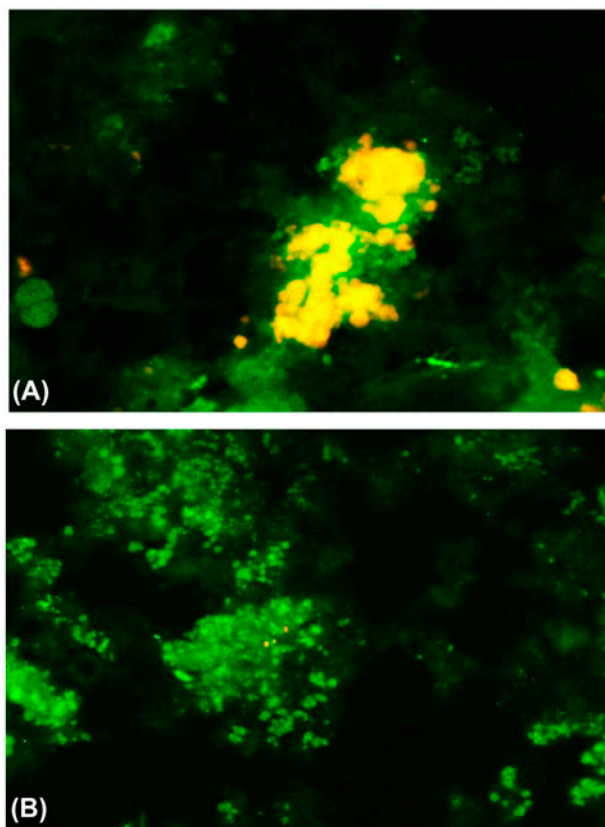


Fig. 5. Pictures from FISH, AOB are green colored, NOB yellow-red, enlargement 320 × (A) Sample taken during the Phase II and (B) sample taken during the Phase IV.

through significant decline between both measurements, confirming the assumption that NOBs were washed out during the period with DO limitation.

4. Conclusions

The importance of indirect effects of DO limitation on the long-term distribution of final products of nitrification applied for separate reject water treatment was confirmed in this study. The restriction of NOB activity primarily caused by DO limitation induced the increase of nitrite concentration, which subsequently further suppressed NOB growth through FNA inhibition. Even the termination of DO limitation after a period lasting 39 d did not result in the immediate increase of NOB activity, indicating the importance of FNA inhibition under given conditions. Another period without DO limitation lasting 100 d was needed for a complete recovery of NOB activity. With respect to the negative influence of DO limitation on the nitrogen oxidation rate (or more precisely on NOE), the presented findings could be used simultaneously for the control of nitrate production and for optimizing the process efficiency.

5. Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the support given by the University-wide internal grant agency—CIGA, project number 20132012, the research project MSM 6046137308 provided by The Czech Ministry of Education, Youth and Sports and the Marie Curie Reintegration Grant “Biofilms in Bioreactors for Advanced Nitrogen Removal from Wastewater” No. ERG-2010-268417.

References

- [1] R. van Kempen, J.W. Mulder, C.A. Uijterlinde, M.C.M. van Loosdrecht, Overview: Full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering, *Water Sci. Technol.* 44 (2009) 145–152.
- [2] U. Abeling, C.F. Seyfried, Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonium wastewater—Nitrogen removal via nitrite, *Water Sci. Technol.* 26(1992) 1007–1015.
- [3] U. van Dongen, M.S. Jetten, M.C.M. van Loosdrecht, The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater, *Water Sci Technol.* 44 (2001) 153–160.
- [4] I. Zekker, E. Rikmann, T. Tenno, V. Lemmiksoo, A. Menert, L. Loorits, P. Vabamäe, M. Tomingas, T. Tenno, Anammox enrichment from reject water on blank biofilm carriers and carriers containing nitrifying biomass: Operation of two moving bed biofilm reactors (MBBR), *Biodegradation* 23 (2012) 547–560.
- [5] G. Zhu, Y. Peng, B. Li, J. Guo, Q. Yang, Biological removal of nitrogen from wastewater, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 192 (2008) 159–195.
- [6] G. Ciudad, O. Rubilar, P. Munoz, G. Ruiz, R. Chamy, C. Vergara, D. Jeison, Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a shortcut biological nitrogen removal process, *Process Biochem.* 40 (2005) 1715–1719.
- [7] C. Hellinga, A.A.J.C. Schellen, J.V. Mulder, M.C.M. van Loosdrecht, J.J. Heijnen, The SHARON process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water, *Water Sci. Technol.* 37 (1998) 135–142.
- [8] A. Guisasola, I. Jubany, J.A. Baeza, J. Carrera, J. Lafuente, Respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80 (2005) 388–396.
- [9] J. Guo, Y. Peng, S. Wang, Y. Zheng, H. Huang, Z. Wang, Long-term effect of dissolved oxygen on partial nitrification performance and microbial community structure, *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 2796–2802.
- [10] M.N.C. Bournazou, K. Hooshar, H. Arellano-Garcia, G. Wozny, G. Lyberatos, Model based optimization of the intermittent aeration profile for SBRs under partial nitrification, *Water Res.* 47 (2013) 3399–3410.
- [11] S. Ge, Y. Peng, S. Qiu, A. Zhu, N. Ren, Complete nitrogen removal from municipal wastewater via partial nitrification by appropriately alternating anoxic/aerobic conditions in a continuous plug-flow step feed process, *Water Res.* 55 (2014) 95–105, doi: [10.1016/j.watres.2014.01.058](https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.058).
- [12] A.C. Anthonisen, R.C. Loehr, T.B.S. Prakasam, E.G. Srinath, Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid, *J. Water Pollut. Control Fed.* 48 (1976) 835–852.
- [13] V.M. Vadivelu, Z. Yuan, C. Fux, J. Keller, The inhibitory effects of free nitrous acid on the energy generation and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 4442–4448.
- [14] S. Park, W. Bae, Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid, *Process Biochem.* 44 (2009) 631–640.
- [15] P. Svehla, J. Bartacek, L. Pacek, H. Hrnčirova, J. Radechovsky, A. Hanc, P. Jenicek, Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid on nitrite-oxidising bacteria during sludge liquor treatment: Influence of feeding strategy, *Chem. Pap.* 68 (2014) 871–878.
- [16] I. Zekker, E. Rikmann, T. Tenno, A. Saluste, M. Tomingas, A. Menert, L. Loorits, V. Lemmiksoo, T. Tenno, Achieving nitrification and anammox enrichment in a single moving-bed biofilm reactor treating reject water, *Environ. Technol.* 33 (2012) 703–710.
- [17] R. Blackburne, Y.G. Yuan, J. Keller, Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor, *Biodegradation* 19 (2007) 303–312.
- [18] U. Wiesmann, Biological nitrogen removal from wastewater, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* 51 (1994) 113–154.
- [19] A. Schramm, D. de Beer, J.C. Heuvel, S. Ottengraf, R. Amann, Microscale distribution of populations and activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. along a

- macroscale gradient in a nitrifying bioreactor: Quantification by *in situ* hybridization and the use of microsensors, *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1999) 3690–3696.
- [20] G. Ruiz, D. Jeison, R. Chamy, Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration, *Water Res.* 37 (2003) 1371–1377.
- [21] J.L. Wang, N. Yang, Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions, *Process Biochem.* 39 (2004) 1223–1229.
- [22] I. Jubany, J. Lafuente, J.A. Baeza, J. Carrera, Total and stable washout of nitrite oxidizing bacteria from a nitrifying continuous activated sludge system using automatic control based on oxygen uptake rate measurements, *Water Res.* 43 (2009) 2761–2772.
- [23] L. Wang, G. Zeng, Z. Yang, L. Luo, H. Xu, J. Huang, Operation of partial nitrification to nitrite of landfill leachate and its performance with respect to different oxygen conditions, *Biochem. Eng. J.* 87 (2014) 62–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2014.03.013>.
- [24] I. Zekker, E. Rikmann, T. Tenno, A. Menert, V. Lemmiksoo, A. Saluste, T. Tenno, Modification of nitrifying biofilm into nitritating one by combination of increased free ammonia concentrations, lowered HRT and dissolved oxygen concentration, *J. Environ. Sci.* 23 (2011) 1113–1121.
- [25] H. Yoo, K.-H. Ahn, H.-J. Lee, K.-H. Lee, Y.-J. Kwak, K.-G. Song, Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor, *Water Res.* 33 (1999) 145–154.
- [26] D.-J. Kim, D.-I. Lee, J. Keller, Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH, *Bioresour. Technol.* 97 (2006) 459–468.
- [27] P. Jenicek, P. Svehla, J. Zabranska, M. Dohanyos, Factors affecting nitrogen removal by nitritation/denitritation, *Water Sci. Technol.* 49 (2004) 73–79.
- [28] T. Khin, A.P. Annachhatre, Novel microbial nitrogen removal processes, *Biotechnol. Adv.* 22 (2004) 519–532.
- [29] APHA, AWWA, WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, twentieth ed., American Public Health Association, Washington, DC, 1998.
- [30] H. Daims, S. Lucker, M. Wagner, Daime, a novel image analysis program for microbial ecology and biofilm research, *Environ. Microbiol.* 8 (2006) 200–213.
- [31] W. Bae, S. Baek, J. Chung, Z. Lee, Optimal operational factors for nitrite accumulation in batch reactors, *Biodegradation* 12 (2002) 359–366.
- [32] Y. Peng, S. Zhang, W. Zeng, S. Zheng, T. Mino, H. Satoh, Organic removal by denitrification and methanogenesis and nitrogen removal by nitritation from landfill leachate, *Water Res.* 42 (2008) 883–892.
- [33] V.M. Vadivelu, J. Keller, Z. Yuan, Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture, *Biotechnol. Bioeng.* 95 (2006) 830–839.
- [34] J. Buday, M. Drtil, M. Hutnan, J. Derco, Substrate and product inhibition of nitrification, *Chem. Pap.* 53 (1999) 379–383.
- [35] V.M. Vadivelu, J. Keller, Z. Yuan, Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture, *Water Res.* 41 (2007) 826–834.
- [36] C. Rongsayamanont, T. Limpiyakorn, B. Law, E. Khan, Relationship between respirometric activity and community of entrapped nitrifying bacteria: Implications for partial nitrification, *Enzyme Microb. Technol.* 46 (2010) 229–236.
- [37] C. Fux, M. Boehler, P. Huber, I. Brunner, H. Siegrist, Biological treatment of ammonium-rich wastewater by partial nitritation and subsequent anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in a pilot plant, *J. Biotechnol.* 99 (2002) 295–306.
- [38] M.H. Gerardi, *Wastewater Microbiology: Nitrification/Denitrification in the Activated Sludge Process*, Wiley-Interscience, New York, NY, 2002.

7.2 Publikace č. 2

Švehla, P., Bartáček, J., Páček, L., Hrnčířová, H., Radechovský, J., Hanč, A., Jeníček, P. 2014. Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid on nitrite-oxidising bacteria during sludge liquor treatment: influence of feeding strategy. *Chemical Papers*. 68. 871–878.

ORIGINAL PAPER

Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid on nitrite-oxidising bacteria during sludge liquor treatment: influence of feeding strategy

^aPavel Svehla, ^bJan Bartacek, ^aLukas Pacek, ^aHelena Hrnčirova*,
^aJosef Radechovsky, ^aAles Hanc, ^bPavel Jenicek

^aDepartment of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition, Czech University of Life Sciences in Prague, Kamýcká 129, Prague 6, 165 21, Czech Republic

^bDepartment of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology Prague, Technická 5, Prague 6, 166 28, Czech Republic

Received 9 August 2013; Revised 25 October 2013; Accepted 5 November 2013

The importance of feeding strategy for the long-term selective inhibition of nitrite-oxidising bacteria (NOB) was demonstrated by comparison of laboratory-scale bioreactors: Completely Stirred Tank Reactor (CSTR) and Sequencing Batch Reactor (SBR). Moreover, the effect of the change of reactor operation regime from CSTR to SBR was demonstrated. Sludge liquor containing ammonia nitrogen in a range of 970–1500 mg L⁻¹ was the influent of the reactors. The experiments were performed at (23 ± 2) °C, with high concentration of dissolved oxygen (up to 8 mg L⁻¹) and with unlimited sludge retention time. In the SBR, permanent restriction of NOB activity was achieved for more than 700 days by the strong inhibition effect of fluctuating concentrations of free ammonia and free nitrous acid during the operational cycles of SBR. In contrast, nitrite-oxidising bacteria were able to gradually adapt to the conditions prevailing in CSTR and produce nitrate although the concentration of free ammonia and free nitrous acid significantly exceeded inhibition limits for NOB activity in this system. Transferring the reactor operation regime from CSTR to SBR resulted in immediate and permanent inhibition of NOB activity in the reactor.

© 2014 Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences

Keywords: completely stirred tank reactor, free ammonia, free nitrous acid, inhibition, nitrite-oxidising bacteria, sequencing batch reactor

Introduction

For the application of processes surpassing nitrate production for nitrogen removal (nitrification/denitrification or nitrification/ANAMMOX), it is necessary to establish the selective inhibition of nitrite-oxidising bacteria (NOB) during the nitrification process. Nitrification/denitrification or nitrification/ANAMMOX processes are suitable for the treatment of high nitrogen-loaded wastewaters with low COD/N ratio such as sludge liquor (or reject water) from the de-watering of digested sludge, landfill leachates, or piggyery wastew-

ater (van Kempen et al., 2001; van Dongen et al., 2001; Ganigué et al., 2009; Rajagopal & Béline, 2011). Application of these methods enables a reduction in oxygen and external carbon source consumption compared to a standard nitrification/denitrification process (Abeling & Seyfried, 1992; van Dongen et al., 2001). For satisfactory operation of the systems applying NOB inhibition, it is necessary to guarantee optimal conditions for the ammonia-oxidising bacteria (AOB) and simultaneously the inhibition of NOB activity. This may be induced by a short sludge retention time (SRT) applied at high temperature (van

*Corresponding author, e-mail: hrncirovah@af.czu.cz

Table 1. Basic operational parameters applied to reactors used in this study

Parameter	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3
Reactor operation period/d	158	707	188
HRT/d	1.7	1.9	3.6
NLR/(kg m ⁻³ d ⁻¹)	0.8	0.8	0.3
Feeding strategy	CSTR	SBR	CSTR/SBR

Kempen et al., 2001; van Dongen et al., 2001). In addition, low dissolved oxygen (DO) concentration (Ruiz et al., 2003; Rajagopal & Béline, 2011), high free ammonia (FA), and/or free nitrous acid (FNA) concentrations (Anthonisen et al., 1976; Turk & Mavinic, 1989; Vadivelu et al., 2006a, 2007) may induce selective NOB inhibition. Several highly efficient systems surpassing nitrate production used for high nitrogen-loaded wastewater treatment have been developed in recent years. Biomass was cultivated in suspension, biofilm or granules for this purpose (van Kempen et al., 2001; van Dongen et al., 2001; Fux et al., 2006; Huiliñir et al., 2010; Shi et al., 2011). However, many of the strategies for NOB activity inhibition may also negatively affect performance of the nitrogen removal process. For instance, the efficiency of total ammonia nitrogen (TAN, the sum of N-NH₄⁺ and N-NH₃) oxidation may decrease due to short SRT or oxygen limitation (Fux et al., 2002; Ruiz et al., 2003; Jenicek et al., 2004).

The actual values of some of the parameters potentially inducing selective NOB inhibition may, to a large extent, be influenced by the feeding strategy (or, more precisely, by the regime of wastewater-dosing) during the nitrification process applied to high nitrogen-loaded wastewater. Continuous flow applied in a Completely Stirred Tank Reactor (CSTR) for treatment of water with stable composition represents a system with constant operational parameters. By contrast, a significant fluctuation in pH must be presumed in the case of semi-continual feeding of the nitrification reactor effected in the Sequencing Batch Reactor (SBR) (Park & Bae, 2009). The acidification induced by the nitrification process in the environment without sufficient buffering capacity (Painter, 1970) is the main reason for this. The changes in pH value during the SBR cycle secondarily induce the fluctuation of FA and FNA concentration (Anthonisen et al., 1976) in this reactor configuration. Therefore, the inhibition pressure of FA and FNA on microorganisms differs significantly in CSTR and SBR. To date, few studies have focused on the direct effect of flow-regime applied in the reactors operated under comparable conditions.

The present work aims to compare the stability of selective NOB inhibition during high nitrogen-loaded reject water treatment under continuous and semi-continuous feeding of treated water applied in CSTR and SBR, respectively. The operational conditions (hydraulic retention time - HRT, SRT, tem-

perature, DO concentration) were comparable in both cases. A relatively low temperature (23 ± 2) °C was applied during the experiments. FA and (or) FNA were the main factors inhibiting NOB activity in both reactor configurations. The potential inhibition effect of other factors was minimised. A simple reactor system with a flocculent biomass not requiring temperature, SRT and/or oxygen control was applied in both cases.

Experimental

The experiments were carried out in three 1.5 L laboratory-scale nitrification reactors with sludge liquor as influent. The reactors were aerated using the coarse bubble system. Peristaltic pumps were used for dosing the sludge liquor into the reactors.

Two basic configurations were compared: continuously operated CSTR (Reactor 1) and SBR (Reactor 2). Reactor 1 was combined with a sedimentation tank (0.25 L). The sludge was continuously re-circulated from the sedimentation tank to the reactor. The operational cycles of Reactor 2 were 6 h long (330 min reaction period, 20 min sedimentation, 5 min pumping of the effluent, 5 min pumping of the influent). This strategy of SBR operation created powerful fluctuations in the conditions during the cycle. In this way, it was possible to compare two extreme possibilities of the feeding strategy (continual in CSTR and semi-continual with rapid addition of the treated water at the beginning of the SBR cycle).

The reactors were operated on a long-term basis under stable and mutually comparable operational conditions (nitrogen-loading rate - NLR, hydraulic retention time - HRT, etc., Table 1). The reactors were inoculated with the biomass originating from the nitrification reactor achieving stable selective inhibition of NOB during the sludge liquor treatment under the conditions described by Jenicek et al. (2004). The biomass was maintained in the reactor using a sedimentation tank in Reactor 1 and by incorporation of the sedimentation phase in Reactor 2. Reactor 1 and Reactor 2 were operated, respectively, for 158 days and 707 days.

The third bioreactor (Reactor 3) was inoculated with AOB and NOB-rich activated sludge originating from Reactor 1. Reactor 3 was initially operated in CSTR mode in a similar way to Reactor 1 for a period of 37 days in order to achieve stable conditions with sufficient activity of AOB and NOB after inocu-

Table 2. Composition of sludge liquor fed into reactors

Parameter ^a	Average	Range
pH	8.1	7.8–8.4
Alkalinity/(mmol L ⁻¹)	95	79–123
COD/(mg L ⁻¹)	1 470	690–3170
COD _{soluble} /(mg L ⁻¹)	1 210	560–2640
TAN/(mg L ⁻¹)	1 170	970–1500
P-tot	28	21–39
TSS	460	< 10–2020

a) COD – chemical oxygen demand; P-tot – total phosphorus; TSS – total suspended solids.

lation of the system. Then it was switched into SBR mode simulating the conditions in Reactor 2 for another period lasting for 151 days. The most important operational parameters of Reactor 3 are summarised in Table 1.

No excess sludge was withdrawn from the nitrification reactors in both procedures with the exception of sludge escaping with the effluent water. Thanks to this, very long SRT (at least 25 days) was applied during the experiments. The SRT value was comparable for all the reactors operated and the specific value of SRT was dependent on the actual concentration of TSS in the reactor and in the effluent. The average biomass concentration measured as volatile suspended solids (VSS) was 2.9 g L⁻¹, 2.4 g L⁻¹, and 1.7 g L⁻¹ in Reactor 1, Reactor 2, and Reactor 3, respectively. All experiments were performed at laboratory temperature (23 ± 2)°C with no oxygen limitation (dissolved oxygen concentration varied within the range of 3–8 mg L⁻¹ during the aeration). The value of pH was not controlled in the reactors. The low alkalinity of the sludge liquor resulted in the limited efficiency of TAN removal (approximately 50 %) in all the reactors according to Jenicek et al. (2004). The operating periods of the individual reactors were selected in order to evaluate the influence of potential NOB adaptation under the conditions prevailing during the reactors' operation.

Sludge liquor produced during the de-watering of anaerobically-digested thermophilic sludge produced at a large municipal wastewater treatment plant (Prague Central Wastewater Treatment Plant) was used as an influent in the experiments (Table 2).

Temperature, pH, and dissolved oxygen concentration were measured on WTW instruments pH 340i and oxi 340i (WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, Germany) and using GRYF sensors PC1 321 XB2 and KCl 12 XB4 (GRYF HB, Czech Republic). The alkalinity of the influent was determined by titration of the sample with hydrochloric acid (0.1 mol L⁻¹) up to pH 4.5. The concentration of N-NO₂⁻, chemical oxygen demand (COD), TSS, and VSS were determined in accordance with the standard methods (APHA 1995). TAN, N-NO₃⁻, and P-tot concentra-

tions were determined using a HACH (Hach Lange, Germany) DR/4000 photometer by HACH method numbers 10023, 10020, and 8190, respectively.

The concentrations of FA (C_{FA}) and FNA (C_{FNA}) were calculated (Eqs. (1) and (2)) in accordance with Anthonisen et al. (1976) and Park and Bae (2009):

$$C_{FA}(\text{mg L}^{-1}) = \frac{17}{14} \frac{C_{TAN} 10^{\text{pH}}}{[\exp(6334/(273 + T)) + 10^{\text{pH}}]} \quad (1)$$

$$C_{FNA}(\text{mg L}^{-1}) = \frac{47}{14} \frac{C_{N-NO_2^-}}{[\exp(-2300/(273 + T)) + 10^{\text{pH}}] + 1} \quad (2)$$

where C_{TAN} and $C_{N-NO_2^-}$ represent the actual total concentrations of TAN and N-NO₂⁻, respectively, and T is the temperature in degrees centigrade.

Results and discussion

Operation of CSTR

The pH value varied between 6.0 and 6.5 over the first 51 days of the reactor operation. DO concentration did not decrease below 3.0 mg L⁻¹ throughout the reactor operation (Fig. 1a). Nitrite was the main product of TAN oxidation during the initial operation period of Reactor 1 (Fig. 1b). The concentrations of N-NO₂⁻ and N-NO₃⁻ attained 510 mg L⁻¹ and 16 mg L⁻¹ at the beginning of the reactor operation, respectively. However, a gradual increase in N-NO₃⁻ concentration up to 330 mg L⁻¹ and a simultaneous decrease in N-NO₂⁻ concentration were observed during the first 62 days of the reactor operation. Subsequently, N-NO₂⁻ and N-NO₃⁻ concentrations decreased to 95 mg L⁻¹ and 59 mg L⁻¹, respectively, between days 62 and 85, indicating the collapse of the nitrification process. The decrease in nitrification activity was probably caused by the massive reduction in the pH value close to 4.5 observed between days 51 and 65. Consequently, the decrease in the nitrogen oxidation rate minimised the acidification of the reactor (Painter, 1970) and, together with CO₂-stripping, induced a subsequent increase in pH up to 8.7. Therefore, the volumetric nitrogen-loading rate was reduced to 0.2 kg m⁻³ d⁻¹ between days 78 and 90 (Fig. 1c). As a consequence, the pH value again decreased to the original values during this period, allowing the nitrogen-loading rate to increase back to 0.8 kg m⁻³ d⁻¹. Starting from day 105, the N-NO₃⁻ concentration gradually increased to 620 mg L⁻¹ during the remainder of the reactor operational period. The N-NO₂⁻ concentration did not exceed 22 mg L⁻¹ between days 125 and 158. The operation of Reactor 1 was concluded on day 158.

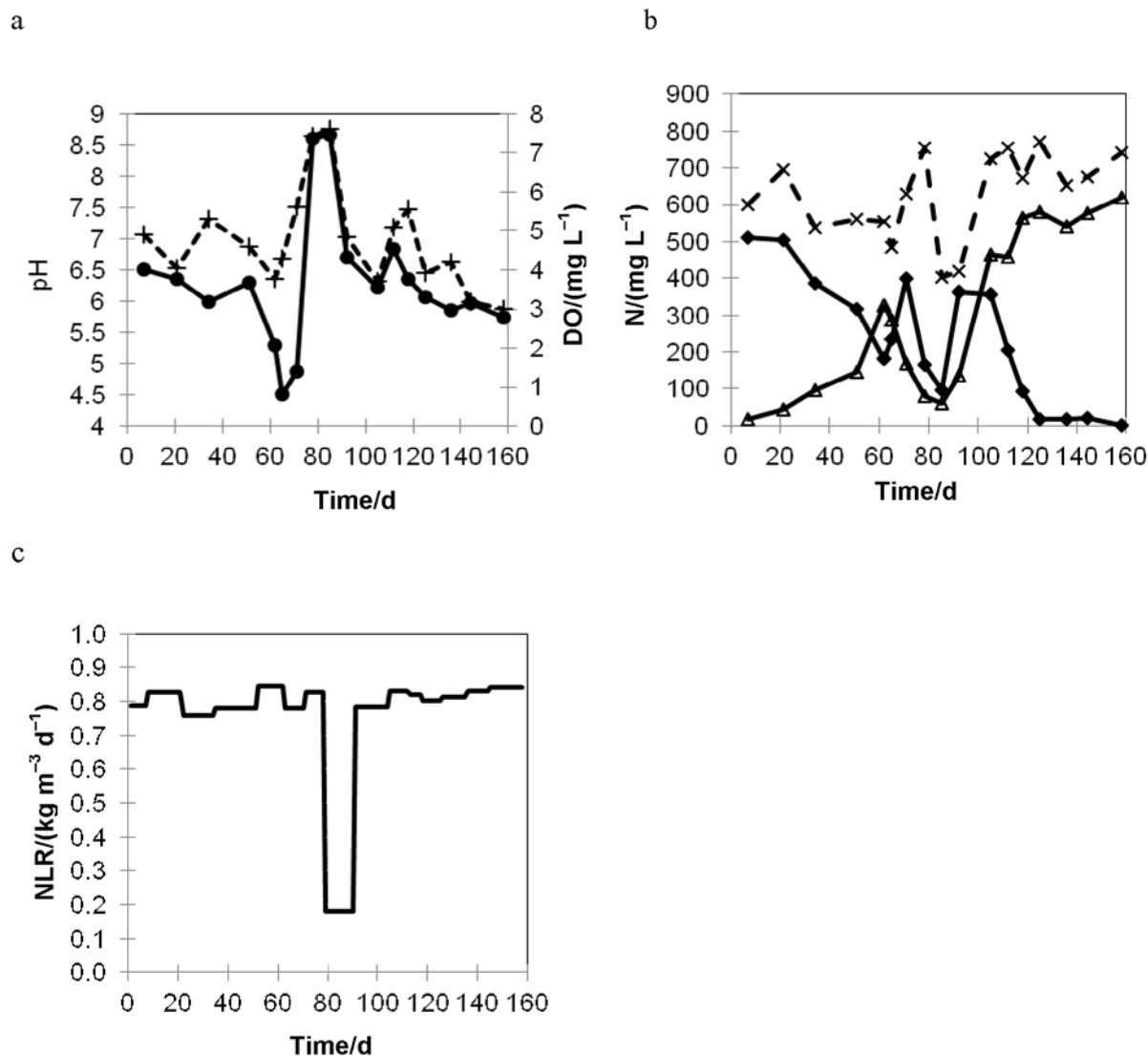


Fig. 1. Main operational parameters of Reactor 1: pH (●) and concentration of DO (+) (a); concentration of nitrogen species N-NO_3^- (Δ), N-NO_2^- (\blacklozenge), and TAN (\times) in effluent (b); nitrogen-loading rate (c).

Operation of SBR

In contrast with the results recorded for Reactor 1, very stable nitrite accumulation indicating efficient NOB inhibition was observed in Reactor 2 with less than 25 % of the oxidised nitrogen present as nitrate. Although the reactor was operated continuously for more than 700 days, N-NO_3^- concentration never exceeded 140 mg L^{-1} (Fig. 2). The concentrations of N-NO_2^- and TAN varied within the range of $300\text{--}690 \text{ mg L}^{-1}$ and $290\text{--}830 \text{ mg L}^{-1}$, respectively, throughout the reactor's operation depending on the actual composition of the sludge liquor treated (Table 2).

Effect of change of feeding strategy

Nitrite was produced together with nitrate during the first days of the operation of Reactor 3 (Fig. 3).

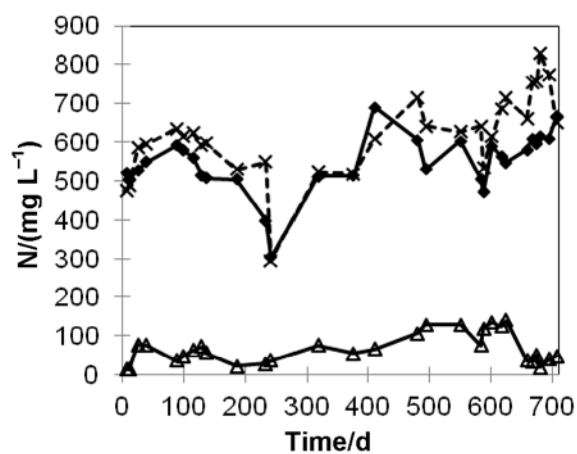


Fig. 2. Concentration of nitrogen species N-NO_3^- (Δ), N-NO_2^- (\blacklozenge), and TAN (\times) in effluent of Reactor 2.

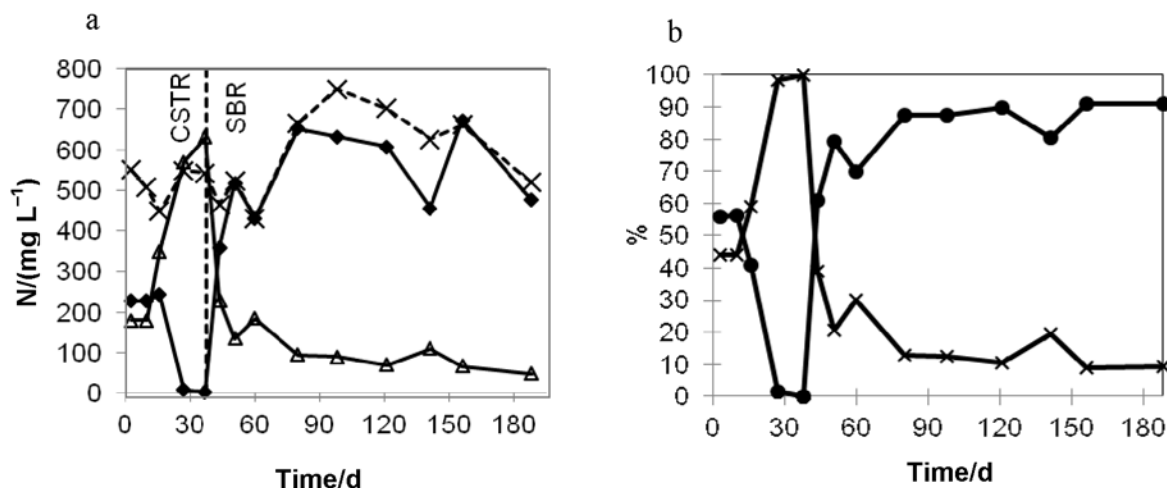


Fig. 3. Influence of flow-mode change in Reactor 3: concentration of nitrogen species N-NO_3^- (Δ), N-NO_2^- (\blacklozenge), and N-NH_3 (\times) (a); percentage of oxidised nitrogen species N-NO_3^- (\times) and N-NO_2^- (\bullet) (b).

This was probably due to the slower growth of NOB as compared with AOB after the inoculation of the reactor. After 10 days, nitrate was produced as the predominant final product of nitrification as long as the reactor was operated in CSTR mode, indicating high NOB activity. The concentration of N-NO_2^- did not exceed 8 mg L^{-1} between days 27 and 38. An immediate increase in nitrite concentration caused by inhibition of the NOB activity was observed after the change of flow mode from CSTR to SBR. This was indicated by the drop in nitrate concentration. Prior to the change of flow mode (days 27–38), only 0.5–1.5 % of oxidised nitrogen was present as nitrite; however, 7 days after the change, the content of nitrite increased to 61 % and it remained within the range of 70–91 % up to the conclusion of the reactor's operation (Fig. 3b).

The operation of Reactor 3 confirmed the observations obtained during the operation of Reactor 1 and Reactor 2. The periodical increase in FA concentration at the beginning of the SBR cycles after the implementation of semi-continuous dosage of sludge liquor appears to be able to immediately restrict the NOB activity. The consequent increase in N-NO_2^- concentration probably further enhanced NOB inhibition by the increase in FNA concentration at the end of the SBR cycles (see above). Long-term selective NOB inhibition lasting for 150 days was achieved under the given conditions.

Influence of toxic N-species in CSTR

Anthonisen et al. (1976) demonstrated the inhibition effect of FA and FNA on NOB activity in the concentration ranges of $0.1\text{--}1.0 \text{ mg L}^{-1}$ and $0.2\text{--}2.8 \text{ mg L}^{-1}$, respectively. Vadivelu et al. (2007) confirmed the negative influence of FA on the metabolism of *Nitrobacter* sp. representing NOB at N-NH_3 concen-

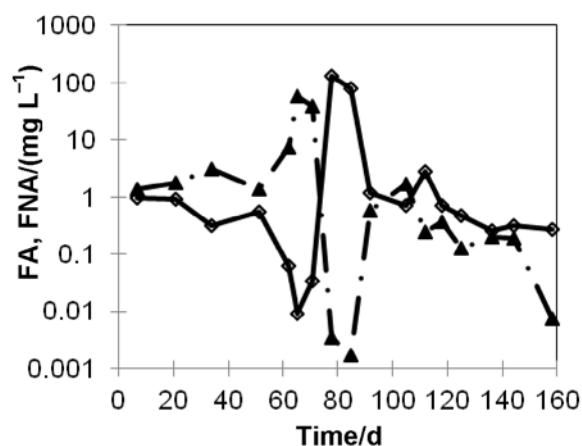


Fig. 4. FA (\blacklozenge) and FNA (\blacktriangle) concentrations during operation of Reactor 1.

trations below 1 mg L^{-1} . The results of some studies indicated that FNA may disturb the metabolism of *Nitrobacter* sp. even at concentrations significantly lower than the values reported by Anthonisen et al. (1976). Vadivelu et al. (2006a) reported that the anabolic processes of *Nitrobacter* sp. might be inhibited even at a N-HNO_2 concentration of approximately 0.011 mg L^{-1} . In fact, Buday et al. (1999) observed that even dissociated nitrite ions could also inhibit NOB. The concentration of dissociated N-NO_2^- corresponding to 198 mg L^{-1} , caused a 50 % restriction in the nitrate formation rate (Buday et al., 1999).

Except for the period between days 51 and 92 when extreme pH values were registered, concentrations of FA and FNA up to 2.7 mg L^{-1} and 3.1 mg L^{-1} , respectively, were found in Reactor 1 during the present experiments (Fig. 4) and the maximum concentration of dissociated N-NO_2^- even attained 510 mg L^{-1} . In the period between days 51 and 92, FA and FNA concen-

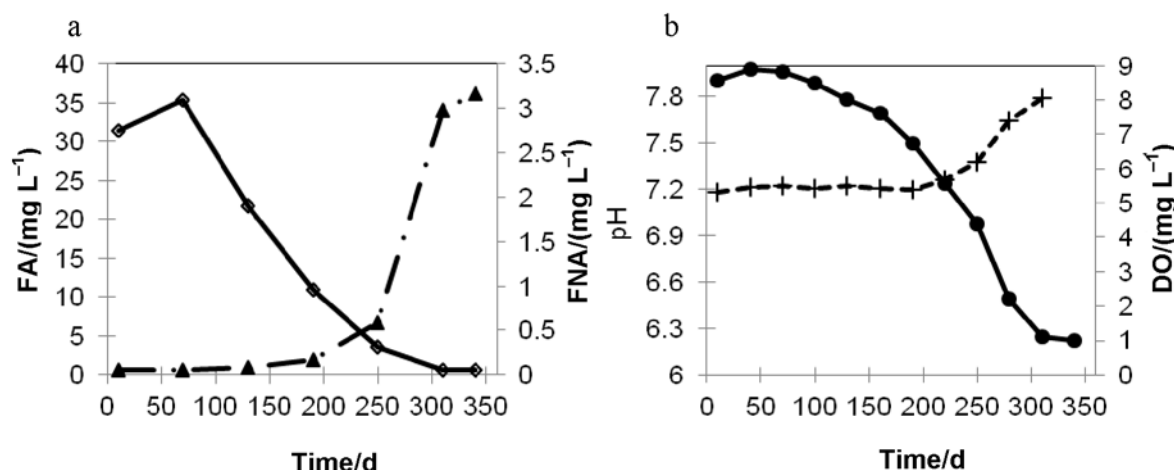


Fig. 5. Progress of important parameters during typical cycle of Reactor 2: pH (●) and concentration of DO (+) (a), concentration of FA (◆) and FNA (▲) (b).

trations even achieved 132.3 mg L^{-1} and 56.8 mg L^{-1} , respectively.

Although NOB-inhibiting concentrations of FA, FNA, and dissociated nitrite were significantly exceeded in Reactor 1 on a long-term basis and the maximum FA and FNA concentrations were extremely high, efficient and stable NOB inhibition was not achieved. This may indicate NOB adaptation to high concentrations of the toxic nitrogen species under the relatively stable conditions maintained in CSTR (Turk & Mavinic, 1989; Zhou et al., 2011). It is probable that the presence of toxic nitrogen species needs to be combined with other factors (e.g. DO-limitation or SRT-limitation combined with high temperature) in order to achieve permanent nitrite accumulation in CSTR.

The decrease in the TAN oxidation rate indicating the drop in AOB activity registered in Reactor 1 between days 65 and 85 was probably primarily caused by the extreme increase in FNA concentrations recorded at days 65 and 71 (56.8 mg L^{-1} and 39.8 mg L^{-1} , respectively) (Vadivelu et al., 2006b) which was induced by low pH (Fig. 1). The subsequent extreme increase in pH resulted in the increase in FA concentration up to 132.3 mg L^{-1} observed on day 78, further strengthening the inhibition of NOB (Anthonisen et al., 1976). Under these conditions, the activity of both AOB and NOB was temporarily limited.

Influence of toxic N-species in SBR

While the TAN concentration always attained its maximum (720 ± 137) mg L^{-1} at the beginning of a cycle, the N-NO_2^- concentration was highest (547 ± 75) mg L^{-1} at the end. In addition, the pH value was higher at the beginning of a typical cycle (7.6 ± 0.2) and lower (6.0 ± 0.3) at its end. This variation was due to the low alkalinity of the raw sludge

liquor. Hence, concentrations of FA up to 38 mg L^{-1} were observed in the reactor at the beginning of the SBR cycles and high FNA concentrations (5.6 ± 2.7) mg L^{-1} were observed at the end of a typical cycle. Because of these changes, the microorganisms present in Reactor 2 were subsequently exposed to extremely high concentrations of FA and FNA. As a result, stable long-term selective inhibition of NOB was established in this reactor. The significantly higher maximum FA concentrations achieved periodically in Reactor 2 (at the beginning of each cycle) compared to Reactor 1 (with the exception of the period between days 78 and 85, Fig. 4) appear to be the crucial factor causing the NOB inhibition. The distribution of pH, DO, FA, and FNA during a typical cycle observed on day 90 of the operation of Reactor 2 is shown in Fig. 5.

The present results accord with those of Park and Bae (2009) who presented a study on modelling the kinetics of biochemical ammonia and nitrite oxidation simultaneously inhibited by FA and FNA. Their model predicted that NOB would be more seriously affected than AOB by this inhibition, which would accelerate the accumulation of nitrite during the treatment of wastewater with a high TAN concentration. The model indicated that the complete removal of TAN could be achieved with high nitrite accumulation in SBR and that this was impossible in CSTR. A detailed mathematical model of the impact of the influent characteristics on an SBR treating high nitrogen-loaded wastewater was presented by Ganigué et al. (2012). This simulation also confirmed that the SBR is a suitable technological arrangement for selective NOB inhibition during the treatment of wastewaters with a wide range of TAN concentrations. However, the present results could not be compared directly with this model, because of the significantly different conditions, especially temperature (35°C) and feeding strategy (step feed) applied by Ganigué et al. (2012).

Potential implications for operation of nitrite-producing reactors

Effective nitrite accumulation has previously been achieved using different strategies for NOB-selective inhibition in CSTR as well as in SBR (Jenicek et al., 2004; Fux et al., 2006; Ganigué et al., 2009; Chen et al., 2010). Fux et al. (2006) claimed that SBR was more suitable for the application of NOB-selective inhibition compared to CSTR. However, the semi-continual flow-regime was not the only parameter which guaranteed selective NOB-inhibition in this case, because the SBR was operated under a controlled oxygen concentration and the DO level was maintained below 1.5 mg L⁻¹. In addition, the SRT values and DO concentrations differed significantly in the CSTR and SBR. Galí et al. (2007) presented the performance of two types of reactors enabling the restriction of NOB activity – the SBR and CSTR. However, the CSTR was operated on the chemostat basis, hence the SRT differed significantly in both systems. Also the temperature applied differed in both reactors ((30 ± 0.5) °C in SBR and (35 ± 0.5) °C in CSTR).

The present experiments showed that the SBR-feeding strategy could be used as the sole factor enabling the restriction of NOB activity for the treatment of wastewater with a high content of TAN under the given conditions. However, the method of treated water dosage in SBR also appears to be an important factor. Fux et al. (2006) used the continuous loading of SBR for sludge liquor treatment operated on the nitrification/denitrification principle; the treated water was fed throughout the SBR cycle. Ganigué et al. (2009) applied a step-feed strategy consisting in a division of the cycle to the sub-cycles with aerobic (nitrification) and anoxic (denitrification) periods. The treated water was fed during the anoxic phases. These methods of treated water dosage minimise the fluctuation of the environmental parameters even in the SBR and the inhibition effect of FA and FNA may be limited compared with the feeding strategy applied to experiments in this study. By contrast, Jenicek et al. (2004) and Li et al. (2013) added the treated water rapidly at the beginning of the SBR cycle in accordance with this study, achieving a powerful fluctuation in the environmental parameters in the nitrification reactor.

The current study demonstrated the stable operation of SBR with permanent NOB inhibition at a relatively low temperature based on the use of natural selection factors without any such massive external technological interventions into the biological system as DO limitation, pH control, or SRT control. Thanks to this, the decrease in the nitrification capacity by limited DO or SRT (Fux et al., 2002; Ruiz et al., 2003; Jenicek et al., 2004) was avoided in the SBR system. For separate sludge liquor treatment, it may be assumed that the temperature applied in this study (23 ± 2) °C could be maintained in full-scale systems even in the win-

ter season thanks to the high temperature of sludge liquor from heated anaerobic digesters. In a similar way, the nitrite-accumulating SBR system presented in this paper appears to be suitable for the treatment of landfill leachate, piggy wastewater, etc. as the first stage of systems applying the nitrification/denitrification or nitrification/ANAMMOX methods. Previous experiments showed it to be possible to remove TAN in SBR operating on the principle described in this paper efficiently at NLR up to 1.65 kg m⁻³ d⁻¹ and to regulate the TAN-removal efficiency using pH control (Jenicek et al., 2004). Therefore, the process here represents a simple, low-cost and highly efficient alternative to the systems using an SRT control at high temperature values for NOB washout (van Kempen et al., 2001) or oxygen limitation (Ruiz et al., 2003; Rajagopal & Béline, 2011).

The operation of Reactor 1 also demonstrated that the changes in the microbial consortium (i.e. NOB development) may be a lengthy process extending over several months. Hence, the long-term operation of laboratory-scale reactors is needed for reliable evaluation of the stability of NOB inhibition. Conclusions based on studies performed over several days or a few months (e.g. Chen et al. (2010)) are intrinsically biased, because they cannot capture the slow adaptation of NOB.

Conclusions

This paper shows that it is possible to achieve stable and selective NOB inhibition during nitrification in highly nitrogen-loaded wastewater by exposing the suspended biomass to fluctuating concentrations of toxic nitrogen species (FA, FNA) during the operational cycle of SBR. This was achieved without oxygen-, SRT-, or temperature-control. By contrast, long-term selective NOB inhibition was not achieved in the CSTR operated under similar conditions. A change in the feeding strategy from continuous in the CSTR to semi-continuous in the SBR in a fully nitrifying reactor led to the immediate and permanent decrease in NOB activity. While the CSTR system allowed the gradual adaptation of NOB to toxic nitrogen species, this was not observed in the SBR system. The control of other parameters (e.g. DO concentration, SRT, temperature) appears to be necessary for efficient long-term maintenance of the restriction of NOB activity in CSTR. It was also shown that the NOB adaptation to the relatively high FA and FNA concentrations attained in the CSTR may be very slow and the potential development of NOB activity must be evaluated using reactors operated over an extended period.

Acknowledgements. The authors gratefully acknowledge the support given by the University-wide internal grant agency of CULS Prague – CIGA, project numbers 20122022 and 20132012, the European Union (Marie Curie Reintegration

Grant “Biofilms in Bioreactors for Advanced Nitrogen Removal from Wastewater”, ERG-2010-268417), the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (MSM 6046137308) and NAZV, project no. QI91C199 of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

References

- Abeling, U., & Seyfried, C. F. (1992). Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater – nitrogen removal via nitrite. *Water Science & Technology*, 26, 1007–1015.
- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. S., & Srinath, E. G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 48, 835–852.
- APHA (1995). *Standard methods for examination of water and wastewater* (19th ed.). Washington, DC, USA: American Publishers Health Association.
- Buday, J., Drtil, M., Hutňan, M., & Derco, J. (1999). Substrate and product inhibition of nitrification. *Chemical Papers*, 53, 379–383.
- Chen, J. W., Zheng, P., Yu, Y., Mahmood, Q., & Tang, C. J. (2010). Enrichment of high activity nitrifiers to enhance partial nitrification process. *Bioresource Technology*, 101, 7293–7298. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.04.080.
- Fux, C., Boehler, M., Huber, P., Brunner, I., & Siegrist, H. (2002). Biological treatment of ammonium-rich wastewater by partial nitritation and subsequent anaerobic ammonium oxidation (anammox) in a pilot plant. *Journal of Biotechnology*, 99, 295–306. DOI: 10.1016/S0168-1656(02)00220-1.
- Fux, C., Velten, S., Carozzi, V., Solley, D., & Keller, J. (2006). Efficient and stable nitritation and denitritation of ammonium-rich sludge dewatering liquor using an SBR with continuous loading. *Water Research*, 40, 2765–2775. DOI: 10.1016/j.watres.2006.05.003.
- Galí, A., Dosta, J., van Loosdrecht, M. C. M., & Mata-Alvarez, J. (2007). Two ways to achieve an anammox influent from real reject water treatment at lab-scale: Partial SBR nitrification and SHARON process. *Process Biochemistry*, 42, 715–720. DOI: 10.1016/j.procbio.2006.12.002.
- Ganigué, R., Gabarró, J., Sánchez-Melsió, A., Rusalleda, M., López, H., Vila, X., Colprim, J., & Balaguer, M. D. (2009). Long-term operation of a partial nitritation pilot plant treating leachate with extremely high ammonium concentration prior to an anammox process. *Bioresource Technology*, 100, 5624–5632. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.06.023.
- Ganigué, R., Volcke, E. I. P., Puig, S., Balaguer, M. D., & Colprim, J. (2012). Impact of influent characteristics on a partial nitritation SBR treating high nitrogen loaded wastewater. *Bioresource Technology*, 111, 62–69. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.183.
- Huiliñir, C., Romero, R., Muñoz, C., Bornhardt, C., Roeckel, M., & Antileo, C. (2010). Dynamic modeling of partial nitrification in a rotating disk biofilm reactor: Calibration, validation and simulation. *Biochemical Engineering Journal*, 52, 7–18. DOI: 10.1016/j.bej.2010.06.012.
- Jenicek, P., Svehla, P., Zabranska, J., & Dohanyos, M. (2004). Factors affecting nitrogen removal by nitritation/denitritation. *Water Science and Technology*, 49(5–6), 73–79.
- Li, H. S., Zhou, S. Q., Huang, G. T., & Xu, B. (2013). Achieving stable partial nitritation using endpoint pH control in an SBR treating landfill leachate. *Process Safety and Environmental Protection*, in press. DOI: 10.1016/j.psep.2013.01.005.
- Painter, H. A. (1970). A review of literature on inorganic nitrogen metabolism in microorganisms. *Water Research*, 4, 393–450. DOI: 10.1016/0043-1354(70)90051-5.
- Park, S. J., & Bae, W. K. (2009). Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. *Process Biochemistry*, 44, 631–640. DOI: 10.1016/j.procbio.2009.02.002.
- Rajagopal, R., & Béline, F. (2011). Nitrogen removal via nitrite pathway and the related nitrous oxide emission during piggy wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 102, 4042–4046. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.12.017.
- Ruiz, G., Jeison, D., & Chamy, R. (2003). Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*, 37, 1371–1377. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00475-x.
- Shi, Y. J., Wang, X. H., Yu, H. B., Xie, H. J., Teng, S. X., Sun, X. F., Tian, B. H., & Wang, S. G. (2011). Aerobic granulation for nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor and the emission of nitrous oxide. *Bioresource Technology*, 102, 2536–2541. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.11.081.
- Turk, O., & Mavinic, D. S. (1989). Stability of nitrite build-up in an activated sludge system. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 61, 1440–1448.
- Vadivelu, V. M., Yuan, Z. G., Fux, C., & Keller, J. (2006a). The inhibitory effects of free nitrous acid on the energy generation and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Environmental Science & Technology*, 40, 4442–4448. DOI: 10.1021/es051694k.
- Vadivelu, V. M., Keller, J., & Yuan, Z. G. (2006b). Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 95, 830–839. DOI: 10.1002/bit.21018.
- Vadivelu, V. M., Keller, J., & Yuan, Z. G. (2007). Effect of free ammonia on respiration and growth process of an enriched *Nitrobacter* culture. *Water Research*, 41, 826–834. DOI: 10.1016/j.watres.2006.11.030.
- van Dongen, U., Jetten, M. S. M., & van Loosdrecht, M. C. M. (2001). The SHARON[®]-Anammox[®] process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science & Technology*, 44, 153–160.
- van Kempen, R., Mulder, J. W., Uijterlinde, C. A., & Loosdrecht, M. C. M. (2001). Overview: full scale experience of the SHARON[®] process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Science and Technology*, 44, 145–152.
- Zhou, Y., Oehmen, A., Lim, M., Vadivelu, V., & Ng, W. J. (2011). The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants. *Water Research*, 45, 4672–4682. DOI: 10.1016/j.watres.2011.06.025.

7.3 Publikace č. 3

Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H. Balík, J. 2013. Efektivní zapracování nitrifikačního reaktoru pro čištění odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon. Vodní hospodářství. 63. 32–36.

Efektivní zapracování nitrifikačního reaktoru pro čištění odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon

Lukáš Pacek, Pavel Švehla, Josef Radechovský, Helena Hrnčířová, Jiří Balík

Klíčová slova

nitrifikace – odpadní vody – nitratace – zapracování reaktoru – kalová voda

Souhrn

Rychlost zapracování reaktoru a možnost dosažení zkrácené nitrifikace byly hodnoceny s využitím laboratorních modelů nitrifikačních reaktorů. V rámci experimentu byla provedena simulace šesti různých způsobů zapracování nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího kalovou vodu. Metody se lišily použitým inokulem, objemovým zatížením a počáteční koncentrací amoniakálního dusíku v reaktoru. V rámci provedených experimentů bylo zjištěno, že nitrifikaci je možno při biologickém čištění kalové vody iniciovat i bez inokulace reaktoru nitrifikující biomasou. Účinná nitratace byla za těchto podmínek zahájena významně rychleji než nitratace. Inokulace systému běžným aktivovaným kalem v podmínkách s vysokou počáteční koncentrací N-amon fázi zapracování obou stupňů nitrifikačního procesu významně zkrátila. Prakticky okamžité nastartování nitrifikačního procesu s dusičnany jako jeho dominantním konečným produktem bylo i při poměrně vysokém zatížení dusíkem dosaženo v případě inokulace reaktoru běžným aktivovaným kalem. Efektivní zkrácená nitrifikace byla dosažena při přechodu modelu provozovaného v režimu kontinuálního průtoku do režimu semikontinuálního průtoku.

Úvod

Odpadní vody (OV) s vysokou koncentrací amoniakálního dusíku (N-amon) pohybující se od stovek až po tisíce mg/l jsou produkovány v některých odvětvích průmyslové výroby, při zahušťování a odvodňování anaerobně stabilizovaného kalu, v podobě skládkových výluhů atd. [1]. Jejich následná čistírenská úprava je nutností. Metody odstranění N-amon se obecně rozdělují na fyzikálně-chemické a biologické (či biochemické).

Pokud složení odpadních vod s vysokým obsahem dusíkatého znečištění umožňuje za účelem odstranění N-amon aplikovat biologické čištění, bývá vzhledem k ekonomice procesu tato varianta upřednostňována. Biologické metody čištění odpadních vod s vysokou koncentrací N-amon jsou založeny na konvenční nitrifikaci/denitrifikaci (N/D) uplatňované běžně při čištění městských odpadních vod, či na alternativních postupech, jako je zkrácená nitrifikace/denitrifikace (ZN/D) [2], či zkrácená nitrifikace a následná deamonifikace [3]. Zkrácená nitrifikace, která je první fází obou zmíněných netradičních postupů, je založena na akumulaci produktů prvního stupně nitrifikace, tedy dusitanů. Bakterie oxidující N-amon na dusitan (tzv. Ammonium Oxidizing Bacteria – AOB) jsou tolerantnější vůči některým fyzikálně-chemickým faktorům než skupina převádějící dusitan na dusičnany (Nitrite Oxidizing Bacteria – NOB) [2]. Toho je možno využít a přizpůsobit podmínky v reaktoru tak, aby byly citlivější NOB inhibovány a postupně vyplavovány ze systému. Výhodou zmíněných alternativních postupů oproti konvenční N/D může být značná úspora nutných energetických i materiálových vstupů při procesu čištění [3, 4]. Pomocí výše uvedených biologických procesů je možné odstraňovat dusík i z velmi silně koncentrovaných OV. Potenciál působit inhibičně na nitrifikační bakterie mají ve vyšších koncentracích i nedisociované formy jejich substrátů – NH_3 a HNO_2 [5], přičemž i v tomto případě platí, že NOB jsou těmito látkami inhibovány mnohem silněji než AOB. Výsledky některých studií naznačují, že v případě dusitanového dusíku může být z hlediska

inhibice NOB zásadní i disociovaná forma, tedy iont NO_2^- [6]. Poměr disociovaných iontů a nedisociovaných molekul volného amoniaku (free ammonia – FA) a kyseliny dusité (free nitrous acid – FNA) je dán hodnotou pH a teplotou roztoku. Podíl FA z celkové koncentrace N-amon stoupá se vzrůstající hodnotou pH a zvyšující se teplotou. Procentuální podíly obou nedisociovaných forem při různé hodnotě pH v rozmezí 5,5–8,5 odpovídajícím mezním hodnotám, za kterých probíhala nitrifikace během popisovaných experimentů, a při různé teplotě jsou vypočteny v tab. 1. podle rovnice pro výpočet koncentrace obou toxických forem v závislosti na hodnotě pH a teplotě [5].

Při čištění běžných komunálních OV se pH zpravidla pohybuje blízko neutrální hodnoty a nízké koncentrace jednotlivých sloučenin dusíku nemají potenciál působit inhibičně na nitrifikační bakterie. Jiná situace nastane, je-li potřeba zahájit nitrifikační proces v OV s vysokou koncentrací N-amon, které mají pH často vyšší než 8, a kde se může koncentrace FA pohybovat v řádu jednotek až desítek mg/l. Takové hodnoty působí inhibičně nejen citlivějších NOB, což může případně vést k dosažení zkrácené nitrifikace, ale i relativně rezistentnějších AOB [5].

Rychlé zapracování nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího OV s vysokou koncentrací N-amon může znesnadňovat také relativně nízké zastoupení nitrifikačních bakterií v běžném aktivovaném kalu (AK) [7]. Tyto faktory pak komplikují zahájení nitrifikace dusíkem silně zatížených OV a mohou vést ke zbytečnému prodlužování zapracování reaktoru při velmi nízké počáteční účinnosti [8]. Efektivní zapracování nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího OV s vysokou koncentrací N-amon je obvykle v literatuře zmiňováno jako problematický a poměrně dlouhodobý proces [9, 10]. Uvádí se dokonce, že pro čištění odpadních vod s koncentrací N-amon převyšující 1000 mg/l je v případě použití klasické suspendované biomasy či běžných biofilmových nosičů nutno odpadní vodu ředit nebo provozovat systém při poměrně nízkém objemovém zatížení (B_v). Jako optimální varianta je pak z těchto důvodů zmiňována speciální technologie imobilizace biomasy založená na enkapsulaci nitrifikačních organismů do pelet, jejichž chemickou podstatou je polyvinylalkohol – PVA [11].

Rychlá a spolehlivá (a zároveň provozně nenáročná) možnost dosažení požadované účinnosti by usnadnila zavádění biologických postupů odstraňování N-amon v praxi a v některých případech by mohla i snížit počáteční náklady při zapracování reaktorů.

Další možnou úsporu nákladů na čistící proces umožňuje aplikace zkrácené nitrifikace, která je jako první fáze procesů ZN/D a zkrácená nitrifikace/deamonifikace [3] vhodná zejména právě pro OV s vysokým obsahem N-amon. Způsob zapracování nitrifikačního reaktoru může ovlivnit nejen rychlost dosažení potřebné účinnosti odstranění dusíkatého znečištění při daném zatížení reaktoru dusíkem, ale i výsledný produkt nitrifikace. Pokud se bude koncentrace FA v reaktoru pohybovat nad inhibiční hladinou pro NOB, ale v mezích tolerance AOB, mělo by být možné minimálně v počáteční fázi provozu, ve které ještě nebude hrát významnou roli adaptace NOB na zvýšenou koncentraci FA, popřípadě i FNA, či disociovaného dusitanového dusíku [12, 13], docílit v systému akumulace dusitanů bez dalších zásahů do provozu reaktoru.

Cílem experimentu popsáního v tomto příspěvku bylo porovnat a optimalizovat různé varianty zapracování nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího kalovou vodu (KV) vznikající při odvodňování anaerobně stabilizovaného čistírenského kalu. Sledována byla rychlost zapracování a možnosti iniciace zkrácené nitrifikace. Výsledky měření však mohou být použity jako podklad i pro zapracování dalších typů OV s vysokými koncentracemi N-amon. Testy probíhaly s biomasou kultivovanou ve formě suspenze s důrazem na provozní a ekonomickou nenáročnost procesu.

Materiál a metody

Modelové reaktory

V průběhu experimentu bylo vyzkoušeno šest různých způsobů zapracování reaktoru. Nitrifikační reaktory byly provozovány v režimu směšovací aktivace s recirkulací kalu. Ze systému nebyl u žádných z tes-

Tab. 1. Procentuální zastoupení nedisociovaných forem sloučenin dusíku v závislosti na změnách hodnoty pH a teploty roztoku

	FA _{10°C}	FA _{20°C}	FA _{30°C}	FNA _{10°C}	FNA _{20°C}	FNA _{30°C}
pH 5,5	0,006	0,013	0,026	1,07	0,81	0,63
pH 7	0,19	0,41	0,83	0,034	0,03	0,02
pH 8,5	5,68	11,45	20,87	0,001	< 0,001	< 0,001

tovaných variant odváděn přebytečný AK, což umožňovalo udržovat vysoké stáří kalu. Jeho konkrétní hodnota byla určena množstvím kalu unikajícího do odtoku. Jeden z reaktorů byl po fázi zapracování přestavěn do semikontinuálního režimu (**tab. 2**). Pracovní objem reaktorů byl 1,5 l, připojené dosazovací nádrže měly objem 0,25 l. Během celého experimentu odpovídala teplota v reaktorech laboratorní teplotě, tedy 23 ± 2 °C. Koncentrace kyslíku v reaktoru byla udržována na hodnotách příznivých pro AOB i NOB a pohybovala se mezi 3 a 6 mg/l. Surová KV bez jakékoli předchozí úpravy byla přiváděna do reaktorů pomocí peristaltických pump s nastavitelným průtokem. Akvarijní vzduchovací motorky zajišťovaly oxidaci a zároveň i promíchávání aktivační směsi. Hodnota pH v reaktorech nebyla regulována. V případě provozu reaktoru v podmínkách SBR byla z modelu odstraněna dosazovací nádrž. Jeden cyklus SBR trval šest hodin, přičemž pracovní fáze odpovídala 330 min. Po pracovní fázi následovala sedimentace kalu (20 min) a přečerpávání vstupující a vystupující vody (celkem 10 min). Při jednom cyklu byla vyměněna cca 1/6 objemu reaktoru. Způsob zaočkování a provozní podmínky jednotlivých reaktorů jsou shrnuty v **tab. 2**.

Charakteristika AK a složení KV

AK použitý pro inokula byl získáván v podobě vratného kalu z Pražské ústřední ČOV. Koncentrace nerozpuštěných organických látek se pohybovala v rozmezí 3–4,5 g/l.

KV byla dovážena z Pražské ústřední ČOV (ÚČOV). Hodnota pH surové KV odpovídala 8,3–8,58, koncentrace N-amon se pohybovala mezi 900–1750 mg/l s průměrnou hodnotou 1400 mg/l a poměr CHSK/N činil 1,5–2,5 : 1

Analytické metody

Pro potřeby experimentu byly v reaktoru sledovány tyto základní fyzikální a chemické parametry: hodnota pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, teplota, koncentrace N-amon, N-NO₂⁻ a N-NO₃⁻ a CHSK.

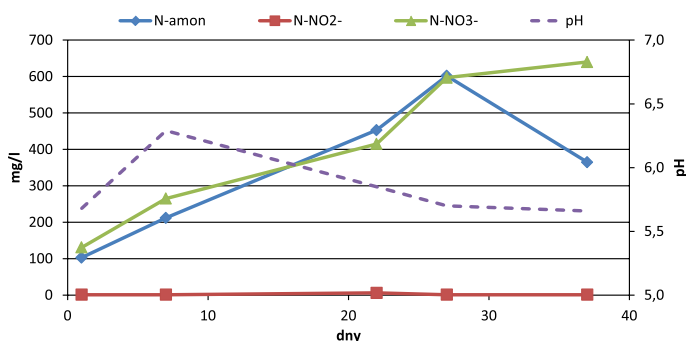
Stanovení koncentrací sledovaných forem dusíku bylo prováděno jednou týdně spektrofotometrickými metodami na přístroji HACH DR/4000. Analýza N-amon a N-NO₂⁻ byla provedena podle standardních analytických metod [14], koncentrace N-NO₃⁻ byla kvantifikována pomocí testovacích kitů firmy HACH s typovým označením HACH 2511. Pro eliminaci vlivu vysokých koncentrací N-NO₂⁻ na přesnost stanovení N-NO₃⁻ bylo před analýzou v 10 ml vzorku rozpuštěno 400 mg močoviny. Vzorokly byly při každém měření odebírány z vstupní KV a z dosazovací nádrže, resp. z odtoku SBR. Hodnoty CHSK_{VL} (homogenizovaný vzorek) a CHSK_{KL} (odstředěný vzorek) KV byly stanovovány spektrofotometricky dichromanovou semimikrometodou [14] a kvantifikovány pomocí přístroje HACH DR/4000.

Koncentrace AK byly kvantifikovány jako nerozpuštěné organické látky (NL_{ORG}) při stanovení sušiny podle standardních analytických metod [14].

Výsledky

Výsledky měření jsou seřazeny podle způsobu zahájení provozu jednotlivých modelů.

M1: Při nízkém B_V probíhala od zahájení měření až do jeho ukončení úplná nitrifikace s N-NO₃⁻ jako finálním produktem (**obr. 1**). Účinnost odstranění N-amon odpovídala 48–64 %.

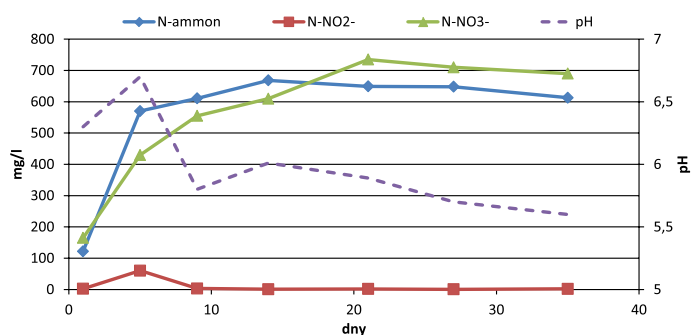


Obr. 1. M1: Koncentrace forem dusíku a pH v odtoku. B_V: 1. až 24. den 0,15–0,2 kg N-amon/(m³*d); 24. až 37. den 0,58 kg N-amon/(m³*d)

Tab. 2. B_V(start) – počáteční objemové zatížení N-amon [kg/(m³*d)]. B_x(start) – počáteční specifické zatížení kalu N-amon [kg N-amon/(kg NL_{org}*d)]; AK – aktivovaný kal z ČOV; Nitr. R. – aktivovaný kal z děle fungujícího reaktoru nitrifikujícího na dusičnany; KV – kalová voda, VV – vodovodní voda, k. – kontinuální režim, sk. – semikontinuální režim

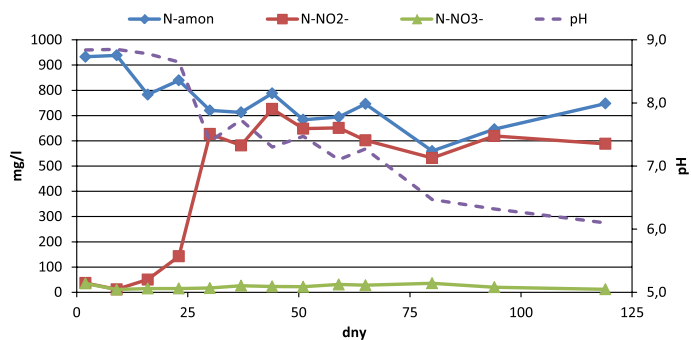
Model	Doba provozu (dny)	Operační režim	Náplň reaktoru při zahájení provozu	B _V (start)	B _x (start)
M1	37	k.	AK – celý objem	0,17	0,043
M2	35	k.	AK – celý objem	0,60	0,15
M3	119	k.	AK – celý objem	1,75	0,438
M4	44	k.	AK – 750 ml + KV – 750 ml	0,17	0,135
M5	191	k.	KV – 750 ml + VV – 750 ml	0,13	-
M6	38/150	k./sk.	Nitr. R. 400 ml + VV 1100 ml	0,50	0,303

M2: Od prvního dne byla zaznamenána úplná nitrifikace na N-NO₃⁻, koncentrace N-NO₂⁻ s výjimkou malého nárůstu kolem 5. dne provozu nepřekročila 1 mg/l. Účinnost odstranění N-amon se pohybovala mezi 46 a 53 % (**obr. 2**).



Obr. 2. M2: Koncentrace forem dusíku a pH v odtoku. B_V: 1. až 35. den 0,4–0,6 kg N-amon/(m³*d)

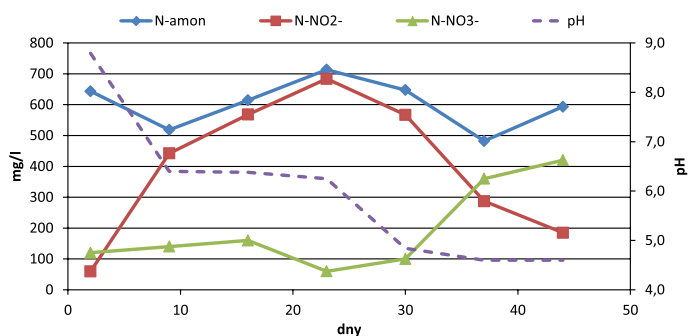
M3: Výraznější biochemická oxidace N-amon byla zjištěna kolem 25. dne a rychle narostla během následujících 5 dnů. Po celou dobu provozu M3 byl hlavním produktem nitrifikace N-NO₂⁻, koncentrace N-NO₃⁻ se pohybovala v řádech jednotek mg/l. Účinnost odstranění N-amon se od 30. dne provozu až do jeho ukončení pohybovala mezi 45 a 50 % (**obr. 3**).



Obr. 3. M3: Koncentrace forem dusíku a pH v odtoku. B_V: 1. až 10. den 1,75 N-amon/(m³*d); 11. až 119. den 1,13–1,55 kg N-amon/(m³*d)

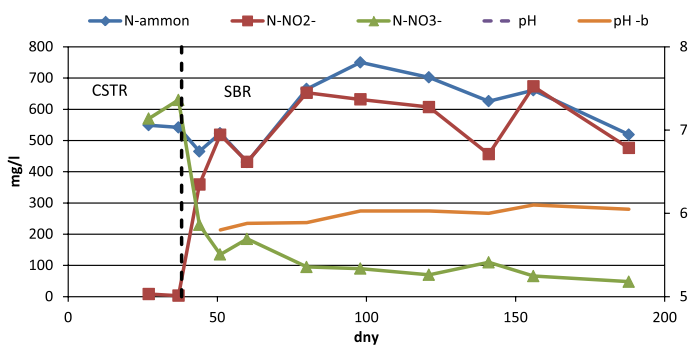
M4: Při rozbořech provedených 2. den od zahájení provozu M4 bylo naměřeno 60 mg/l N-NO₂⁻ a 120 mg/l N-NO₃⁻. Následně došlo k výrazné akumulaci N-NO₂⁻, která přetrvávala do cca 30. dne. Koncentrace N-NO₃⁻ pohybuje se v prvních 30 dnů mezi 60–160 mg/l poté začala narůstat. Po 37. dni byla převážná část N-amon oxidována na N-NO₃⁻ (**obr. 4**). Účinnost odstranění N-amon se od 9. dne pohybovala mezi 50–54 %.

M5: Nízká nitrifikační aktivita byla zaznamenána po 14 dnech provozu, kdy bylo v reaktoru naměřeno cca 20 mg/l oxidovaných forem dusíku tvořených N-NO₂⁻. Následně koncentrace N-NO₂⁻ nejdříve skokově, poté postupně narůstala až k 466 mg N-NO₂⁻/l. Mezi 172. a 191. dnem poklesla k jednotkám mg/l v důsledku samovolného přechodu systému na úplnou nitrifikaci s N-NO₃⁻ jako finálním produktem (**obr. 5**). Účinnost odstranění N-amon se po zapracování pohybovala mezi 46–60 %.



Obr. 4. M4: Koncentrace forem dusíku a pH v odtoku. B_v : 1. až 44. den 0,17–0,21 kg N-amon/($m^3 \cdot d$)

M6: Cílem provozu M6 bylo vyhodnotit vliv změny režimu průtoku čištěné vody na zastoupení konečných produktů nitrifikace. Při první analýze jednotlivých forem dusíku provedené 27. den byla zaznamenána úplná nitrifikace na $N-NO_3^-$. Důležitá změna nastala po převedení systému do semikontinuálního režimu, kdy došlo k výrazné akumulaci $N-NO_2^-$ a rychlému poklesu koncentrace $N-NO_3^-$. Hodnota pH v reaktoru se po převedení do semikontinuálního režimu měnila v závislosti na průběhu jednotlivých cyklů (obr. 6). Účinnost odstranění N-amon v průběhu fáze se semikontinuálním průtokem se pohybovala mezi 47 a 59 %.



Obr. 6. M6: Koncentrace forem dusíku a pH v odtoku (přerušovaná vertikální linie odděluje fáze CSTR–kontinuální režim a SBR–semikontinuální režim, pH–hodnota pH v CSTR a v SBR na začátku cyklu, pH–b–hodnota pH na konci cyklu SBR). B_v : 1. až 188. den 0,30–0,50 kg N-amon/($m^3 \cdot d$)

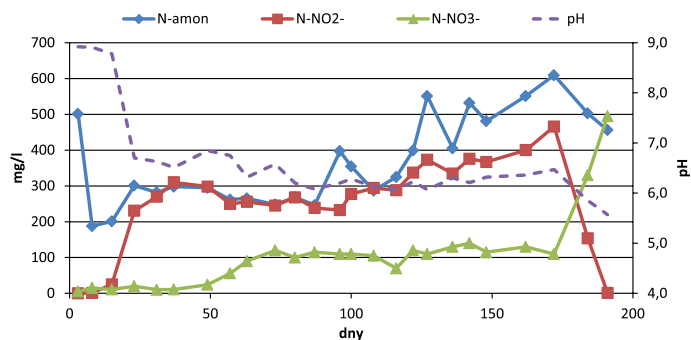
Diskuse

Provedené experimenty prokázaly, že pro úspěšné a efektivní zapracování reaktoru nitrifikujícího odpadní vodu s vysokou koncentrací N-amon jsou stěžejními faktory zejména přidání, resp. nepřidání zdroje nitrifikující biomasy za účelem inokulace reaktoru, zatížení systému N-amon ve fázi zapracování, koncentrace N-amon v reaktoru před vlastním zahájením čerpání vstupní vody do systému a režim průtoku čištěné vody. Tyto parametry ovlivňují zásadně jednak rychlost zapracování reaktoru a zároveň mohou do značné míry ovlivnit zastoupení konečných produktů nitrifikace.

Účinnost odstranění N-amon byla u všech popsaných reaktorů po různé dlouhé fázi zapracování srovnatelná a pohybovala se v rozmezí 45–64 %. Limit účinnosti byl v tomto případě dán složením kalové vody, v níž dle literárních údajů molární poměr NH_4^+/HCO_3^- odpovídá zhruba 1,1/1. Pufrační kapacita čištěné kalové vody proto umožňuje odstranění přibližně 50 % N-amon, poté pH klesá na hodnotu inhibiční další nitrifikační aktivitu [15].

Zapracování reaktoru bez zaočkování nitrifikující biomasou

Surová KV má hodnotu pH okolo 8,4. Stripování CO_2 vyvolané aerací reaktoru vedlo v prvních dnech provozu M5 k nárůstu pH až na 8,9. Při koncentraci N-amon cca 600 mg/l tak činila koncentrace FA cca 170 mg/l. To je hodnota převyšující inhibiční limit nejen pro NOB (0,1–1 mg/l), ale i pro AOB (10–150 mg/l) [5]. Postupný nárůst koncentrace $N-NO_2^-$ v prvních desítkách dnů přesto svědčí o přítomnosti AOB v surové KV. Tyto organismy navíc vykazovaly aktivitu i přes extrémní podmínky panující v reaktoru. Postupně se zvyšující



Obr. 5. M5: Koncentrace forem dusíku a pH v odtoku. B_v : 1. až 191. den 0,1–0,19 kg N-amon/($m^3 \cdot d$)

aktivita AOB způsobila rychlý pokles pH na hodnotu cca 6,5, což vedlo ke snížení koncentrace FA na 0,5–1,0 mg/l.

Oproti činnosti AOB byla aktivita NOB doprovázená navýšením koncentrace $N-NO_3^-$ v systému patrná až od cca 50. dne, přičemž dosažení úplné nitrifikace na $N-NO_3^-$ jako finální produkt reakce trvalo cca 180 dní. To bylo v první fázi způsobeno inhibiční NOB vysokou koncentrací FA (viz výše), přičemž s následným nárůstem koncentrace $N-NO_2^-$ a současně poklesem hodnoty pH pravděpodobně hrála významnou roli i FNA, jejíž koncentrace se ve fázi zkrácené nitrifikace pohybovala mezi 0,2 a 0,6 mg/l. Inhibiční koncentrace pro NOB jsou přitom podle různých zdrojů udávány v rozmezí 0,02–0,27 mg/l [5,16,17]. Dalším inhibičním faktorem mohla být zvýšená koncentrace disociovaného $N-NO_2^-$, u níž byly při koncentracích v řádu stovek mg/l také zaznamenány inhibiční účinky na NOB [6]. Až později se patrně projevila adaptace NOB na podmínky panující v reaktoru [18].

Zapracování reaktoru se zaočkováním nitrifikující biomasou v podmínkách s nízkou koncentrací N-amon v okamžiku spuštění reaktoru

V rámci popsaných testů bylo prokázáno, že pro dosažení velice rychlého zapracování nitrifikačního reaktoru zpracovávajícího odpadní vody s vysokým obsahem N-amon je možno použít pro zaočkování běžný aktivovaný kal. Za těchto podmínek bylo zaznamenáno prakticky okamžité rozběhnutí nitrifikace s $N-NO_3^-$ jako dominantními konečnými produkty při vstupní koncentraci N-amon převyšující 1000 mg/l (M1, M2). Podmínkou takto úspěšného zapracování systému je nízká koncentrace N-amon v okamžiku zahájení provozu reaktoru. Za těchto podmínek je přicházející voda okamžitě nitrifikována, nedochází k inhibici AOB ani NOB a finálním produktem reakce je $N-NO_3^-$. Kontinuální přítok vody s vysokým obsahem N-amon v podmínkách intenzivního průběhu nitrifikace následně vyvolává výrazný pokles hodnoty pH. Z tohoto důvodu není ani přes postupně se zvyšující koncentraci N-amon v reaktoru činnost AOB a NOB blokována FA, jehož koncentrace v této fázi nepřevyšovala 1,0 mg/l. Zároveň není v systému i přes nízkou hodnotu pH významný ani obsah FNA nepřesahující v uvedených případech 0,02 mg/l, protože prakticky nedochází k hromadění $N-NO_2^-$.

Možnost prakticky okamžitého dosažení nitrifikace s $N-NO_3^-$ jako konečným produktem byla v podmínkách s nízkou počáteční koncentrací N-amon potvrzena při dvou variantách B_v (M1 a M2). Schopnost systému provádět nitrifikaci od počátku jeho provozu při relativně vysokých rychlostech odstraňování N-amon byla potvrzena u M2, který pracoval v prvních dnech při průměrné hodnotě B_v cca 0,60 kg N-amon/($m^3 \cdot d$) a B_x 0,15 kg N-amon/(kg $NL_{org} \cdot d$). Příliš vysoké počáteční B_v jako v případě M3, kde bylo aplikováno cca 1,75 kg/($m^3 \cdot d$), však způsobilo inhibiční nitrifikace. To je možno vysvětlit tím, že AOB přítomné v reaktoru v omezeném množství již při vysokém zatížení nestíhají ze systému s potřebnou účinností odstraňovat N-amon, který se v reaktoru hromadí a společně s vysokou hodnotou pH následně vyvolává inhibiční nitrifikace v důsledku nárůstu koncentrace FA.

Ke zmíněným hodnotám zatížení reaktorů dusíkem nelze pochopitelně přistupovat jako k obecně dosažitelným. V každém konkrétním případě bude silně záležet na aktuálních podmínkách panujících v daném biologickém systému (teplota, zastoupení nitrifikačních organismů v inokulu, složení čištěné vody, koncentrace kyslíku atd.). Přesto je však zřejmé, že popisovaná strategie zapracování nitrifikačního reaktoru při vysoké vstupní koncentraci N-amon může bez ředění vstupní vody i při relativně vysokém zatížení systému výrazně urychlit nastartování nitrifikačního procesu.

Zpracování reaktoru se zaočkováním nitrifikující biomasou v podmínkách s vysokou koncentrací N-amon v okamžiku spuštění reaktoru

Při spuštění reaktoru obsahujícího při zahájení provozu významný objemový podíl odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon (M4 – KV a aktivovaný kal 1 : 1) byl v systému sice od počátku dostatek nitrifikačních organismů skupin AOB i NOB, nicméně v daných podmínkách byla činnost obou skupin inhibována vysokou koncentrací FA. Z tohoto důvodu byl i při relativně nízkém zatížení systému nástup nitrifikace pomalejší ve srovnání s M1 a M2. Mikroorganismy skupiny AOB se na podmínky vyšší koncentrace FA adaptovaly rychleji, což se projevilo nárůstem koncentrace N-NO₂⁻ v čišťené KV mezi 2. a 9. dnem experimentu. Výrazně delší čas (cca 30 dní) trvala adaptace NOB, která se projevila pozdějším nárůstem koncentrace N-NO₃⁻. Ve srovnání se systémem bez zaočkování aktivní biomasou (M5) byla však doba potřebná k adaptaci AOB a zejména NOB výrazně kratší.

Možnosti dosažení akumulace N-NO₂⁻

V rámci popisovaných experimentů bylo dlouhodobé či přechodné akumulace N-NO₂⁻ dosaženo v reaktorech M3, M4, M5 a M6. Jak bylo zmíněno výše, v případě M3, M4 a M5 se klíčovým parametrem způsobujícím v daných podmínkách akumulaci N-NO₂⁻ jeví vysoká počáteční koncentrace FA. Inhibiční vliv FA pak byl u jednotlivých modelů v rámci jejich dalšího provozu kombinován s působením FNA, popřípadě nedisociovaného dusitanového iontu. V případě M4 a M5 však došlo po určité době k iniciaci nitrate a hlavním produktem nitrifikace se stal N-NO₃⁻. Zdá se tedy, že v daných podmínkách není reálné v systému pracujícím na principu směšovací aktivace dosáhnout trvalé akumulace N-NO₂⁻ pouze na základě působení toxických forem dusíku. Jejich inhibiční tlak na NOB bude v takto provozovaném reaktoru nutno kombinovat s dalšími zásahy do systému, například s regulací koncentrace kyslíku [19, 20, 21, 22]. Na základě výsledků z reaktoru M3 je možno předpokládat, že oním parametrem „doplňujícím“ inhibiční působení toxických forem dusíku by mohlo být také vysoké zatížení reaktoru dusíkem, které pro daný reaktor činilo v prvních deseti dnech 1,75 a následně 1,30 kg N-amon/(m³*d). Objemové zatížení jako jeden z faktorů vedoucích k akumulaci N-NO₂⁻ zmiňují i Okabe et al., (2011) [23]. V jejich biofilmovém reaktoru byla při teplotě 35 °C a při B_v vyšším než 1 kg N-amon/(m³*d) udržována stabilní zkrácená nitrifikace, která přešla v úplnou nitrifikaci po snížení B_v na hodnotu 0,25 kg N-amon/(m³*d).

Spolehlivou možností, jak převést reaktor z úplné nitrifikace na N-NO₃⁻ ke zkrácené nitrifikaci na N-NO₂⁻, je úprava systému do semikontinuálního režimu (viz M6). Šokové působení vyššího pH vlivem dávkování KV při každém cyklu negativně působí na NOB, a tím dochází k jejich inhibici. Výsledky získané při provozu M6 tak potvrzují i závěry plynoucí z předchozích experimentů provedených na našem pracovišti [24].

Na základě výsledků prezentovaných v tomto příspěvku je možno konstatovat, že pro rychlé nastartování zkrácené nitrifikace se v daných podmínkách jako optimální jeví zpracování reaktoru v kontinuálním režimu s nízkou počáteční koncentrací N-amon při vhodném zatížení dusíkem (M2) a jeho následné převedení do režimu semikontinuálního (M6). Zatížení systému může být během zapracování postupně zvyšováno k maximální provozní bezpečné hodnotě dosažitelné v daných podmínkách.

Závěr

- Odpadní voda typu kalové vody obsahuje zástupce nitrifikačních bakterií v množství umožňujícím zapracování reaktoru bez inokulace.
- Přídavek běžné nitrifikující biomasy může proces zapracování významně urychlit, nicméně při vysoké koncentraci N-amon v okamžiku spuštění reaktoru je nutno počítat s dobou adaptace nitrifikačních mikroorganismů v řádu dnů až týdnů, přičemž tato doba poroste s rostoucím zatížením systému dusíkem.
- I reaktor zpracovávající vodu s extrémním obsahem N-amon při poměrně vysokém zatížení dusíkem je možno zapracovat prakticky okamžitě s využitím běžného aktivovaného kalu v případě nízké koncentrace N-amon v okamžiku spuštění reaktoru. V takovém případě však nesmí být překročeno „kritické zatížení dusíkem“ – v našich podmínkách B_v cca 1,5 kg N-amon/(m³*d) – při kterém nebudou AOB schopny s dostatečnou rychlostí přeměňovat vstupující N-amon.
- V režimu směšovací aktivace je možno ve fázi zapracování za určitých okolností při čišťení kalové vody nebo odpadní vody podobného složení s využitím inhibičního vlivu toxických forem dusíku

vyvolat účinnou akumulaci N-NO₂⁻, nicméně po určité době dané podmínkami prostředí je potřeba počítat s adaptací NOB a tvorbou N-NO₃⁻. Trvalé akumulace N-NO₂⁻ je při tomto režimu průtoku možno docílit jedině následnými zásahy do systému (např. limitace koncentrace O₂). Otázkou v tomto případě zůstává efekt vysokého zatížení dusíkem, který může minimálně prodloužit období účinné akumulace N-NO₂⁻.

- Jako perspektivní možnost pro trvalé udržení akumulace dusitanů při nitrifikaci odpadní vody s vysokým obsahem N-amon se jeví provoz biologického reaktoru v režimu SBR.

Poděkování: Příspěvek vznikl za finanční podpory Celouniverzitní grantové agentury ČZU (CIGA), registrační číslo grantu: 20122022. Autoři tímto děkují poskytovateli dotace.

Literatura

- [1] Van Hulle, S. W. H., Vandeweyer, H. J. P., Meesschaert, B. D., Vanrolleghem, P. A., Dejana, P., Dumoulin, A. (2010): Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal* 162: 1–20
- [2] Zhu, G., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q. (2008): Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. *Rev Environ Contam. Toxicol.* 192: 159–195.
- [3] Van Dongen, L. G. J. M., Jetten, M. S. M. & van Loosdrecht, M. C. M. (2001): The combined Sharon/Anammox Process. A sustainable method for N-removal from sludge water. STOWA Report, IWA Publishing, London, UK.
- [4] Abeling, U., Seyfried, C. F. (1992): Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonium wastewater – nitrogen removal via nitrite. *Water Sci. Tech.* 26 (5–6): 1007–1015.
- [5] Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. S., Srinath, E. G. (1976): Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal Water Pollution Control Federation*, 48 (5): 835–852.
- [6] Buday J., Drtil M., Hutňan M., Derco J. (1999): Substrate and product inhibition of nitrification. *Chem. Pap.* 53: 379–383.
- [7] Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. (1991): Biologické čištění odpadních vod. SNTL Praha.
- [8] Carrera, J. A., Baeza, T., Vicent, J., Lafuente. (2003): Biological nitrogen removal of high strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system. *Water Res.* 37: 4211–4221.
- [9] Vallés-Morales, M., Mendoza-Roca, J., Bes-Pia, A., Iborra-Clar, A. (2004): Nitrogen removal from sludge water with SBR process: start-up of a full-scale plant in the municipal wastewater treatment plant at Ingolstadt, Germany. *Water Sci. Technol.* 50 (10): 51–58.
- [10] Jubany, I., Carrera, J., Lafuente, J., Baeza, J. A. (2008): Start-up of a nitrification system with automatic control to treat highly concentrated ammonium wastewater: Experimental results and modeling. *Chemical Engineering Journal*, 144: 407–419
- [11] Boušková, A., Mrákota, J., Smrčka, J., Stloukal, R., Batěk, J. (2011): Problematika a nové poznatky z provozování technologií s imobilizovanou biomasou. *Vodní hospodářství 10/2011*: 397–403
- [12] Turk, O., Mavinic, D. S. (1987): Benefits of using selective inhibition to remove nitrogen from highly nitrogenous wastes, *Environ. Technol. Lett.* 8: 419–426.
- [13] Villaverde, S., Fdz-Polanco, F., Garcia, P. A. (2000): Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters: start-up influence. *Water Res.* 34:602–10.
- [14] Horáková, M. a kolektiv. (2003): Analytika vody. VŠCHT, Praha, 335 s.
- [15] Khin, T., Annachhatre, A. P. (2004): Novel Microbial Nitrogen Removal Processes. *Biotechnology Advances*, 22 (7): 519–532.
- [16] Hellinga C., Schellen A. A. J. C., Mulder J. W., van Loosdrecht M. C. M. Heijnen, J. J. (1998): The SHARON process: an inovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Sci. Technol.* 37 (9): 135–142.
- [17] Vadivelu, M., Keller, J., Yuan, Z. (2006): Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched Nitrosomonas culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 95 (5): 830–839
- [18] Yusof, N., Hassan, M. A., Phang, L. Y., Tabatabaei, M., Othman, M. R., Mori, M., Wakisaka, M., Sakai, K., Shirai, Y. (2010): Nitrification of ammonium-rich sanitary landfill leachate. *Waste Management*, 30 :100–109
- [19] Ruiz G, Jeison D, Chamy R. (2003): Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Res.* 37: 1371–1377.
- [20] Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J. (2008): Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation* 19 (2): 303–312
- [21] Jubany, I., Lafuente, J., Baeza, J. A., Carrera, J. (2009): Total and stable washout of Nitrite Oxidizing Bacteria from a nitrifying continuous activated sludge system using automatic control based on Oxygen Uptake Rate measurements. *Water Research*, 43 (11): 2761–2772
- [22] Páček, L., Švehla, P., Radechovský, J., Vašák, F., Balík, J. (2011): Možnost využití

regulace koncentrace kyslíku při nitrifikaci kalové vody. Vodní hospodářství 11: 372–376

- [23] Okabe, S., Oshiki, M., Takahashi, Y. and Satoh, H. (2011): Development of long-term stable partial nitrification and subsequent anammox process. *Bioresource Technology*, 102: 6801–6807.
- [24] Radechovský, J., Švehla, P., Bartáček, J., Vacková, L., Stryjová, H., Páček, L., Balík, J., Vašák, F., Hrnčířová, H. (2011): Nitrifikační procesy odpadní vody s vysokou koncentrací N-ammon v reaktoru se semikontinuálním průtokem, *Konference Voda 2011, Poděbrady*

Ing. Mgr. Lukáš Páček (autor pro korespondenci)

Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

Ing. Josef Radechovský

Ing. Helena Hrnčířová

prof. Ing. Jiří Balík, CSc.

e-mail: pacek@af.czu.cz

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

Česká zemědělská univerzita v Praze

Kamýcká 129

165 21 Praha 6

e-mail: pacek@af.czu.cz

Efficient start-up of a nitrification reactor treating high strength N-ammon wastewater (Páček, L.; Švehla, P.; Radechovský, J.; Hrnčířová, H.; Balík, J.)

Key words

Nitrification – wastewater – nitritation – reactor start-up – reject water

The rate of a start-up process in nitrification reactor and the feasibility of shortcut nitrification were evaluated using laboratory-scale models. Within the bounds of the experiment, the simulation of six different start-up processes in reactors treating reject water with high ammonium nitrogen (N-ammon) concentration was performed. Methods varied with applied inoculum, nitrogen loading rate, and the initial concentration of N-ammon in a reactor. It was experimentally proved that nitrification during biological treatment of reject water could be initiated even without any inoculation of nitrifying biomass. The efficient nitritation was in this case achieved significantly faster than nitrification. The inoculation with common activated sludge rapidly shortened the start-up process of both nitrification steps in the reactor with high initial N-ammon concentration. Immediate start-up of nitrification process with nitrates as a dominant product was achieved even with relatively high nitrogen loading rate in case of inoculation with common activated sludge. Efficient shortcut nitrification was achieved by transition of reactor operation method from CSTR to SBR.

Tento článek byl recenzován a je otevřen k diskusi do 30. dubna 2013. Rozsah diskusního příspěvku je omezen na 2 normostrany A4, a to včetně tabulek a obrázků. Příspěvky posílejte na e-mail stransky@vodnihospodarstvi.cz.

7.4 Publikace č. 4

Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H. 2014. Emise oxidu dusného při čištění odpadních vod. Vodní hospodářství. 4. 121 – 126.

system for Channel catfish culture: Effects on water quality and zooplankton. Polish Journal of Environmental Studies 19: 1063–1070.

- [23] Zhao, Y. J.; Hui, Z.; Chao, X.; Nie, E.; Li, H. J.; He, J. a Zheng, Z., 2011. Efficiency of two-stage combinations of subsurface vertical down-flow and up-flow constructed wetland systems for treating variation in influent C/N ratios of domestic wastewater. Ecological Engineering 37: 1546–1554.
- [24] Langergraber, G.; Pressl, A.; Lerach, K.; Rohrhofer, R. a Haberl, R., 2011. Long-term behaviour of a two-stage CW system regarding nitrogen removal. Water Science and Technology 64: 1137–1141.

prof. Ing. Jan Vymazal, CSc. ^{1, 2)} (autor pro korespondenci)
Ing. Lenka Kröpfelová, Ph.D. ¹⁾
Petr Hrnčíř ³⁾

¹⁾ Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta životního prostředí
katedra aplikované ekologie
Kamýčká 129
165 21 Praha 6
vymazal@knc.czu.cz

²⁾ ENKI, o. p. s.
Dukelská 145
379 01 Třeboň

³⁾ EKOS Hrnčíř
Litoměřická 17
411 41 Žitenice

Hybrid constructed wetland with enhanced removal of nitrogen (Vymazal, J.; Kröpfelová, L.; Hrnčíř, P)

Abstract

The paper describes treatment efficiency of a hybrid constructed wetland during the 19-months period. Hybrid constructed wetland consists of saturated vertical flow wetland, free-drain vertical flow wetland and subsurface flow horizontal wetland. The experimental treatment system was located at the Třeboň Wastewater Treatment Plant. The total surface area of the constructed wetland was 10.1 m² and mean flow has been kept at 246 l/d for 15 months, while the last four months the flow was increased to 510 l/d. The system was fed twice a day for 30 minutes. The mean treatment efficiency amounted to 91.5 %, 84.3 %, 95.8 % and 84.1 % for BOD₅, COD, TSS and N-NH₄⁺, respectively. The results revealed that the system was able to provide continuously outflow N-NH₄⁺ and anorg-N concentrations below 5 mg/l and 10 mg/l, respectively.

Key words

constructed wetland – municipal wastewater – ammonia – nitrogen – reeds

Tento článek byl recenzován a je otevřen k diskusi do 30. června 2014. Rozsah diskusního příspěvku je omezen na 2 normostrany A4, a to včetně tabulek a obrázků. Příspěvky pošlete na e-mail stransky@vodnihospodarstvi.cz.

Emise oxidu dusného při čištění odpadních vod

Lukáš Páček, Pavel Švehla, Josef Radechovský,
Helena Hrnčířová

Abstrakt

Oxid dusný (N₂O) je významný skleníkový plyn rozkládající ozonovou vrstvu. Procesy čištění odpadních vod se postupně zařazují mezi jeho největší antropogenní zdroje. Popsání biochemických pochodů a podmínek vedoucích k uvolňování N₂O na čistírnách odpadních vod je zásadní z hlediska možného omezení emisí oxidu dusného.

Předkládaný článek shrnuje hlavní biochemické pochody a fyzikálně-chemické podmínky, které mohou vést k produkci N₂O. Jako faktory, které při biologickém čištění odpadních vod nejvíce přispívají k jeho tvorbě, lze označit nízkou koncentraci kyslíku, nízký poměr CHSK/N v průběhu omezení denitrifikace a přítomnost vyšší koncentrace dusitanů v průběhu nitrifikace i denitrifikace.

Příspěvek dále definuje optimální a rizikové provozní podmínky na čistírnách odpadních vod z hlediska produkce N₂O při čištění komunálních odpadních vod. Pozornost je věnována také zhodnocení potenciálu produkce N₂O alternativními procesy odstraňování dusíkatého znečištění, jako je zkrácená nitrifikace, deamonifikace atd. Základní parametry výrazně omezující možnosti emisí N₂O jsou vysoká účinnost odstranění dusíkatého znečištění a stabilita provozních podmínek. Za rizikové provozní faktory z hlediska tvorby N₂O lze naopak označit semikontinuální režim čištění odpadních vod a časté změny provozních podmínek.

Klíčová slova

oxid dusný – emise – skleníkový plyn – čištění odpadních vod

1. Úvod

Celosvětový nárůst emisí skleníkových plynů způsobený činností člověka je pravděpodobně hlavním původcem jevu nazývaného globální změna klimatu. Vedle oxidu uhličitého a metanu přispívá ke skleníkovému efektu nejvíce oxid dusný. Jako skleníkový plyn je cca 300x účinnější než oxid uhličitý. Jeho celkové emise jsou co do objemu o několik řádů nižší než emise CO₂, ale podíl N₂O na tvorbě skleníkového efektu byl v roce 2004 vyčíslen na 7,9 %. V atmosféře je relativně perzistentní s průměrnou dobou setrvání 114 let [1]. N₂O je v současnosti také plyn s největším negativním vlivem na koncentraci

stratosférického ozonu a jeho koncentrace v atmosféře nadále stoupá [2]. Největším antropogenním emitorem je v současnosti zemědělství (80 %), dalšími zdroji pak spalování biomasy a fosilních paliv, zpracování organických hnojiv, výroba kyseliny adipové a dusičné a čištění odpadních vod (OV) [1].

Právě význam posledního zdroje v poslední době výrazně narůstá. V roce 1990 byl světový podíl čištění odpadních vod (ČOV) na celkových emisích N₂O odhadnut na 3,2 %, což odpovídá 0,22 Mt N-N₂O za rok, a ČOV se tak staly šestým největším antropogenním zdrojem [3]. K podobné hodnotě, 2,8 %, dospěl i Mezivládní panel pro změny klimatu, který také předpokládá další nárůst emisí N₂O z čistírenských technologií o cca 13 % do roku 2020. Stejní autoři však také poukazují na to, že vzhledem k absenci standardizovaných metod pro detekci a výpočet emisí N₂O z procesů čištění OV je třeba počítat s velkou chybou odhadu a reálná hodnota se může pohybovat mezi 30 % až 300 % uvedených čísel [1]. Zmíněná hodnota, jakkoli nepřesná, však může být výrazně vyšší, pokud zohledníme také emise vznikající při čištění skládkových výluhů, průmyslových OV a při aplikaci alternativních biochemických technologií odstraňování dusíku z OV [4]. Pro co možná neobjektivnější posouzení celkového dopadu provozu ČOV na stav životního prostředí se v rámci vyspělých zemí a regionů stále více přihlíží i k emisím N₂O při procesu čištění OV [5].

Drtivá většina produkce N₂O při provozu současných ČOV je spojena s biochemickými přeměnami dusíkatých látek probíhajícími za účelem odstranění dusíkatého znečištění, tedy s nitrifikací a denitrifikací. Dusík je v surové OV obvykle přítomen ve formě amoniakálního dusíku (N-amon), tzn. disociované formy N-NH₄⁺ a nedisociované formy N-NH₃. Při nitrifikaci dochází ve dvou krocích k oxidaci N-amon na dusičnanový dusík (N-NO₃⁻). V prvním kroku je N-amon oxidován na dusitanový dusík (N-NO₂⁻) činností chemolitotrofních bakterií souhrnně označovaných jako Ammonia Oxidizing Bacteria (AOB). Tento proces je nazýván nitratace a skládá se ze dvou fází. V první fázi probíhá oxidace N-amon na meziprodukt hydroxylamin (NH₂OH) a ten je následně dále oxidován na N-NO₂⁻. Ve druhém kroku (nitrataci) je vzniklý N-NO₂⁻ dále oxidován na N-NO₃⁻ chemolitotrofní skupinou mikroorganismů nazývanou Nitrite Oxidizing Bacteria (NOB). Obě reakce probíhají pouze v oxickém prostředí. Dusík ve formě N-NO₃⁻ je následně procesem denitrifikace postupně redukován v anoxickém prostředí, tzn. bez přístupu molekulárního kyslíku, přes meziprodukty N-NO₂⁻, N-NO a právě N-N₂O v ideálním případě až na N₂. Reakce je umožněna činností různých skupin chemoorganotrofních bakterií, které využívají v anoxickém prostředí oxidované formy dusíku jako finální elektronové akceptory. Jako substrát pro tuto reakci asimilují jednoduše rozložitelnou organickou hmotu přítomnou v OV [6].

Vedle dosud zmíněné autotrofní nitrifikace a heterotrofní denitrifikace byly v souvislosti s přeměnami sloučenin dusíku v přírodě

i v systémech ČOV popsány i další biochemické procesy, které se významnou měrou mohou podílet na produkci N_2O . Jedním z nich je tzv. autotrofní denitrifikace, při které je donorem elektronů anorganická látka, např.: H_2 , Fe^{2+} , Mn^{2+} , NH_4^+ nebo redukované formy síry [7, 8]. Bylo pozorováno, že tento proces jsou za jistých okolností schopny realizovat i mikroorganismy skupiny AOB. V tomto případě se jedná o redukci $N-NO_2^-$ na N_2 či $N-N_2O$, přičemž jako elektronový donor zde slouží N-amon či NH_2OH [9, 10]. Zároveň heterotrofní organismy zodpovědné za denitrifikaci mohou za určitých podmínek provádět také tzv. heterotrofní nitrifikaci, tedy oxidaci N-amon. Bakterie při heterotrofní nitrifikaci nezískávají energii a reakce sama probíhá obvykle 100 až 1000x pomaleji než převládající autotrofní nitrifikace [11]. Principem tzv. zkrácené nitrifikace je cílená inhibice činnosti NOB [12]. Její výhodou jsou v kombinaci s denitrifikací či deamonifikací (ANAMMOX proces) [13] zejména menší energetické nároky na aeraci a výrazně nižší potřeba organického substrátu [12, 14].

Cílem předkládaného příspěvku je shrnout dosavadní poznatky v oblasti produkce N_2O při čištění odpadních vod takovým způsobem, aby bylo možno zvážit možnosti realizace opatření vedoucích k minimalizaci emisí tohoto plynu v objektech čistíren odpadních vod. Hlavní důraz přitom bude kladen na studium vlivu podmínek panujících při biologickém čištění na intenzitu produkce tohoto plynu.

2. Faktory ovlivňující intenzitu produkce N_2O při biochemických přeměnách sloučenin dusíku

Aktivita nitrifikačních a denitrifikačních organismů je určena zejména aktuální koncentrací molekulárního kyslíku v čištěné vodě. V aerobních podmínkách probíhá autotrofní nitrifikace, v anoxických podmínkách heterotrofní denitrifikace. N_2O může být do prostředí uvolňován nejen v důsledku průběhu těchto procesů, ale (a často ve zvýšené míře) i v důsledku dalších výše zmíněných biochemických přeměn (obr. 1).

V průběhu standardní autotrofní nitrifikace zprostředkované činností AOB a NOB nedochází k významnější produkci N_2O , protože tato sloučenina se zde nevyskytuje v roli meziprojektu ani vedlejšího produktu [15]. AOB však jsou schopny N_2O produkovat procesem autotrofní denitrifikace. Některé skupiny AOB nedisponují enzymy schopnými provádět redukci na finální produkt (N_2), a reakce se tak zastavuje na N_2O , který následně může být emitován do prostředí [16]. N_2O může být za určitých podmínek produkován i v systémech, ve kterých probíhá autotrofní denitrifikace s redukovanými formami síry jako zdrojem elektronů [17].

Během klasické heterotrofní denitrifikace je N_2O přímo mezičlánkem postupné biochemické redukce dusičnanů. Rychlost redukce N_2O na N_2 je při denitrifikaci cca 3x až 4x vyšší než rychlost redukce vyšších oxidovaných forem, při optimálních a stabilních podmínkách proto nedochází v průběhu denitrifikace k emisím N_2O [18]. I v případě, že je během denitrifikace produkován N_2O , je riziko jeho emisí do atmosféry relativně nízké. Vzhledem k tomu, že denitrifikace probíhá v anoxických podmínkách a aktivační nádrže tudíž v denitrifikační fázi nejsou provzdušňovány, není přechod N_2O do plynné fáze nikterak intenzivní. Plyn se rozpouští ve vodě [N_2O má při teplotě 25 °C cca

18x vyšší rozpustnost než O_2] a je obvykle biochemickými přeměnami následně prakticky úplně odstraněn [15].

Zvýšená produkce oxidu dusného při čištění odpadních vod je zpravidla spojena se stavem, ve kterém jsou mikroorganismy zainteresované v biochemických přeměnách sloučenin dusíku vystaveny podmínkám, které nejsou optimální pro jejich činnost. Intenzita produkce N_2O je proto závislá na celé řadě faktorů, mezi které patří zejména celkové technologické uspořádání biologického systému, aktuální koncentrace rozpuštěného kyslíku, hodnota pH, přítomnost $N-NO_2^-$ a další parametry čistícího procesu.

2.1. Vliv koncentrace kyslíku

Při nízkých koncentracích kyslíku dochází k nárůstu intenzity autotrofní denitrifikace [19, 20], což může vést ke zvýšení produkce N_2O činností nitrifikačních organismů. Goreau et al. [21] uvádí, že při koncentraci kyslíku pod $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ docházelo během nitrifikace k emisím $N-N_2O$ odpovídajícím až 10 % celkového množství vstupujícího N-amon. V rámci jiného experimentu autoři Tallec et al. [22] porovnávali intenzitu produkce N_2O při koncentraci O_2 $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. I zde byl prokázán význam koncentrace kyslíku z hlediska intenzity tvorby N_2O , nicméně množství produkovaného plynu bylo podstatně menší než v rámci výše uvedené studie. Při koncentraci $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ byly naměřeny emise nepřesahující 0,1 %. Při snížení koncentrace O_2 na cca $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ vzrostla produkce $N-N_2O$ na 0,4 % z celkového množství odstraněného N-amon.

Zároveň i velmi nízké koncentrace O_2 v průběhu standardní heterotrofní denitrifikace mohou vzhledem k citlivosti některých zúčastněných enzymů být problematické z hlediska stability tohoto procesu [23]. Zatímco redukce oxidovaných forem dusíku ($N-NO_2^-$ a $N-NO_3^-$) může probíhat i v přítomnosti určitého množství molekulárního O_2 , nejvyšší senzitivitu vykazuje enzym N_2O -reduktáza, což při nulové hladině O_2 iniciuje zastavení denitrifikace a uvolnění N_2O do prostředí [24]. V rámci dalšího experimentu byl simulován proces klasické heterotrofní denitrifikace při postupném navyšování koncentrace O_2 . Při nulové koncentraci O_2 nepřevýšila produkce $N-N_2O$ 0,4 %, nejvyšší nárůst emisí byl zaznamenán při koncentraci O_2 $0,3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, kdy produkce $N-N_2O$ odpovídala cca 2 % z celkového množství redukovaného $N-NO_3^-$. Při dalším navyšování koncentrace O_2 došlo k zastavení denitrifikační aktivity mikroorganismů, a tedy i produkce $N-N_2O$ [23].

V zásadě je tedy možno konstatovat, že relativně nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku pohybuující se v řádu několika desetin $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ mohou vést ke zvýšené tvorbě N_2O v denitrifikačních i nitrifikačních zónách aktivačních systémů mechanicko-biologických ČOV.

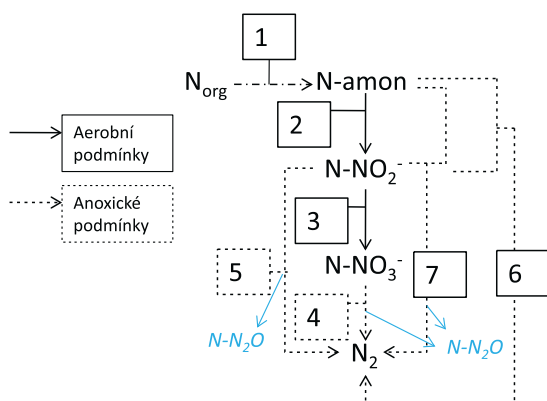
2.2. Vliv hodnoty pH

Vedle nízké koncentrace O_2 je nárůst emisí N_2O dáván do souvislosti také s vyšší hodnotou pH. Během jednoho z experimentů výzkumníků Law et al. byly monitorovány emise N_2O při zvyšování hodnoty pH z 6,0 na 8,5. Zatímco při pH 6,0 a 7,0 se produkce $N-N_2O$ pohybovala kolem 1 %, po navýšení pH na 8 narostly emise $N-N_2O$ na čtyřnásobek. Vyšší produkce $N-N_2O$ ve vztahu k vyššímu pH pravděpodobně souvisí s nárůstem rychlosti oxidace N-amon prostřednictvím autotrofní denitrifikace způsobeným nárůstem aktivity AOB za těchto podmínek [25].

U standardní heterotrofní denitrifikace je trend vztahu emisí N_2O a hodnoty pH opačný než v případě nitrifikace. Hanaki et al. [26] zaznamenali v rámci batch-testů nejvyšší koncentrace $N-N_2O$ dosahující až 10 % z celkové koncentrace dusíku při pH 6,5 a nízkém poměru koncentrace organického znečištění a sloučenin dusíku. U vzorků kultivovaných při hodnotě pH 7,5 a 8,5 byly emise podstatně nižší a rozdíl mezi nimi nebyl výrazný. K podobnému závěru, co se týče vztahu hodnoty pH a tvorby N_2O , dospěla studie autorů Thoern et Soerensson [18], nicméně jimi zjištěná úroveň emisí byla výrazně nižší. Při jednorázových testech simulujících denitrifikaci OV s nízkou koncentrací dusičnanů ($N-NO_3^-$ cca $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) byly emise $N-N_2O$ detekovatelné až při hodnotě pH pod 6,5 a emise dosahující desetin procenta z celkového dusíku byly zjištěny při hodnotě pH pod 6,0. Vzhledem k tomu, že denitrifikace městské OV obvykle probíhá v rozsahu pH 7–8, je pravděpodobnost emisí N_2O vlivem působení hodnoty pH nízká.

2.3. Vliv přítomnosti dusitanů

Řada výzkumníků potvrzuje, že nárůst intenzity tvorby $N-N_2O$ v průběhu nitrifikace může být iniciován vyšší koncentrací $N-NO_2^-$ [5, 15, 20, 27, 28]. Přítomnost $N-NO_2^-$ v systému je totiž základní podmínkou pro iniciaci autotrofní denitrifikace způsobené aktivitou AOB, která následně vede ke zvýšené produkci $N-N_2O$ [15]. Již při koncentraci dusitanů v řádech desetin $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ docházelo na běžné městské ČOV k několikanásobnému navýšení produkce $N-N_2O$ oproti průměrným hodnotám, které se pohybovaly okolo 0,035 % [5].



Obr. 1. Biochemické pochody probíhající při odstraňování dusíku z OV. V závorce jsou uvedeny skupiny bakterií odpovědné za daný proces. 1) mineralizace (probíhá v kyslíkatém i bezkyslíkatém prostředí); 2) nitritace (AOB); 3) nitratce (NOB); 4) denitrifikace (heterotrof.); 5) zkrácená denitrifikace (heterotrof.); 6) deamonifikace (ANAMMOX); 7) autotrofní denitrifikace (AOB). Modře označeny pochody, při nichž může docházet k uvolňování N_2O

Vyšší koncentrace N-NO_2^- mohou zvyšovat emise $\text{N-N}_2\text{O}$ i během denitrifikace. Děje se tak pravděpodobně zejména prostřednictvím inhibice enzymu N_2O -reduktázy, která je u heterotrofních denitrifikantů zodpovědná za finální fázi redukce oxidovaných forem dusíku na N_2 [29]. Roli inhibitoru posledního kroku denitrifikace může hrát také oxid dusnatý, jehož vznik byl v větší míře zaznamenán v reakci na skokové navýšení NO_2^- během denitrifikace [30]. Zhou et al. [31] předpokládají, že hlavním inhibitorem N_2O -reduktázy je HNO_2 , nedisociovaná forma dusitanů, která se objevuje v závislosti na koncentraci dusitanů ve výraznější míře až při poklesu hodnoty pH pod cca 6. Toto pozorování nepřímo podporují i další studie [18, 26], v nichž byla popisována zvýšená produkce $\text{N-N}_2\text{O}$ až při hodnotě pH nižší než 6,5. Zvýšenou produkcí $\text{N-N}_2\text{O}$ při denitrifikaci probíhající po skokovém nárůstu koncentrace N-NO_2^- zaznamenali Tallec et al. [22].

Zatímco v podmínkách běžných městských ČOV je přítomnost N-NO_2^- nežádoucí a při provozu je možné akumulaci iontů N-NO_2^- předcházet důsledným zachováváním optimálních provozních podmínek, u některých alternativních čistírenských technologií je akumulace dusitanů v řádech stovek až tisíců $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ naopak cílem nitrifikační fáze čistírenského procesu. Dopad těchto technologií na emise N_2O je podrobněji popsán v kap. 4.

2.4. Vliv vstupní koncentrace N-amon a zatížení systému

Koncentrace N-amon v čistěné vodě a zejména její náhlý nárůst, či náhlé navýšení objemového zatížení N-amon je další faktor vedoucí k zvýšenému riziku tvorby N_2O daným aktivitou AOB. Např. Burgess et al. [32] pozorovali nárůst produkce $\text{N-N}_2\text{O}$ z hodnoty 0,08 % na 1,17 % při šokovém navýšení zatížení reaktoru zpracovávajícího městskou OV. K velmi podobným závěrům dospěl i kolektiv výzkumníků Lotito et al. při pokusech prováděných v rámci poloprovozu na městské ČOV. Skokové navýšení koncentrace N-amon v čistěné OV na přibližně dvojnásobek (z cca 20 na cca 40 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) po dobu přibližně dvou hodin vyvolalo cca čtyřnásobný nárůst produkce $\text{N-N}_2\text{O}$ z průměrné hodnoty 0,5 % na 2 % z celkového množství vstupního N-amon. Vyšší než průměrné koncentrace $\text{N-N}_2\text{O}$ byly naměřeny při ranní špičce objemového zatížení N-amon i v rámci běžného provozu zkoumané městské ČOV [28].

2.5. Vliv poměru CHSK/N

CHSK/N je parametrem, který kvantifikuje poměr koncentrace organických látek (CHSK – chemická spotřeba kyslíku) k dusíkatému znečištěnému odpadní vody. V případě, že je heterotrofní denitrifikace limitována dostupností organického substrátu, může docházet k neúplné redukci oxidovaných forem dusíku a k následné přechodné akumulaci NO a N_2O [15, 20, 29].

Například Chiu et Chung [33] během pokusů s městskou OV pozorovali při poměru CHSK/N nižším než 2,0 akumulaci $\text{N-N}_2\text{O}$ cca 0,5 %, jiní autoři [34] uváděli při srovnatelných podmínkách maximální hodnotu akumulace $\text{N-N}_2\text{O}$ cca 2 %. Mnohem vyšší hodnoty publikoval Itokawa et al. [29] při zpracování OV s vysokou koncentrací N-amon (1700–1800 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) v semikontinuálně provozovaném reaktoru. Při poměru CHSK/N 2,4/1 byla pozorována až 30% akumulace $\text{N-N}_2\text{O}$, zatímco během pokusů s vyššími koncentracemi substrátu (CHSK/N 4–5/1) nepřevýšila akumulace $\text{N-N}_2\text{O}$ 1 %.

2.6. Vliv technologického uspořádání biologického stupně čištění na intenzitu produkce N_2O

Parametrem, který má zásadní vliv na emise N_2O v rámci ČOV, je způsob provozu aktivační nádrže a s ním spojená stabilita fyzikálně-chemických podmínek procesu. Při udržování stabilních provozních podmínek je obecně produkce N_2O nízká i v případě, že hodnoty jednotlivých faktorů nejsou z hlediska předcházení rizik emisí tohoto plynu zcela optimální [5]. Naopak časté provozní úpravy a náhlé změny fyzikálně-chemických podmínek vedou k navýšení emisí i při optimálních hodnotách zmiňovaných faktorů [5, 20, 28].

ČOV s aktivačními nádržemi, které se svou hydraulickou charakteristikou blíží tzv. ideálnímu promíchávání [6], vykazují nižší produkci N_2O než systémy pracující na principu tzv. postupného toku. Velmi rizikovým způsobem provozu z hlediska emisí N_2O je zejména semikontinuální průtok realizovaný v systémech Sequencing Batch Reactor – SBR [6], v němž dochází k častým a rychlým změnám fyzikálně-chemických podmínek [5, 35].

S určitým rizikem emisí N_2O je spojena krátká doba zdržení biomasy v biologickém stupni čištění. Lotito et al. [28] uvádí, že nižší stáří kalu odpovídající cca 10–12 dnům vedlo k prokazatelnému navýšení emisí $\text{N-N}_2\text{O}$, jehož akumulace však nepřerostla 0,1 %.

Dalším faktorem, který nepřímo ovlivňuje celkové množství N_2O produkovaného v objektech městských ČOV, je intenzita recirkulace

čištěné vody z nitrifikačních do denitrifikačních zón aktivačních nádrží. Za účelem maximalizace celkové účinnosti odstranění dusíkatého znečištění se při provozu ČOV často množství takto recirkulované vody udržuje na poměru 10 a vyšším (na 1 m^3 odtoku je 10 m^3 recirkulováno mezi oxickou nitrifikační a anoxickou denitrifikační zónou). Tím zároveň dochází k významnému ředění meziproductů nitrifikace (zejména je z tohoto pohledu významný N-NO_2^-). Díky tomu sekundárně dochází ke snížení tvorby N_2O [28].

3. Emise N_2O na městských ČOV

Studie IPPC [1], podle níž je v současnosti vyhodnocováno riziko emisí N_2O v rámci čistírenských technologií, vychází z výzkumu Czepiel et al. [36], kteří jako jedni z prvních provedli měření emisí N_2O pomocí opakovaného odebrání vzorků na jednotlivých čistírenských linkách běžných městských ČOV. Celková produkce $\text{N-N}_2\text{O}$ v objektech ČOV jimi byla vyčíslena na 0,035 % z celkového množství N-amon. Od té doby byla publikována řada novějších prací zaměřených na kvantifikaci emisí N_2O při běžném provozu ČOV [5, 22, 28, 37]. Pro analýzu emisí byly v rámci těchto výzkumů často využity nejen „off-line“ metody stanovení analýzou odebraných vzorků, ale i kontinuální „on-line“ měření okamžitých hodnot $\text{N-N}_2\text{O}$ v kapalně i plynně fázi.

Nejvíce emisí N_2O produkují provzdušňované zóny aktivačních nádrží. N_2O vznikající při nitrifikaci i denitrifikaci je následně stripován vzduchem dodávaným do systému [5].

Průměrné hodnoty akumulace $\text{N-N}_2\text{O}$ zjištěné jednotlivými autory se pohybují v řádech setin až jednotek procent na jednotku odstraněného N-amon a většina měření vykazuje velký rozsah maximálních a minimálních emisních hodnot naměřených v průběhu sledování ČOV. Jednotlivé hodnoty a hlavní faktory vedoucí k produkci N_2O jsou prezentovány v **tab. 1**.

Ze závěrů IPPC [1], které i přes řadu dalších výzkumů provedených v této oblasti vycházejí ze zmiňované práce [36], vyplývá, že při průměrné hodnotě produkce $\text{N-N}_2\text{O}$ 0,035 % na jednotku odstraněného N-amon bude roční uhlíková stopa (vysvětlení termínu – [43]) ČOV daná spotřebou energie na zajištění provozu navýšena o 13 %. Novější analýzy emisí N_2O na ČOV nicméně v průměru toto číslo spíše navyšují (**tab. 1**). Při vyloučení nejvyšší a nejnižší průměrné emisní hodnoty dané **tab. 1** dostaneme hodnotu produkce $\text{N-N}_2\text{O}$ přibližně 0,25 %, což by odpovídalo navýšení uhlíkové stopy o cca 93 %, tzn. průměrná ČOV by produkovala skoro 2x více skleníkových plynů, než kolik je emitováno na zajištění jejich energetických nároků. Vedle toho by také významně narostl podíl ČOV na globální antropogenní produkci $\text{N-N}_2\text{O}$ z současně uváděných cca 3,2 % na přibližně 19 %, čímž by se ČOV staly druhým nejvýznamnějším zdrojem emisí N_2O po zemědělské činnosti.

4. Emise N_2O v rámci alternativních biochemických procesů odstraňování sloučenin dusíku

V současnosti se v prostředí čistírenských technologií prakticky využívají zejména dva alternativní biochemické postupy odstraňování dusíku, a to zkrácená nitrifikace s následnou denitrifikací a zkrácená nitrifikace s následnou deamonifikací. Pro aplikaci uvedených postupů je za účelem zastavení nitrifikačního procesu ve fázi N-NO_2^- často nutné nastavit podmínky provozu cíleně tak, že se některé rizikové faktory vedoucí k emisím $\text{N-N}_2\text{O}$ dostávají do extrémních hodnot. Jedná se zejména o koncentraci O_2 , hodnotu pH, koncentraci N-NO_2^- a změny provozních podmínek během čistírenského procesu, jako jsou rychlé přechody z aerobních do anaerobních podmínek, či střídání fází během semikontinuálního provozu [44].

Princípem zmíněných alternativních biochemických procesů je cílená akumulace dusitanů a jejich následná biochemická redukce. Zatímco v pracích zabývajících se emisemi $\text{N-N}_2\text{O}$ na běžných, městských ČOV způsobily výrazné navýšení emisí již koncentrace N-NO_2^- o hodnotách desetín až jednotek $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, při zkrácení nitrifikaci dochází k akumulaci uvedeného iontu v řádech stovek až tisíců $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ [14]. Lze tedy očekávat, že takto vysoké koncentrace N-NO_2^- mohou v porovnání s běžnými ČOV také řádově navyšovat emise $\text{N-N}_2\text{O}$.

Experimenty prováděné v laboratorním měřítku i v provozních čistírenských zařízeních pro alternativní čištění OV s vysokou koncentrací N-amon uvádějí poněkud vyšší hodnoty produkce $\text{N-N}_2\text{O}$, i přes enormní koncentrace N-NO_2^- se však zejména u plně provozních aplikací jedná o hodnoty maximálně jednotek procent (**tab. 2**).

Emise $\text{N-N}_2\text{O}$ z alternativních technologií odstranění N-amon dosahují přibližně o jeden řád vyšších hodnot ve srovnání s městskými ČOV. V rámci běžných městských ČOV lze alternativními postupy odstranit maximálně 20–30 % N-amon, který je koncentrován v tzv.

kalové vodě. I v tomto případě by nicméně došlo k navýšení celkových emisí na ČOV o cca 200–300 %. Na druhou stranu významně snížení zatížení hlavní čistící linky umožňuje zvýšení efektivity odstranění N-amon, což by pravděpodobně vedlo k nižším emisím N-N₂O produkovaným na hlavní lince. Vedle toho nižší koncentrace N-amon v hlavní lince zjednodušuje dosažení nižších koncentrací dusíkatého znečištění v odtoku, což je jednoznačným pozitivem z hlediska čistoty recipientu. Alternativní procesy odstraňování N-amon dále výrazně snižují energetické nároky na čištění OV. Lze předpokládat, že dalším výzkumem a optimalizací těchto technologií bude možné produkci N-N₂O dále snižovat.

5. Závěr

Zdrojem N₂O při čištění odpadních vod jsou zejména biochemické přeměny sloučenin dusíku probíhající v biologickém stupni čištění za účelem odstranění dusíkatého znečištění, přičemž intenzita emisí oxidu dusného je determinována širokou škálou faktorů. Pro minimalizaci emisí N₂O na běžných městských ČOV je důležitá zejména stabilita čistícího procesu, minimální výkyvy v koncentraci znečištění v aktivacích nádržích, dostatečná koncentrace O₂ v aerobní fázi biologického čištění a odpovídající koncentrace snadno dostupného organického substrátu v průběhu anoxických procesů. Rizikový může být z hlediska produkce N₂O provoz systémů založených na alternativních biologických postupech odstraňování dusíkatého znečištění, při kterých jsou mikroorganismy vystaveny relativně vysokým koncentracím N-NO₂⁻. Problematice produkce N₂O při čištění odpadních vod se intenzivně věnovala celá řada vědeckých týmů. Ze závěrů dosud publikovaných studií je zřejmé, že tento aspekt provozu ČOV může být z pohledu vlivu na životní prostředí poměrně významný. Přesto dosud není produkci N₂O při projektování a provozování ČOV věnována velká pozornost. Z tohoto důvodu se do budoucna jeví jako účelné využít výsledky dosavadního výzkumu pro intenzivnější sledování produkce a emisí N₂O v reálných objektech ČOV, k případné realizaci nápravných opatření a v ideálním případě i k postupnému zohlednění této problematiky v legislativních předpisech určujících pravidla pro provoz ČOV.

Poděkování: Příspěvek byl vypracován v rámci řešení projektů podporovaných Celouniverzitní grantovou agenturou (CIGA) ČZU v Praze, registrační čísla projektů 20132012 a 20142028. Autoři děkují poskytovateli dotace za finanční podporu výzkumu.

Literatura/References

- [1] IPCC, 2001: Climate change 2001: The scientific basis. Houghton, J. T.; Ding, Y.; Griggs, D. J.; Noguera, M.; van der Linden, P. J.; Dai, X.; Maskell, K.; Johnson, C. A., Cambridge University Press, 2001, 881 pgs
- [2] Ravishankara, A. R.; Daniel, J. S.; Portmann, R. W. (2009): Nitrous oxide (N₂O): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science* 326:123–125.
- [3] Mosier, A.; Kroeze, C.; Nevison, C.; Oenema, O.; Seitzinger, S.; van Cleemput, O. (1999): An overview of the revised 1996 IPCC guidelines for national greenhouse gas inventory methodology for nitrous oxide from agriculture. *Environ. Sci. Policy*, 2:325–333.
- [4] Desloover, J.; Vlaeminck, S. E.; Clauwaert, P.; Verstraete, W.; Boon, N. (2012): Strategies to mitigate N₂O emissions from biological nitrogen removal systems. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 23(3):474–82.
- [5] Foley, J.; de Haas, D.; Yuan, Z.; Lant, P. (2010): Nitrous oxide generation in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants, *Water research*, 44:831–844.
- [6] Chudoba, J.; Dohányos, M.; Wanner, J. (1991): Biologické čištění odpadních vod (In

Tab. 1. Emise N-N₂O (v % z celkového odstraněného N-amon) v rámci laboratorních i plně provozních aktivacích systémů. EO – ekvivalentní obyvatel je jednotka používaná pro popis velikosti ČOV, kvantifikuje průměrnou produkci znečištění jedním obyvatel. Všechny uvedené ČOV odstraňovaly dusíkaté znečištění biochemickým procesem nitrifikace/denitrifikace

Autoři	N-N ₂ O/N-amon [%]		Typ ČOV	Parametry tvorby N ₂ O
	průměr	rozsah		
Czepiel et al. [36]	0,035	–	městská ČOV 11 000 EO (směšovací aktivace)	-
Wicht et Beier [38]	0,6	0–14,6	25 různých ČOV (postupný tok, směšovací aktivace, SBR, biofilmové reaktory)	-
Kimochi et al. [39]	–	0,01–0,08	městská ČOV 1 000 EO (směšovací aktivace s přerušovanou aerací)	vyšší emise při delších aerobních fázích
Sommer et al. [40]	0,02	–	městská ČOV 60 000 EO (postupný tok)	-
Ahn et al. [41]	0,8	0,003–2,59	12 různých ČOV (postupný tok, směšovací aktivace, SBR, biofilmové reaktory)	výrazně vyšší produkce v oxické zóně
Foley et al. [5]	3,5	0,006–25,3	7 různých ČOV (postupný tok, směšovací aktivace, SBR, biofilmové reaktory)	vyšší konc. N-NO ₂ ⁻ ; výkyvy ve složení vstupní OV, semikont. provoz
Wang et Zhang [37]	0,11	–	městská ČOV 1 000 000 EO (postupný tok)	přítomnost N-NO ₂ ⁻ ; nedostatek org. substrátu
Lotito et al. [28]	0,04	0,01–0,06	experimentální ČOV (směšovací aktivace)	denní výkyvy v objemovém zatížení, nižší konc. O ₂
Abookabar et al. [42]	0,036	–	městská ČOV (směšovací aktivace) 210 000 EO	denní výkyvy v objemovém zatížení, nižší konc. O ₂

Tab. 2. Emise N-N₂O (v % z celkového odstraněného N-amon) v rámci laboratorních i plně provozních alternativních systémů zpracovávajících OV s vysokou koncentrací N-amon. Měřtko: lab. – laboratorní, prov. – provozní

Autoři	N-N ₂ O/N-amon [%]	Měřtko	Biochemické procesy Způsob provozu	Parametry tvorby N ₂ O
Osada et al. [45]	1,0–35,0	lab.	nitrifikace/denitrifikace SBR	vyšší emise při delších aerobních fázích
Ito-kawa et al. [29]	1,0–30,0	lab.	nitrifikace/denitrifikace SBR	nízký poměr CHSK/N a přítomnost N-NO ₂ ⁻ v průběhu denitrifikace,
Kampschreur et al. [19]	2,3	prov.	nitritace/deamonifikace CSTR	nižší konc. O ₂ a vyšší konc. N-NO ₂ ⁻
Kampschreur et al. [20]	1,2	prov.	nitritace/deamonifikace CSTR	-
de Graaf et al. [45]	1,9	lab.	Nitritace CSTR	vyšší konc. N-NO ₂ ⁻
Law et al. [25]	1	lab.	Nitritace SBR	vyšší pH iniciující vyšší rychlost oxidace N-amon
Okabe et al. [47]	4,0	lab.	nitritace/deamonifikace CSTR	vyšší konc. N-NO ₂ ⁻
Pijuan et al. [35]	2,2–6,6	lab.	nitritace SBR, CSTR	provoz v SBR, nižší konc. O ₂
Rodrigues-Caballero et al. [48]	1,22	lab.	nitritace SBR	vyšší konc. N-NO ₂ ⁻ , vyšší konc. N-amon

- [7] Czech), Biological wastewater treatment, SNTL, Prague.
- [7] Sun, Y.; Nemat, M. (2012): Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitrification for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters, *Bioresource Technology*, 114:207–216.
- [8] Hooper, A. B. (1989): Biochemistry of the nitrifying litho- autotrophic bacteria. *Science Tech.* 239–269.
- [9] Poth, M.; Focht, D. (1985) ¹⁵N Kinetic analysis of N₂O production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:1134–1141.
- [10] Bock, E.; Schmidt, I.; Stuvén, R.; Zart, D. (1995): Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor. *Archives of Microbiology* 163 (1): 16–20.
- [11] Van Niel, E. W. J.; Arts, P. A. M.; Wesselink, B. J.; Robertson, L. A.; Kuennen, J. G. (1993): Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat cultures. *FEMS Microbiology Ecology* 102 (2):109–118.
- [12] Švehla, P.; Jeníček, P.; Endrlová, D. (2009): Vliv amoniakálního a dusitanového dusíku na průběh nitrifikace odpadních vod s vysokou koncentrací dusíkatého znečištění. *Vodní*

- hospodářství, 7:256–259 (In Czech), Influence of ammonium and nitrite nitrogen on nitrification of high-strength ammonium wastewater. *Water management*, 7: 256–259.
- [13] van Dongen, U.; Jetten, M. S. M.; van Loosdrecht, M. C. M. (2001): The SHARON-anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Sci. Technol.*, 44 (1):153–160.
- [14] Švehla, P.; Jeníček, P.; Habart, J.; Hanč, A.; Černý, J. (2007): Využití akumulace dusitanů při biologickém čištění odpadních vod. *Chemické listy*, 2007, roč. 101, č. 10, s. 776–781 (In Czech), Utilization of nitrite accumulation during biological wastewater treatment processes. *Chemické listy*, 101(10): 776–781.
- [15] Law, Y.; Lant, P.; Zhiguo, Y. (2011): The effect of pH on N_2O production under aerobic conditions in partial nitrification system. *Water Res.*, 45:5934–5944.
- [16] Shiskowski, D. M.; Mavinic, D. S. (2006): The influence of nitrite and pH (nitrous acid) on aerobic-phase, autotrophic N_2O generation in a wastewater treatment bioreactor. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 5:273–283.
- [17] Viviantira, E.; Wan, Ch.; Wong, B. T.; Lee, D. J. (2012): Denitrifying sulfide removal with methanogenic culture. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43:374–385.
- [18] Thoern, M.; Soerenson, F. (1996): Variation of nitrous oxide formation in the denitrification basin in a wastewater treatment plant with nitrogen removal. *Water Res.*, 30 (6):1543–1547.
- [19] Kampschreur, M. J.; van der Star, W. R. L.; Wielders, H. A.; Mulder, J. W.; Jetten, M. S. M.; van Loosdrecht, M. C. M. (2008): Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. *Water Res.*, 42(3):812–826.
- [20] Kampschreur, M. J.; Poldermans, R.; Kleerebezem, R.; van der Star, W. R. L.; Haarhuis, R.; Abma, W. R.; Jetten, M. S. M.; van Loosdrecht, M. C. M., 2009. Emission of nitrous oxide and nitric oxide from a full-scale single-stage nitrification-anammox reactor. *Water Sci. Technol.*, 60 (12):3211–3217.
- [21] Goreau, T. J.; Kaplan, W. A.; Wofsy, S. C.; McElroy, M. B.; Valois, F. W.; Watson, S. W. (1980): Production of nitrite and nitrogen oxide (N_2O) by nitrifying bacteria at reduced concentrations of oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 40 (3): 526–532.
- [22] Tallec, G.; Garnier, J.; Billen, G.; Gossiaux, M. (2006): Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: effect of oxygenation level. *Water Res.*, 40 (15):2972–2980.
- [23] Tallec, G.; Garnier, J.; Billen, G.; Gossiaux, M. (2008): Nitrous oxide emissions from denitrifying activated sludge of urban wastewater treatment plants, under anoxia and low oxygenation. *Bioresour. Technol.*, 99: 2200–2209.
- [24] Otte, S.; Grobgen, N. G.; Robertson, L. A.; Jetten, M. S. M.; Kuenen, J. G. (1996): Nitrous oxide production by *Alcaligenes faecalis* under transient and dynamic aerobic and anaerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (7):2421–2426.
- [25] Law, Y.; Lant, P.; Zhiguo, Y. (2011): The effect of pH on N_2O production under aerobic conditions in partial nitrification system. *Water Res.*, 45:5934–5944.
- [26] Hanaki, K.; Hong, Z.; Matsuo, T. (1992): Production of nitrous oxide gas during denitrification of wastewater. *Water Science and Technology*, 26 (5–6):1027–1036.
- [27] Rassamee, L.; Sattayatewa, C.; Pagilla, K.; Chandran, K. (2011): Effect of Oxidic and Anoxic Conditions on Nitrous Oxide Emissions from Nitrification and Denitrification Processes. *Biotechnology and Bioengineering*, 108 (9):2036–2045.
- [28] Lotito, A. M.; Wunderlin, P.; Joss, A.; Kipf, M.; Siegrist, H. (2012): Nitrous oxide emissions from the oxidation tank of a pilot activated sludge plant. *Water Res.*, 46:3563–3573.
- [29] Itokawa, H.; Hanaki, K.; Matsuo, T. (2001): Nitrous oxide production in high-loading biological nitrogen removal process under low COD/N ratio condition, *Water Res.*, 35(3):657–664.
- [30] Schulthess, R. V.; Kuhni, M.; Gujer, W. (1995): Release of nitric and nitrous oxides from denitrifying activated sludge. *Water Res.*, 29:215–226.
- [31] Zhou, Y.; Pijuan, M.; Zeng, R. J.; Yuan, Z. (2008): Free nitrous acid inhibition on nitrous oxide reduction by a denitrifying-enhanced biological phosphorus removal sludge. *Environ. Sci. Technol.*, 42: 8260–8265.
- [32] Burgess, J. E.; Stuetz, R. M.; Morton, S.; Stephenson, T. (2002): Dinitrogen oxide detection for process failure early warning systems. *Water Science and Technology*, 45 (4–5): 247–254.
- [33] Chiu, Y.-C.; Chung, M.-S. (2000): BNP test to evaluate the influence of C/N ratio on N_2O production in biological denitrification. *Water Science and Technology*, 42 (3–4): 23–27.
- [34] Zhang, J.; Wang, S. (2009): Effect of influent COD/N ratio on nitrous oxide production during denitrification using different electron acceptors (Conference Paper). *International Conference on Energy and Environment Technology, ICEET*, Volume 2: 511–514.
- [35] Pijuan, M.; Tora, J.; Rodriguez-Caballero, A.; César, E.; Carrera, J.; Peréz, J. (2014): Source identification of nitrous oxide on autotrophic partial nitrification in a granular sludge reactor. *Water Research* 49:23–33.
- [36] Czepiel, P.; Crill, P.; Harriss, R. (1995): Nitrous oxide emissions from municipal wastewater treatment. *Environmental Science and Technology*, 29: 2352–2356.
- [37] Wang, J.; Zhang, J.; Wang, J.; Qi, P.; Ren, Y.; Hu, Z. (2001): Nitrous oxide emissions from a typical northern Chinese municipal wastewater treatment plant. *Desalination and Water Treatment*, Volume 32, Issue 1–3, August 2011: 145–152.
- [38] Wicht, H.; Beier, M., (1995): N_2O emission aus nitrifizierenden und denitrifizierenden Kläranlagen. *Korrespondenz Abwasser*, 42 (3): 404–413.
- [39] Kimochi, Y.; Inamori, Y.; Mizuochi, M.; Xu, K. Q.; Matsumura, M. (1998): Nitrogen removal and N_2O emission in a full-scale domestic wastewater treatment plant with intermittent aeration. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 86 (2): 202–206.
- [40] Sommer, J.; Ciplak, A.; Sumer, E.; Benckiser, G.; Ottow, J. C. G. (1998): Quantification of emitted and retained N_2O in a municipal wastewater treatment plant with activated sludge and nitrification-denitrification units. *Agrobiological Research*, 51 (1): 59–73.
- [41] Ahn, J. H.; Kim, S.; Park, H.; Katehis, D.; Pagilla, K.; Chandran, K. (2010): Spatial and temporal variability in atmospheric nitrous oxide generation and emission from full-scale biological nitrogen removal and non-BNR processes. *Water Environment Research*, 82 (12):2362–2372.
- [42] Aboobakar, A.; Cartmell, E.; Stephenson, T.; Jones, M.; Vale, P.; Dotro, G. (2013): Nitrous oxide emissions and dissolved oxygen profiling in a full-scale nitrifying activated sludge treatment plant. *Water Research*, 47:524–534.
- [43] <http://www.carbonfootprint.com/>
- [44] Zhu, G.; Peng, Y.; Li, B.; Guo, J.; Yang, Q. (2008): Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. *Rev Environ Contam. Toxicol.*, 192:159–195.
- [45] Osada, T.; Kuroda, K.; Yonaga, M. (1995): Reducing nitrous oxide gas emissions from fill-and-draw type activated sludge process. *Water Research*, 29 (6):1607–1608.
- [46] de Graaff, M. S.; Zeeman, G.; Temmink, H.; van Loosdrecht, M. C. M.; Buisman, C. J. N. (2010): Long term partial nitrification of anaerobically treated black water and the emission of nitrous oxide. *Water Research*, 44:2171–2178.
- [47] Okabe, S.; Oshiki, M.; Takahashi, Y.; Satoh, H. (2011): N_2O emission from a partial nitrification-anammox process and identification of a key biological process of N_2O emission from anammox granules. *Water Research*, 45:6461–6470.
- [48] Rodriguez-Caballero, A.; Ribera, A.; Balcázar, J. L.; Pijuan, M. (2013): Nitrification versus full nitrification of ammonium-rich wastewater: Comparison in terms of nitrous and nitric oxides emissions. *Bioresour. Technol.* 139:195–202.

Ing. Mgr. Lukáš Páček (autor pro korespondenci)

Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

Ing. Josef Radechovský

Ing. Helena Hrnčířová

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Česká zemědělská univerzita v Praze

Kamýcká 129

165 21 Praha 6 – Suchbátka

e-mail: lukas.pacek@seznam.cz

Emission of Nitrous Oxide from Wastewater Treatment Processes (Páček, L.; Švehla, P.; Radechovský, J.; Hrnčířová, H.)

Abstract

Nitrous oxide is a strong greenhouse and ozone depleting gas. Wastewater treatment plants are becoming one of the largest anthropogenic sources of its emissions. The understanding of main biochemical paths and conditions leading to nitrous oxide production is crucial to evaluate emission factor of particular wastewater treatment process. The article reviews dominant biochemical paths and physical-chemical conditions of wastewater treatment with potential to contribute to nitrous oxide emissions. As the factors with major risk the low O_2 conditions during nitrification, low COD/N ratio during denitrification and the concentration of $N-NO_2^-$ in both nitrification and denitrification process were identified. Based on recent literature data the average emission factor of nitrous oxide from common municipal wastewater treatment plants was assessed to be 0.25 %. The optimal and hazardous treatment conditions and technologies are described subsequently. Furthermore, the alternative biochemical processes of nitrogen removal such as shortcut nitrification and ANAMMOX process were evaluated from the viewpoint of possible nitrous oxide emissions. The high nitrogen removal efficiency and stable operation conditions lower nitrous oxide emissions, while operation in SBR regime or frequent changes of process conditions considerably increase the risk of nitrous oxide production.

Key words

nitrous oxide – emission – greenhouse gas – wastewater treatment

Tento článek byl recenzován a je otevřen k diskusi do 30. června 2014. Rozsah diskusního příspěvku je omezen na 2 normostrany A4, a to včetně tabulek a obrázků. Příspěvky posílejte na e-mail stransky@vodnihospodarstvi.cz.

7.5 Publikace č. 5

Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Hrnčířová, H., Balík, J. 2013. Zkrácená nitrifikace odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon. SOVAK. 22 (4). 2-6.

podobně přehodnocení požárních řádů a směrnic jednotlivých měst a obcí, neboť zdrojem požární vody bude řeka, potok, rybník nebo požární nádrž. Pokud budou orgány na úseku požární bezpečnosti striktně vyžadovat po investorech plnění požadavků dle výše uvedené normy, může to zpomalit nebo zastavit výstavbu v některých obcích, kde nemají jinou možnost požárního zajištění než stávající vodovod.

Jak jsem již uvedl, obcím a městům aktualizujeme seznam hydrantů, které jsou určeny pro prvotní požární zásah. Tyto armatury – hydranty udržujeme provozuschopné, označené a přístupné pro požární techniku nebo přímý odběr pro zásah. Pokud začneme plnit požadavky požární normy, můžeme zapomenout na kvalitu vody (anebo výrazně chlorovat), zapomeneme na snižování ztrát (odstraníme úsekové vodoměry) a v ne-

poslední řadě budou investoři vodovodů stavět zbytečně předimenzované vodovodní řady.

Rád uvítám názory na uvedenou problematiku, případně možná řešení, technické nápady anebo i formy společného řešení s hasičskými sbory v jiných krajích. Mohou být i námětem dalších článků v časopise SOVAK nebo k jednání odborné komise SOVAK ČR.

Ing. Vladimír Stehlík

Vodovody a kanalizace Mladá Boleslav, a. s.

e-mail: vstehlik@vakmb.cz

Zkrácená nitrifikace odpadní vody s vysokou koncentrací N-amon

Lukáš Pacek, Pavel Švehla, Josef Radechovský, Helena Hrnčířová, Jiří Balík

Upravený příspěvek ze 7. bienální konference „Odpadové vody 2012“, která se konala ve dnech 17.–19. 10. 2012 na Štrbském Plese ve Vysokých Tatrách.

Zkrácená nitrifikace odpadních vod s vysokou koncentrací amoniakálního dusíku se stává součástí moderních čistírenských postupů. Aplikace prakticky používaných metod může být limitována charakterem odpadní vody, či technologickou náročností procesu. V rámci tří experimentů byly prezentovány tři různé způsoby dosažení zkrácené nitrifikace v odpadní vodě silně zatížené amoniakálním dusíkem. Experimenty byly prováděny s aktivovaným kalem s důrazem na jednoduchost reaktoru a ekonomickou nenáročnost uvedených metod. Akumulace dusitanů byla realizována s využitím přechodné limitace koncentrace O_2 , krátkodobého inhibičního vlivu nedisociovaného NH_3 , vysokého objemového zatížení a semikontinuálního režimu provozu reaktoru.

Úvod

Produkce odpadních vod (OV) s vysokou koncentrací amoniakálního dusíku (zkráceně N-amon vyjadřující sumu obou forem, tedy disociované $N-NH_4^+$ i nedisociované $N-NH_3$) pohybující se od stovek až po tisíce mg/l je charakteristická nejen pro kalové hospodářství čistíren odpadních vod (ČOV), ale i pro řadu odvětví průmyslové výroby, vysoké koncentrace N-amon obsahuje i OV ze skládkových výluhů atd. (van Hulle et al., 2010). Metody odstranění N-amon z OV se obecně rozdělují na fyzikálně-chemické a biologické (či biochemické).

Pokud složení odpadních vod s vysokým obsahem dusíkatého znečištění umožňuje za účelem odstranění N-amon aplikovat biologické čištění, bývá vzhledem k ekonomice procesu tato varianta upřednostňována. Biologické metody čištění odpadních vod s vysokou koncentrací N-amon jsou založeny na konvenční nitrifikaci/denitrifikaci (N/D) uplatňované běžně při čištění městských odpadních vod, či na alternativních postupech, jako je zkrácená nitrifikace/denitrifikace (Zhu et al., 2008), či zkrácená nitrifikace (ZN) a následná deamonifikace (van Dongen et al., 2001). Pomocí výše uvedených biologických procesů je možné odstranit dusík i z velmi silně koncentrovaných OV a jejich výhodou oproti konvenční N/D může být značná úspora nutných energetických i materiálových vstupů při procesu čištění (Abeling et Seyfried, 1992; van Dongen et al., 2001). Zkrácená nitrifikace, která je první fází obou zmíněných netradičních postupů, je založena na akumulaci produktů prvního stupně nitrifikace, tedy dusitanů. Bakterie oxidující N-amon na dusitany (souhrnně bývají označovány jako Ammonium Oxidizing Bacteria – AOB) jsou tolerantnější vůči některým fyzikálně-chemickým faktorům než skupina převládající dusitany na dusičnany (tzv. Nitrite Oxidizing Bacteria – NOB) (Zhu et al., 2008). Toho je možno využít a přizpůsobit podmínky v reaktoru tak, aby byly citlivější NOB inhibovány nebo postupně vyplavovány ze systému. V literatuře jsou obvykle zmiňovány zejména tři faktory, které mohou vést k akumulaci dusitanů v systému. Jedná se o koncentraci O_2 v reaktoru (Ruiz et al., 2003), teplotu (Hellings et al., 1999) a přítomnost toxických forem substrátů prvního i druhého stupně nitrifikace, tedy volného amoniaku a volné kyseliny dusité (Anthonisen et al., 1976).

Koncentrace O_2 v reaktoru kolem 2 mg/l je obvykle udávána jako optimální pro průběh oxických procesů. Tato hodnota je plně dostačující pro obě skupiny nitrifikačních organismů. Pokud je však jeho hladina nižší než cca 1 mg/l, začíná být kyslík pro průběh úplné nitrifikace limitujícím faktorem a může docházet k hromadění dusitanů v čistěné odpadní vodě. Je to způsobeno tím, že AOB mají nižší kyslíkovou saturační konstantu pohybující se podle různých zdrojů mezi 0,3–0,75 mg/l, zatímco hodnoty udávané pro NOB leží v intervalu 1,1–1,75 mg/l (Guisasola et al., 2005; Wiesmann, 1994; Blackburne et al., 2007). Rozpuštěný O_2 je přednostně spotřebováván na oxidaci N-amon, což při jeho nedostatku znevýhodňuje NOB (Ruiz et al., 2003). Udržováním koncentrace rozpuštěného kyslíku v určitém rozmezí (obvykle se udává 0,5–1 mg/l) je tedy možné dosáhnout zkrácené nitrifikace. Výhodou této aplikace je vedle samotných úspor plynoucích ze zkrácené nitrifikace (viz výše) také snížení energetických nároků na aeraci systému. Na druhou stranu, v souvislosti s limitací kyslíku při nitrifikaci odpadní vody je jako negativní důsledek často zmiňována nižší účinnost nitrifikace a špatná sedimentace kalu (Blackburne et al., 2007).

Dalším faktorem s potenciálem vyvolat za určitých okolností zkrácenou nitrifikaci je teplota prostředí v biologickém reaktoru. Rychlost růstu AOB, totiž při teplotě kolem 20 °C začíná převyšovat rychlost růstu NOB a tento rozdíl se s vzrůstající teplotou dále zvyšuje. Při teplotě mezi 30–40 °C je už tento rozdíl tak výrazný, že je možné nastavením odpovídajícího stáří kalu pomaleji rostoucí NOB postupně vyplavit ze systému. Tohoto principu využívá např. v praxi využívaný systém SHARON (Single reactor system for High activity Ammonium Removal Over Nitrite) (Hellings et al., 1999). Jeho nevýhodou je aplikace omezená pouze na OV s vysokou teplotou, jako je např. kalová voda.

Potenciál působit inhibičně na nitrifikační bakterie mají ve vyšších koncentracích i nedisociované formy jejich substrátů – NH_3 a HNO_2 (Anthonisen et al., 1976), přičemž NOB jsou těmito látkami inhibovány mnohem silněji než AOB. Inhibiční hodnoty pro NOB jsou obvykle udávány v rozmezí 0,1–1,0 mg/l FA a pro AOB 10–150 mg/l (Anthonisen et al., 1976), nicméně novější studie prokázaly schopnost NOB přizpůsobit se koncentracím volného amoniaku (Free Ammonia – FA) v řádech desítek mg/l (Villaverde et al., 2000). Výsledky některých studií dále naznačují, že v případě dusitanového dusíku může být z hlediska inhibice NOB zásadní i disociovaná forma, tedy iont NO_2^- (Buday et al., 1999).

Poměr disociovaných iontů a nedisociovaných molekul FA a kyseliny dusité (Free Nitrous Acid – FNA) je dán hodnotou pH a teplotou roztoku. Podíl FA z celkové koncentrace N-amon stoupá se vzrůstající hodnotou pH a zvyšující se teplotou.

OV s vysokou koncentrací N-amon jsou pro dosažení zkrácené nitrifikace vlivem inhibice NOB pomocí vyšší koncentrace FA velmi vhodné. Koncentrace FA v reaktoru v řádu desítek mg/l je možné u těchto typů OV dosáhnout i při hodnotě pH kolem 8. Surová kalová voda má pH

obvykle mezi 8–8,5, nicméně při probíhající nitrifikaci hodnota pH v reaktoru rychle klesá vlivem uvolňování H^+ iontů a podíl FA z celkové koncentrace N-amon se stává z hlediska možné inhibice zanedbatelný. Udržování vyššího pH reakční směsi prostřednictvím dávkování zásaditého činidla by však navýšilo náklady na čisticí proces. Krátkodobé opakované navýšení hodnoty pH v reaktoru je možné zajistit provozem v semikontinuálním režimu, kdy nadávkování většího množství surové OV způsobí nárůst pH (a tedy i koncentrace FA) na začátku každého cyklu.

V následujícím textu je popsáno několik experimentů provedených na pracovišti KAVR ČZU, při nichž bylo dosaženo zkrácené nitrifikace, ať už dlouhodobé, či krátkodobé a následně jsou diskutovány jednotlivé faktory, které umožnily zmíněnou akumulaci dusitanů. Při navrhování jednotlivých experimentů je kladen důraz zejména na jejich realizační nenáročnost a minimalizaci nákladů při případné praktické aplikaci.

Metodika

Modelové reaktory

Nitrifikační reaktory byly provozovány v režimu směšovací aktivace. Experimenty byly prováděny v různém čase během posledních dvou let. Ze systému nebyl u žádné z testovaných variant odváděn přebytečný aktivovaný kal, což umožňovalo udržovat vysoké stáří kalu, které činilo minimálně 30 dní. Jeden z reaktorů byl po fázi zapracování přestaven do semikontinuálního režimu. Pracovní objem reaktorů byl 1,5 l, připojené dosazovací nádrže (vyjma semikontinuálního modelu – SBR) měly objem 0,25 l. Během celého experimentu odpovídala teplota v reaktorech laboratorní teplotě, tedy 23 ± 2 °C. Surová kalová voda bez jakékoli předchozí úpravy byla přiváděna do reaktorů pomocí peristaltických pump s nastavitelným průtokem. Akvariální vzduchovací motorky zajišťovaly okysličené reaktoru a zároveň i promíchávání aktivací směsi.

Veškeré analýzy byly prováděny v souladu se standardními metodami (Horáková et al., 2003).

Podrobnější informace k metodice provozu jednotlivých reaktorů jsou uvedeny níže:

Regulace O_2

Model byl provozován po dobu 330 dní. Reaktor byl zaočkován 500 ml aktivovaného kalu (AK) z jiného, déle provozovaného reaktoru nitrifikujícího na dusičnany a doplněn vodou. Objemové zatížení (B_V) po zapracování odpovídalo 1–1,5 kg N-amon/($m^3 \cdot$ den). Hodnota pH byla udržována na neutrální 7 z důvodu snahy o udržení maximální účinnosti a minimalizace vlivu toxických forem dusíku na průběh nitrifikace. Provoz modelu byl rozdělen na tři etapy podle udržované koncentrace O_2 : 1. etapa s nelimitovanou koncentrací O_2 3 mg/l; 2. etapa s limitovanou koncentrací O_2 0,7 mg/l; 3. etapa s opětovným navýšením O_2 na 3 mg/l. Účelem provozu reaktoru bylo zjistit vliv nízké koncentrace O_2 na finální produkty nitrifikace a účinnost odstranění N-amon.

SBR model

Model byl provozován 38 dní v kontinuálním režimu a 150 dní v semikontinuálním režimu (SBR). Reaktor byl zaočkován 500 ml aktivovaného kalu (AK) z jiného, déle provozovaného reaktoru nitrifikujícího vstupní kalovou vodou na dusičnany a doplněn vodou. B_V odpovídalo cca 0,5 kg N-amon/($m^3 \cdot$ den). Hodnota pH nebyla regulována, koncentrace O_2 se pohybovala mezi 2–7 mg/l. Jeden cyklus SBR trval šest hodin, přičemž pracovní fáze trvala 330 min. Po pracovní fázi následovala sedimentace kalu (20 min) a přečerpávání vstupující a vystupující vody (celkem 10 min). Při jednom cyklu byla vyměněna cca 1/6 objemu reaktoru. Účelem provozu reaktoru bylo zhodnotit vliv převedení modelu z kontinuálního do SBR režimu na finální produkty nitrifikace.

Vliv B_V

Pro porovnání vlivu B_V na zapracování reaktoru byly provozovány dva modely při rozdílném zatížení. Počáteční B_V více zatíženého modelu (1. modelu) bylo nastaveno na 1,75 a později sníženo na 1,3 kg N-amon/($m^3 \cdot$ den). Počáteční B_V 2. modelu odpovídalo

0,6 kg N-amon/($m^3 \cdot$ den). Oba reaktory byly zaočkovány čistírenským AK. Hodnota pH nebyla regulována, koncentrace O_2 se pohybovala mezi 3–6 mg/l. Účelem provozu reaktorů bylo najít maximální možné zatížení při zapracování reaktoru a vliv vysokého zatížení systému na finální produkty nitrifikace.

Složení kalové vody

Kalová voda byla dovážena z Pražské centrální ČOV. Rozsah hodnot pH odpovídal 8,3–8,6, koncentrace N-amon 900–1 750 mg/l a poměr CHSK/N cca 2 : 1

Výsledky

Regulace O_2

V první etapě do cca 85. dne probíhalo pozvolné zvyšování zatížení z 0,15 kg N-amon/($m^3 \cdot$ d) na cca 1,5 kg N-amon/($m^3 \cdot$ d). Účinnost nitrifikace se kromě krátkého období po zahájení provozu kolísala v rozmezí 95–99 %.

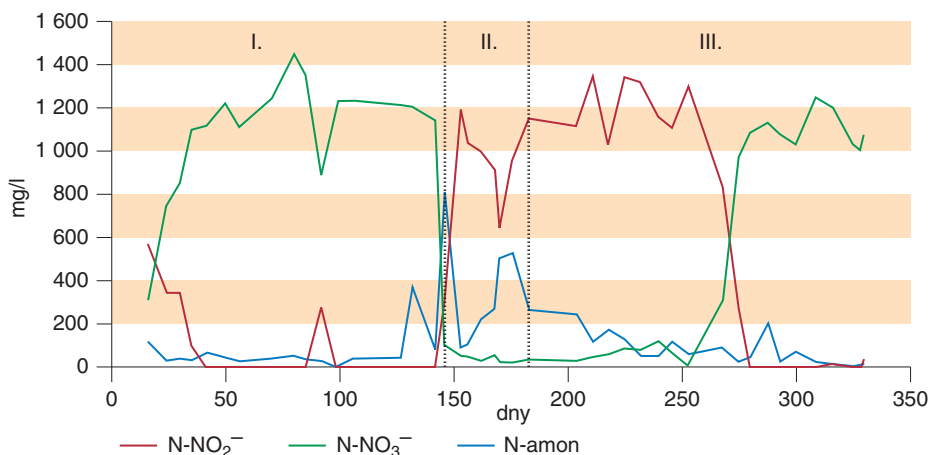
Výsledným produktem nitrifikace byl ve větší části první etapy při stabilních podmínkách takřka výhradně dusičnanový dusík. Po snížení hladiny O_2 během několika dní rapidně vzrostla koncentrace dusitanů v reaktoru na úkor dusičnanů, jejichž zastoupení kleslo pod 10 %, následně během dalšího týdne pod 5 % a pod touto hranicí se pohybovala po celou dobu druhé etapy (obr. 1).

Nízká koncentrace kyslíku cca 0,7 mg/l sice vedla k potlačení činnosti NOB, nicméně měla za následek při stávajícím zatížení pohybujícím se okolo 1,5 kg N-amon/($m^3 \cdot$ d) postupný pokles účinnosti odstranění N-amon z původních více než 90 % na začátku etapy na hodnoty kolem 60 % na jejím konci. Třetí etapa byla zahájena opětovným navýšením koncentrace O_2 na cca 3 mg/l, což během týdne zvýšilo účinnost konverze N-amon na hodnoty přesahující 90 %, přičemž téměř veškerý N-amon byl i nadále převáděn pouze na dusitan. Zkrácená nitrifikace s vysokou účinností odstranění N-amon probíhala následujících 90 dní, teprve poté došlo k opětovnému nárůstu aktivity NOB a nitrifikace probíhala směrem k finálním produktům – dusičnanům.

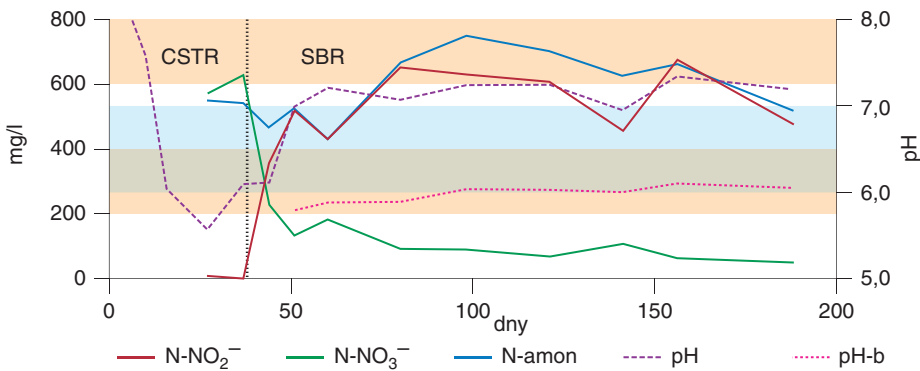
SBR model

Po dobu 38 dnů od zahájení byl reaktor provozován v režimu směšovací aktivace a následně byl převeden do režimu semikontinuálního. Skutečnost, že nitrifikace prakticky od počátku provozu modelu probíhala, byla indikována poklesem hodnoty pH. Ta poměrně rychle poklesla z počátečních 8,5 na hodnoty mezi 5,5–6,0 (obr. 2). Při první analýze jednotlivých forem dusíku provedené 27. den byla zaznamenána úplná nitrifikace na dusičnany.

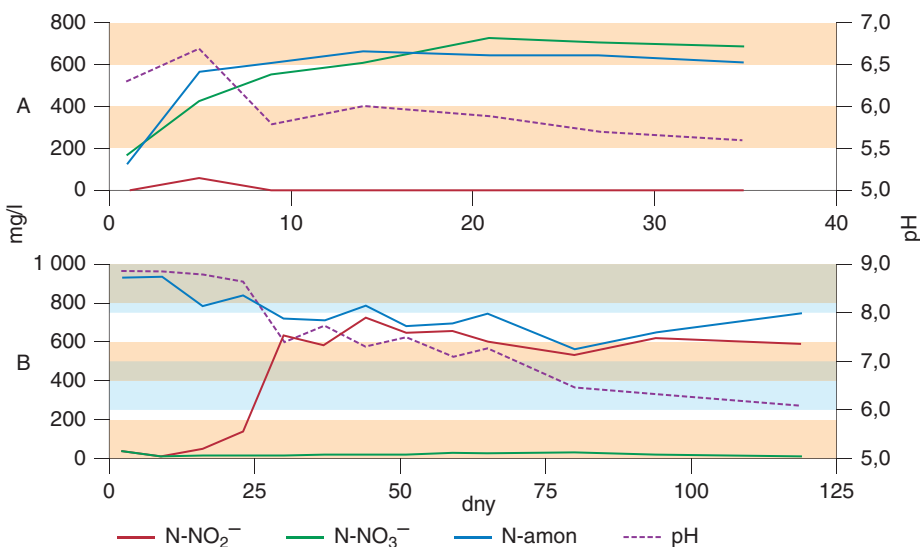
Záhy po převedení systému do semikontinuálního režimu došlo k výrazné akumulaci dusitanů a rychlému poklesu koncentrace dusičnanů z 630 mg/l v 38. dni na 135 mg/l v 51. dni provozu reaktoru. Poté koncentrace dusičnanů pozvolna klesala až k 48 mg/l v závěru provozu reaktoru. Hodnota pH v reaktoru se měnila v závislosti na průběhu jednotlivých cyklů. Na začátku každého cyklu došlo k jednorázovému přivedení kalové vody do reaktoru, v důsledku čehož hodnota pH stoupla na



Obr. 1: Průběh nitrifikace v rámci jednotlivých etap – hodnoty měřeny v odtoku



Obr. 2: Vývoj nitrifikační aktivity SBR modelu (přerušovaná vertikální linie odděluje fáze CSTR – kontinuální režim a SBR – semikontinuální režim, pH – hodnota pH v CSTR a v SBR na začátku cyklu, pH-b – hodnota pH na konci cyklu SBR)



Obr. 3: A – vývoj nitrifikační aktivity modelu s počátečním B_v 0,6 kg N-amon/(m³ · d); B – nitrifikační aktivita modelu s B_v 1,75 N-amon/(m³ · d)

cca 7,2, na konci cyklu pak klesala k hodnotě kolem 6 (obr. 2). Účinnost odstranění N-amon se v průběhu fáze se semikontinuálním průtokem pohybovala mezi 47 a 59 %.

Vliv B_v

U modelu s nižším zatížením byla od počátku provozu zaznamenána úplná nitrifikace na dusičnany, koncentrace dusitanů byla po celou dobu provozu zanedbatelná (obr. 3A). Hodnota pH postupně klesala z 6,7 na 5,6. Účinnost odstranění N-amon se pohybovala mezi 46 a 53 %. Po 35 dnech stabilní nitrifikace byl provoz tohoto modelu ukončen. Provoz druhého modelu byl zahájen se vstupním B_v 1,75 N-amon/(m³ · d). Při takto vysokém zatížení nedošlo k nitrifikaci, a proto bylo B_v po 10 dnech sníženo na 1,3 kg N-amon/(m³ · d). Výrazný nárůst koncentrace dusitanů v systému doprovázený poklesem pH byl zaznamenán po cca třech týdnech. Po celou dobu provozu uvedeného modelu byly hlavním produktem nitrifikace dusitany, koncentrace dusičnanů se pohybovala v řádech jednotek mg/l (obr. 3B). Zanedbatelné zastoupení dusičnanů mezi oxidovanými formami přetrvávalo i v době, kdy pH pokleslo pod 7 a koncentrace FA klesla pod inhibiční mez pro NOB. Účinnost odstranění N-amon se od 30. dne provozu do jeho ukončení 119. den provozu pohybovala mezi 45 a 50 %.

Diskuse

Metody dosažení stabilní dlouhodobé akumulace dusitanů OV s vysokou koncentrací N-amon s využitím různých strategií se v posledních cca 10 letech postupně stávají součástí moderních čistírenských postupů. Stávající systémy mají nicméně i některé nevýhody komplikující jejich další rozšíření. Např. aplikace systému SHARON je omezena pouze

na OV s vysokou teplotou (Hellinga et al., 1999) a stálá limitace koncentrace O₂ vede k omezení rychlosti a účinnosti nitrifikace (Ruiz et al., 2003). Metody využívající biofilmové reaktory (Bartolí et al., 2011) nebo jiné typy imobilizovaných nosičů (Boušková et al., 2011) pak mohou být náročnější po technologické stránce.

Výsledky popsaných experimentů potvrzují, že stabilní zkrácená nitrifikace při zachování vysoké účinnosti odstranění N-amon může být realizována prostřednictvím technologicky nenáročných reaktorů s běžným aktivovaným kalem v suspenzi při laboratorní teplotě.

Prostřednictvím limitace O₂ v reaktoru bylo dosaženo zkrácené nitrifikace, nicméně nízká koncentrace kyslíku vedla také k poklesu účinnosti odstraňování N-amon. Tento problém byl vyřešen navýšením koncentrace O₂, aniž by se po následujících 90 dnů výrazně změnil poměr oxidovaných forem. Udržení zkrácené nitrifikace bez selektivního tlaku nízké hladiny O₂, či vyšší koncentrace FA lze vysvětlit inhibičním působením vysokých koncentrací NO₂⁻, které jsou také zmiňovány jako možný inhibitor aktivity NOB, pokud jsou přítomny v řádech stovek mg/l (Buday et al., 1999). Ze zkušeností autorů tohoto článku však vyplývá, že inhibiční tlak akumulovaných dusitanů bez spolupůsobení dalších faktorů (O₂, FA) není sám o sobě dostačující pro dlouhodobou stabilní zkrácenou nitrifikaci a v takto provozovaném systému vždy, dříve, či později, dojde k opětovnému obnovení úplné nitrifikace na dusičnany. Na druhou stranu, délka fáze provozu reaktoru předcházející obnovení úplné nitrifikace je různá a často přesahuje i několik měsíců. Z toho vyplývá možnost, že pro dosažení stabilní zkrácené nitrifikace by postačovalo vystavit reaktor vlivu dalších zmíněných inhibičních faktorů (O₂, FA) pouze periodicky, čímž by došlo k opětovnému potlačení růstu NOB a přetrvání akumulace dusitanů. Např. výsledky provozu prvního reaktoru naznačují možnost dosažení hromadění dusitanů a zároveň zachovat vysokou účinnost odstranění N-amon střídáním fází s limitovanou a nelimitovanou koncentrací O₂.

Vzhledem k dlouhodobé stabilitě systému pracujícího v režimu zkrácené nitrifikace bylo zajímavých výsledků dosaženo při převedení kontinuálně protékajícího modelu na semikontinuální. K výraznému nárůstu koncentrace dusitanů v reaktoru došlo v rámci několika dní po zahájení provozu v systému SBR (obr. 2). Postupnou inhibici aktivity NOB v tomto případě vyvolalo nejspíše pravidelné dávkování kalové vody spojené s navýšením pH a nárůstem koncentrace FA na začátku každého cyklu následovaného rychlým poklesem pH k hodnotám, při kterých mohla hrát inhibiční roli i koncentrace FNA. Zastoupení dusičnanů postupně klesalo z cca 25 % z celkové koncentrace oxidovaných forem krátce po převedení systému do SBR na cca 10 % před ukončením experimentu. Tento postupný pokles poukazuje na stabilitu SBR systému. Dusičnany nevymizely téměř ze 100 % ihned po krátkodobém šoku způsobeném změnou podmínek jako v případě modelu s regulovaným O₂ a vysokým zatížením, ale ztrácely se postupně vlivem dlouhodobého periodicky opakovaného inhibičního působení koncentrací FA a FNA.

Ve třetím experimentu byly porovnány dva reaktory s rozdílným B_v při zahájení provozu. Reaktor s nižším B_v odpovídajícím 0,6 kg N-amon/(m³ · d) vykazoval nitrifikační aktivitu od počátku provozu reaktoru. Ta způsobila rychlý pokles hodnoty pH znemožňující nárůst koncentrace FA k hodnotám inhibičním NOB, a proto byly finálním produktem nitrifikace dusičnany po celou dobu experimentu.

Druhý reaktor byl vystaven vysokému zatížení, vlivem čehož došlo k přetížení nitrifikující biomasy, hromadění N-amon a zejména nárůstu hodnoty pH, respektive koncentrace FA. Po cca třech týdnech se AOB adaptovaly na vysoké koncentrace FA, což se odrazilo v nárůstu kon-

centrace dusitanů v systému a poklesem hodnoty pH. Stabilní zkrácená nitrifikace přetrvávala v systému až do ukončení experimentu. Udržení zkrácené nitrifikace po dobu cca 4 měsíců bylo pravděpodobně umožněno kombinací vysoké koncentrace FA na začátku experimentu a vysokého B_V po celou dobu provozu reaktoru. Pozitivní vliv vysokého B_V na akumulaci dusitanů je zmiňován i v literatuře (Okabe et al., 2011). Na druhou stranu v případě modelu s regulací O_2 trvala fáze zkrácené nitrifikace udržovaná kombinací vysoké koncentrace NO_2^- a srovnatelného B_V pouze 90 dní. Lze tedy předpokládat, že pokud by byl uvedený model provozován déle, nakonec by došlo k obnově úplné nitrifikace stejně jako v případě prvního popisovaného modelu. Možností, jak obnovit akumulaci dusitanů, by v tomto případě mohlo být např. skokové navýšení pH vyšší jednorázovou dávkou kalové vody, či krátkodobá aplikace zásaditého činidla.

Účinnost odstranění N-amon v těchto i dalších experimentech prováděných autorským kolektivem se bez kompenzace poklesu hodnoty pH vždy pohybuje kolem 50 % nezávisle na způsobu zaočkování, B_V , či poměru oxidovaných forem dusíku. Cca poloviční účinnost odstranění je v tomto případě dána složením kalové vody, v níž dle literárních údajů molární poměr NH_4^+/HCO_3^- odpovídá zhruba 1,1/1. Pufrční kapacita čištěné kalové vody proto umožňuje odstranění přibližně 50 % N-amon, poté pH klesá na hodnotu inhibující další nitrifikační aktivitu (Khin et An-nachatre, 2004). Navýšit účinnost odstranění N-amon je v laboratorním měřítku možné kompenzací poklesu hodnoty pH prostřednictvím dávkování alkalického činidla jako v případě modelu s regulovaným O_2 , v praxi pak např. souběžně probíhající denitrifikací (Švehla et Jeníček, 2004). Na druhou stranu zkrácená nitrifikace kalové vody bez regulace hodnoty pH vytváří optimální výstupní poměr NO_2^-/NH_4^+ pro aplikaci biochemického procesu deamonifikace (van Dongen et al., 2001).

Závěr

Stabilní akumulace dusitanů při zachování jednoduchosti a technologické nenáročnosti provozu byla dosažena prostřednictvím:

1. přechodné limitace koncentrace O_2 ;
2. spolupůsobení krátkodobé vysoké koncentrace FA při zapracování reaktoru a dlouhodobě vysokého objemového zatížení reaktoru;
3. převedením reaktoru z kontinuálního do semikontinuálního provozního režimu.

Nejvyšší stabilitu při zkrácené nitrifikaci vykazoval model pracující v režimu SBR. V případě provozu reaktoru v kontinuálním režimu je slibnou metodou vedoucí k dosažení dlouhodobé zkrácené nitrifikace krátkodobá limitace O_2 nebo šokové krátkodobé navýšení koncentrace FA vždy, když stoupne aktivita NOB v reaktoru.

Poděkování

Příspěvek byl vypracován v rámci řešení projektu podporovaného Celouniverzitní grantovou agenturou ČZU v Praze, registrační číslo projektu 20122022. Autoři děkují poskytovateli dotace za finanční podporu výzkumu.

Literatura

1. Abeling U, Seyfried CF. Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonia wastewater – nitrogen removal via nitrite. *Water Sci. Tech.* 1992;26(5–6): 1007–1015.
2. Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TBS, Srinath EG. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal Water Pollution Control Federation*, 1976; 48(5):835–852.

3. Bartolí A, Carrera J, Pérez J. Bioaugmentation as a tool for improving the start-up and stability of a pilot-scale partial nitrification biofilm airlift reactor. *Biores. Techn.* 2011;102: 4370–4375.
4. Blackburne R, Yuan Z, Keller J. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation* 2007;19: 303–312.
5. Boušková A, Mrákota J, Smrčka J, Stloukal R, Batěk J. Problematika a nové poznatky z provozování technologií s imobilizovanou biomasou. *Vodní hospodářství* 2011;10:397–403.
6. Buday J, Drtil M, Hutňan M, Derco J. Substrate and product inhibition of nitrification. *Chem. Pap.* 1999;53:379–383.
7. van Dongen LGJM, Jetten MSM., van Loosdrecht MCM. The combined Sharon/Anammox Process. A sustainable method for N-removal from sludge water. STOWA Report, IWA Publishing, London, UK, 2001.
8. Guisasaola A, Jubany I, Baeza JA, Carrera J, Lafuente J. Respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2005;80:388–396.
9. Hellinga C, Van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ. Model based design of a novel process for Nitrogen Removal from concentrated flows. *Mathematical and Computer Modeling of Dynamical Systems*, 1999;5: 351–371.
10. Horáková M a kol. *Analytika vody. VŠCHT, Praha, 2003; 335 str.*
11. van Hulle SWH, Vandeweyer HJP, Meeschaert BD, Vanrolleghem PA, Dejans P, Dumoulin A. Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal* 2010;162:1–20.
12. Khin T, Annachatre AP. Novel Microbial Nitrogen Removal Processes, *Biotechnology Advances*, 2004;22(7):519–532.
13. Okabe S, Oshiki M, Takahashi K, Satoh H. Development of long-term stable partial nitrification and subsequent anammox process. *Bioresource Technology*, 2011,102(13):6801–6807.
14. Ruiz G, Jeison D, Chamy R. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration, *Water Res.*, 2003;37: 1371–1377.
15. Švehla P, Jeníček P. Vliv provozních podmínek na průběh procesu nitrifikační/de-nitrifikační při odděleném zpracování kalové vody. *Sborník přednášek konference Odpadové vody 2004;175–182, Tatranské Zrubky, 20.–22. 10. 2004*
16. Villaverde S, Fdz-Polanco F, Garcia PA. Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters: start-up influence. *Water Res* 2000;34:602–610.
17. Wiesmann U. "Biological nitrogen removal from wastewater." *Adv. Bioch. Eng. Biotechnol.* 1994;51:113–154.
18. Zhu G., Peng Y, Li, B, Guo, J, Yang, Q. Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. *Rev Environ Contam. Toxicol.* 2008;192:159–195.

Ing. Mgr. Lukáš Páček, Ing. Pavel Švehla, Ph. D.,
Ing. Josef Radechovský, Ing. Helena Hrnčířová,
prof. Ing. Jiří Balík, CSc.

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

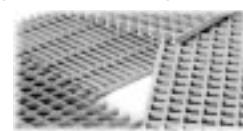
e-mail: lukas.pacek@seznam.cz

PREFA KOMPOZITY a. s.

Pochůzná rošty – kompletní řada pro všeobecné použití



PREFAPOR – složené z tažených profilů



PREFAGRID – vyrobené litím do formy

Protiskluzový povrch, různé výšky a rozměry. Více informací www.prefa-kompozity.cz

Kotlářská 53, 656 03 Brno, 541 583 208, 292, stryk@prefa.cz

díša – váš spolehlivý partner

Výhradní zastoupení významných zahraničních firem.
Montáž a servis v oblastech:

- dezinfekce vody UV zářením, O_3 , Cl_2 , ClO_2
- příslušenství trubních řad
- detekce úniku vody, plynu a trasování
- čerpání vody a jiných médií
- diagnostika kamerovými systémy

DÍŠA s.r.o., Bairovy 784/1, 638 00 Breo
tel.: 545 223 040, fax: 545 222 706
e-mail: info@disa.cz, www.disa.cz

PIPELIFE
pipes for life

Tradiční český výrobce plastových
potrubních systémů pro kanalizace,
vodovody, plynovody, drenáže,
vnitřní instalaci a ochranu kabelů.

Pipelife Czech, s. r. o.
Kučovaniny 1778, 765 02 Otrokovice
tel.: 577 111 211, fax: 577 111 227
e-mail: pipe@pipelife.cz, www.pipelife.cz

7.6 Publikace č. 6

Pacek, L., Švehla, P., Radechovský, J., Vašák, F., Balík, J. 2011. Možnosti využití regulace koncentrace kyslíku při nitrifikaci kalové vody. Vodní hospodářství. 2011. 10. 372–376.

Možnosti využití regulace koncentrace kyslíku při nitrifikaci kalové vody

Lukáš Pacek, Pavel Švehla, Josef Radechovský, Filip Vašák, Jiří Balík

Klíčová slova

zkrácená nitrifikace – AOB – NOB – kalová voda – limitace kyslíku – dusičnany – dusitany

Souhrn

Oddělené předčištění kalové vody pomocí zkrácené nitrifikace je slibná metoda přinášející energetické i materiálové úspory a umožňující efektivnější odstraňování dusíkatého znečištění z odpadní vody. Dosažení zkrácené nitrifikace je podmíněno vytvořením specifických podmínek, které limitují aktivitu bakterií druhého stupně nitrifikace. Bylo experimentálně ověřeno, že regulací koncentrace kyslíku v kalové vodě na úroveň 0,7 mg/l lze dosáhnout akumulace dusitanů s podílem vyšším než 95 % celkového oxidovaného dusíku. Limitní koncentrace kyslíku zároveň snížila účinnost odstranění N-amon z 99 % na cca 60–70 %. Po navýšení koncentrace kyslíku na 3 mg/l systém nadále nitrifikoval na dusitany s účinností cca 95 % při objemovém zatížení 1–1,5 kg/(m³·den) po dobu cca 90 dní. Až poté se systém vrátil k úplné nitrifikaci.



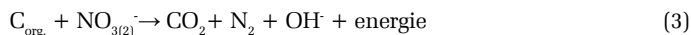
Úvod

Odstranění dusíku z odpadní vody je jedním z hlavních cílů při čištění odpadních vod (OV). Snížení koncentrace sloučenin dusíku emitovaných do recipientu na hodnoty splňující legislativní limity je problémem řady čistíren a jeho dosažení často vyžaduje značné finanční a energetické vstupy v průběhu úpravy OV.

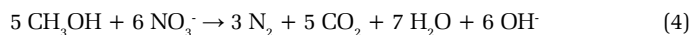
Pro účely odstraňování dusíku z většiny typů odpadních vod je nejvíce využívána a nejméně finančně nákladná metoda biologické (či biochemické) nitrifikace. První fází reakce, tedy tzv. nitrificací (rovnice 1), provádí skupina bakterií v literatuře souhrnně označovaná jako AOB (Ammonium Oxidizing Bacteria), druhou fází, nitratací (rovnice 2), pak skupina označovaná jako NOB (Nitrite Oxidizing Bacteria).



Pro finální odstranění oxidovaných sloučenin dusíku je nutná jejich následná redukce. Při nastolení anoxických podmínek je oxidovaný dusík redukován organotrofními bakteriemi při tzv. denitrifikaci. Reakci schematicky popisuje rovnice 3.



Při použití metanolu jako substrátu má výsledná rovnice následující tvar:



Pro úspěšný průběh běžné denitrifikace při čištění OV je často zapotřebí přidávat značné množství externího organického substrátu (např. metanolu), což navyšuje náklady na proces čištění OV.

Co neefektivnější odstraňování dusíkatého znečištění z různých typů OV při dosažení co nejnižších nákladů na jednotku objemu vyčištěné vody je trvalou snahou technologů a zájmem řady výzkumných projektů v oblasti čištění odpadních vod. Objevují se nové alternativní postupy umožňující značné energetické a surovinové úspory ve srovnání s tradiční nitrifikací/denitrifikací. Na rozdíl od uvedeného konvenčního postupu jsou tyto postupy často postaveny na aplikaci nedávno popsaných biochemických procesů, jsou vhodné jen pro některé typy odpadních vod a jejich možné praktické využití vyžaduje v mnoha případech nemalé finanční náklady, či je ještě ve stadiu výzkumu.

Jednou z možností, jak efektivněji nakládat s dusíkatým znečištěním na čistírnách odpadních vod (ČOV) bez vysokých konstrukčních i provozních nákladů je separované čištění kalové vody, kapalné fáze anaerobně stabilizovaného kalu. V ní se kumulují až 30 % z celkového

množství dusíkatého znečištění přicházejícího na ČOV [1]. Objem kalové vody ve srovnání s celkovým objemem čistěné OV odpovídá zlomkům procent [1]. Tento „koncentrát“ často obsahuje i více než 1 g/l amoniakálního dusíku (N-amon). Po odvodnění stabilizovaného kalu je kalová voda obvykle vrácena do hlavní linky čištění na ČOV. Tím dochází k opětovnému zředění již zakonzentrovaného dusíkatého znečištění a ke zvyšování zatížení biologického stupně ČOV dusíkem. To pak ve výsledku znesnadňuje dosažení emisních koncentrací vyhovujících legislativním limitům a při případném nedostatku organické hmoty v aktivizační nádrži znamená také nutnost jeho externího dávkování pro zajištění efektivní denitrifikace.

Pokud by kalová voda byla čistěna odděleně, bylo by naopak možné odstranit dusíkaté znečištění v již koncentrovaném stavu a snížit zatížení hlavní linky ČOV. V důsledku toho by se mohl zdatelně snížit objem hlavní aktivizační nádrže. Např. Švehla a Jeníček ve své kalkulaci uvádí v závislosti na konkrétních podmínkách možnou úsporu 6 a více procent, přičemž velikost případné nádrže na separované předčištění kalové vody by nepřesáhla 1 % objemu hlavní aktivizační nádrže [2]. Samotný proces nitrifikace/denitrifikace je v případě kalové vody do jisté míry komplikován jejími chemickými vlastnostmi. Jak již bylo uvedeno, pro následnou denitrifikaci oxidovaného dusíku je zapotřebí dostatek snadno dostupného organického substrátu, obvykle se udává teoretická spotřeba minimálně 3,75–4,5 g CHSK na 1 g N-NO₃⁻ [3], v praxi v závislosti na typu organické hmoty pak tyto hodnoty mohou být výrazně vyšší. Dostupný organický substrát nicméně v kalové vodě po procesu anaerobní stabilizace chybí. Poměr mezi CHSK:N se obvykle v případě kalové vody z ÚČOV Praha podle dlouhodobého sledování na KAVR ČZU¹ pohybuje kolem 0,8–3:1 v případě CHSK_{VL} a cca 0,5–1,6:1 pro CHSK_{RL}². Z tohoto důvodu by při separovaném předčištění kalové vody bylo nutné organický substrát dodávat externě, což opět může navýšit provozní náklady. V případě použití primárního kalu jako substrátu pro denitrifikaci odpadá nutnost investic do čistých chemikálií jako je například metanol [4]. Po předčištění procesem nitrifikace/denitrifikace, a tedy výrazněm snížení dusíkatého znečištění, by kalová voda byla vrácena do hlavní linky čištění.

Možností, jak výrazně omezit provozní náklady na odstranění dusíku z kalové vody metodou odděleného předčištění je aplikace tzv. zkrácené nitrifikace. V tomto případě jsou fyzikálně-chemické podmínky oxické fáze nastaveny tak, aby výsledným produktem jdoucím následně do anoxické fáze (denitrifikace) nebyly dusičnany (NO₃⁻), ale dusitany (NO₂⁻). Z hlediska celého procesu znamená toto zkrácení řadu výhod. Teoreticky by vzhledem ke stechiometrickým poměrům biochemických reakcí spotřeba kyslíku pro oxidaci N-amon na NO₂⁻ byla o 25 % nižší, spotřeba organického materiálu na jeho následnou redukci pak o 40 % nižší než v případě nezkrácené nitrifikace/denitrifikace [5]. Rychlost denitrifikační reakce při využití NO₂⁻ jako finálního akceptoru elektronů je udávána 1,5x až 2x vyšší než v případě NO₃⁻; další uváděnou výhodou je až 30% snížení objemu narostlé biomasy a o cca 20 % nižší emise CO₂ [6, 7].

Proces úplné i zkrácené nitrifikace je ovlivňován řadou faktorů, z nichž k nejvýznamnějším patří hodnota pH čištěné vody, koncentrace rozpuštěného O₂, zastoupení a koncentrace různých forem dusíku, doba zdržení aktivovaného kalu a teplota. Tyto faktory mohou ovlivnit nejen účinnost přeměny N-amon na oxidované formy, ale také jejich vzájemný poměr. AOB a NOB mají odlišné nároky na optimální podmínky prostředí, různé limitní a optimální hodnoty pH [3], afinitu k rozpuštěnému O₂ [8, 9, 10], různou citlivost k toxickým formám dusíku (NH₃, HNO₂) [11, 12] a rozdílnou generační dobu, respektive rychlost nárůstu biomasy v závislosti na teplotě [13, 14].

Na základě těchto odlišností je možné zachovat aktivitu AOB a potlačit růst a činnost NOB, což v důsledku znamená hromadění dusitanového dusíku, který již není dále oxidován a může být následně za anoxických podmínek denitrifikován.

Jedním ze zásadních faktorů majících vliv na průběh biochemické oxidace N-amon je koncentrace kyslíku v reaktoru. Pro optimální průběh oxických procesů v aktivizační nádrži se jako doporučená koncentrace obvykle udává 2 mg/l. Tato hodnota je plně dostačující pro obě skupiny nitrifikačních organismů. Pokud je však jeho hladina níže než cca 1 mg/l, začíná být kyslík pro průběh nitrifikace limitujícím faktorem.

1 Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Česká zemědělská univerzita

2 CHSK_{VL} – koncentrace veškerých organických látek
CHSK_{RL} – koncentrace rozpuštěných organických látek

V literatuře uváděné hodnoty kyslíkové saturační konstanty ($K_{S(DO)}$)³ obou skupin nitrifikačních bakterií se poněkud liší. Obvykle udávána $K_{S(DO)AOB}$ se pohybuje mezi 0,3–0,75 mg/l, zatímco pro NOB je to 1,1–1,75 mg/l [8;9;10].

Hodnoty saturační konstanty závisí na mnoha faktorech, zejména typu použité biologické kultury (čistá či směsná) a velikosti vloček aktivovaného kalu, kterými musí kyslík difundovat. Obecně ale platí, že $K_{S(DO)}$ pro AOB je nižší než v případě NOB. Vzhledem k rozdílné kyslíkové afinitě obou skupin nitrifikačních bakterií je tedy možné nízkých koncentrací kyslíku využít k dosažení zkrácené nitrifikace, jak potvrzuje řada výzkumných prací [15, 16, 17].

Regulace koncentrace kyslíku na rozdíl např. od úpravy pH či teploty nevede ke zvýšení provozních nákladů. Naopak limitace hladiny kyslíku v reaktoru snižuje nároky na množství kyslíku do reaktoru vstupujícího a tedy i energetické výdaje na zajištění aerace.

Rozpuštěný O_2 je přednostně spotřebováván na oxidaci N-amon, což při jeho nedostatku znevýhodňuje NOB [15]. Udržováním koncentrace rozpuštěného kyslíku v určitém rozmezí (obvykle se udává 0,5–1 mg/l) lze tedy pravděpodobně dosáhnout kumulace dusitanů. Na druhou stranu, v souvislosti s limitací kyslíku při nitrifikaci odpadní vody je jako negativní důsledek často zmiňována nižší účinnost nitrifikace a špatná sedimentace kalu [10].

Možnost dosažení zkrácené nitrifikace kalové vody a vyhodnocení vlivu limitované koncentrace kyslíku na průběh nitrifikace byla proto prověřena experimentálně.

Metodika

V první části této kapitoly je zmiňován podrobný popis způsobu zapojení a provozu laboratorního modelu, ve druhé části jsou uvedeny výsledky a popis jednotlivých analýz prováděných v rámci experimentu.

Laboratorní model

Reaktor na principu aktivačního systému s vratným kalem byl provozován 11 měsíců, od září 2009 do července 2010. Toto období bylo pak rozděleno do tří etap v závislosti na koncentraci kyslíku udržované v tomto modelovém systému.

Popisovaný experiment probíhal v plexisklovém reaktoru válcovitého tvaru o pracovním objemu cca 1,5 l. Do něj byla soustavou silikonových hadic přiváděna kalová voda dovážená z ÚČOV Praha. Transport tekutin zajišťovala peristaltická čerpadla s nastavitelným režimem průtoku.

Stáří aktivovaného kalu nebylo limitováno, veškerý odcházející kal byl zachycen v dosazovací nádrži a následně ode dna čerpán zpět pomocí peristaltické pumpy. Koncentrace kalu vyjádřená jako obsah nerozpuštěných látek se v období provozu reaktoru pohybovala mezi 3,75 až 8 g/l, přičemž průměrná hodnota odpovídala 5,5 g/l.

Oksylování reaktoru bylo zajištěno dvěma akvarijními motorky. První z nich pracoval kontinuálně a kromě hrubobublinné aerace zajišťoval i míchání reaktoru. Druhý byl napojen na elektronické spínače propojené s měřicím a regulačním zařízením Magic XBC firmy Gryf. Údaje naměřené O_2 sondou připojenou k zařízení byly následně přiváděny do PC jednotky ve formátu vhodném pro další zpracování dat. Regulace koncentrace kyslíku se pak prováděla nastavením požadovaného intervalu na PC. Operační systém ovládal elektronické spínače a v případě překročení nastaveného intervalu přerušil dodávku el. proudu a tím i dodatečnou aeraci. Tímto způsobem bylo možné udržet hladinu kyslíku v určitém, nepříliš širokém intervalu⁴.

Podobným způsobem bylo zajištěno i udržování stálé hodnoty pH v reaktoru. V tomto případě systém pomocí spínače ovládal peristaltické čerpadlo, které podle potřeby dávkovalo do reaktoru roztok NaOH. Hodnota pH byla po celou dobu experimentu udržovaná na neutrální hodnotě 7, s hysterezí -0,05 až +0,05. Reálná hodnota pH pak kolísala mezi 6,9 a 7,1. Při neutrálním pH nebyl aktivovaný kal vystaven případnému působení extrémně vysokých koncentrací nedisociovatých forem amoniakálního či dusitanového dusíku, které by mohly způsobit inhibici aktivity nitrifikačních bakterií. Teplota nebyla nijak regulována a odpovídala teplotě laboratoře, tedy 20–25 °C.

Schematický náčrt zapojení reaktoru je na obr. 1.

Na zaočkování reaktoru bylo použito 500 ml kulturačního média s funkční polykulturou mikroorganismů z jiného déle provozovaného reaktoru, který vykazoval stabilní účinnost v kompletní nitrifikační kalové vody na dusičnany, a zbylý objem byl doplněn vodovodní vodou.

Provoz modelového systému byl rozdělen do tří etap v závislosti na hladině kyslíku v reaktoru. V první etapě byla koncentrace rozpuště-

ného kyslíku udržována na 3 mg/l s hysterezí -0,5 až +0,5 mg/l. Ve druhé etapě byla koncentrace kyslíku snížena na cca 0,7 mg/l (hystereze -0,05 až +0,05 mg/l). Ve třetí etapě pak byla hladina kyslíku opět navýšena na úroveň první etapě.

Chemické rozbor

V rámci vyhodnocování experimentu byly měřeny základní fyzikálně-chemické parametry: hodnota pH, koncentrace O_2 , teplota, koncentrace amoniakálního, dusitanového a dusičnanového dusíku, CHSK a sušina.

Hodnota pH, koncentrace kyslíku a teplota byly vyhodnocovány kontinuálně systémem Magic XBC, přičemž pH bylo měřeno čidlem s typovým označením PCL 321 XB2 a koncentrace kyslíku membránovým čidlem s typovým označením KCL 24 XB4. Teplotním čidlem pak byly vybaveny oba typy elektrod.

Koncentrace sloučenin dusíku byla stanovována na vstupu i výstupu pomocí spektrofotometru HACH DR/4000. Stanovení N-amon a NO_2^- byla prováděna v souladu s konvenčními metodami [18], pro stanovení NO_3^- byly použity testovací kity firmy HACH, číslo metody 2511. Vzorky byly odebírány ze vstupní kalové vody a z dosazovací nádržky jednou týdně. Koncentrace vzorku je pro přehlednost vždy uváděna v mg/l N z celkové hmotnosti dusíkaté sloučeniny.

Koncentrace aktivovaného kalu se zjišťovala stanovením sušiny, které bylo prováděno příslušným postupem [18]. Množství kalu pak bylo udáváno jako koncentrace nerozpuštěných látek v g/l.

Hodnota CHSK byla stanovována spektrofotometricky dichromanovou semimikrometodou. Analyzována byla jak CHSK rozpuštěných látek, tak CHSK homogenizovaného vzorku.

Jednotlivé parametry kalové vody použité během experimentu, jejich rozsah a průměrné hodnoty v období provozu experimentálního modelu jsou uvedeny v tab. 1.

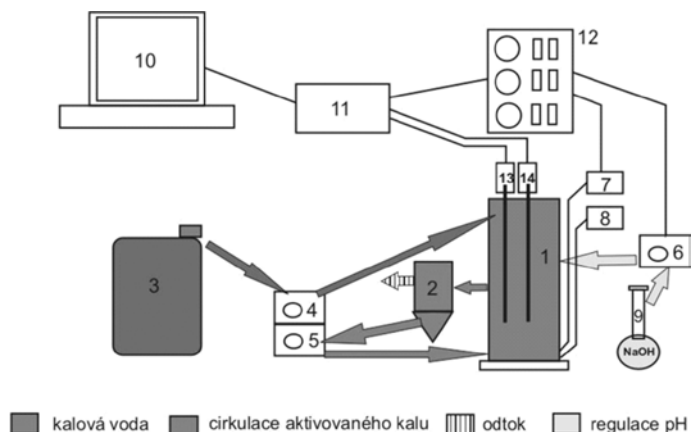
Výsledky a diskuse

Vyšší koncentrace rozpuštěného kyslíku v první i třetí etapě sama o sobě nijak nelimitovala účinnost nitrifikace ani aktivitu obou skupin nitrifikačních bakterií (AOB, NOB). Nižší hladina kyslíku, kdy se jeho koncentrace pohybovala kolem 0,7 mg/l, pak odpovídala saturační konstantě AOB [8]. Zároveň by podle publikovaných údajů [15] při této hodnotě nemělo docházet k omezení účinnosti nitrifikace.

pH bylo udržováno na neutrální hodnotě, což s velkou pravděpodobností nijak nezvýhodňovalo žádnou z obou skupin nitrifikačních bakterií. Průběh nitrifikace kalové vody, účinnost a změny v poměru oxidovaných forem tak byly ovlivňovány pouze změnami koncentrace kyslíku.

Tab. 1. Průměrné hodnoty a rozsah hlavních fyzikálně-chemických parametrů kalové vody

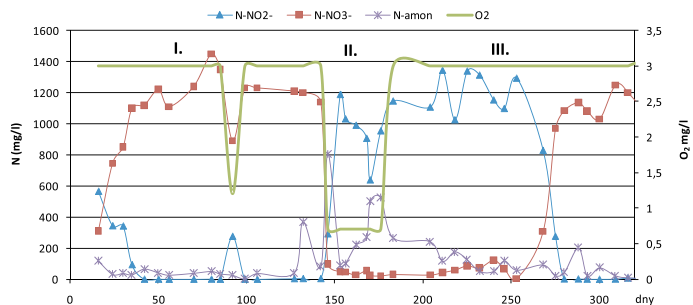
	pH	N-amon (mg/l)	CHSK _{VL} (mg/l)	CHSK _{RL} (mg/l)
Průměr	8,42	1450	2550	1660
Rozpětí	8,3–8,58	900–1750	1150–4200	800–2320



Obr. 1. Schéma zapojení systému Magic XBC a reaktoru M1

1) nitrifikační reaktor, 2) dosazovací nádrž, 3) zásobní nádoba na kalovou vodu, 4) peristaltické čerpadlo kalové vody, 5) peristaltické čerpadlo cirkulace aktivního kalu, 6) peristaltické čerpadlo regulující pH v reaktoru, 7) promíchávání reaktoru aerátorem, 8) dodatečná aerace, 9) zásobní nádoba NaOH, 10) PC se systémem Magic XBC, 11) hlavice sond a interface, 12) automatické spínače zapojené do el. sítě, 13) pH elektroda, 14) O_2 elektroda

³ tedy hodnoty, kdy je specifická rychlost růstu rovna polovině maximální rychlosti
⁴ Jak široké bude rozpětí kolísání hladiny kyslíku závisí zejména na intenzitě aerace, aktivitě aerobní biomasy a spolehlivosti kyslíkového čidla



Obr. 2. Průběh nitrifikace v rámci jednotlivých etap – hodnoty měřeny v odtoku

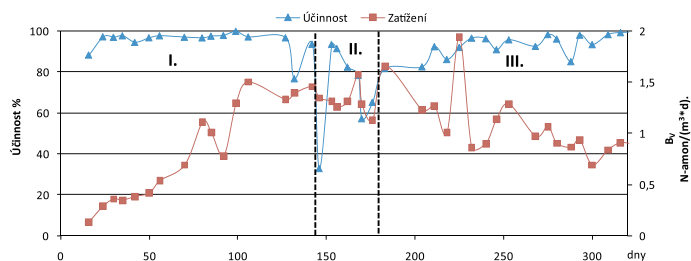
Na obr. 2 je graficky znázorněn přehled průběhu experimentu rozdělený do jednotlivých etap.

V první etapě do cca 85. dne probíhalo pozvolné zvyšování zatížení z 0,15 kg N-amon/(m³·d) na cca 1,5 kg N-amon/(m³·d) (obr. 3). Účinnost nitrifikace se kromě krátkého období po zahájení provozu pohybovala v rozmezí 95–99,8 %. Rychlost odstraňování N-amon tedy při nejvyšším zatížení odpovídala 1,4–1,5 kg N-amon/(m³·d). Tyto nitrifikační rychlosti pozorované při laboratorní teplotě jsou až dvojnásobné ve srovnání s rychlostmi udávanými u SHARON procesu, který probíhá při teplotách kolem 35 °C [12].

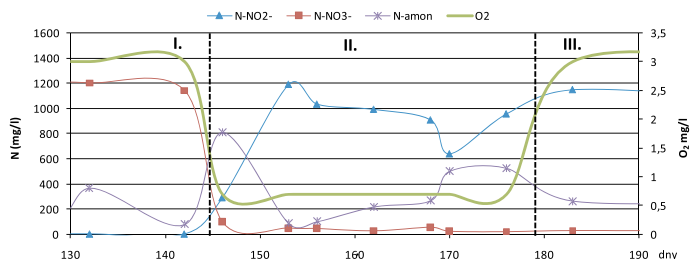
Hlavním produktem nitrifikace byl v první etapě při stabilních podmínkách dusičnanový dusík, dusitanová forma byla kromě počátečního období zapracování reaktoru zastoupena nejvýše v jednotkách promile (obr. 2). Výjimkou je náhlý nárůst koncentrace dusitanů v období kolem 90. dne provozu, kdy v důsledku technických problémů krátce poklesla intenzita aerace (obr. 2).

Hladina O₂ byla v první i třetí etapě dlouhodobě udržována na průměrné hodnotě 2,85 mg/l, která byla výsledkem původního nastavení hystereze. 90 % kontinuálně zaznamenávaných hodnot leželo v intervalu 2,3–3,8 mg/l.

Na obr. 4 je graficky znázorněno kolísání koncentrace kyslíku v reaktoru v krátkém časovém úseku charakteristickým pro celou



Obr. 3. Grafický přehled účinnosti nitrifikace a objemového zatížení reaktoru. (Kolísání objemového zatížení i při stabilním průtoku bylo způsobeno proměnlivou koncentrací N-amon v dovážené kalové vodě)



Obr. 6. Vývoj koncentrace jednotlivých forem dusíku ve 2. etapě

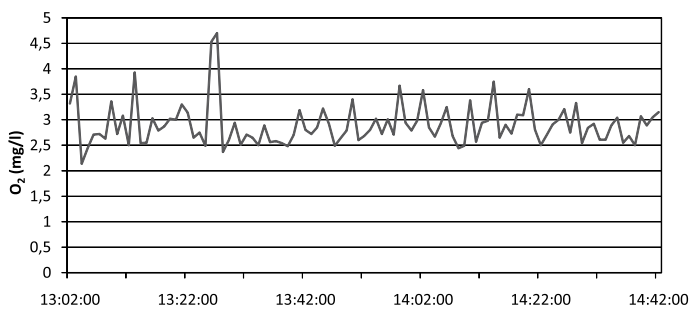
první a třetí etapu provozu. Zobrazená křivka dobře vystihuje periodický pokles hladiny kyslíku způsobený nitrifikační aktivitou, který je následně střídán opětovým nárůstem při automatickém spuštění dodatečné aerace.

Druhá etapa byla zahájena 146. den provozu snížením koncentrace kyslíku na hodnotu 0,7 mg/l. Na obr. 5 je zachycen cca hodinový časový výsek kolísání hladiny kyslíku v průběhu druhé etapy. Na rozdíl od obr. 4 je zde střídání fází nárůstu a poklesu koncentrace

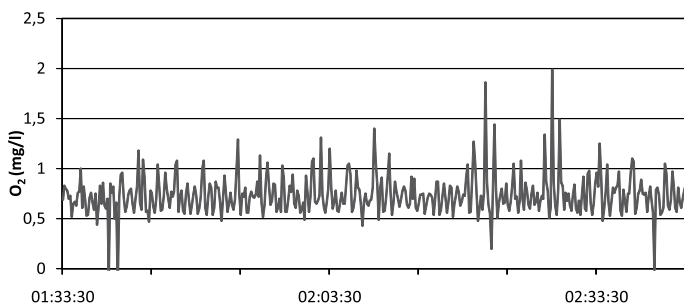


SKANSKA

Skanska a.s.
divize Pozemní stavitelství, závod O2
www.skanska.cz



Obr. 4. Krátký časový výsek kolísání koncentrace O_2 v první etapě



Obr. 5. Časový výsek kolísání koncentrace O_2 v rámci druhé etapy

O_2 výrazně těsnější, což je důsledek malého rozpětí hystereze a nižší citlivosti membránové sondy, která i při malé intenzitě aerace reagovala na změnu koncentrace s mírným zpožděním. Ačkoli při takto nízké koncentraci bylo z technického hlediska problematické docílit v reaktoru o objemu 1,5 l neměnnou hladinu O_2 , podařilo se udržet 80 % naměřených hodnot v intervalu mezi 0,56 a 0,96 mg/l, přičemž průměrná hodnota odpovídala 0,73 mg/l.

Krátce po snížení koncentrace kyslíku se poměr produktů nitrifikace obrátil. Zatímco aktivita AOB zůstala na počátku 2. etapy v podstatě nezměněná, aktivita NOB rapidně poklesla, což se projevilo na snížení zastoupení dusičnanů v oxidovaných formách z původních téměř 100 % pouze na jednotky procent (obr. 6). Celkový pokles účinnosti projevený krátkodobou zvýšenou koncentrací zbytkového N-amon v reaktoru na začátku 2. etapy (146. den) byl pravděpodobně způsoben skokovou reakcí aktivovaného kalu na sníženou dostupnost kyslíku.

Zajímavá je také rychlost reakce biomasy na snížení koncentrace kyslíku nejen na začátku 2. etapy, ale také při náhodném krátkodobém poklesu koncentrace v období kolem 90. dne provozu. V obou případech se poměr oxidovaných forem změnil nejvýše během několika dnů.

Limitací dostupnosti rozpuštěného kyslíku se podařilo dosáhnout kumulace dusitanů v systému z více než 95 % z celkového množství oxidovaného dusíku. Aktivita NOB byla úspěšně potlačena po celou 2. etapu, nicméně účinnost odstranění amoniakální formy při stávajícím zatížení 1,3–1,5 kg N-amon/(m³·d) zaznamenala také postupný pokles z více než 90 % na cca 60 %, jak je zřejmé z obr. 3. Postupné snížení účinnosti odstranění N-amon bylo způsobeno pravděpodobně příliš nízkou koncentrací kyslíku, která při stávajícím objemovém zatížení neumožnila úplnou oxidaci amoniakální formy. Pokles účinnosti oxidace N-amon se lišil od zjištění Ruize et al. [15], kteří při srovnatelných podmínkách provozu nezaznamenali žádné snížení účinnosti oproti plné nitrifikaci bez limitace O_2 . Z provedené měření je tedy zřejmé, že hraniční koncentrace O_2 , která nevede ke snížení účinnosti odstranění N-amon jako takového, bude ležet v daných podmínkách výše než 0,7 mg/l. V případě, že by mírně zvýšená hladina kyslíku za uvedených podmínek ztratila inhibiční účinky na aktivitu NOB, bylo by pravděpodobně možné dosáhnout téhož zachováním nižší hladiny O_2 a snížením objemového zatížení.

3. etapa byla zahájena 183. den provozu opětovným navýšením koncentrace rozpuštěného kyslíku v reaktoru na původní 3 mg/l. Důsledkem bylo zvýšení účinnosti odstranění N-amon na více než 80 % a po následujících dvou týdnech cca 90 % (obr. 3). Po zbývajícím čas 3. etapy se poté efektivita konverze N-amon pohybovala mezi 85 a 95 %.

Oproti očekávání však po ukončení limitace kyslíku nedošlo k opětovnému zvýšení aktivity NOB a nárůstu koncentrace dusičnanů v reaktoru. Naopak, téměř veškerý oxidovaný dusík byl převáděn dále na dusitanu po následujících 90 dní (obr. 2). Zastoupení dusičnanů

v této době nepřevýšilo 10 %. Až cca 275. den se vzájemný poměr oxidovaných forem změnil ve prospěch dusičnanů a po zbylý čas trvání experimentu (do dne 320) probíhala v reaktoru úplná nitrifikace stejně jako před zahájením limitace O_2 , tedy v 1. etapě.

Možných vysvětlení tohoto vývoje je více. Pravděpodobně zde došlo ke spolupůsobení nízké koncentrace kyslíku a vysokého objemového zatížení, kdy byl omezeně dostupný kyslík rychle spotřebován na intenzivní oxidaci N-amon v tomto případě aktivnějšími AOB a jeho koncentrace pak již nebyla dostačující pro druhý stupeň nitrifikace. Je také možné, že omezení aktivity NOB i v prostředí nelimitovaném kyslíkem může být následkem specifické činnosti AOB, nebo jejich metabolitů působících na NOB i při relativně stabilním, neutrálním pH. V literatuře je zmiňován např. hydroxylamin, meziprodukt nitrifikace, jako inhibitor NOB, který může mít vliv na akumulaci dusitanů a tedy dosažení stabilní zkrácené nitrifikace [19, 20]. Jiný zdroj popisuje dokonce i disociovaný NO_2^- jako faktor, který při vysokých koncentracích v řádu stovek mg/l působí inhibičně na NOB [21].

Na druhou stranu, nízké koncentrace dusičnanů v řádu jednotek až několika málo desítek mg/l mohly být také výsledkem chyby měření, kdy, při deseti- až stonásobném ředění, jež je nutné provádět v případě spektrofotometrické analýzy kalové vody, mohlo docházet ke zkreslení výsledků při spodní hranici kalibračního rozsahu⁵. Další možnou alternativou vysvětlující přítomnost nízkých koncentrací NO_3^- může být i prostá chemická oxidace nestabilních NO_2^- iontů [22].

Prováděná stanovení by bylo v tomto případě dobré rozšířit o analýzu FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) nebo jinou metodu schopnou určit zastoupení AOB a NOB ve vzorku, která by lépe osvětlila mikrobiologické složení aktivovaného kalu. Tento rozbor zatím nebylo bohužel možné provést z technických důvodů.

Podstatným zjištěním zůstává, že za uvedených podmínek bylo využito regulace koncentrace kyslíku k nastolení podmínek vedoucích k dosažení dlouhodobé zkrácené nitrifikace s vysokou účinností a v případě samovolného návratu systému k úplné nitrifikaci bude možné biomasu NOB prostřednictvím limitace kyslíku znovu potlačit. Z technologického hlediska by proto aplikace uvedeného postupu v praxi mohla být zajímavá. Pokud snížení koncentrace kyslíku na uváděných 0,7 mg/l sice vede k postupnému poklesu účinnosti odstranění N-amon, ale zároveň dochází k inhibici NOB přetrvávající i po opětovném zvýšení hladiny kyslíku, bylo by možné střídáním období s limitovanou a nelimitovanou koncentrací O_2 dosáhnout dlouhodobé zkrácené nitrifikace s vysokou účinností a rychlostí odstraňování N-amon. Vyhodnocení optimální délky jednotlivých fází a ostatních podmínek případné provozní aplikace bude vhodným námětem pro další výzkum.

Závěr

Regulací koncentrace kyslíku v reaktoru zpracovávajícím kalovou vodu bylo možné velmi rychle docílit akumulace dusitanů dosahující více než 95 % z celkového množství oxidovaného dusíku. Limitující koncentrace kyslíku spolu s vysokým objemovým zatížením zároveň vedly ke snížení účinnosti odstranění N-amon. Vzhledem k tomu, že opětovné navýšení hladiny kyslíku v reaktoru zvýšilo účinnost odstranění N-amon na více než 90 %, ale nenarušilo stabilně probíhající akumulaci dusitanů po následujících cca 90 dnů, lze popsanou metodu považovat za vhodnou pro dosažení zkrácené nitrifikace kalové vody.

Možnost praktické aplikace tohoto postupu při zachování vysoké účinnosti nitrifikace pak může spočívat ve střídání fází s limitovanou a nelimitovanou koncentrací kyslíku v reaktoru.

Oddělená biologická úprava kalové vody s limitovanou koncentrací O_2 by tak při provozní aplikaci s využitím poznatků získaných v rámci této práce mohla vést k výraznému snížení zátěže dusíkatými látkami v hlavní čistící lince na městských i průmyslových ČOV.

Poděkování: Výzkum byl prováděn v rámci řešení projektu financovaného MŠMT číslo 2B08082 a výzkumného záměru MSM 6046070901. Autoři práce děkují poskytovatelům za finanční podporu.

Literatura

- [1] van Loosdrecht, M. C. M., Salem, S. (2005): Biological treatment of sludge digester liquids. Proceedings of IWA Specialized Conference "Nutrient management in wastewater treatment and recycle Streams", Krakow, Poland, 19-21 September 2005, 13-22.

⁵ Kalovou vodu je při spektrofotometrické analýze nutné ředit nejen za účelem zředit obsahu stanovovaných látek, ale také pro snížení výrazného zabarvení, jež by mohlo zkreslovat výslednou absorbanci

- [2] Švehla, P., Jeníček, P. (2005): Nitritace/denitritace kalové vody jako prostředek vedoucí ke snížení koncentrace dusíku v odtoku z ČOV s anaerobní stabilizací kalu. Sborník konference Odpadní vody – Wastewater 2005, Teplice, 10.–12. 5. 2005, str. 191–198.
- [3] Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. (1991): Biologické čištění odpadních vod, SNTL Praha.
- [4] Jeníček P., Švehla P., Zábranská J., Dohányos M., Vondryšová J. (2006): Denitrification of Reject Water using primary Sludge as organic substrate. Proceedings of IWA Specialized Conference Sustainable sludge management: state of art, challenges and perspectives, 538-544, Moscow, Russia, 29-31 May 2006
- [5] Abeling, U., Seyfried, C. F. (1992): Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonium wastewater - nitrogen removal via nitrite. Water Sci. Tech. 26 (5-6): 1007-1015.
- [6] Turk, O., Mavinic, D. S. (1987): Benefits of using selective inhibition to remove nitrogen from highly nitrogenous wastes, Environ. Technol. Lett. 8, 419-426.
- [7] Peng, Y., Zhu, G. (2006): Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway, Appl. Microbiol. Biotechnol. 73, 15-26.
- [8] Guisasaola, A., Jubany, I., Baeza, J. A., Carrera, J., Lafuente, J. (2005): Respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation, J. Chem. Technol. Biotechnol., 80:388-396.
- [9] Wiesmann, U. (1994). "Biological nitrogen removal from wastewater." Adv. Bioch. Eng. Biotechnol., 51, 113–154.
- [10] Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J., (2007): Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. Biodegradation 19:303–312
- [11] Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. S., Srinath, E. G., (1976): Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid, Water Pollut. Contr. 1976, 48: 835-52.
- [12] Vadivelu, M., Keller, J., Yuan, Z., (2006): Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched Nitrosomonas culture. Biotechnology and Bioengineering Volume 95, Issue 5, pages 830–839, 5 December 2006
- [13] Hellinga C., Schellen A. A. J. C., Mulder J. W., van Loosdrecht M. C. M. Heijnen, J. J. (1998). The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. Water Sci. Technol. 37 (9), 135-142.
- [14] Van Kempen, R., Mulder, J. W., Uijterlinde, C. A., Loosdrecht M. C. M. (2001). Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. Water Sci. Technol. 44 (1), 145-152.
- [15] Ruiz, G., Jeison, D., Chamy, R. (2003): Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration, Water Res., 37: 1371-1377.
- [16] Pollice, A., Tandoi, V., Lestingi, C. (2002): Influence of aeration and sludge retention time of ammonium oxidation to nitrite and nitrate, Water Res., 36: 2541-2546.
- [17] Fux, C., Velten, S., Carozzi, V., Solley, D., Keller, J. (2006): Efficient and stable nitrification and denitrification of ammonium-rich sludge dewatering using an SBR with continuous loading, Water Res., 40: 2765-2775.
- [18] Horáková, M. a kolektiv. (2003): Analytika vody. VŠCHT, Praha, 335 s.
- [19] 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.,

- Kuenen, J. G. (1999): The anaerobic oxidation of ammonium. FEMS Microbiology Reviews, Vol. 22, 421-437.
- [20] Yang, Q., Peng, Y. Z., Liu, X. H., Zeng, W., Mino, T., Satoh, H. (2007): Nitrogen removal via nitrite from municipal wastewater at low temperatures using real-time control to optimize nitrifying communities. Environ Sci Technol;41:8159–64.
- [21] Buday, M., Drtil, Hutnan, M., Derco, J. (1999): Substrate and product inhibition of nitrification. Chem. Papers (1999) 53, 379-383
- [22] Pitter, P. (1999): Hydrochemie. SNTL, Praha, 565 s.

Mgr. Ing. Lukáš Páček (autor pro korespondenci)

Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

Ing. Josef Radechovský

Ing. Filip Vašák

prof. Ing. Jiří Balík, CSc.

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Česká zemědělská univerzita

Kamýcká 129

165 21 Praha 6

e-mail: pacek@af.czu.cz

Efficient Partial Nitrification of Reject Water via Oxygen Concentration Control (Páček, L.; Švehla, P.; Radechovský, J.; Vašák, F.; Balík, J.)

Key words

shortcut nitrification – AOB NOB – reject water – DO limitation – nitrate – nitrite

The separate pre-treatment of reject water from anaerobic sludge digestion by a shortcut nitrification is a promising method, which could bring considerable cost and material savings and more efficient nitrogen removal from wastewater. To achieve shortcut nitrification it is necessary to create specific conditions in order to limit the nitrification activity. It was experimentally proven, that through DO limitation down to 0.7 mg/l led to nitrite accumulation with more than 95 % of total oxidized nitrogen. The low DO level in the same time caused decrease of nitrogen removal efficiency from 99 % to 60–70 %. After DO level increase up to 3 mg/l the system carried on with shortcut nitrification with 95 % nitrogen removal efficiency with nitrogen load 1–1.5 kg/(m³·day) for another 90 days. Afterwards the system returned to complete nitrification.

Tento článek byl recenzován a je otevřen k diskusi do 31. prosince 2011. Rozsah diskusního příspěvku je omezen na 2 normostrany A4, a to včetně tabulek a obrázků. Příspěvky posílejte na e-mail stransky@vodnihospodarstvi.cz.

Pozvánka na seminář

Energie z odpadních vod a odpadů, aneb zatím neoslovená energie

Cílem je poskytnout architektům, projektantům a potencionálním investorům základní informace o možnostech recyklace vody a tepla z vod v budovách. Poskytnout provozovatelům a vlastníkům vodohospodářských zařízení informace o možnosti jejich využití k energetickým účelům, případně je upozornit na možné úspory v provozu ČOV Podpořit snahu o co největší využití energetických zdrojů a nabídnout nové možnosti...

Termíny a místa konání

11. 11. Praha, VŠCHT, Konferenční centrum, Kolej Sázava: Chemická (Ekonomická) 952,

15. 11. Brno, Kongresové centrum BVV, Výstaviště 1

Program

Recyklace vod a tepla v budovách – šedé vody

- anglická norma „Grey Water“ a zásady navrhování zdravotně technických instalací při recyklaci vody v budovách Ing. Jakub Vrána, Ph.D.

- využití tepla z šedých vod v hotelech a veřejných budovách. Ing. Adam Bartoník

Teplota a energie z odpadních vod

- využití tepla z odpadních vod k ohřevu TUV a k vytápění budov (DWA směrnice) Ing. Petr Horák, Ph.D., Ing. Marcela Počinková, Ph.D.

Možné úspory energie na stávajících ČOV

- výroba tepelné energie na ČOV, možnosti využití a skladování a výroba elektrické energie na ČOV. Ing. Adam Bartoník

Teplota a energie z odpadů

- bioplynové stanice, výroba bioplynu a kombinace odpadů s kaly z ČOV, problematika likvidace kapalných fází. Ing. Marek Holba, Ph.D.

Čištění vzduchu

Ing. Milan Uher

Přihlášku

můžete vyplnit na našich webových stránkách (www.asio.cz)

Informace podá

Vratislav Cibula, e-mail: asio@asio.cz, tel.: +420 548 428 111